

ИММУНОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИИ

РЕГУЛЯТОРНЫЕ FoxP3⁺Т-КЛЕТКИ В ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ЖИДКОСТИ У ЖЕНЩИН В ЦИКЛАХ ЭКО

Андреева Е.А.¹, Хонина Н.А.¹, Тихонова М.А.¹,
Пасман Н.М.²

¹ ФБГНУ Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

Большой интерес у репродуктологов к регуляторным FoxP3⁺Т-клеткам обусловлен участием этих клеток в индукции толерантности к аллоантигенам плода. При этом регуляторные свойства проявляют как CD4⁺FoxP3⁺ клетки, так CD4⁻FoxP3⁺ клетки. Учитывая большое влияние различных клеток и факторов в микроокружении преовуляторного фолликула на созревание ооцита, можно допустить участие фолликулярных Т-клеток в созревании фолликулов и ооцитов.

Цель. Исследование содержания различных типов FoxP3⁺ и FoxP3⁻ клеток в фолликулярной жидкости (ФЖ) женщин, проходивших лечение бесплодия методом ЭКО, и их возможное значение в овуляторном процессе.

Материалы и методы. В исследование вошли 55 женщин с бесплодием, проходивших лечение методом ЭКО. Средний возраст женщин составил 33,6±5,1, длительность бесплодия – 6,9±4,4 лет. Пациенты подписывали информированное добровольное согласие на проведение иммунологического исследования. Образцы ФЖ забирали во время трансвагинальной пункции яичников, центрифугировали (2000 об/мин), затем полученные клетки криоконсервировали (-80°С). Индекс оплодотворения (I_о) рассчитывали по формуле: I_о = кол-во оплодотворенных ооцитов/кол-во зрелых ооцитов. Относительное содержание различных субпопуляций Т-клеток определяли методом проточной цитофлюориметрии (FACSCalibur) с использованием меченных моноклональных антител. Статистическую обработку данных проводили при помощи программы Statistica 6.0.

Результаты. Оценка эффективности ЭКО показала, что наступление клинической беременности ассоциировано с меньшим количеством фолликулов и меньшим содержанием ооцитов, характеризующихся более высоким индексом оплодотворения (0,8±0,09% vs 0,7±0,06% у женщин с отрицательным результатом ЭКО; p_u < 0,05). Исследование ФЖ у женщин при стимуляции суперовуляции выявило наличие в ней FoxP3⁺ клеток как в популяции CD4⁺ (CD4⁺FoxP3⁺), так и CD4⁻ (CD4⁻FoxP3⁺) Т-клеток. При этом FoxP3⁺ клетки выявлялись как среди CD4⁺CD25⁺, так и CD4⁺CD25⁻ клеток. Анализ взаимосвязи различных субпопуляций Т-клеток с количеством фолликулов и ооцитов

показал, что меньшее число фолликулов ассоциировалось (на уровне тенденции) с более высоким содержанием CD4⁻FoxP3⁺ клеток. Более того, меньшее число зрелых ооцитов выявлялось у женщин с более высоким количеством как CD4⁻FoxP3⁺ клеток (10,7±2,8% vs 3,1±1,6%; p_u < 0,01), так и CD4⁺FoxP3⁺ (4,0±0,9% vs 2,1±0,6%; p_u < 0,01). При этом между содержанием ооцитов и CD4⁺FoxP3⁺Т-клеток отмечалась умеренная, но достоверная корреляционная зависимость (r = -0,36; p < 0,05). Ретроспективный анализ показал, что наступление и прогрессирование беременности ассоциировалось с более низким содержанием CD4⁺CD25⁻FoxP3⁺ клеток. На это указывают достоверные различия между количеством CD4⁺CD25⁻FoxP3⁺ клеток у женщин с клинической и биохимической беременностью (3,0±0,3% vs 8,0±1,7%; p_u < 0,01) и между группами с клинической беременностью и отрицательными исходами ЭКО (3,0±0,3% vs 7,9±1,5%; p_u < 0,05).

Заключение. Впервые показано, что в ФЖ женщин, проходивших стимуляцию суперовуляции методом ЭКО, содержатся различные субпопуляции регуляторных FoxP3⁺Т-клеток, которые могут оказывать влияние на различные этапы овуляторного процесса и эмбриогенеза. При этом можно полагать, что CD4⁺FoxP3⁺ и CD4⁻FoxP3⁺ клетки оказывают влияние на этапах созревания фолликулов и ооцитов, а CD4⁺CD25⁻FoxP3⁺ клетки на процессы эмбриогенеза.

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА В-ЛИМФОЦИТОВ И ПРОДУКЦИЯ АУТОАНТИТЕЛ ПРИ ЭНДОМЕТРИОЗЕ

Анциферова Ю.С., Малышкина А.И.,
Абдуллаева Л.Х., Красильникова А.К.

ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н.Городкова» Министерства здравоохранения РФ, Иваново, Россия

Введение. Иммунные механизмы играют важную роль в патогенезе эндометриоза, одного из наиболее распространенных гинекологических заболеваний. Наряду с изменением активности клеток врожденного иммунитета, при эндометриозе многие авторы отмечают признаки аутоиммунных нарушений, в том числе усиление продукции аутоантител различной природы. Однако вопрос о значимости аутоантител в патогенезе эндометриоза до конца еще не решен. В ряде работ не было выявлено взаимосвязи между титром аутоантител и стадией эндометриоза. Были получены противоречивые данные о специфичности аутоантител, выявляемых у пациенток с эндометриозом. До сих пор не изучены механизмы, приводящие к выработке аутоантител, нет данных о характере функционирования В-лимфоцитов при данном заболевании.

Цель и задачи. Целью исследования было установить взаимосвязь между особенностями активации и дифференцировки В-лимфоцитов и содержанием аутоантител в периферической крови и перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом различной степени тяжести для уточнения механизмов развития аутоиммунных нарушений при данном заболевании.

Материалы и методы. Было проведено обследование 59 пациенток с эндометриозом и бесплодием (из них 36 женщин с эндометриозом 1-2 степени и 23 женщины с эндометриозом 3-4 степени) и 25 здоровых фертильных женщин (контрольная группа). Материалом для исследования служили периферическая кровь и перитонеальная жидкость. Фенотип В-лимфоцитов (CD20⁺, CD19⁺, CD19⁺CD27⁺, CD19⁺CD27⁻, CD19⁺CD20⁻CD38⁺, CD20⁺CD5⁺, CD20⁺CD86⁺) оценивали методом многоцветной проточной цитометрии. Содержание аутоантител (анти-гистоновых, анти-Zona Pellucida (ZP), анти-овариальных, анти-фосфатидил-этанолламин IgG, анти-фосфатидил-холин IgG и анти-beta-2-гликопротеин IgG антител) и sCD30 определяли методом ИФА.

Результаты. У всех пациенток с эндометриозом вне зависимости от степени его тяжести в крови и перитонеальной жидкости было выявлено снижение количества CD27⁺ В-клеток памяти и увеличение содержания плазматических CD19⁺CD20⁻CD38⁺ клеток, уровня наивных CD27⁻ и активированных CD86⁺ клеток в популяции CD19⁺ лимфоцитов. При этом у женщин с распространенными формами эндометриоза изменения дифференцировки В-лимфоцитов на локальном уровне были более выражены, чем при эндометриозе 1-2 степени. Кроме того, у женщин с эндометриозом 3-4 степени в перитонеальной жидкости отмечалось повышение концентрации растворимой формы молекулы CD30, сдвигающей баланс регуляции Th1/Th2 типов иммунного ответа в сторону усиления активности гуморальных реакций. Оценка продукции аутоантител при эндометриозе не выявила увеличения частоты встречаемости диагностически значимых титров антител изученной специфичности. В то же время в крови пациенток с эндометриозом различной степени тяжести было отмечено статистически значимое повышение концентрации анти-овариальных антител, а при эндометриозе 1-2 степени – увеличение содержания анти-гистоновых антител как в крови, так и в перитонеальной жидкости. Проведение корреляционного анализа показало, что при эндометриозе 1-2 степени в крови отмечалась положительная корреляционная взаимосвязь между уровнем анти-ZP антител и содержанием В-1 лимфоцитов, а в перитонеальной жидкости уровни анти-ZP и анти-овариальных антител прямо коррелировали с количеством наивных CD27⁻В-лимфоцитов. Кроме того, в перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом 1-2 степени была выявлена отрицательная корреляционная связь между содержанием анти-ZP антител и уровнем активированных CD20⁺CD86⁺ клеток. При эндометриозе 3-4 степени было выявлено меньше, чем при эндометриозе 1-2 степени корреляционных взаимосвязей между содержанием аутоантител и показателями, характеризующими состояние В-лимфоцитов. Как в крови, так и в перитонеальной жидкости при распространенных формах эндометриоза отмечалась отрицательная взаимосвязь между уровнем анти-фосфатидил-холин IgG антител и наивных В-клеток.

Заключение. Таким образом, для пациенток с эндометриозом характерен сдвиг системной и локальной диф-

ференцировки В-лимфоцитов в сторону увеличения пула наивных клеток и повышения содержания плазматических клеток. Эти изменения, по-видимому, ведут к изменению репертуара продуцируемых антител, в том числе к выработке аутоантител, способных реагировать с антигенами органов репродуктивной системы, что может способствовать развитию бесплодия при данном гинекологическом заболевании.

АКТИВНОСТЬ ФАГОЦИТОВ В ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ У БОЛЬНЫХ НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

Арипова Т.У.¹, Мусаходжаева Д.А.¹,
Ешимбетова Г.З.², Азизова З.Ш.¹

¹ Республиканский научный центр иммунологии
Министерства здравоохранения РУз, Ташкент,
Узбекистан

² Ташкентский институт усовершенствования врачей,
Ташкент, Узбекистан

В структуре гинекологических заболеваний эндометриоз занимает третье место после воспалительных заболеваний половых органов и миомы матки. Она диагностируется у 2-10% женщин, впервые обратившихся к гинекологу, и у 30% больных, нуждающихся в гинекологических операциях. При применении лапароскопии очаги эндометриоза выявляются у 20-50% женщин, страдающих бесплодием неясного генеза. В настоящее время актуальны методы, позволяющие непосредственно оценить состояние локальных клеточных и метаболических процессов в перитонеальной полости. Показана немаловажная роль активности перитонеальных фагоцитов в патогенезе наружного генитального эндометриоза (НГЭ).

Целью исследования явилось изучение кислородзависимого метаболизма перитонеальных макрофагов в процессе фагоцитоза в перитонеальной жидкости у больных с различной степенью тяжести наружного генитального эндометриоза.

Было обследовано 37 больных в возрасте от 20 до 45 лет с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ), которые составили 3 группы: 1-я группа – 12 больных с легкой степенью тяжести заболевания; 2-я группа – 10 больных с умеренной тяжестью заболевания; 3-я группа – 15 больных с тяжелым течением. Контрольную группу составили 18 здоровых фертильных женщин. Диагноз у всех больных был установлен на основании интраоперационного обследования и подтвержден результатами гистологического исследования. Для определения кислородзависимой биоцидности перитонеальных макрофагов и нейтрофилов использовали спонтанный и стимулированный НСТ-тест.

Исходные показатели кислородзависимой реактивности макрофагов и нейтрофилов перитонеальной жидкости во всех наблюдаемых подгруппах женщин с НГЭ отражали повышение спонтанной биоцидности по НСТ-тесту по сравнению с группой контроля. В целом, активность спонтанного НСТ-теста, у больных с эндометриозом была выше, чем у здоровых фертильных женщин ($8,3 \pm 0,3$ и $10,7 \pm 0,6$ соответственно, $p < 0,05$). Наиболее значительное увеличение спонтанного НСТ-теста регистрировали у женщин 1-й и 2-й групп (в 1,5 и 1,6 раза соответственно выше контроля). При тяжелом течении НГЭ наблюдалось снижение активности спонтанного НСТ-теста, так что его значения недостоверно превос-

ходили контроль. Стимулированный НСТ-тест выявляет резервные возможности перитонеальных макрофагов. При стимуляции наблюдалось незначительное, недостоверное, повышение фагоцитарной активности по сравнению с контролем при легком и умеренном течении НГЭ и достоверное снижение активности у больных с тяжелым течением. В целом достоверных различий между контрольной и основной группой не было. При этом достоверно низкие относительно контроля индексы стимуляции в подгруппах основной группы – 2,41, 2,2 и 1,81 соответственно, говорили о склонности к гипореактивности и снижению резерва микробицидности по мере утяжеления НГЭ. Выявленная прямая зависимость между показателями метаболической активности макрофагов перитонеальной жидкости и степенью активности НГЭ позволяет использовать спонтанный и стимулированный НСТ-тест как один из диагностических критериев в комплексном обследовании больных с эндометриозом.

Макрофаги составляют более 90 % от всех клеток, находящихся в перитонеальной полости, как у здоровых фертильных женщин, так и при эндометриозе. В норме перитонеальные макрофаги заканчивают жизненный цикл менее зрелыми. У больных НГЭ по сравнению со здоровым контролем выявлено резкое увеличение популяции крупных и активных макрофагов, в которых по сравнению с контрольной группой регистрируется повышенная спонтанная кислородзависимая метаболическая активность (по результатам НСТ-теста), обратная коррелирующая со степенью тяжести заболевания. Уровень же стимулированного фагоцитоза у них достоверно не отличался от контроля. Эти данные свидетельствуют о хронической стимуляции макрофагов в перитонеальной полости при эндометриозе, что приводит к избыточному образованию свободно-радикальных молекул, а это в свою очередь является дополнительным стимулом к накоплению и активации моноцитов крови в перитонеальной полости.

АНАЛИЗ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ Tcyt-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ПРИВЫЧНОМ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

Батурина И.Л., Абрамовских О.С., Логинова Ю.В., Никушкина К.В., Зотова М.А., Никонова Т.И., Емельянов И.В., Новоженина В.С., Кох Е.В.

*НИИ иммунологии ФГБОУ ВПО «Южно-уральский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ, Челябинск, Россия*

Репродуктивная дисфункция является одной из актуальных проблем практического акушерства и гинекологии. Случаи самопроизвольного прерывания беременности составляют в нашей стране около 20% от общего числа зарегистрированных беременностей – 15% приходится на самопроизвольные выкидыши и 5% – на преждевременные роды. В настоящее время установлено, что иммунные механизмы играют значимую роль при беременности, с одной стороны, защищая мать и плод от инфекционных патогенов, а с другой стороны, обеспечивая толерантность иммунной системы матери в отношении эмбриона и плода. Дисбаланс иммунорегуляторных механизмов приводит к недостаточности репродуктивной функции, в том числе нарушениям имплантации, спорадическому или привычному невынашиванию беременности, неразвивающейся беременности (Михалевич С.И. и соавт., 2012). Исследование данных механизмов в последнее

время активно изучается и имеет противоречивые и разрозненные данные, что требует дальнейшего изучения.

Цель. Изучение Tcyt-лимфоцитов разной стадии дифференцировки в периферической крови у пациенток с привычным невынашиванием беременности (ПНБ).

Материалы и методы. На базе НИИ иммунологии ЮУГМУ г. Челябинска в 2015–2017 гг. было проведено комплексное обследование 30 женщин в возрасте от 20 до 36 лет, с диагнозом ПНБ. Диагноз был подтвержден врачами – гинекологами с помощью клинических и инструментальных и молекулярно-генетических методов исследования. Группу контроля составили 30 условно здоровых женщин, имеющих 2-х и более детей от одного мужчины. Все пациентки были разделены на две группы: 1- контроль (А) и 2- женщины с привычным невынашиванием беременности (В) Всем обследуемым было проведено иммунологическое исследование периферической крови методом проточной цитофлюориметрии на аппарате Navios™ (Beckman Coulter, США) с использованием конъюгатов антител: CD45⁺-PerCP-Cy7 (BC, США); CD8⁺-PerCP-Cy5.5 (eBioscience, США), CD45RA APC (eBioscience, США), CD62L FITC (eBioscience, США). Статистический анализ осуществляли с применением пакета прикладных программ Statistica 9.0. Для сравнения групп использовали непараметрический критерий Манна–Уитни, различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. При обследовании было установлено достоверное повышение абсолютного количества CD45RA⁺CD62L⁺ (Tn) наивных CD8⁺лимфоцитов при одновременном повышении абсолютного количества CD45RA⁺CD62L⁻ (Tem) эффекторных клеток памяти CD8⁺ у пациенток с ПНБ по сравнению с группой контроля. Доказано, что при нормальном течении беременности наивные CD8⁺ лимфоциты должны увеличиваться, на фоне снижения количества Tem и Temra (Кудряшова А.В., 2014). Однако при ПНБ нами установлено повышение (Tem) эффекторных клеток памяти, которые обладают прямой цитолитической активностью и имеют набор адгезивных и хемотаксических рецепторов, за счет чего эти клетки очень быстро мигрируют, в место имплантации эмбриона, возможно, оказывая негативное действие на аллотрансплантант, вызывая прерывание беременности. Полученные данные требуют дальнейшего изучения и доказывают перспективность данного исследования для более глубокого понимания иммунорегуляторных механизмов ПНБ.

ИЗУЧЕНИЕ CD4⁺ ЛИМФОЦИТОВ РАЗНОЙ СТАДИИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Батурина И.Л., Логинова Ю.В., Новоженина В.С., Никушкина К.В., Зотова М.А., Никонова Т.И., Емельянов И.В., Кох Е.В.

*НИИ иммунологии ФГБОУ ВПО «Южно-уральский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ, Челябинск, Россия*

В настоящее время известно, что реакции иммунной системы играют важную роль в процессах оплодотворения, имплантации и развития беременности. Установлено, что изменение функциональной активности и дифференцировки клеток иммунной системы уже на ранних сроках беременности могут определять ее тече-

ние. В последние годы было показано, что уровень функциональной активности CD4⁺ лимфоцитов определяется стадией их дифференцировки. Однако роль их в регуляции иммунного ответа при беременности остается мало изученной. Имеются лишь единичные данные об общем содержании Т-лимфоцитов в крови и в плаценте при неосложненном течении беременности, а также при акушерской патологии, в частности, при гестозе и угрозе прерывания беременности (Кадырова Л.В. и соавт., 2014; Кудрявцев И.В., 2014).

Цель. Определение CD4⁺ лимфоцитов разной стадии дифференцировки в периферической крови, у женщин с привычным невынашиванием беременности (ПНБ).

Материалы и методы. На базе НИИ иммунологии ЮУГМУ г. Челябинска в 2016-2017 гг. было проведено комплексное обследование 30 женщин в возрасте от 20 до 36 лет, с диагнозом ПНБ. Диагноз был подтвержден врачами – гинекологами с помощью клинических и инструментальных и молекулярно-генетических методов исследования. Группу контроля составили 30 условно здоровых женщин, имеющих 2-х и более детей от одного мужчины. Все пациентки были разделены на две группы: 1- контроль (А) и 2- женщины с привычным невынашиванием беременности (В) Всем обследуемым было проведено иммунологическое исследование периферической крови методом проточной цитофлуориметрии на аппарате Navios™ (Beckman Coulter, США) с использованием конъюгатов антител: CD45⁺-PerCP-Cy7 (BC, США), CD4⁺- PerCP-Cy5.5 (eBioscience, США), CD8⁺ PerCP-Cy5.5 (eBioscience, США), CD45RA APC (eBioscience, США), CD62L FITC (eBioscience, США). Статистический анализ осуществляли с применением пакета прикладных программ Statistica 9.0. Для сравнения групп использовали непараметрический критерий Манна–Уитни, различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. При обследовании было установлено достоверное повышение абсолютного количества CD45RA⁺CD62L⁺ (Tn) наивных CD4⁺ лимфоцитов при одновременном снижении абсолютного и относительного количества CD45RA⁺CD62L⁻ (Tem) эффекторных клеток памяти CD4⁺ у пациенток с ПНБ по сравнению с группой контроля. В настоящее время доказано, что наступление нормальной беременности сопровождается доминированием в крови пула CD4⁺ Tn на фоне снижения количества Tem и Temra (Сотникова Н.Ю., 2010), что соотносится с нашими данными. Возможно, что при ПНБ имеются другие нарушения иммунной системы, что требует дальнейшего более детального и расширенного изучения.

СОДЕРЖАНИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ РАЗНЫХ КЛАССОВ В СПЕРМОПЛАЗМЕ ПРИ БЕССИМПТОМНОЙ БАКТЕРИОСПЕРМИИ

Вавилов Н.В., Мальцев Н.А., Годовалов А.П.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения РФ, Пермь, Россия

С 1980 г. отмечается неуклонное снижение встречаемости значений «нормы» среди показателей спермограммы. Также удельный вклад мужского фактора в структуру бесплодия составляет 20-45%. Показано, что у мужчин, состоящих в бесплодных браках, зачастую обнаружива-

ется бессимптомная бактериоспермия. Описано как прямое негативное влияние микроорганизмов на качество эякулята, так и опосредованное – через реакции макроорганизма. Как известно, одним из звеньев защиты от инфекции являются гуморальные факторы приобретённого иммунитета, поэтому интерес представляет оценка содержания иммуноглобулинов в зависимости от микробного спектра эякулята при бессимптомной бактериоспермии.

Цель. Оценить содержание иммуноглобулинов классов М, G, А и Е в спермоплазме мужчин с бессимптомной бактериоспермией.

Материалы и методы. Проведено исследование эякулята 51 мужчины, обратившихся в клинику по поводу бесплодного брака. Для бактериологического анализа исследуемых образцов готовили десятикратные разведения исходного материала. Бактериологическое исследование выполнено по общепринятой методике (Godovalov A.P., Karpunina T.I., 2016). Для установления концентрации иммуноглобулинов (Ig) класса М (IgM), G (IgG), А (IgA) и Е (IgE) использовали иммуноферментный метод (Вектор-Бест, Россия). Общее микробное число выражали в Ig КОЕ/мл. Концентрацию Ig и альбумина выражали в мг/г общего белка. Статистический анализ результатов проводили с использованием методов описательной статистики и t-критерия Стьюдента для непарных данных.

Результаты. Установлено, что у 94% мужчин в эякуляте присутствуют микроорганизмы. Из них у 63% мужчин были обнаружены грамположительные кокки (1-я группа; $4,53 \pm 0,24$ Ig КОЕ/мл), в трети случаев (31%) – граммотрицательные палочки (2-я группа; $5,38 \pm 0,30$ Ig КОЕ/мл, $p < 0,05$ к 1-й группе) и только у 6% мужчин рост микрофлоры отсутствовал (3-я группа). Показано, что у мужчин 3-й группы концентрация белка в спермоплазме составила $89,0 \pm 5,1$ мг/мл, что существенно выше, чем в 1-й ($58,9 \pm 2,7$ мг/мл; $p < 0,05$) и 2-й группах ($57,3 \pm 3,9$ мг/мл; $p < 0,05$). Доля альбумина в общей белковой фракции во 2-й группе статистически значимо выше, чем в 1-й, однако обе группы не отличались по уровню этого белка от показателей 3-й группы. Наибольший уровень IgG и IgM наблюдался при высевах представителей семейства *Enterobacteriaceae* (табл.). В противоположность этому максимальный уровень IgA обнаружен в 3-й группе, где в образцах спермоплазмы отсутствовал рост условно патогенной микрофлоры (табл.). Иммуноглобулины класса Е не обнаружены ни в одной пробе.

ТАБЛИЦА. СОДЕРЖАНИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В СПЕРМОПЛАЗМЕ МУЖЧИН С БЕССИМПТОМНОЙ БАКТЕРИОСПЕРМИЕЙ

Группы	Концентрация иммуноглобулинов, мг/г белка		
	IgG	IgM	IgA
1	$206,6 \pm 13,5^{* \#}$	$3,7 \pm 0,5^*$	$35,8 \pm 3,2^{* \#}$
2	$261,9 \pm 23,0^{\#}$	$5,6 \pm 0,7^{\#}$	$27,3 \pm 2,6^{\#}$
3	$154,5 \pm 24,6$	$2,4 \pm 0,7$	$72,8 \pm 10,7$

Примечание. * – $p < 0,05$ при сравнении с данными 2-й группы, # – $p < 0,05$ при сравнении с данными 3-й группы.

Повышение концентраций IgM и альбумина во 2-й группе можно объяснить более выраженным действием грамотрицательной флоры на микроциркуляторное русло, в результате чего усиливается трансудация таких «тя-

жёлых» молекул, однако данный механизм требует дальнейшего изучения.

Заключение. Таким образом, проведенные исследования показали, что, несмотря на отсутствие клиники, при бессимптомной бактериоспермии наблюдается секреция иммуноглобулинов классов М и G в спермоплазму, а уровень иммуноглобулина А существенно снижается.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Администрации Пермского края в рамках научного проекта «р_а 16-44-590429».

ПРОДУКЦИЯ *IN VITRO* ЦИТОКИНОВ Th1/Th2-ТИПА КЛЕТКАМИ ЦЕЛЬНОЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЖЕНЩИН С ИДИОПАТИЧЕСКИМ ПРИВЫЧНЫМ ВЫКИДЫШЕМ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИММУНОЦИТОТЕРАПИИ

Вторушина В.В., Кречетова Л.В., Тетруашвили Н.К.

ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Патогенез идиопатического привычного выкидыша (ПВ) связывают с дисбалансом иммунных реакций, происходящих между иммунной системой матери и фетальными клетками, который приводит к нарушению формирования толерантности к аллоантигенам плода и, следовательно, к отторжению плода на ранних сроках гестации. Признание иммунного генеза ранних потерь, с одной стороны, способствует поиску маркеров нарушенной толерантности, а с другой, поискам методов иммунокорригирующей терапии, самым дискуссионным из которых является иммуноцитотерапия (ИЦТ). Противоречивость выводов об эффективности ИЦТ связана с разнообразием методов подготовки клеток для введения, протоколов иммунизации, неоднородностью выборки пациентов для терапии. Сформулированы различные гипотезы о механизмах ее иммуномодулирующего действия. Наиболее распространенной была гипотеза о необходимости смены активного иммунного ответа провоспалительной направленности (Th1-типа), на фоне которого беременность у женщин с ПВ не пролонгируется, на ответ противовоспалительной направленности (Th2-типа). При отсутствии четких подтверждений этой гипотезы становится очевидной необходимость исследований соотношения Th1-типа и Th2-типа ответов на ИЦТ у женщин с привычным выкидышем при разных исходах данной беременности.

Целью настоящей работы была оценка цитокиновой продукции митоген-стимулированными *in vitro* клетками цельной периферической крови пациенток с идиопатическим ПВ после предгестационной ИЦТ и в I триместре наступившей беременности.

В исследование были включены 26 пациенток с ПВ, 12 фертильных женщин вне беременности и 6 женщин в 12 недель физиологической беременности. Предгестационная ИЦТ проводилась дважды с интервалом в один месяц на 5-9 день менструального цикла, заключалась во внутрикожном введении 50 млн клеток лейкоцитарной взвеси партнера в ладонную поверхность предплечья в 10-12 точек. Во время наступившей беременности ИЦТ проводили на сроке 5-6 и 8-9 недель гестации. Забор периферической крови производили вне беременности до проведения ИЦТ и после 2-х процедур ИЦТ на 18-22 день менструального цикла, во время беременности – на сроках 5-6, 8-9 и 12 недель. Для получения супернатантов

клеток цельной крови использовали набор «Цитокин-стимул-бест» (Вектор-Бест, Россия). В соответствии с рекомендацией производителя стимулировать цельную кровь осуществлялось в CO₂-инкубаторе при 37 °C в течение 24-х часов. Концентрацию цитокинов провоспалительной (IFN γ , TNF α IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-12p70) и противовоспалительной (IL-4, IL-10) направленности оценивали с помощью мультиплексного анализа с использованием стандартного набора Human Th1/Th2 11-plex Ready-to-Use Kit (eBioscience, США) на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США). Расчет результатов производили с помощью программы FlowCytomix-Pro-3.0.

Согласно полученным нами результатам до проведения ИЦТ у женщин с ПВ продукция TNF α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8 была значимо ниже, чем у женщин контрольной группы, а продукция IFN γ имела выраженную тенденцию к снижению. Проведение 2-х процедур ИЦТ в качестве предгестационной подготовки не оказало влияния на уровень продукции цитокинов у женщин с ПВ. При этом сохранились отличия, выявленные до ИЦТ, от продукции цитокинов у женщин контрольной группы – продукция TNF α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8 осталась сниженной, а уровень IL-4 был значимо ниже. В 5-6 недель наступившей беременности после предгестационной ИЦТ у пациенток с ПВ не наблюдалось изменений в характере цитокиновой продукции по сравнению с результатами, полученными после 2-ой процедуры ИЦТ вне беременности. После проведения 2-х процедур ИЦТ в I триместре беременности при обследовании в 8-9 и 12 недель гестации у женщин с ПВ достоверно преобладала продукция IFN γ по сравнению с результатами после 2-ой процедуры ИЦТ вне беременности.

Полученные результаты указывают на преобладание Th2-направленности иммунного ответа у женщин с идиопатическим привычным выкидышем до назначения иммуноцитотерапии. Проведение иммуноцитотерапии в качестве предгестационной подготовки и во время I триместра беременности приводит к преобладанию Th1-типа цитокиновой продукции, необходимой для успешной пролонгации беременности. Для понимания значимости иммуноцитотерапии в программе лечения пациенток с идиопатическим привычным выкидышем требуется проведение дальнейших исследований.

ВЛИЯНИЕ КАРНИТИНА НА ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС СЕМЕННОЙ ПЛАЗМЫ ПРИ БЕСПЛОДИИ

Галимова Э.Ф., Гайсина А.Р., Травников О.Ю., Хайбуллина З.Г., Баймурзина Ю.Л., Гайсина А.Ф., Галимов Ш.Н.

Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

Введение. Группу информативных маркеров репродуктивной функции образуют цитокины и родственные соединения – хемокины и ростовые факторы. Большинство известных цитокинов экспрессируется в зрелом яичке независимо от воспаления или активации иммунных процессов, т.е. их функции не ограничиваются регуляцией иммунитета. Цитокины важны для зачатия посредством как прямых воздействий на зародышевые клетки, эмбрион и негемопоэтические структуры в гонадах и матке, так и косвенного влияния путем создания иммунологически восприимчивой среды для образования гамет,

имплантации и развития оплодотворенной яйцеклетки. Ранее нами был выявлен дефицит и дисбаланс фактора стромальных клеток SDF-1 α и трансформирующего фактора роста TGF- β в сыворотке крови и семенной плазме бесплодных пациентов. Понимание, какие цитокины и каким образом вовлечены в снижение фертилизационного потенциала эякулята, принципиально для дизайна терапии репродуктивной патологии различного происхождения, в том числе идиопатических форм мужского бесплодия.

Цель. Оценка влияния препарата карнитина на уровень некоторых хемокинов и факторов роста в семенной плазме при инфертильности неясного генеза.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 69 мужчин в возрасте 23-39 лет, состоящих в бесплодном браке от 1 года до 8 лет (основная группа). Пациенты получали L-карнитина тартрат (по 0,5 г дважды в сутки перорально) в течение 3 мес., что соответствует продолжительности сперматогенеза. Группу сравнения (контроль) составили 30 фертильных мужчин, имеющих 1-3 здоровых детей. Исследование спермы проводили по протоколу Всемирной организации здравоохранения (2010). В семенной плазме определяли уровень цитокинов иммуноферментным методом с помощью наборов фирмы BCM Diagnost (США) по стандартному протоколу согласно рекомендациям производителя. Для статистической обработки использовали пакет программ MS Excel 2003 SPSS 12.0 для Windows. О достоверности различий между средними величинами судили по t-критерию Стьюдента.

Результаты. При анализе спермограмм пациентов при приеме препарата статистически значимых изменений концентрации сперматозоидов, содержания патологических форм и двигательной активности установлено не было, несмотря на выраженную тенденцию к нормализации последнего показателя, что не соответствует литературным данным о положительном эффекте карнитина на моторику и другие свойства гамет.

Особенностью цитокинового статуса семенной жидкости фертильных пациентов явилось преобладание хемокинов и ростовых факторов (SDF-1 α , IL-8, IL-7 и TGF- β), превалирование уровня отдельных противовоспалительных цитокинов (IL-4 и IL-5) и относительно низкое содержание провоспалительных медиаторов (IL-1 β , IL-18 и TNF α). Доминирование фактора стромальных клеток и трансформирующего фактора роста обеспечивает создание привилегированного иммунного положения сперматогенного эпителия и низкую иммуногенность эякулята, которые ранее связывали главным образом с гематотестикулярным барьером. У бесплодных пациентов обнаружены выраженные сдвиги цитокинового зеркала семенной плазмы: снижение концентрации и нарушение соотношения SDF-1 α и TGF- β , регуляторов иммунных/пролиферативных процессов в гаметах, причастных также к индукции молекулярных и клеточных изменений в эндометрии при имплантации. Что касается провоспалительных цитокинов, то увеличения их содержания, которое является серьезным препятствием для осуществления основной функции сперматозоидов, не найдено.

Для коррекции выявленных изменений нами был использован L-карнитин, обладающий выраженной антиоксидантной, мембранопротекторной и липотропной активностью. Цитокиновый профиль спермоплазмы пациентов основной группы на фоне препарата претерпевал определенные изменения. Прием карнитина

сопровождался статистически значимым увеличением концентрации SDF-1 α , IL-7 и TGF- β практически до показателей фертильных мужчин. Нормализация уровня этих цитокинов имеет первостепенное значение для восстановления оплодотворяющей способности сперматозоидов, поскольку им принадлежит ключевая роль в формировании толерантности половых клеток и повышении рецептивности матки к оплодотворенной яйцеклетке.

Заключение. Таким образом, карнитин является эффективным средством коррекции цитокинового статуса эякулята, что позволяет рекомендовать его включение в качестве базисного компонента эмпирической терапии идиопатического бесплодия.

РЕГУЛЯЦИЯ ЭНДОГЕННЫМ МЕЛАТОНИНОМ Т-КЛЕТОЧНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ Th17 и Treg В ПЕРИОД ГЕСТАЦИИ

Глебездина Н.С.¹, Олина А.А.², Некрасова И.В.¹, Куклина Е.М.¹

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

² ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения РФ, Пермь, Россия

Эпифизарный гормон мелатонин регулирует широкий спектр биологических реакций, в том числе играет важную роль во время беременности: будучи эффективным антиоксидантом, он защищает ткани плода и плаценты от окислительных повреждений. В то же время, гормон является эффективным иммунорегулятором, и изменение его уровня в период гестации должно сказываться на активности иммунных процессов. Особый интерес представляет роль мелатонина в контроле баланса двух Т-клеточных субпопуляций, Th17 и Treg: с одной стороны, этот баланс важен для успешного развития беременности; с другой стороны, клетки Th17 и Tregs находятся под непосредственным контролем мелатонина, поскольку экспрессируют специфические мембранные рецепторы для гормона, MT1 и MT2, а один из двух дифференцировочных факторов для Th17 – ROR α – эффективно регулируется мелатонином и до недавнего времени рассматривался как третий, внутриклеточный, рецептор для данного гормона.

Цель. Оценить роль эндогенного мелатонина в регуляции дифференцировки Th17/Treg на разных стадиях беременности.

Объектами исследования служили лейкоциты женщин, находящихся в I и III триместрах беременности, и лейкоциты здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста. Уровень и активность Th17 и Treg оценивали *ex vivo* и *in vitro*, в ответ на поликлональную активацию (анти-CD3/CD28), – по экспрессии маркеров дифференцировки Th17/Treg – транскрипционных факторов ROR γ t и FoxP3, а также по продукции ключевых цитокинов этих клеток, IL-17A и TGF- β . Вклад эндогенного мелатонина в дифференцировку определяли при культивировании лимфоцитов в присутствии аутологичной сыворотки (как источника гормона) на фоне блокады мембранных рецепторов для мелатонина, MT1/MT2. Одновременно *ex vivo* определялись уровень мелатонина в сыворотке, а также экспрессия CD4⁺T-лимфоцитами ключевого мембранного рецептора для мелатонина, MT1, и мелатонин-регулируемого фактора ROR α .

Установлено, что уровень мелатонина в сыворотке крови увеличивается к III триместру беременности (концентрация мелатонина, $Me (Q_{0,25}-U_{0,75})$, пг/мл: небеременные – 21,37 (18,69; 38,47), III триместр – 48,59 (42,41; 135,85); $p < 0,05$). Оценка уровня экспрессии мелатонинового рецептора, MT1, не выявила различий в группах беременных и небеременных женщин, однако показала достоверное снижение процента RORa в ходе беременности (процент $CD4^+RORa^+$ клеток: небеременные – 1,03 (0,50; 1,58); I триместр – 0,94 (0,76; 1,35); III триместр – 0,50 (0,44; 0,78), $p < 0,05$ в сопоставлении с беременными I триместра). Одновременно в ходе гестации изменялось соотношение уровня и активности Th17/Treg, что подтверждалось изменением баланса как самих клеток ($CD4^+ROR\gamma^+/CD4^+FoxP3^+$), так и их продуктов, IL-17A/TGF- β в периферической крови. Анализ роли эндогенного мелатонина в контроле дифференцировки Th17 и Treg *in vitro* в ответ на поликлональную активацию у небеременных женщин выявил позитивное действие гормона на соотношение Th17/Treg, опосредованное сигналами с мембранных рецепторов для гормона (отношение $CD4^+ROR\gamma^+/CD4^+FoxP3^+$ -клеток: активированная культура – 3,76 (2,50; 4,57); активированная культура на фоне блокады MT1/MT2 – 1,84 (1,67; 3,55), $p < 0,05$). Для беременных показано участие эндогенного мелатонина непосредственно в активации $CD4^+ROR\gamma^+$ (процент $CD4^+ROR\gamma^+$ клеток в активированной культуре: небеременные – 2,48 (2,10; 2,95); I триместр – 1,68 (1,36; 3,66); III триместр – 2,66 (2,20; 3,10); в активированной культуре на фоне блокады MT1/MT2: небеременные – 1,47 (1,16; 1,85), $p < 0,05$; I триместр – 1,32 (0,92; 1,86), $p < 0,05$; III триместр – 1,79 (1,31; 2,20), $p < 0,05$) и $CD4^+FoxP3^+$ -клеток (процент $CD4^+FoxP3^+$ клеток в активированной культуре: I триместр – 0,24 (0,21; 0,34); III триместр – 0,45 (0,35; 0,57); в активированной культуре на фоне блокады MT1/MT2: I триместр – 0,18 (0,12; 0,25), $p < 0,05$; III триместр – 0,34 (0,23; 0,42), $p < 0,05$). В целом такие же закономерности показаны и для цитокинов в культуральных супернатантах.

Полученные данные указывают на эффективную регуляцию эндогенным мелатонином исследуемых Т-клеточных субпопуляций Treg и Th17 с более выраженным влиянием на последние, и на участие в этом процессе мембранных рецепторов для гормона.

АНАЛИЗ СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА HLA-G У ЖЕНЩИН С РИСКОМ РАННИХ САМОПРОИЗВОЛЬНЫХ ВЫКИДЫШЕЙ

Гордеева Л.А.¹, Воронина Е.Н.², Оскорбина О.С.¹, Оленникова Р.В.³, Нерсесян С.Л.³

¹ ФГБУН «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии» РАН (Институт экологии человека СО РАН), Кемерово, Россия

² ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск, Россия

³ ГАУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», Кемерово, Россия

При патологии беременности (невынашивание, преэклампсия) наблюдается снижение уровня экспрессии неклассических антигенов Главного комплекса гистосовместимости человека – HLA-G в плаценте и в материнском кровотоке, это приводит к активации цитотоксических эффектов иммунной системы матери. Полимор-

физм в гене HLA-G оказывает влияние на биологические функции молекул HLA-G, связанные с особенностями продукции их изоформ, взаимодействия с клеточными рецепторами и модуляции иммунного ответа.

Цель. Изучить ассоциации полиморфизма в кодирующей (Thr31Ser, rs41551813; Leu110Ile, rs12722477; 1597 Δ C, rs41557518) и в 3'-нетранслируемой (3'-UTR, 14 bp Ins/Del, rs66554220) области гена HLA-G у женщин с риском развития ранних самопроизвольных выкидышей.

Материалы и методы. Исследуемые выборки составили женщины с двумя самопроизвольными выкидышами ($n = 75$, группа I) и тремя и более выкидышами ($n = 37$, группа II) до 12 недель беременности. Основным условием включения таких женщин в исследование было отсутствие мед. абортов, внематочных беременностей и родов. Средний возраст женщин был $30,0 \pm 4,7$ (SD) лет. Группу сравнения (контроль) составили образцы ДНК 233 репродуктивно здоровых женщин, имеющих или вынашивающих ребенка без врожденных аномалий развития и не имеющих самопроизвольных выкидышей в анамнезе. Средний возраст женщин в группе был $28,9 \pm 4,3$ (SD) лет. Типирование HLA-G Thr31Ser (rs41551813) в экзоне 2, HLA-G Leu110Ile (rs12722477) и HLA-G 1597 Δ C (rs41557518) в экзоне 3 проводили методом асимметричной ПЦР в режиме реального времени. Полиморфизм гена HLA-G (14 bp Ins/Del, rs66554220) определяли с помощью электрофоретического разделения продуктов амплификации. Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью пакета статистических программ GenABEL, Genetics программного обеспечения R-project (www.r-project.org). Соответствие частот генотипов гена HLA-G равновесию Харди-Вайнберга оценивали с помощью критерия χ^2 Пирсона. Нулевую гипотезу отвергали при $P \leq 0,05$. Отношение шансов (OR) и его доверительный интервал (95% CI) оценивали с помощью логистического регрессионного анализа для аддитивной модели наследования признака.

Результаты. Распределение частот генотипов rs41551813, rs12722477, rs41557518 и rs66554220 в контроле и среди женщин групп I и II соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($P > 0,05$). Выявлена ассоциация полиморфизма Leu110Ile (rs12722477) гена HLA-G у женщин с двумя выкидышами (аллель 110Ile: OR = 3,04 [1,71-5,39]; $P_c = 0,001$). Аллель Ins (14 bp Ins/Del, rs66554220) в два раза увеличивал у женщин риск трех и более выкидышей (OR = 2,15 [1,28-3,62]; $P_c = 0,03$). Статистически значимые ассоциации полиморфизмов Thr31Ser (rs41551813) и 1597 Δ C (rs41557518) гена HLA-G у женщин с самопроизвольными выкидышами отсутствовали.

Заключение. Полученные нами результаты указывают на то, что полиморфные локусы Leu110Ile (rs12722477) и 14 bp Ins/Del (rs66554220) у женщин могут оказывать влияние на риск развития ранних самопроизвольных выкидышей во время беременности.

ДИАГНОСТИКА РЕЗУС-КОНФЛИКТА И ТАКТИКА ВЕДЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Дударева М.В., Авруцкая В.В.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии», Ростов-на-Дону, Россия

Резус-конфликт – иммунологическая несовместимость по резус-фактору крови резус-отрицательной матери и резус-положительного плода, характеризующаяся

сенсibilизацией материнского организма. Целью наблюдения беременных при резус-иммунизации является: обследование для выявления сенсibilизации, проведение профилактики резус иммунизации, ранняя диагностика гемолитической болезни плода и ее коррекция, а также определение наиболее оптимальных сроков для родоразрешения. При наличии любого титра антител беременность считается резус сенсibilизированной. Если антитела обнаружены впервые, то определяют их класс. Вероятность возникновения гемолитической болезни новорожденного зависит от различных факторов: материнской аллоиммунизации, трансплацентарного пассажа IgG антител к плоду, деструкции эритроцитов плода.

В настоящее время нами используется метод для выявления принадлежности IgG антител системы Резус к субклассам IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, так как риск развития гемолиза при гемолитической анемии зависит как от количества IgG и /или комплемента, покрывающих эритроциты, так и от субклассов этих IgG. За период 2012-2015 годы было обследовано 78 беременных с сенсibilизацией по резус-фактору. Проведено определение принадлежности Rh-антител к субклассам IgG. По полученным данным нами сформированы 2 клинические группы. Первую группу составили пациенты, у которых Rh-антитела принадлежали к субклассам IgG1 и IgG3 (n = 63). Вторую группу составили пациенты, у которых Rh-антитела принадлежали к субклассам IgG2 и IgG4 (n = 15). Всем женщинам с резус-сенсibilизацией, имеющим риск развития анемии плода, проводилось доплерометрическое исследование пиковой систолической скорости кровотока в средней мозговой артерии (ПСС СМА) с учетом показателей для соответствующего срока беременности. Ретроспективно установлено, что у пациенток второй группы признаков анемизации плода во время беременности не обнаружено. У 21 пациентки первой группы по результатам доплерометрии установлено превышение ПСС СМА более 1,5 МоМ, которое потребовало проведение внутриутробной внутрисосудистой гемотрансфузии. 15 пациенток первой группы родоразрешены в сроке 34-35 недель гестации, по состоянию плода. В послеродовом периоде 47 новорожденным от матерей первой группы потребовалось заменное переливание крови.

Таким образом, у пациенток с принадлежностью Rh-антител к субклассам IgG2 и IgG4 не наблюдалось гемолиза эритроцитов, т.к. данные иммуноглобулины не способны активировать комплемент, не вызывают разрушения эритроцитов и не вызывают гемолитическую болезнь новорожденных.

УРОВЕНЬ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У ЖЕНЩИН С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

Ешимбетова Г.З., Култаева Р.Ш.

Ташкентский институт усовершенствования врачей Министрства здравоохранения РУз, Такент, Узбекистан

Преэклампсия (ПЭ) является актуальной проблемой современного акушерства и занимает ведущее место в структуре материнской и перинатальной заболеваемости и смертности. По данным различных авторов, частота развития преэклампсии у беременных в нашей стране колеблется от 8 до 20% и не имеет тенденции к снижению. Показано, что патогенез преэклампсии укладывается в синдром системного воспалительного от-

вета с нарушениями в иммунной системе и дисбалансом цитокиновой регуляции. Целью исследования явилось изучение провоспалительных (IL-1 β , IL-8) и противовоспалительных (IL-4) цитокинов у женщин с преэклампсией различной степени тяжести. Обследовано 69 беременных женщин с ПЭ в возрасте от 24 до 36 лет. Из них у 47 – легкая степень ПЭ и у 22 женщин – тяжелая степень. 23 женщины с физиологически протекающей беременностью составили контрольную группу. Изучали уровни про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-8 и IL-4) в сыворотке крови методом ИФА. У беременных с ПЭ легкой степени при поступлении в стационар в сыворотке крови выявлено повышение уровня IL-1 β в 1,3 раза ($244,6 \pm 19,7$ пкг/мл, против $185,3 \pm 18,9$ пкг/мл, $p < 0,05$), IL-8 – в 7 раз ($138,4 \pm 9,7$ пкг/мл, против $19,5 \pm 1,7$ пкг/мл, $p < 0,001$) и снижение уровня IL-4 в 2 раза ($67,5 \pm 6,8$ пкг/мл против $140,6 \pm 12,6$ пкг/мл, $p < 0,01$). А у беременных женщин с ПЭ тяжелой степени эти изменения синтеза цитокинов были более выраженными (IL-1 β – $280,5 \pm 21,3$ пкг/мл, IL-8 – $224,7 \pm 17,2$ пкг/мл, IL-4 – $33,2 \pm 2,3$ пкг/мл) ($p < 0,01-0,001$).

Таким образом, высокий уровень продукции провоспалительных цитокинов при осложненной беременности свидетельствует об активации гуморального фактора иммунной системы, так как высвобождение иммунорегуляторных факторов, участвующих в патогенезе развития воспалительных реакций (IL-1 β , IL-8), характеризует прежде всего функциональное состояние мононуклеарных фагоцитов. Результаты проведенных исследований позволяют заключить, что сохранение динамического равновесия в системе цитокинов играет важную роль для нормального развития беременности. Процесс изменения уровня цитокинов при неосложненной беременности является важным звеном адаптационной реакции организма беременной женщины. Цитокины Th2-типа способствуют нормальной дифференцировке трофобласта и его полноценной инвазии и, следовательно, опосредуют пролонгирование физиологической беременности. Переключение же на синтез цитокинов Th1-типа и их усиленная продукция приводят к нарушению дифференцировки и инвазии трофобласта с развитием патологии беременности.

КОРРЕКЦИЯ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ НА СИСТЕМНОМ И ЛОКАЛЬНОМ УРОВНЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИТЕ

Конопля А.А., Гавриш С.А., Быстрова Н.А.

Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия

Введение. При хронических воспалительных заболеваниях органов женской половой сферы основным пусковым механизмом в развитии иммунного воспаления является микробная инвазия. При этом важное место занимает глубокое изучение состояния функционирования клеточного и гуморального факторов иммунитета, т.к. характер течения и завершения воспалительных заболеваний женских половых органов напрямую зависит от состояния иммуногенеза

Цель и задачи. Установить эффективность фармакологической коррекции иммунных нарушений на системном и местном уровне при хроническом эндометрите (ХЭ).

Материалы и методы. Под наблюдением в гинекологическом отделении Курского городского родильного дома

находились 39 пациенток репродуктивного возраста (18-35 лет) с верифицированным диагнозом: ХЭ в стадии неполной ремиссии. Женщины были разделены на две равные группы, рандомизированы по возрасту, минимальным сопутствующим заболеваниям в стадии ремиссии, прогнозируемой тяжести заболевания, всем было проведено эндоскопическое оперативное вмешательство по поводу эндометрит-ассоциированного бесплодия. В послеоперационном периоде у половины пациенток проводили традиционное лечение, а вторая часть больных дополнительно получала Гепон и Цитофлавин. Иммунные нарушения оценивали по показателям в циркулирующей крови функционально-метаболической активности нейтрофилов, уровню в плазме крови и вагинально-цервикальном смыве IgM, G, A, sIgA, цитокинов, компонентов комплемента и ингибиторов.

Результаты. До лечения у пациенток с ХЭ установлено повышение в плазме крови уровня цитокинов: IFN γ , G-CSF, провоспалительных (TNF α , IL-1 β , IL-8, IL-18) и противовоспалительных (IL-4, IL-10), компонентов комплемента C3, C4, C5, C5a и C1-ингибитора. Кроме этого, выявлен дисбаланс в содержании иммуноглобулинов (повышение IgM, снижение G и A), снижение активности и интенсивности фагоцитоза (снижение ФИ, ФЧ, ИАФ) с одновременной активацией кислородзависимых систем полиморфно-ядерных лейкоцитов (повышение НСТ-сп., НСТ-стим., ФРН). Проведенное комплексное стандартное лечение практически не изменило параметры функционально-метаболической активности нейтрофилов, частично нормализовало, но не до уровня здоровых доноров, содержание TNF α , IL-1 β , IL-8, IFN γ , C3, C4, C5a-компонентов комплемента и IgA, еще в большей степени повышало уровень противовоспалительных цитокинов, C1-ингибитора системы комплемента и IgM. Применение в стандартном лечении Гепона и Цитофлавина дополнительно корригировало, но не до значений доноров, содержание в плазме крови TNF α , IL-8, IL-4, IFN γ , IgM, активность кислород-зависимых систем нейтрофилов. На местном уровне в вагинально-цервикальном смыве установлено также, как в плазме крови, повышение уровня TNF α , IL-8, C3 и C4, но, в отличие от системного уровня, снижение противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10), C1-ингибитора системы комплемента. Кроме этого, выявлено снижение концентрации секреторного иммуноглобулина sIgA. Стандартное лечение корригирует содержание всех исследованных цитокинов, C3-компонента комплемента, значительно повышает концентрацию sIgA, но не влияет на уровень C4 и C1-ингибитора системы комплемента. Применение Гепона и Цитофлавина дополнительно приближает, но не до уровня нормы, содержание в вагинально-цервикальном смыве IL-8, C4-компонента комплемента и в еще большей степени уровень противовоспалительных цитокинов.

Заключение. Таким образом, при количественном сопоставлении числа нарушенных лабораторных показателей с делением глубины нарушений по степеням установлено, что до начала лечения исследовано 42, из них нарушенными оказались 41 (97,6%), из которых 2-ю и 3-ю степень нарушений имели соответственно 26,8% и 51,2%, что требует обязательной фармакологической коррекции. После проведения стандартного лечения корригировано 63,4% показателей и остались без изменений 36,6%. Следует отметить невысокую качественную сторону фармакотерапии стандартного лечения, т. к. после этого по-

казателей, имеющих 2-ю степень нарушений осталось 34,1% и 3-ю 43,9%. Эффективность использования Гепона и Цитофлавина более оказалась более высокой, т. к. снизила количество неизмененных показателей до 14,6% и повысила корригированных до 80,5%, при этом изменений 2-й и 3-й степени соответственно осталось 31,7% и 36,6%.

АССОЦИИИ АНТИТЕЛ КЛАССА А К ЭСТРАДИОЛУ И ПРОГЕСТЕРОНУ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ РАЗВИТИЯ ПЛОДА У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН

Красильникова К.С., Аверьянов А.В., Глушков А.Н.

Федеральный исследовательский центр угля и углехимии
СО РАН, Кемерово, Россия

В связи с широким распространением врожденных пороков развития плода (ВПП) и других патологических состояний у женщин проблемы иммунологии беременности остаются актуальными по сей день. Особый интерес представляют специфические иммунные реакции на половые гормоны. В многочисленных экспериментах показано существенное влияние активной и пассивной иммунизации различных видов животных против эстрадиола (Es) и прогестерона (Pg) на содержание этих гормонов в сыворотке крови, яичниках и матке а также на саму беременность.

Цель. Исследовать ассоциации антител (АТ) класса А к Es и Pg с врожденными пороками развития плода у беременных женщин.

Материалы и методы. В исследовании принимали участие 283 женщины во II триместре беременности (13-27 недель). По результатам УЗИ на сроке 10-13 недель 101 женщина была отнесена в группу с ВПП и 186 женщин – в группу с физиологическим течением беременности (ФБ). Материалом для исследования послужила сыворотка венозной крови. IgA-Es и IgA-Pg определяли методом неконкурентного ИФА в собственной модификации с использованием конъюгатов Es- и Pg-BSA. Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 с использованием критерия χ^2 с поправкой Йетса для непрерывной вариации. Диагностические границы – пороговый уровень АТ между нормой и патологией – определяли при помощи ROC-анализа.

Результаты. Искомые АТ были обнаружены как у женщин с ФБ, так и с ВПП. При помощи ROC-анализа были выявлены пограничные значения уровней IgA-Es и IgA-Pg, по которым сравниваемые группы имели наиболее значимые различия. Таковыми оказались: для IgA-Es = 3, для IgA-Pg = 2.

При анализе искомым ассоциаций каждого из них по-отдельности без учёта другого выяснилось, что число случаев с высоким уровнем IgA-Es > 3 у женщин с ВПП (22,8%) не отличается от такового при ФБ (28,6%, $p = 0,35$) (табл.). Повышение уровней IgA-Pg > 2 при ВПП обнаруживали значительно реже, чем в группе сравнения (21,8% против 39,6% соответственно, $p = 0,003$), при этом ОР снижался до 0,4.

Учитывая то, что в каждом отдельном случае возможные различные сочетания уровней двух исследуемых АТ, мы исследовали четыре возможные комбинациями. Отсутствие или низкие уровни IgA-Es ≤ 3 , и IgA-Pg ≤ 2 у женщин с ВПП встречались значимо чаще (72,3%), чем при ФБ (58,8%, $p = 0,03$). Иными словами отсутствие АТ к ис-

ТАБЛИЦА. ЧИСЛО (N) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ НИЗКИХ (\leq) И ВЫСОКИХ ($>$) УРОВНЕЙ IgA-ES И IgA-Pg И ИХ КОМБИНАЦИЙ У ЖЕНЩИН С ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТЬЮ (ФБ) И С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ РАЗВИТИЯ ПЛОДА (ВПП) (К ТЕЗИСАМ КРАСИЛЬНИКОВОЙ К.С. И ДР.)

Сочетание АТ	ФБ (n/%)	ВПП (n/%)	χ^2 (p)	OR (CI 95%)
IgA-Es \leq 3	130/71,4	78/77,2	0,8(0,35)	
IgA-Es $>$ 3	52/28,6	23/22,8		
IgA-Pg \leq 2	110/60,4	79/78,2	8,47 (0,003)	2,35 (1,3-4,1)
IgA-Pg $>$ 2	72/39,6	22/21,8		0,4 (0,2-0,7)
IgA-Es \leq 3, IgA-Pg \leq 2	107/58,8	73/72,3	4,5 (0,03)	1,8 (1,1-3)
IgA-Es $>$ 3, IgA-Pg \leq 2	3/1,6	6/6	1,4 (0,23)	
IgA-Es \leq 3, IgA-Pg $>$ 2	23/12,6	5/4,9	4,4 (0,03)	0,32 (0,1-0,8)
IgA-Es $>$ 3, IgA-Pg $>$ 2	49/30	17/16,8	3,9 (0,04)	0,5 (0,2-0,9)

следуемым гормонам ассоциировано с повышением риска ВПП. Частота встречаемости высоких уровней только IgA-Es при отсутствии IgA-Pg (IgA-Es $>$ 3, IgA-Pg \leq 2) в сравнении с комбинацией отсутствия обоих АТ (IgA-Es \leq 3, IgA-Pg \leq 2) не отличалась значимо при ВПП и ФБ ($p = 0,23$). То есть IgA-Es сами по себе без IgA-Pg не имели взаимосвязи с ВПП. Повышение уровней только IgA-Pg без IgA-Es (IgA-Es \leq 3, IgA-Pg $>$ 2) обнаружено значимо реже при ВПП (4,9%), чем при ФБ (12,6%), со снижением OR до 0,32. Одновременное повышение уровней АТ (IgA-Es $>$ 3, IgA-Pg $>$ 2) встречалось при ВПП значимо реже, чем при ФБ (16,8% против 30%, $p = 0,04$) с OR = 0,5.

Таким образом, образование IgA-Pg, вероятно, способствует снижению риска развития ВПП.

ОСОБЕННОСТИ СЫВОРОТОЧНОГО СОДЕРЖАНИЯ DcR3 НА РАННИХ СРОКАХ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ ПРИВЫЧНОМ НЕВЫНАШИВАНИИ

Крошкина Н.В.¹, Батрак Н.В.^{1,2}

¹ ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения РФ, Иваново, Россия

² ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, Иваново, Россия

Введение. Одной из важнейших проблем привычного невынашивания беременности является нарушение механизмов иммунологической регуляции фетоплацентарного взаимодействия. При этом центральное место в обеспечении процессов имплантации, инвазии трофобласта, трансформации спиральных артерий, неспецифической защиты от патогенных факторов занимает апоптоз.

Цель и задачи. Целью нашего исследования было изучение особенностей содержания DcR3 в периферической крови у женщин с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием в анамнезе.

Материалы и методы. Основную группу составили 50 женщин с клиникой угрозы прерывания беременности в ранние сроки и привычным невынашиванием. Контрольную группу составили 30 женщин без признаков угрозы прерывания беременности и привычного невынашивания. Содержание DcR3 в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа.

Результаты. Для выявления особенностей сыровоточного содержания DcR3 при угрозе прерывания беременно-

сти на ранних сроках и неосложненном течении гестации мы проанализировали частоту встречаемости положительных и отрицательных результатов сыровоточного содержания DcR3 у женщин основной и контрольной групп. При оценке содержания DcR3 в сыворотке крови, учитывая предел чувствительности тест-системы 0,3 нг/мл, была установлена достоверно большая частота встречаемости положительных результатов данного показателя в контрольной группе женщин, при этом медиана изучаемого показателя имела тенденцию к повышению в контрольной группе женщин. Заслуживает особого внимания вопрос о взаимосвязи сыровоточного содержания DcR3 и развитием плацентарной недостаточности. Нами было установлено, что у женщин как основной, так и контрольной групп развитие плацентарной недостаточности во второй половине беременности было ассоциировано с изначально более высоким содержанием DcR3 в сыворотке крови, чем у женщин без плацентарной недостаточности.

Заключение. Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о меньшей вовлеченности «рецептора-ловушки» DcR3 в регуляцию апоптоза на системном уровне при угрозе невынашивания. Вместе с тем, повышение сыровоточного содержания DcR3 на ранних сроках беременности было отмечено при развитии плацентарной недостаточности в обеих обследованных группах. Известно, что молекулы DcR3 экспрессируются на клетках синцитио-, цитотрофобласта, эндотелии плаценты. Кроме того, было показано, что DcR3 способен регулировать ангиогенез. Вероятно, участие DcR3 в развитии плацентарной недостаточности определяется нарушением процессов апоптоза при формировании сосудов плаценты.

ДИНАМИКА ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОДАХ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ, ОСЛОЖНЕННОЙ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Крукиер И.И., Авруцкая В.В., Левкович М.А., Григорянц А.А., Никашина А.А.

ФГБУ «Ростовский НИИ акушерства и педиатрии» Министерства здравоохранения РФ, Ростов-на-Дону, Россия

Нарушение нормального развития гестации во многом зависит от продукции цитокинов, стимулирующих пролиферацию и инвазию трофобласта, контролирующих рост, развитие и регресс сосудов. Указанные процессы в свою

очередь могут сопровождаться формированием различных осложнений беременности, в том числе и сахарным диабетом 1 типа (СД1), являющимся крайне неблагоприятным состоянием как для матери, так и для плода.

Известно, что цитокины участвуют в межклеточных и межсистемных взаимодействиях, дифференцировке, функциональной активности клеток и других процессах. К числу данных полипептидов относятся, прежде всего, интерлейкины, хемокины, факторы роста и другие представители этого типа регуляторов.

Целью настоящей работы явилось изучение содержания цитокинов: фактора некроза опухолей α (TNF α) и интерлейкина 1 β (IL-1 β) в сыворотке крови и околоплодных водах (ОВ) у беременных женщин с СД1.

Обследовано 45 женщин, из которых у 20 беременность и роды протекали без осложнений (контрольная группа), а у 25 был диагностирован СД1 (основная группа). Материалом исследования служили сыворотка крови, взятая накануне и после родов, и ОВ. Уровень цитокинов (TNF α и IL-1 β) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью наборов R&D system (USA).

При осложненной СД1 беременности генерация изученных цитокинов в сыворотке крови имела свои особенности. Так, содержание TNF α , запускающего каскад провоспалительных цитокинов, было повышено накануне родов на 51% ($p < 0,01$), а после родов, напротив, снижалось на 47% ($p < 0,05$). Уровень IL-1 β до родов имел тенденцию к повышению, а после родов снижался при данной патологии на 67% ($p < 0,01$) по сравнению с физиологической беременностью.

Современное представление о составе и роли ОВ позволяет с высокой значимостью использовать их для диагностики состояния плода и новорожденного. Так, в них по сравнению с физиологическими показателями были увеличены уровни TNF α в 1,7 раза ($p < 0,01$), IL-1 β – на 50% ($p < 0,05$).

Проведенный нами сравнительный анализ содержания цитокинов в сыворотке крови и ОВ у женщин с СД1, позволил сделать заключение о наличии отрицательной корреляционной связи между ними ($r = -0,78$). Это подтверждает взаимосвязь системных и локальных механизмов регуляции гестационных процессов.

Из представленных данных следует, что изменение продукции цитокинов в сыворотке крови и ОВ при осложненной беременности до родов однонаправлено, хотя степень изменений различна, а после родов – разнонаправлено.

Таким образом, состояние интерлейкинового баланса или дисбаланса в гестационных биосредах имеет высокую информативную ценность для суждения о течении беременности и о внутриутробном развитии плода.

ЭКСПРЕССИЯ МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ ЛИМФОЦИТАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЖЕНЩИН С ГИПЕРТЕНЗИВНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

Кудряшова А.В., Панова И.А., Рокотянская Е.А.

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения РФ, г. Иваново, Россия

Введение. По данным литературы известно, что развитие гипертензии во многом определяется воспалительными реакциями в различных структурах больших и малых сосудов. При этом у беременных женщин с ги-

пертензивными расстройствами состав лейкоцитарного инфильтрата стенок сосудов значительно отличается от такового у больных с хронической артериальной гипертензией (ХАГ). В ряде исследований была показана значимость лимфоцитов, в развитии ХАГ, в то время как при преэклампсии (ПЭ) на первый план выступают реакции нейтрофилов, естественных киллеров (ЕК) и цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ).

Цель. На основании изучения характера экспрессии молекул адгезии, выявить особенности трансмиграционного потенциала лимфоцитов периферической крови у беременных женщин с гипертензивными расстройствами различного генеза.

Материалы и методы. обследовали беременных женщин в 22-34 недели гестации. Из них 53 – с неосложненной беременностью (контроль), 34 – с ХАГ, 40 – с ПЭ, присоединившейся к ХАГ (ХАГ+ПЭ), 78 женщин с ПЭ (45 с умеренной ПЭ – УПЭ и 33 с тяжелой ПЭ – ТПЭ). В периферической крови методом проточной цитофлуориметрии определяли уровень CD11b⁺, CD11c⁺, CD31⁺, CD62L⁺, CD99⁺ лимфоцитов, в популяциях CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов исследовали относительное содержание CD31⁺, CD62L⁺, CD99⁺ клеток.

Результаты. Проведенные исследования выявили достоверное снижение содержания CD62L⁺ периферических лимфоцитов, а также уровня CD62L-позитивных клеток в популяции CD4⁺ лимфоцитов в группах ХАГ, ХАГ+ПЭ, ПЭ по сравнению с показателями при неосложненной беременности. Отличительной чертой групп ХАГ и ХАГ+ПЭ было – снижение уровня CD11c⁺ лимфоцитов, в то время как в группе ПЭ и в подгруппе ТПЭ данный показатель был достоверно выше, чем в контрольной группе. Наряду с этим в группах ПЭ и ХАГ+ПЭ, и в подгруппе ТПЭ, в периферической крови достоверно возрастало содержание CD11b⁺ лимфоцитов. Содержание CD31⁺ клеток в популяции лимфоцитов во всех исследуемых группах женщин с гипертензивными расстройствами при беременности не имело достоверных различий по сравнению с показателями при неосложненной беременности, однако, в популяции CD8⁺ лимфоцитов отмечалось снижение уровня CD31⁺ клеток в группах ПЭ и ХАГ+ПЭ, в подгруппах УПЭ и ТПЭ. Причем при тяжелой преэклампсии уровень CD31⁺ клеток снижался и в популяции CD4⁺ лимфоцитов по сравнению с контролем. Уровень CD99⁺ клеток в популяции CD8⁺ лимфоцитов в группах ПЭ и ХАГ+ПЭ был достоверно снижен по сравнению с таковым в группе с ХАГ.

Заключение. Выявленные закономерности изменений в экспрессии молекул адгезии могут определять различия в патогенетической значимости лимфоцитов и их популяций при ХАГ и при ПЭ у беременных. Во всех исследованных группах снижалось содержание клеток экспрессирующих L-селектин, обеспечивающего начальное прикрепление и роллинг лимфоцитов по стенке сосудов, в наибольшей степени в популяции Th. Возможно, данный факт определялся усилением дифференцировки Th до высокоэффекторных стадий, не экспрессирующих молекулы L-селектина, с последующей задержкой в системном кровотоке и участием этих клеток в развитии SIRS. В то же время в группах с преэклампсией лимфоциты усиливали экспрессию молекул, способствующих плотному прикреплению к эндотелию (CD11b, CD11c), но снижали экспрессию молекул, обеспечивающих экстравазацию клеток в более глубокие структуры стенки сосуда (CD31, CD99). Так как молекулы CD11b и CD11c в большей степени экспрессируются ЦТЛ и ЕК, а снижение уровня CD31⁺ и CD99⁺ клеток

в основном было отмечено в популяции ЦТЛ, можно предположить, что такое соотношение экспрессии молекул адгезии способствовало развитию цитотоксических реакций в эндотелии сосудов, в максимальной степени проявляющихся при тяжелой форме преэклампсии.

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СИСТЕМЫ МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА (M-CSF) У ЖЕНЩИН С ТРУБНО-ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ФОРМОЙ БЕСПЛОДИЯ

Лапштаева А.В., Радаева О.А., Новикова Л.В.

ФГБОУ ВО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», Саранск, Россия

Введение. Роль цитокинов в основных репродуктивных процессах: фолликулогенезе, овуляции, оплодотворении и имплантации плодного яйца не вызывает сомнения. Однако в классических рекомендациях по ведению пациенток с бесплодием клинико-патогенетическая значимость данных факторов недооценена. Ввиду достаточной низкой результативности и высокой стоимости проведения экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) возникает необходимость в новых исследованиях иммуноопосредованных механизмов наступления беременности.

Цель. Изучить взаимосвязь сывороточного уровня M-CSF и полиморфных вариантов гена его рецептора CSF1R с наступлением беременности при проведении процедуры ЭКО у женщин с трубно-перитонеальной формой бесплодия.

Материалы и методы. Проведено комплексное обследование 120 женщин с трубно-перитонеальной формой бесплодия (возраст – $35,2 \pm 2,5$ лет), с коротким протоколом ЭКО, завершившимся переносом эмбрионов. Контрольная группа – 100 здоровых женщин с доказанной фертильностью, сопоставимых по возрасту. Первичным результатом считали наступление беременности по результатам УЗИ, проведенного через 14 дней после получения положительного результата ХГЧ. Концентрацию M-CSF определяли иммуноферментным методом с помощью тест-систем производства R&D Systems (США). Материалом для генетического исследования служили образцы ДНК, выделенные из лимфоцитов венозной крови женщин на автоматической станции QIAcube с использованием набора реагентов QIAamp DNA MiniKit (оборудование и реактивы производства QIAGEN, Германия). В гене CSF1R методом ПЦР с последующим секвенированием исследовали следующие полиморфные маркеры: rs3216780 и динуклеотидный полиморфизм rs386693509 в 3'UTR области гена. В качестве референсной использовали нуклеотидную последовательность NG_012303.1. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения.

Результаты. Анализ содержания M-CSF в сыворотке крови женщин с трубно-перитонеальным бесплодием показал значимое его увеличение ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой 326 (5,8) пг/мл и 56 (1,3) пг/мл соответственно. При интерквартильном анализе распределения сывороточных концентраций M-CSF и эффективности цикла ЭКО выявлено, что у женщин, относящихся ко II квартилю повышения M-CSF [241-320 пг/мл], 44 чел.) частота наступления беременности была максимальной – 59% (26 чел.). У женщин с трубно-перитонеальной формой бесплодия не выявлено достоверных различий в распределении полиморфных вариантов в rs386693509 в 3'UTR области гена CSF1R

(TC/TC – 59,2% (71 чел.), CA/CA – 6,6% (8 чел.), TC/CA – 34,2% (41 чел.)) и в rs3216780 в 3'UTR области гена CSF1R (G/G – 40% (48 чел.), DEL/G – 54,2% (65 чел.), DEL/DEL – 5,8% (7 чел.)), по сравнению со здоровыми женщинами (TC/TC – 62% (62 чел.), CA/CA – 10% (10 чел.), TC/CA – 28% (28 чел.)), и (G/G – 33% (33 чел.), DEL/G – 59% (59 чел.), DEL/DEL – 8% (8 чел.)), $\chi^2 = 1,47$, $p > 0,05$ и $\chi^2 = 1,33$, $p > 0,05$ соответственно. Следовательно, генотипы TC/CA (OR = 9,66, 95% ДИ = [3,95-23,6], $p < 0,05$) и DEL/G (OR = 9,12, 95% ДИ = [3,22-25,8], $p < 0,05$) выступают как условно прогностически благоприятные для наступления беременности при проведении процедуры ЭКО. При моноанализе на основе выбранных генетических характеристик вероятность наступления беременности у женщин с трубно-перитонеальной формой бесплодия в результате проведения протокола ЭКО определяется с низкой чувствительностью – 40%, но высокой специфичностью – 82%. Ввиду того что благоприятный исход процедуры ЭКО ассоциирован с концентрацией M-CSF 241-320 пг/мл и генотипами TC/CA в rs386693509 и DEL/G в rs3216780 в 3'UTR области гена CSF1R при их одновременном анализе специфичность при определении вероятности наступления беременности возрастает до 87%, а чувствительность – 79%

Заключение. Анализ уровня M-CSF с учетом генетических особенностей женщин с трубно-перитонеальным бесплодием открывает перспективы персонализированного подхода при определении вероятности наступления беременности в результате цикла ЭКО.

ПАССИВНАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ СТЕРИЛЬНОСТИ

Левкова Е.А.¹, Савин С.З.², Емельянова Э.Б.³, Смиренина И.В.⁴, Гребеняк О.А.⁴, Пушкар В.А.⁵

¹ Социально-гуманитарный институт ФГОУ ВО «Дальневосточный государственный университет путей сообщений», Хабаровск, Россия

² Вычислительный Центр ДВО РАН, Хабаровск, Россия

³ ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

⁴ КГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации специалистов здравоохранения» Хабаровск, Россия

⁵ ООО «Иммунореабилитационный центр», Хабаровск, Россия

Введение. Сокращение численности населения Российской Федерации рассматривается сейчас как угроза национальной безопасности России. Отсутствие воспроизводства населения уже в ближайшем будущем приведет к сокращению трудоспособной доли населения и увеличению доли населения пенсионного возраста. Это вызовет увеличение нагрузки на социальные статьи бюджета, снижение темпов экономического роста и деградацию общества. По данным Министерства здравоохранения РФ, бесплодные браки составляют 17% от всех брачных пар, около 6 млн супружеских пар бесплодны. Из общих причин бесплодия в браке на патологию иммунной системы приходится более 10%. Наиболее значимыми факторами в решении проблемы бесплодного брака являются детализация причин бесплодного брака и способов их устранения.

Цель и задачи. Применение пассивной иммунотерапии для лечения пациенток с различными формами

бесплодия. Ключевая задача исследования – провести лечение женщин с различными формами бесплодия с применением пассивных методов иммунотерапии – иммуноглобулинов класса G, исходя из общепринятой концепции иммунологической толерантности и особенностей ее формирования во время беременности.

Материалы и методы. Длительность про- и ретроспективных исследований по применению пассивной иммунотерапии у пациенток с различными формами бесплодия составила 17 лет. Для клинико-статистического исследования была выбрана когорта женщин в количестве 46 чел. Возрастной диапазон женщин 28-42 года. Диагноз N97 был установлен у 37 пациенток (80,43%). Общий объем пассивной иммунотерапии составлял не менее 300 мл для внутривенного введения. Параметры иммунной системы определяли по рекомендациям (Петров Р.В. Иммунология и иммуногенетика. М.: Медицина, 1976. 336 с.). Показания для применения пассивной иммунотерапии: длительность бесплодия более 1 года; увеличение цитолитического потенциала (CD3⁺CD16⁺, CD56⁺) от нормы 9% в 1,5 раза; снижение иммуноглобулина G (норма взрослого человека с 18 до 60 лет – 14+2 г/л); значительная инфекционная контаминация, особенно по инфекциям семейства герпес; сходство родителей по вариантам генов HLA класса II гистосовместимости (Сидельникова В.М., 2013).

Результаты. Применение пассивной иммунотерапии в комплексном лечении у 44 женщин привело к наступлению беременности. В процессе использования пассивной иммунотерапии не зафиксированы местные и системные осложнения, в том числе аллергического характера.

Заключение. Использование пассивной иммунотерапии, с учетом критериев назначения, позволяет добиться положительных результатов в комплексном лечении пациенток с различными формами бесплодия в 95,6% случаев.

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА КЛЕТОК ПАМЯТИ В ПОПУЛЯЦИИ CD8⁺ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ УГРОЗЕ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ

Мишарина Л.В., Борзова Н.Ю., Васин И.А.

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н.Городкова» Министерства здравоохранения РФ, Иваново, Россия

Введение. В настоящее время в связи с широким развитием возможностей иммунологии репродукции изучение иммунологических аспектов беременности и ее прерывания стало одним из самых актуальных и перспективных, и все больше исследователей приходят к выводу о значительной роли скоординированной работы врожденной и адаптивной систем иммунитета в развитии невынашивания беременности. Важным механизмом иммунорегуляции при беременности является активация Т-лимфоцитов и изменение характера их дифференцировки. В процессе формирования «иммунологической памяти» клетки проходят 4 стадии дифференцировки, которые получили название наивных клеток, центральных клеток памяти, претерминально-дифференцированных эффекторных клеток памяти и терминально-дифференцированных клеток памяти, характеризующихся различной экспрессией молекул. Однако до сих пор нет данных о характере дифференцировки CD8⁺ лимфоцитов при угрозе преждевременных родов.

Цель и задачи. Целью исследования было установить особенности дифференцировки цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) в периферической крови пациенток с угрожающими преждевременными родами в сроке гестации 25-33 недели 6 дней для уточнения механизмов развития невынашивания беременности.

Материалы и методы. Было проведено обследование 12 женщин с угрожающими преждевременными родами (основная группа) в 25-33 недели 6 дней и 15 женщин с неосложненным течением беременности в эти же сроки гестации (контрольная группа). Материалом для исследования служила периферическая кровь. Методом многоцветной проточной цитометрии определяли содержание наивных, центральных, претерминально-дифференцированных и терминально-дифференцированных клеток памяти в популяции ЦТЛ (CD8⁺).

Результаты. По предварительным данным у всех пациенток с угрозой преждевременных родов в периферической крови было выявлено статистически значимое повышение уровня претерминально-дифференцированных клеток памяти в популяции CD8⁺ лимфоцитов по сравнению с аналогичным показателем группы женщин с неосложненным течением беременности. Анализируя данные содержания наивных клеток, центральных и терминально-дифференцированных клеток памяти в популяции цитотоксических Т-лимфоцитов мы не выявили достоверных различий между сравниваемыми группами.

Заключение. Таким образом, для женщин с угрожающими преждевременными родами характерен сдвиг системной дифференцировки CD8⁺ лимфоцитов в сторону увеличения пула претерминально-дифференцированных клеток памяти. Можно предположить, что нарушение дифференцировки лимфоцитов может вести к изменению иммунорегуляции, определяя неадекватный иммунный ответ матери на антигены плода, приводя тем самым к формированию патологии беременности. Образование зрелых эффекторных клеток, по данным литературы, определяется длительным характером стимуляции клетки через комплекс TCR/CD3/CD2 специфическим антигеном, особым цитокиновым и гормональным микроокружением. Можно предположить, что эти факторы сыграли ведущую роль в увеличении пула претерминально-дифференцированных цитотоксических Т-лимфоцитов при угрозе преждевременных родов.

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВРОЖДЕННОГО И АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА У ЖЕНЩИН С ЦЕРВИКАЛЬНОЙ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИЕЙ В РЕЗУЛЬТАТЕ ИММУНОКОРРЕГИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ

Мусаходжаева Д.А., Каландарова А.Н.

Республиканский научный центр иммунологии Министерства здравоохранения РУз, Нукусский филиал скрининг центра, Ташкент, Нукус, Узбекистан

В структуре гинекологических заболеваний патология шейки матки составляет 17-48%. Причиной возникновения патологических состояний шейки матки могут быть воспалительные заболевания органов малого таза, инфекционные процессы, сопровождающиеся персистенцией возбудителя в генитальном тракте и т.д. Заболевания шейки матки сопровождаются иммунологическими изменениями, как репродуктивной сферы, так и иммуно-

логическими сдвигами системного иммунитета, что предполагает применение иммуномодулирующих лекарственных средств в гинекологической практике.

Целью данного исследования явилось изучить динамику иммунологических параметров в результате комплексного лечения с включением иммунокорректирующей терапии у женщин с различной степенью ЦИН. Было обследовано 58 женщин с ЦИН I и II степени, проживающие в регионе Приаралья. Возраст обследованных женщин был в пределах 20–40 лет. Иммунологические исследования проводили до и после лечения изучением количества лимфоцитов с фенотипом CD3, CD4, CD8, CD16, CD20 с помощью моноклональных антител серии LT (Ин-т иммунологии, ТОО «Сорбент», Москва, Россия). Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли с использованием латексных частиц. Уровень иммуноглобулинов определяли методом радиальной иммунодиффузии по Mancini (моноспецифические сыворотки института им. Н.Ф. Гамалеи, Москва). В качестве корректирующего препарата использовали Эндоферон (ГАК «УЗФАРМСАНОАТ» РУз) и Циклоферон. В зависимости от вида лечения все больные были разделены на две группы: I группу составили 25 женщин, которым назначали Циклоферон в/м по схеме. II группу составили 33 пациентки, которым назначали Эндоферон в/м по схеме: по 2 мл на 1, 2, 4, 6 и 8 день лечения. При показании проводилась лазероапоризация патологических участков шейки матки, влагалища, наружных половых органов и кондилом. Через 1 месяц курс лечения проводился повторно. Было выявлено, что при ЦИН у женщин наблюдается уменьшение числа CD4⁺T-клеток ($P < 0,05$), повышение содержания CD8⁺T-клеток ($p < 0,05$), депрессия иммунорегуляторного индекса CD4⁺/CD8⁺ ($p < 0,01$). Повышение числа CD8⁺ клеток, по-видимому, связано с усилением цитотоксической активности в зоне дисплазии шейки матки. Уровень CD16⁺ и CD20⁺ клеток у женщин с ЦИН был достоверно повышенным по сравнению с контрольными значениями ($p < 0,01$).

При исследовании гуморального звена иммунитета у обследованных женщин отмечено повышение уровня IgM ($P < 0,01$) и сниженный уровень IgG и IgA ($p < 0,05$). Фагоцитарная активность нейтрофилов у женщин с ЦИН была сниженной в 1,3 раза ($p < 0,05$). Степень выраженности количественного дефицита активно фагоцитирующих нейтрофилов была прямо пропорциональна усугублению тяжести ЦИН. Повторное исследование по изучению некоторых параметров иммунной системы показало, что лечение с включением Циклоферона способствовало положительной динамике изученных параметров. Сравнительный анализ проведенных исследований показал, что под влиянием применения Эндоферона наблюдалось восстановление содержания в крови CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ лимфоцитов, а так же индекса иммунорегуляции (CD4⁺/CD8⁺), приблизилось к норме и процентное содержание фагоцитарной активности нейтрофилов. На этом же фоне уровень CD16⁺ клеток достоверно снизился ($P < 0,01$). Положительная динамика наблюдалась и в содержании иммуноглобулинов основных классов ($P < 0,05$).

Полученные результаты свидетельствуют о повышении иммунологической эффективности проведенного комплексного лечения с включением иммунокорректирующих препаратов у женщин с ЦИН. Клиническая эффективность как Циклоферона, так и Эндоферона проявилась в улучшении состояния.

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕКТИВНОГО МОДУЛЯТОРА РЕЦЕПТОРОВ ПРОГЕСТЕРОНА НА ПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ МАКРОФАГОВ ЭНДОМЕТРИЯ У ПАЦИЕНТОК С ЛЕЙОМИОМОЙ МАТКИ БОЛЬШИХ РАЗМЕРОВ

Нагорный С.Н., Воронин Д.Н., Малышкина А.И., Анциферова Ю.С., Кирсанов А.Н.

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н.Городкова» Министерства здравоохранения РФ, Иваново, Россия

Введение. Развитие и рост лейомиомы матки, доброкачественной опухоли миометрия, происходит на фоне выраженных нарушений иммунного ответа в эндометрии, непосредственно прилегающем к миометрию. Предполагают, что триггерным фактором, запускающим патологический процесс в миометрии, является прогестерон, которые через свои рецепторы регулируют в опухоли транскрипционную активность генов, ассоциированных с клеточной пролиферацией. В связи с этим, в последнее время интенсивно разрабатываются медикаментозные препараты, относящиеся к классу селективных модуляторов рецепторов прогестерона, применение которых, блокируя действие прогестерона, позволило бы добиться уменьшения размеров опухоли. Однако механизм действия этих препаратов изучен недостаточно. Нет данных о влиянии модуляторов рецепторов прогестерона на состояние и функцию фагоцитов эндометрия.

Цель и задачи. Целью исследования было установить влияние селективного модулятора рецепторов прогестерона — улипристала ацетата на уровень M1 и M2 макрофагов в эндометрии пациенток с лейомиомой матки больших размеров.

Материалы и методы. Было обследовано 37 пациенток с лейомиомой матки, из них 20 пациенток прошли курс предоперационной подготовки, получая в течение 3 месяцев 5 мг улипристала ацетата ежедневно, 17 пациенток были без предоперационной подготовки. Всем женщинам проводилось оперативное лечение лейомиомы матки. Материалом для исследования служили взятые в ходе операции биоптаты ткани миоматозных узлов и эндометрия, расположенного непосредственно под миоматозным узлом и локализованного вдали от опухоли. У пациенток, получавших улипристала ацетат, эндометрий брали дважды — до начала лечения и в ходе операции. Эндометрий 10 фертильных здоровых пациенток использовали в качестве контроля. Из эндометрия выделяли популяцию мононуклеарных клеток. Уровень M1 (IL-12⁺, IL-1β⁺, IFNγ⁺) и M2 (TGF-β1⁺, IL-10⁺, CD163⁺) эндометриальных макрофагов определяли с помощью моноклональных антител методом проточной цитометрии. Кроме того, методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени в миоматозных узлах определяли экспрессию Ki-67.

Результаты. Отличительной чертой эндометрия различной локализации при лейомиоме матки больших размеров было повышенное по сравнению с контрольной группой содержание IL-10⁺, IL-1β⁺ и IFNγ⁺ макрофагов. При этом пациентки с пролиферирующими Ki-67⁺ миоматозными узлами характеризовались высоким уровнем TGF-β1⁺, CD163⁺ макрофагов и сниженным содержанием IL-12⁺ и IFNγ⁺ макрофагов в эндометрии, тогда как при лейомиомах с низкой пролиферативной активностью (Ki-67⁻) отмечался высокий уровень IL-1β⁺ и IFNγ⁺ эндометриальных макрофагов. Таким образом, проли-

феративная активность клеток лейомиомы коррелирует с содержанием М1 и М2 макрофагов в эндометрии, что свидетельствует о возможном вовлечении эндометриальных макрофагов в регуляцию роста лейомиомы матки. Терапия улипристала ацетатом позволила в целом добиться уменьшения размеров опухоли, однако значимые изменения отмечались только у 60% пациенток, тогда как в 40% случаев размеры опухоли не изменялись или даже увеличивались. Связи динамики размеров узлов с активностью пролиферации опухолевых клеток мы не выявили. Анализ популяционного состава эндометриальных макрофагов показал, что уменьшение размеров опухоли в результате лечения происходило в тех случаях, когда в эндометрии изначально было повышено количество TGF- β 1⁺ макрофагов, а после лечения в эндометрии, расположенном в непосредственной близости от опухоли, увеличивалось содержание IFN γ ⁺ и CD163⁺ макрофагов. У тех пациенток, у которых происходило увеличение размеров миомы матки после лечения улипристала ацетатом, изначально в эндометрии, локализованном в непосредственной близости от опухоли, отмечалось максимально высокое содержание IL-10⁺, CD163⁺ и IFN γ ⁺ макрофагов при низком уровне IL-12⁺ макрофагов. После лечения у этих пациенток падало содержание CD163⁺ и TGF- β 1⁺ макрофагов вдали от узла и повышался уровень IL-12⁺ клеток вблизи от опухоли.

Заключение. Таким образом, эффективность терапии улипристала ацетатом зависит от изначального иммунологического фона в эндометрии. Уменьшение размеров узлов происходит в тех случаях, когда лечение приводит к сбалансированной активации М1 и М2 пулов макрофагов, тогда как увеличение размеров опухоли наблюдается при активации провоспалительных М1 клеток. (Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-05042).

ЗАВИСИМОСТЬ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ ЖЕНЩИНЫ ОТ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ СЕМЕННОЙ ПЛАЗМЫ ПОЛОВОГО ПАРТНЕРА

Николаева М.А., Бабаян А.А., Степанова Е.О., Смольникова В.Ю., Калинина Е.А., Иванец Т.Ю., Ванько Л.В.

ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

В многочисленных экспериментальных исследованиях было установлено, что семенная плазма (СП) оказывает иммуномодулирующее действие на функции эндометрия, в связи с чем и были предприняты попытки использовать введение СП в репродуктивный тракт женщин для усиления рецептивности эндометрия и повышения эффективности программы ЭКО. Однако до сих пор не удалось подтвердить позитивное влияние введения СП партнера в цикле ЭКО/ИКСИ. Результаты экспериментальных исследований подтверждают, что содержащийся в СП трансформирующий фактор роста β 1 (TGF- β 1) является ключевым фактором формирования иммунной толерантности матери к антигенам плода, влияя на уровень регуляторных Т-клеток (Трег). Мы предположили, что эффекты введения СП могут определяться не только содержанием TGF- β 1, но и уровнем других цитокинов, возможно, препятствующих реализации эффектов

TGF- β 1. Ранее установлено, что антагонизм в отношении к TGF- β 1 проявляет интерлейкин-18 (IL-18)

Целью настоящего исследования явилось определение прогностической значимости определения содержания TGF- β 1 и IL-18 в СП полового партнера при оценке эффективности лечения методом ЭКО/ИКСИ и зависимости между содержанием TGF- β 1 и IL-18 в СП полового партнера и уровнем Трег с фенотипом CD4⁺CD25^{high}CD127^{low/-} в периферической крови пациенток.

В исследование были включены супружеские пары (n = 71), проходившие лечение бесплодия методом ЭКО/ИКСИ, дополненного интравагинальным введением СП партнера в день проведения трансвагинальной пункции (ТВП). Содержание в СП цитокинов TGF- β 1 и IL-18 оценивали с использованием наборов Human TGF- β 1 и IL-18 FlowCytomix Simplex Kits (Bender MedSystems, Vienna, Австрия). Забор крови проводили в день проведения ТВП яичников. Для оценки процентного содержания Трег среди CD4⁺ лимфоцитов использовали стандартный набор моноклональных антител (Human Regulatory T Cell Cocktail, Becton Dickinson, США). Количественную оценку концентраций цитокинов и уровня Трег-клеток проводили с помощью проточного цитофлуориметра FACSCalibur (Becton Dickinson, США).

У пациенток с успешным исходом лечения концентрация IL-18 в СП партнера была статистически значимо ниже по сравнению с аналогичным показателем половых партнеров женщин, у которых беременность не наступила (p = 0,018). Концентрация TGF- β 1 в СП партнеров пациенток с успешным и неудачным исходами программы ЭКО/ИКСИ не различалась. В то же время соотношение TGF- β 1/IL-18 в группе пациенток с успешным исходом лечения было значимо выше по сравнению с аналогичным показателем в группе женщин с неудачной попыткой ЭКО и составило 470 \pm 228 и 363 \pm 146, соответственно (p = 0,02). С помощью ROC-анализа было показано, что наиболее значимым предиктором успеха программы ЭКО/ИКСИ является общее содержание IL-18 в эякуляте (AUC = 75%, чувствительность и специфичность теста – 94% и 51%, соответственно). В группе пациенток, эякулят половых партнеров которых содержал относительно низкое количество IL-18 (\leq 1432,4 пг) частота наступления беременности была в 6,7 раз выше по сравнению с пациентками, в СП половых партнеров которых отмечался относительно высокий уровень IL-18 (> 1432,4 пг), и составляла 61,2% и 9,1% соответственно (p < 0,0001).

Была обнаружена позитивная корреляционная зависимость между содержанием Трег клеток в день ТВП как от концентрации IL-18 (r = 0,47; p = 0,01), так и от общего количества IL-18 в эякуляте (r = 0,42; p = 0,02). При оценке корреляционной связи между содержанием Трег клеток в периферической крови пациенток в день ТВП и соотношением TGF- β 1/IL-18 в СП половых партнеров отмечалась статистически значимая обратная корреляционная зависимость (r = -0,52; p = 0,008). У пациенток с наступившей беременностью было выявлено снижение доли Трег среди CD4⁺ лимфоцитов по сравнению с пациентками с неудачной попыткой ЭКО/ИКСИ (P = 0,0045) – медиана составила 5,0% (3,0-7,6%) и 6,7% (3,8-14,2%) соответственно.

Таким образом, успешная имплантация при проведении программы ЭКО с применением аппликации СП происходит на фоне снижения содержания Treg периферической крови в день трансвагинальной пункции, возможно, обусловленной усилением миграции Treg в региональные лимфоузлы или матку. Изменения T-клеточного звена иммунитета, в свою очередь, определяются цитокиновым профилем СП, поступающей в репродуктивный тракт женщины. Необходимы дальнейшие исследования для подтверждения клинической значимости полученных результатов.

ВЛИЯНИЕ АНТИГИПЕРТЕНЗИВНОЙ ТЕРАПИИ НА ЭКСПРЕССИЮ L-СЕЛЕКТИНА И CX3CR1 ЛЕЙКОЦИТАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С ГИПЕРТЕНЗИВНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ

Панова И.А., Кудряшова А.В., Рокотянская Е.А., Парейшвили В.В.

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения РФ, Иваново, Россия

Введение. Проведение адекватной антигипертензивной терапии в период беременности должно способствовать максимальному снижению общего риска сердечно-сосудистых и церебрально-сосудистых заболеваний в будущем, неблагоприятных перинатальных исходов. В настоящее время появляется все больше данных об ассоциации различных форм гипертензивных расстройств с развитием внутрисосудистой воспалительной реакции. Это определяет необходимость оценки влияния антигипертензивной терапии у беременных на функциональную активность клеток врожденного иммунитета, в том числе миграционную.

Цель. Оценить изменения в экспрессии L-селектина и рецептора фракталкина моноцитами и нейтрофилами у беременных женщин с артериальной гипертензией при различных видах антигипертензивной терапии.

Материалы и методы. Обследовано 55 женщин с артериальной гипертензией в сроке от 22 до 36 недель беременности: 1 группу составили 25 пациенток с существовавшей ранее АГ (код по МКБ-Х О10.0); 2 – 30 женщин с преэклампсией средней степени тяжести (код по МКБ-Х О14.0) и с ХАГ и присоединившейся ПЭ (код по МКБ-10 О11). Группу контроля составили 50 женщин без АГ. Исследование проводилось до и на 5-е сутки после начала гипотензивной терапии. В каждой группе были выделены подгруппы: 1 – получавшие монотерапию (альфа2-адреномиметики), 2 – получавшие комбинацию препаратов (альфа2-адреномиметики, блокаторы кальциевых каналов и/или β-адреноблокаторы). В периферической крови беременных определяли относительное содержание моноцитов и нейтрофилов экспрессирующих рецептор фракталкина CX3CR1, а также молекулы L-селектина – CD62L.

Результаты. В группе женщин с ХАГ исходный уровень CD62L-позитивных клеток в популяциях моноцитов и нейтрофилов не отличался от показателей в контроль-

ной группе, но имел тенденцию к повышению в популяции нейтрофилов на 5 день лечения независимо от вида терапии. В популяции моноцитов в группе ХАГ только комплексная терапия определяла тенденцию к повышению уровня CD62L⁺ моноцитов. В группе с преэклампсией исходный уровень CD62L⁺ моноцитов и нейтрофилов был достоверно снижен по сравнению с показателями в контрольной группе. Проводимое лечение не оказывало значительного влияния на относительное содержание CD62L⁺ моноцитов, но определяло тенденцию к повышению уровня CD62L⁺ нейтрофилов при монотерапии и достоверно повышало данный показатель до нормативных значений при комбинированной терапии. Исходное содержание CX3CR1 клеток в группе ХАГ имело тенденцию к снижению в популяции моноцитов, и было достоверно сниженным в популяции нейтрофилов. В этой группе оба вида терапии не вызывали значимых изменений в содержании CX3CR1⁺ моноцитов и нейтрофилов. В группе с ПЭ до лечения уровень CX3CR1⁺ клеток был сниженным только в популяции нейтрофилов. Монотерапия при ПЭ определяла достоверное снижение уровня CX3CR1⁺ моноцитов и тенденцию к снижению в популяции нейтрофилов, в то время как комплексная терапия сочеталась с достоверным снижением содержания CX3CR1⁺ нейтрофилов и тенденцией к снижению в популяции моноцитов.

Заключение. Выбор антигипертензивного препарата для беременной женщины с учетом влияния на плацентарный кровоток, требует анализа всех плюсов и минусов предполагаемого лечения. Полученные результаты позволяют оценить воздействие терапии на процессы инициации воспаления, определяемые адгезией клеток к эндотелию сосудов и последующему хемотаксису. Известно, что элюция L-селектина под действием медиаторов воспаления позволяет лейкоцитам разорвать связь с клетками эндотелия и мигрировать в подлежащие ткани. Отмеченные нами изменения могли определяться противовоспалительным эффектом альфа2-адреномиметиков, приводящему к ослаблению адгезии нейтрофилов при всех формах гипертензивных расстройств у беременных и ослаблению хемотаксиса нейтрофилов и моноцитов при ПЭ. Применений комплексной терапии ПЭ позволяло проявляться позитивным эффектам, в максимальной степени. Таким образом, лучшее понимание ключевых моментов регуляции трансмиграции лейкоцитов может помочь в разработке персонализированных схем лечения гипертензии у беременных.

ОЦЕНКА ИНДУКЦИИ РЕЦЕПТОРНОГО АПОПТОЗА У FAS-ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ СПЕРМАТОЗОИДОВ

Плосконос М.В.

*ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Астрахань, Россия
ФГБОУ ВО ВГУВТ «Каспийский институт морского и речного транспорта», Астрахань, Россия*

Введение. Апоптозу, как фундаментальному процессу регулирования иммунной системы, принадлежит важная роль в регуляции сперматогенеза. Однако, недостаточно

сведений о факторах, вызывающих апоптоз половых клеток и, как следствие, нарушение фертильности. Известными маркерами апоптоза являются белки мембраны клеток – рецептор Fas (CD95) и его лиганд FasL, через которые реализуется рецепторный (мембранный) механизм апоптоза. Мнение исследователей касательно экспрессии Fas и FasL на поверхности зрелых эякуляторных сперматозоидов неоднозначно, что диктует необходимость дальнейших исследований в этом направлении. Кроме того, нет данных об индукции рецепторного апоптоза через Fas-рецептор на сперматозоидах человека.

Цель. Выявить экспрессию Fas-антигена на сперматозоидах мужчин разной фертильности и попытаться индуцировать апоптоз гамет при помощи рекомбинантного FasL.

Материалы и методы. Исследованы эякуляты 46 фертильных и 78 субфертильных мужчин. Определение на сперматозоидах Fas проводили мечеными фикоэритрином (PE) моноклональными антителами CD95 (Caltag Lbs.), с последующей флуоресцентной микроскопией. Эякуляты, положительные по Fas, делили на две части: 1) отмытые сперматозоиды инкубировали 4 ч в среде В-2 с 5% CO₂ при 37°C (контроль); 2) сперматозоиды инкубировали 4 ч при тех же условиях, только с добавлением 1 мг/мл рекомбинантного FasL (Kamiya Bi-omedical Company, USA) (опыт). После инкубации документировали апоптоз при помощи конъюгированного с флуорохромом Аннексина-V (AnV-FITC) и йодида пропидия (PI), подсчитывая количество (AnV⁺/PI⁻)-сперматозоидов на флуоресцентном микроскопе МИКРОМЕД 3 ЛЮМ (Санкт-Петербург).

Результаты. Выявлено, что Fas-экспрессия на сперматозоидах фертильных мужчин наблюдалась почти в 90% случаев (у 41 из 46 мужчин), но количество (Fas⁺)-гамет оказалось менее 10%. У 53% обследованных субфертильных мужчин (у 41 из 78) более 10% сперматозоидов оказались Fas-положительными.

Далее эксперимент по индукции рецепторного апоптоза проводили с эякулятами мужчин, в которых выявлены (Fas⁺)-гаметы. После 4-часовой инкубации клеток с 1 мг/мл рекомбинантного FasL (опыт) изменение количества (AnV⁺/PI⁻)-сперматозоидов по сравнению с контролем было статистически не достоверно ($p > 0,05$).

Заключение. Таким образом, у сперматозоидов мужчин разной фертильности не удалось индуцировать рецепторный апоптоз. Вероятно, Fas-рецепторы на гаметах не активны или не функционируют после эякуляции, а экспрессия Fas-антигена произошла ещё в период сперматогенеза, и (Fas⁺)-клетки должны были быть устранены в процессе апоптоза, но по каким-либо причинам механизмы рецепторного апоптоза не были закончены, либо были отложены, либо функционировали неправильно.

Однако выявленные различия в экспрессии Fas-антигена на сперматозоидах фертильных и субфертильных мужчин могут представлять интерес для практической андрологии, так как позволят дополнить диагностический арсенал при исследовании мужской репродуктивной функции.

FAS-АНТИГЕН КАК ПОКАЗАТЕЛЬ КАЧЕСТВА СПЕРМАТОЗОИДОВ

Плосконос М.В.^{1,2}, Николаев А.А.¹,
Зульбалаева Д.Ф.³, Бондаренко С.К.³

¹ ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Астрахань, Россия

² ФГБОУ ВО ВГУВТ «Каспийский институт морского и речного транспорта», Астрахань, Россия

³ ГБУЗ Астраханской области «Центр охраны здоровья семьи и репродукции», Астрахань, Россия

Введение. Fas(CD95) – клеточный рецептор, по наличию которого судят о готовности клеток к Fas-индуцированному апоптозу. В мужском репродуктивном тракте функции Fas-рецепторно-лигандной системы заключаются в регуляции численности половых клеток на уровне сперматогенеза, в отслеживании разнообразных повреждений и сбоев в процессе сперматогенеза и обеспечении удаления повреждённых клеток, а также в выполнении защиты половых клеток от иммунологических реакций в яичках. При различных нарушениях сперматогенеза могут наблюдаться изменения экспрессии Fas-антигена на половых клетках, отражая активность патологических процессов, протекающих в мужской репродуктивной системе. Данные относительно корреляции между наличием Fas-рецептора на сперматозоидах и некоторыми функционально-морфологическими параметрами эякулятов мужчин, рекомендованными к исследованию Всемирной организацией здравоохранения в доступной нам литературе не встречались.

Цель. Обнаружить взаимосвязь между содержанием в эякулятах бесплодных мужчин Fas-положительных сперматозоидов и нарушениями некоторых функционально-морфологических параметров гамет.

Материалы и методы. Сперматозоиды выделяли из образцов эякулятов 78 субфертильных мужчин (возраст от 25 до 45 лет) отмыванием от семенной плазмы в фосфатно-солевом буфере с pH 7,4. Для обнаружения Fas использовали моноклональные антитела (CD95-PE, IgG1, Caltag Lbs.), согласно инструкции производителя, с последующей флуоресцентной микроскопией. В качестве основных характеристик сперматозоидов были исследованы подвижность, морфология и концентрация сперматозоидов в эякуляте. Оценка взаимосвязи между исследуемыми показателями осуществлялась путём подсчёта коэффициента корреляции (r) Пирсона.

Результаты. Выявлена достоверная отрицательная корреляция между количеством сперматозоидов, экспрессирующих Fas, и концентрацией гамет ($r = -0,46$; $p < 0,001$); подвижность сперматозоидов положительно коррелировала с содержанием в эякуляте (Fas⁺)-клеток ($r = 0,31$; $p < 0,05$); отмечена положительная корреляция количества (Fas⁺)-клеток и содержания в эякуляте патологических форм сперматозоидов ($r = 0,4$; $p < 0,01$).

Заключение. Представленные данные показывают, что содержание в эякулятах субфертильных мужчин сперматозоидов с маркером апоптоза Fas коррелирует с концентрацией, подвижностью и дефектами морфологии гамет. Этот факт позволяет считать экспрессию рецептора апоптогенного сигнала Fas на клетках – фактором, снижающим качество сперматозоидов. Положительная корреляция между количеством (Fas⁺)-клеток и подвижностью гамет говорит о том, что часть тех сперматозоидов, которые оценены как активно подвижные у субфертильных пациентов, маркированы Fas и предрасположены

при наличии дополнительных факторов к смерти через апоптоз. (Fas⁺)-клетки потенциально уготовлены к гибели по рецепторному механизму апоптоза, когда сигналы к его запуску поступят извне и опосредованы через Fas-рецепторы. Такие меченые клетки способствуют плохому качеству спермы и обнаруживаются раньше нарушений подвижности гамет, что даёт возможность использовать диагностическое определение Fas-антигена для прогнозирования качества половых клеток.

ОСОБЕННОСТИ ЛЕЙКОЦИТАРНОГО СОСТАВА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ОБОСТРЕНИЕМ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА, САЛЬПИНГОФОРИТА ПРИ СОПУТСТВУЮЩЕЙ ДЕПРЕССИИ

Правдин Е.В.

Южно-Уральский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ, Челябинск, Россия

Введение. Хронические воспалительные заболевания матки и придатков (ХВЗМП) занимают лидирующее положение в структуре гинекологической патологии, сопровождаются многочисленными жалобами, приводят к хронизации воспалительного процесса, серьезным осложнениям и последствиям. Это формирует основу для развития соматогенной депрессии. Установлено, что аффективные расстройства такого типа во многом обусловлены развитием синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) и чаще всего сопровождаются изменениями лейкоцитарного состава периферической крови.

Цель и задачи. Представленная работа посвящена изучению особенностей лейкоцитарного состава периферической крови больных с обострением ХВЗМП в зависимости от тяжести сопутствующей депрессивной симптоматики.

Материалы и методы. Для исследования было отобрано 124 женщины репродуктивного возраста, экстренно поступивших в гинекологическое отделение с диагнозом обострение хронического эндометрита, сальпингофорита. В первые сутки госпитализации в стационар всем больным проведено комплексное унифицированное гематологическое обследование. Кроме того, у всех женщин была проведена количественная оценка аффективных расстройств с помощью шкалы депрессии Бека (ШДБ). Показатель ШДБ ≥ 12 баллов и более свидетельствует о наличии депрессии. Диапазон от 12 до 19 баллов по ШДБ говорит о легкой депрессии. Значения показателя ШДБ 20 баллов и более отражают средне-тяжелые и тяжелые депрессивные расстройства. На основании вышеизложенных критериев, все пациентки были распределены на 3 группы в зависимости от наличия клинически значимой депрессивной симптоматики и ее тяжести. Статистический анализ выполнен с использованием пакета прикладных программ SPSS-17.0.

Результаты. Изучение аффективного статуса больных, включенных в исследование, выявил наличие депрессии (ШДБ ≥ 12 баллов) у большинства пациентов (73%). Чаще всего (63 случая, 51%) встречалась легкая депрессия (от 12 до 19 баллов по ШДБ). В 27 случаях (22%) выраженность депрессивной симптоматики соответствовала уровню среднетяжелой и тяжелой депрессии (суммарный балл ШДБ ≥ 20 баллов). Лишь у 34 женщин (27%) показатель ШДБ соответствовал диапазону нормы. Данный

факт согласуется с известными представлениями о причинно-следственных связях развития депрессивных состояний у больных с инфекционной патологией. Анализ лейкоцитарного состава крови в общей совокупности обследованных женщин продемонстрировал увеличение относительного и абсолютного содержания палочкоядерных НГ в лейкоцитарной формуле ($8,23 \pm 0,16\%$; $0,68 \pm 0,02 \times 10^9/\text{л}$), снижение относительного содержания сегментоядерных НГ ($54,24 \pm 0,22\%$), ускорение СОЭ ($17,44 \pm 0,25$ мм/час). Результаты корреляционного анализа, проведенные на общей совокупности больных, включенных в обследование, продемонстрировали существенную зависимость тяжести депрессивных расстройств от содержания большинства категорий циркулирующих лейкоцитов и СОЭ. Это проявилось нарастанием балльных оценок ШДБ по мере увеличения общего содержания циркулирующих лейкоцитов ($r_s = 0,18$, $p = 0,04$), процентного и абсолютного содержания эозинофилов, ($r_s = 0,20$, $p = 0,03$; $r_s = 0,25$, $p = 0,005$ соответственно), процентного и абсолютного содержания палочкоядерных НГ ($r_s = 0,22$, $p = 0,02$; $r_s = 0,20$, $p = 0,02$ соответственно) и ускорением СОЭ ($r_s = 0,18$, $p = 0,04$). Процент содержания сегментоядерных НГ, наоборот, отрицательно коррелировал с общей тяжестью депрессивных расстройств ($r_s = -0,24$, $p = 0,008$). Справедливость этого положения подтвердилось в процессе сопоставительного анализа групп пациентов, сформированных в зависимости от тяжести депрессивных расстройств на фоне обострения ХВЗМП.

Заключение. В целом полученные данные свидетельствуют о том, что развитие среднетяжелой и тяжелой депрессии у больных с неосложненным обострением ХВЗМП связано с изменением лейкоцитарного состава крови (эозинофилией, нейтрофилезом, сдвигом лейкоцитарной формулы влево и нарастанием количества лимфоцитов).

ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМЫ «ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ – АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА» У БОЛЬНЫХ С ОБОСТРЕНИЕМ ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МАТКИ И ПРИДАТКОВ

Правдин Е.В.

Южно-Уральский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ, Челябинск, Россия

Введение. Хронические воспалительные заболевания матки и придатков (ХВЗМП) относятся к числу наиболее распространенных форм генитальной патологии женщин и нередко характеризуются тяжелым течением обострений с развитием многочисленных осложнений. Неблагоприятное протекание обострений ХВЗМП обусловлено эскалацией локального экссудативно-деструктивного процесса с тенденцией к его генерализации вплоть до развития гнойного перитонита и даже абдоминального сепсиса. Подобные состояния нередко сопровождаются оксидативным стрессом, приводящим к накоплению продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови. Высокий биодеструктивный потенциал продуктов ПОЛ и их хемоаттрактантная активность в отношении нейтрофильных гранулоцитов (НГ) свидетельствуют о важной роли перекисленных липидов в развитии вторичной

альтерации и поддержании лейкоцитарной инфильтрации в очаге воспаления.

Цель и задачи. Представленная работа посвящена изучению системы «Перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» (ПОЛ-АОЗ) у больных с обострением хронических воспалительных заболеваний матки и придатков.

Материалы и методы. Для исследования было отобрано 124 женщины репродуктивного возраста, экстренно поступивших в гинекологическое отделение с диагнозом обострение хронического эндометрита, сальпингоофорита. Для изучения лейкоцитарной инфильтрации в очаге воспаления проводили аспирационную биопсию эндометрия с помощью маточного шприца Брауна. В окрашенных гематоксилином и эозином микропрепаратах осуществлялся подсчет участков гнойного расплавления (некроза), количества экстравазкулярных нейтрофильных гранулоцитов (НГ), макрофагов, лимфоцитов и фибробластов на Им² среза. Дополнительно учитывали число плазматических клеток, выявляемых окраской по Браше, и объемную плотность коллагеновых волокон, окрашенных по ван Гизон. Уровень продуктов ПОЛ в сыворотке крови определяли спектрофотометрически с раздельной регистрацией липопероксидов в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта. Результаты выражали в единицах индексов окисления (е.и.о.) – E_{232}/E_{220} (относительное содержание диеновых конъюгатов; ДК) и E_{278}/E_{220} (уровень кетодиенов и сопряженных триенов; КД и СТ). Дополнительно проводилась оценка состояния антиоксидантной защиты (АОЗ), о котором судили по содержанию α -токоферола (α -ТК) и церулоплазмина (ЦП) в сыворотке крови. Статистический анализ выполнен с использованием пакета прикладных программ SPSS-17.0.

Результаты. Анализ исходного состояния больных с обострением ХВЗМП, включенных в исследование, выявил наличие очагов гнойного расплавления в биоптатах эндометрия, более чем 10-кратное превышение нормальных значений его нейтрофильной инфильтрации и заметное увеличение числа экстравазкулярных макрофагов (на 21-29%), лимфоцитов (на 16-18%) и фибробластов (на 33-45%). Одновременно в сыворотке крови пациенток наблюдалось повышение уровня продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) относительно средних значений нормы. Средние показатели содержания церулоплазмина (ЦП) в сыворотке крови укладывались в пределы нормального диапазона, а концентрация циркулирующего α -токоферола (α -ТК) соответствовала нижней границе нормы.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о формировании дисбаланса в системе «ПОЛ-АОЗ» крови на фоне лейкоцитарной инфильтрации эндометрия при обострении ХВЗМП. Корреляционный анализ продемонстрировал роль относительного дефицита АОЗ в накоплении циркулирующих продуктов ПОЛ. Это проявилось отрицательной корреляцией между концентрацией α -ТК и уровнем изопропанолрастворимых диеновых конъюгатов (ДК) ($r_s = -0,28$; $P = 0,002$).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-60094 мол_а_дк.

МАРКЕРЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ И МЕДИАТОРЫ ВОСПАЛЕНИЯ У НОВОРОЖДЕННЫХ ОТ ЖЕНЩИН С ГИПЕРТЕНЗИВНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ

Ремизова И.И., Чистякова Г.Н., Бычкова С.В., Устьянцева Л.С., Шамова К.П.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, Екатеринбург, Россия

Повышение артериального давления у беременных оказывает непосредственное влияние на формирование основных систем гомеостаза плода и новорожденного, а также в ряде случаев является фактором, программирующим развитие различных патологических состояний в последующие периоды жизни ребенка. В связи с этим, особый интерес представляет изучение влияния гипертензивных состояний в период беременности на функциональную активность эндотелия у новорожденных.

Цель. Оценить функциональную активность эндотелия и продукцию провоспалительных и регуляторных медиаторов у детей от женщин с хронической артериальной гипертензией и пациенток с преэклампсией тяжелой степени.

Материалы и методы. Проведено иммунологическое обследование 67 детей, рожденных от женщин с гипертензивными нарушениями, из них: 1-я группа – 31 новорожденный от женщин с хронической артериальной гипертензией (ХАГ), 2-я группа – 36 детей от пациенток с преэклампсией тяжелой степени. Группу сравнения (3-ю) составили 27 новорожденных от женщин, беременность которых протекала без признаков артериальной гипертензии и закончилась рождением живых доношенных детей. Методом иммуноферментного анализа определяли в пуповинной крови содержание провоспалительных и регуляторных цитокинов, (IL-1 β , TNF α , IL-4, IL-10), концентрацию С-реактивного протеина (CRP) и маркеров эндотелиальной дисфункции (эндотелина-1 – ЭТ-1, стабильных метаболитов оксида азота, гомоцистеина).

Результаты. При сравнительном анализе пуповинной крови, у детей, родившихся от женщин с ХАГ, уровень эндотелина-1 не отличался от показателей группы сравнения, а концентрация общего нитрита и нитрата была достоверно выше, содержание эндогенного NO²⁻ статистически значимо снижено. У новорожденных от женщин с преэклампсией, отмечалось повышение уровня эндотелина-1 (0,42 (0,14-0,56) против 0,11 (0,03-0,21) и 0,09 (0,07-0,3) фмоль/мл, $P_{1-2,2-3} = 0,0001$). Значимых различий в содержании стабильных метаболитов оксида азота, не выявлено (NO²⁻ – общий – 7,75 (5,95-11,48) против 11,69 (8,1-16,26) и 6,81 (5,56-10,08), $P_{1-3} = 0,010$; NO²⁻ – эндогенный – 0,6 (0,15-1,93) против 0,10 (0,04-0,99) и 0,6 (0,17-2,38) мкмоль/л в 1-й и 3-й группах, $P_{1-3} = 0,010$; NO³⁻ – 7,02 (5,06-10,42) против 10,58 (7,28-16,18) и 6,84 (6,01-10,3) мкмоль/л в 1-й и 3-й группах, $P_{1-2} = 0,04$, $P_{1-3} = 0,001$ в 1-й и 3-й группах).

Это свидетельствует об отсутствии положительного вазодилатационного эффекта на эндотелий сосудов, в отличие у детей 1-й группы, уровень эндотелина-1, у которых не отличался от показателей группы сравнения. Неоднозначно отметить, что концентрация гомоцистеина, одного из маркеров эндотелиальной дисфункции, у новорожденных 2-й группы статистически значимо превышала аналогичные параметры детей 1-й и 3-й групп (8,76 (5,59-11,07) против 7,49 (5,54-7,72) и 6,81 (2,47-7,54) мкмоль/л, P_{1-2} ,

2-3 = 0,010). Изменение показателей функциональной активности эндотелия, выявленное у новорожденных основных групп, сопровождалось нарушением синтеза провоспалительных цитокинов, что может быть обусловлено, как проникновением активированных моноцитов матери в кровотоки плода, так и развитием фетального воспалительного ответа. Повышение уровня TNF α , наблюдаемое у всех новорожденных от женщин с гипертензивной патологией (48,27 (24,81-49,58), 33,04 (24,2-39,9) против 21,41 (13,97-25,18) пг/мл в 3-й группе, $p = 0,0001$), сопровождалось при развитии у матери преэклампсии увеличением концентрации IL-1 β – 1,85 (0,93-3,44) против 0,86 (0,67-1,14) пг/мл, $P_{1-2,2-3} = 0,010$; CRP – 0,23 (0,10-0,25) против 0,10 (0,05-0,11) мг/л, $P_{1-2,2-3} = 0,010$; IL-4 – (1,74 (1,57-3,8) против 1,55 (1,48-4,86) пг/мл, $P_{1-2} = 0,010$, $P_{1-3} = 0,017$), IL-10 (4,53 (3,96-9,14) против 4,06 (3,82-4,92) пг/мл, $P_{2-3,1-2} = 0,010$). Полученные результаты указывают на возможный переход цитокинов через плаценту и проникновении в фетальную циркуляцию и наоборот. У детей 1-й группы значимых различий в содержании данных медиаторов не обнаружено. Выявленные у детей от женщин с преэклампсией положительные корреляционные связи между CRP и NO $^{2-}$ – эндогенным, а также эндотелином-1, отрицательные корреляции между гомоцистеином и NO $^{2-}$ – общим и NO $^{2-}$ – эндогенным, позволяют предположить, что одним из неблагоприятных факторов развития эндотелиопатии у этих детей является оксидативный стресс. Таким образом, повышение артериального давления во время беременности, способствует активации эндотелиальных клеток у плода, более выраженной при наличии у матери преэклампсии, что обуславливает высокую частоту развития перинатальной патологии у новорожденных. Определение уровня гомоцистеина и CRP в пуповинной крови может служить дополнительным прогностическим критерием развития патологических состояний у детей в раннем периоде адаптации.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ, ЕЕ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ И ИСХОДА У ГЛУБОКО-НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ

Сотникова Н.Ю., Турова А.В., Чаша Т.В.

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения РФ, Иваново, Россия

Введение. Проблема выхаживания глубоко-недоношенных новорожденных во многом определяется неэффективностью реакций врожденного иммунитета. Недоношенные дети крайне чувствительны к инфекции, что является важным фактором, определяющим их высокую смертность и заболеваемость. Все это требует разработанных критериев оценки состояния иммунной системы ребенка, позволяющих в самые первые дни жизни прогнозировать развитие инфекционно-воспалительной патологии (ИВП), степень ее тяжести и исход.

Цель. Выявить наиболее значимые иммунологические критерии ранней диагностики ИВП, прогностические критерии ее тяжести и исхода заболевания у глубоко-недоношенных новорожденных с очень низкой (ОНМТ от 500 до 1000 г) и экстремально-низкой (ЭНМТ менее 500 г) массой тела при рождении.

Материалы и методы. Проводилось обследование 74 недоношенных новорожденных 32 недель гестации

с ОНМТ и ЭНМТ. Из них 18 детей не имели ИВП, у 56 детей имели ИВП (27 – легкой/средней степени, 29 тяжелой степени, 50 – с локальной ИВП, 6 – с генерализованной ИВП). Выздоровели 38 детей, 10 детей умерли и у 8 детей развилась бронхо-легочная дисплазия (БЛД).

В 1-2 день жизни определяли: показатели общего анализа крови; сывороточный уровень прокальцитонина (ПКТ) и С-реактивного белка (СРБ). Методом проточной цитофлуориметрии в периферической крови в нейтрофильном (Нф) (CD14 $^{+}$ CD45 $^{+}$) и моноцитарном (Мо) (CD14 $^{+}$ CD45 $^{+}$) гейтах определяли относительное содержание TLR2 $^{+}$, TLR4 $^{+}$, CD16 $^{+}$, CD11b $^{+}$, HLA-DR $^{+}$ клеток, в макрофагальном гейте (Мф) (CD14 $^{+}$ CD45 $^{+}$) фарингеального аспирата – относительное содержание TLR-2 $^{+}$, TLR-4 $^{+}$ клеток.

Результаты. Для всех новорожденных с ИВП независимо от степени тяжести и исхода ИВП было характерным снижение уровня сегменто-ядерных Нф, TLR4 $^{+}$ Мо, TLR $^{+}$ и TLR4 $^{+}$ Мф, максимально выраженное в группе умерших детей, и не проявляющееся при генерализованной ИВП. В общей группе детей с ИВП отмечалось повышение уровня моноцитов, ПКТ и СРБ в крови, а также снижение содержания CD16 $^{+}$ Нф. При летальном исходе ИВП имелось снижение содержания HLA-DR $^{+}$ Мо, TLR4 $^{+}$ Мо относительно показателей выздоровевших детей. При развившейся впоследствии БЛД исследуемые показатели в периферической крови в наименьшей степени отличались от таковых в группе без ИВП. При тяжелой степени ИВП отмечались наибольшие средние значения содержания ПКТ и СРБ. Корреляционный анализ показал, что при благоприятном исходе ИВП имелось максимальное количество положительных связей между исследуемыми показателями (22) по сравнению с группой умерших детей (8). ROC-анализ выявил наиболее значимые критерии ранней диагностики ИВП у новорожденных с ОНМТ и ЭНМТ: относительное содержание TLR2 $^{+} \leq 75\%$ и TLR4 $^{+} \leq 73\%$ Мф в фарингеальном аспириате (AUC = 0,710 и AUC = 0,704), TLR4 $^{+} \leq 85\%$ Мо в крови (AUC = 0,704). К прогностическим критериям неблагоприятного (летального) исхода ИВП следует отнести содержание HLA-DR $^{+} \leq 75\%$ и TLR4 $^{+} \leq 72\%$ Мо в крови (AUC = 0,946 и AUC = 0,765).

Заключение. Таким образом, низкая патоген-распознающая способность фагоцитов периферической крови и фарингеального аспирата ассоциируется в группе глубоко-недоношенных новорожденных с развитием ИВП, что, вероятно, определяет нарушение каскада инфекционно-воспалительных реакций, направленных на блокирование жизнедеятельности, дезинтеграцию и удаление патогена из организма. Неблагоприятный исход ИВП ассоциируется с максимально выраженным угнетением этой функции периферических и фарингеальных фагоцитов.

РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК ЛЕЙОМИОМЫ МАТКИ

Сотникова Н.Ю., Воронин Д.Н., Кирсанов А.Н.

ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения РФ, Иваново, Россия

Введение. Лейомиома матки является одним из наиболее распространенных гинекологических заболеваний. Она представляет собой доброкачественную гормональ-

но-зависимую опухоль, которая развивается в результате трансформации клеток миометрия и состоит из гладкомышечных клеток и большого количества внеклеточного матрикса. Основную роль в механизмах развития и роста миоматозных узлов в настоящее время отводят половым стероидным гормонам, действие которых на клетки опухоли происходит опосредованно через аутокринную/паракринную индукцию выработки факторов роста, что сопровождается активацией различных внутриклеточных сигнальных путей. Проведение активирующих сигналов от половых стероидных гормонов и факторов роста в клетке происходит преимущественно через PI3K/Akt-mTOR и MAPK/ERK киназы. Однако особенности активации этих киназ в ткани миоматозных узлов различных размеров и с различной интенсивностью клеточной пролиферации не изучены. Особый интерес представляет уточнение характера регуляции активности TGF- β в ткани опухоли, поскольку этому фактору роста отводят ведущую роль в патогенезе лейомиомы матки.

Цель и задачи. Установить роль внутриклеточных PI3K/AKT и MAPK/ERK сигнальных путей в регуляции пролиферативной активности клеток лейомиомы матки и в синтезе в ткани опухоли трансформирующего фактора роста.

Материалы и методы. Был проведен анализ биоптатов ткани неизмененного миометрия ($n = 14$) и миоматозных узлов ($n = 18$), полученных в ходе проведения операции по удалению лейомиомы матки лапароскопическим доступом. Уровень экспрессии мРНК маркера клеточной пролиферации Ki67, Akt, ERK и двух изоформ TGF- β – TGF- β 1 и TGF- β 2 в ткани миометрия и миоматозных узлов оценивали методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени.

Результаты. Было установлено, что в миоматозных узлах усиливался синтез как Akt, так и ERK по сравнению с неизменённым миометрием. Однако при дифференцированном анализе данных в зависимости от размера опухоли и от уровня экспрессии Ki-67 мы не выявили достоверных различий в синтезе Akt. При этом экспрессия мРНК ERK была значительно повышена в миоматозных узлах больших размеров (6см и более) и достигала самых высоких значений в пролиферирующих Ki67-положительных узлах большого размера. Анализ данных, характеризующих синтез TGF- β в ткани опухоли показал, что в миоматозных узлах отмечалась лишь выраженная тенденция к усилению экспрессии мРНК как TGF-beta-1, так и TGF-beta-2 изоформ. Причем в узлах больших размеров синтез TGF-beta2 был достоверно повышен по сравнению с таковым в узлах меньших размеров. В тех же случаях, когда лейомиома характеризовалась усилением пролиферативной активности, мы отмечали повышение экспрессии в ткани опухоли мРНК обеих изученных изоформ TGF-beta. Известно, что трансформирующий фактор роста не только является стимулятором клеточной пролиферации и васкуляризации в ткани опухоли, но и обладает выраженным иммуносупрессорным действием. Усиление его выработки способствует формированию специфического микроокружения, благоприятного для роста опухолевых клеток. Следует отметить, что направленность синтеза ERK практически всегда совпадала с особенностями синтеза в опухоли TGF- β . Так, в узлах больших размеров мы наблюдали одновременное усиление экспрессии мРНК ERK и TGF- β 2, а в Ki67⁺ лейомиомах – повышение экспрессии мРНК ERK, TGF- β 1 и TGF- β 2. По-видимому, аутокринная петля TGF- β , реализующаяся через активацию MAPK/ERK сигнального пути, делает пролиферирующие

миоматозные узлы менее зависимыми от половых стероидных гормонов.

Заключение. Таким образом, усиление пролиферации клеток лейомиомы матки ассоциировано с активацией внутриклеточного MAPK/ERK сигнального пути и повышением синтеза TGF- β 1 и TGF- β 2 в ткани опухоли.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-05042.

НАСТУПЛЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ ПРЕДГЕСТАЦИОННОЙ АЛЛОИМУНИЗАЦИИ У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ ВЫКИДЫШЕМ И ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Степанова Е.О., Николаева М.А., Голубева Е.Л., Тетрашвили Н.К., Кречетова Л.В.

ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Иммуноцитотерапия (ИЦТ) – процедура иммунизации женщин лейкоцитами их полового партнера с целью индукции толерантности иммунной системы матери к отцовским антигенам плода – широко применяется как обоснованный и эффективный подход предотвращения потерь беременности у пациенток с привычным выкидышем в анамнезе. Принципиальную роль в развитии иммунологической толерантности играет цитокиновый профиль иммунокомпетентных клеток. В ряде исследований показано, что физиологическая беременность развивается на фоне противовоспалительных Th2-реакций. Иммуномодулирующий эффект ИЦТ также связан с Th2-поляризацией иммунного ответа. В то же время, согласно современным представлениям, имплантация и ранние стадии первого триместра физиологической беременности протекают на фоне провоспалительных Th1-реакций, а Th2-фон формируется позднее. Поэтому нельзя исключать, что провоспалительные реакции, формируемые при ИЦТ, могут препятствовать наступлению беременности. В связи с этим особую актуальность приобретает оценка влияния Th1/Th2-фона на вероятность наступления беременности при проведении предгестационной ИЦТ. Для изучения воздействия различных факторов на имплантацию и ранние стадии беременности широко используется такой показатель, как длительность ожидания наступления планируемой беременности (TTP, time to pregnancy).

Целью настоящего исследования явилась оценка взаимосвязи между сформированным в результате предгестационной ИЦТ балансом Th1- и Th2-цитокинов, продуцируемых клетками периферической крови женщин, и длительностью ожидания наступления беременности после ИЦТ.

В исследование было включено 37 супружеских пар с диагнозом привычный выкидыш. Всем женщинам перед планируемой беременностью проводилась иммунизация лейкоцитами их полового партнера (ИЦТ). После лечения регистрировали наступление беременности в течение 12 менструальных циклов. Продукцию Th1 (IFN γ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, TNF α , IL-1 β) и Th2 (IL-4, IL-5, IL-10) цитокинов после митогенной активации клеток цельной крови женщин с использованием наборов «Цитокин-Стимул-Бест» («Вектор-Бест») оценивали методом проточной цитофлуориметрии с помощью мультиплексного анализа с применением стандартных наборов FlowCytomix™ (eBioscience). Параметр TTP определяли

как количество менструальных циклов, прошедших с момента отмены негормональной контрацепции до наступления беременности.

Из 37 женщин у 27 (73,0%) беременность завершилась своевременным рождением живых детей. Из 27 женщин у 23 (85,2%) беременность наступила в течение 6 циклов после проведения ИЦТ ($ТТР \leq 6$). У 10 (27,0%) женщин после ИЦТ беременность не наступила.

Наступление желаемой беременности в течение 6 менструальных циклов ($ТТР \leq 6$) является одной из характеристик фертильности женщин. Отсутствие наступления беременности в течение 12 менструальных циклов рассматривается в качестве критерия бесплодия. Дизайн проведенного исследования обеспечил уникальную возможность оценки преемственности иммунологического фона в группе женщин с наступившей беременностью ($ТТР \leq 6$) и в группе с ненаступившей беременностью. По результатам ретроспективного анализа показатели цитокинового профиля в исследуемых группах до начала ИЦТ не различались. Однако в группе женщин с наступившей беременностью проведение ИЦТ привело к увеличению соотношений $IFN\gamma/IL-4$ в 2,1 раза ($p < 0,05$) и $TNF\alpha/IL-4$ в 2,4 раза ($p < 0,05$). В группе женщин, у которых беременность не наступила, баланс $Th1/Th2$ цитокинов при проведении ИЦТ не менялся. После проведения ИЦТ соотношение $IFN\gamma/IL-4$ в группе женщин с $ТТР \leq 6$ было в 2,1 раза выше, чем в группе с ненаступившей беременностью ($p = 0,006$). Соотношение $TNF\alpha/IL-4$ было также в 3,1 раза выше у пациенток с наступившей беременностью ($p = 0,007$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что соотношение провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, продуцируемых клетками периферической крови женщин, сформированное в результате предгестационной ИЦТ, может определять длительность ожидания наступления беременности после терапии привычного выкидыша. Терапевтический эффект двукратной предгестационной ИЦТ может наблюдаться лишь при достижении оптимального баланса $Th1/Th2$ -цитокинов после ИЦТ с преобладанием провоспалительного фона при имплантации и на ранних стадиях беременности.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ IL-10 ПРИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДАХ

Супрун С.В.¹, Наговицына Е.Б.¹, Кондрашова Е.А.², Морозова О.Н.³

¹ Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» — Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства, Хабаровск, Россия

² Краевое государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Перинатальный центр» министерства здравоохранения Хабаровского края, Хабаровск, Россия

³ Краевое государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Родильный дом № 2» министерства здравоохранения Хабаровского края, Хабаровск, Россия

Одной из основных причин преждевременных родов считается преждевременный разрыв плодных оболочек (ПРПО). Особую значимость эта проблема приобрела с изменением критериев живорожденности. Преждевременные роды имеют множество причин как чисто медицинских, так и медико-социальных, однако основным патогенетическим механизмом через который они реа-

лизуются является иммунный конфликт матери и плода. В связи с этим особое значение в предотвращении таких осложнений беременности имеет изучение состояния иммунитета у потенциальных матерей.

Основными коммуникативными молекулами иммунной системы являются интерлейкины, но именно поэтому изучение, и главное — интерпретация их уровней в сыворотке крови представляют большие трудности. Отсутствуют общепринятые нормы этих уровней не только для беременных женщин, но и в популяции вообще. Более того, сама возможность установления этих норм вызывает сомнения, т.к. сывороточные уровни интерлейкинов даже у одного человека в течение нескольких дней могут различаться на порядки. И это вполне естественно, поскольку основным местом действия этих коммуникативных молекул являются органы иммунной системы, и в сыворотке мы видим лишь транзиторные уровни вещества. Исходя из выше сказанного, мы считаем более перспективным изучение не сиюминутных, по сути транзиторных уровней интерлейкинов в сыворотке крови, а определение полиморфизмов их генов, которые определяют количество и функциональную полноценность молекул в течении всей жизни. При изучении иммуно-патогенеза преждевременных родов особый интерес вызвали генетические полиморфизмы $IL-10$ (G 1082A, C 592A, C 819T), который во многом определяет соотношение активностей Т-цитотоксической и В-клеточной системы иммунитета.

Нами обследовано 76 беременных женщин Приамурья: 1 группа ($n = 32$) — с ПРПО на сроке гестации 26-32 недели, 2 группа ($n = 44$) — закончившие беременность в срок. Использовался метод клинической молекулярной биологии и диагностической генетики — полимеразной цепной реакции (Real-time PCR).

Сравнительный анализ распространенности аллелей полиморфизмов гена $IL-10$ в 3-х видах мутаций (G 1082A, C 592A, C 819T) показал достоверные отличия частотных характеристик нормальных и мутантных генотипов в наблюдаемых группах пациенток. Из полученных результатов следует, что у беременных с ПРПО в 1,5 раза чаще встречались мутации C 592A, в 3,3 раза — C 819T, как в гетеро-, так и гомозиготных вариантах. Третий вид мутации $IL-10$ (G 1082A) при ПРПО отмечен на 17,9% больше, чем в сравниваемой группе беременных, преимущественно за счет увеличения числа гомозиготных вариантов. У женщин группы сравнения процент беременных с отсутствием всех изучаемых нами мутаций гена $IL-10$ в 4,7 раза больше, чем у пациенток с ПРПО (29,5% и 6,3% соответственно).

Таким образом, проведенное исследование показали, что полиморфизмы гена $IL10$ (G 1082A, C 592A, C 819T) можно считать предиктивным маркером ПРПО и фактором риска преждевременных родов. Его выявление позволит целенаправленно проводить профилактические мероприятия и минимизировать возможность рождения недоношенных детей.

РАЗЛИЧИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ВОЛОС У ЖЕНЩИН В РЕПРОДУКТИВНОМ И РАННЕМ ПОСТМЕНОПАУЗНОМ ПЕРИОДАХ

Тузанкина И.А., Санникова О.Ю.

ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН, Екатеринбург, Россия

Существуют достаточно разноречивые и разрозненные сведения о возможностях иммунной системы адап-

тироваться к изменяющимся условиям внутренней среды, таким как менопауза, а также о характере влияния микроэлементов на организм женщины в критические периоды онтогенеза.

Состояние среды обитания человека взаимосвязано с показателями здоровья и качества жизни. Воздействие микроэлементов на молекулярном, тканевом, клеточном и системном уровне во многом зависит от концентрации и длительности экспозиции токсического вещества, комбинации его с другими факторами, предшествующего состояния здоровья человека и его иммунологических функций.

Резюме. Проведен сравнительный анализ микроэлементного состава волос женщин-жителей г. Екатеринбург в репродуктивном периоде ($n = 25$) и ранней постменопаузе ($n = 38$). Определены концентрации титана, ванадия, циркония, ртути, свинца, висмута, мышьяка, стронция, цинка, галлия, селена, брома, иттрия, марганца, никеля, меди, рубидия, железа, кобальта. Значимые различия химического состава волос женщин, наряду со старением организма и дефицитом эстрогенов могут свидетельствовать об эффекте экотоксикантов как факторов, способствующих формированию иммунопатологических процессов и клиническому проявлению климактерических расстройств.

Материалы и методы. Проведен сравнительный анализ микроэлементного состава волос женщин-жителей г. Екатеринбурга в разных возрастных группах.

В исследовании, на условиях добровольного информированного согласия, было включено 38 женщин в ранней постменопаузе (медиана возраста составила 53,0 года ($25\div 75\% - 51,0\div 55,0$ лет), обратившихся за специализированной врачебной помощью в течение первых трех лет после наступления менопаузы (медиана длительности менопаузы составила 2,8 года ($25\div 75\% 1$ и 4 года соответственно), и 25 женщин репродуктивного возраста (медиана возраста была 23,0 года ($25\div 75\% - 19,0\div 25,0$ лет).

Рентгенфлюоресцентным методом с использованием синхротронного излучения определяли концентрацию в волосах 19 химических элементов с прооксидантной и антиоксидантной активностью. Была определена концентрация титана, ванадия, циркония, ртути, свинца, висмута, мышьяка, стронция, цинка, галлия, селена, брома, иттрия, марганца, никеля, меди, рубидия, железа, кобальта. Волосы брали с разных участков скальпа головы с помощью ножниц из нержавеющей стали, в 2-х см от корня, не ранее, чем через 6 месяцев от момента последнего окрашивания химическими красителями.

Распределение данных в группах не соответствовало нормальному типу, поэтому для характеристики групп и различий между ними в каждой выборке рассчитывали медианы, 25-й и 75-й процентиля, а в дальнейших расчетах использовали непараметрические методы статистики: тест Манна-Уитни.

Результаты. В данном исследовании было выявлено, что для женщин репродуктивного возраста характерно значимо большее содержание цинка и меньшее содержание селена в волосах.

Интервалы нормальных значений уровней ванадия, марганца, железа, кобальта и ртути превышают верхние пределы референтных по данным ВОЗ, 1996 в обеих возрастных группах, а титана даже в десятки раз, что вероятно обусловлено проживанием участниц исследования в регионе с повышенной техногенной нагрузкой.

Ранний постменопаузальный период характеризовался увеличением содержания ванадия, ртути, висмута, мышьяка, галлия и брома в волосах, тогда как репродуктивный

период — повышением в данном биологическом субстрате циркония, свинца, стронция, титана, никеля и иттрия.

Концентрации железа, марганца, кобальта, меди и рубидия в исследуемых группах не различались.

Ограничения исследования: малый объем смещенной выборки, расценить его возможно как пилотное, в дальнейшем возможно запланировать и выполнить расчет статистически значимой выборки из популяции женщин Екатеринбург.

Работа выполнена в соответствии с программой фундаментальных научных исследований в Институте иммунологии и физиологии УрО РАН, № гос. регистрации — 01201352044.

УРОВЕНЬ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ЗАЩИТЫ И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У ЖЕНЩИН С ГИПЕРАНДРОГЕНИЕЙ ЯИЧНИКОВОЙ ФОРМЫ

Хайдарова Ф.А., Музафарова С.А., Камалов З.С.

Республиканский научный центр иммунологии
Министерства здравоохранения РУз, Ташкент,
Узбекистан

Адекватный иммунный ответ обеспечивается определенным гормональным гомеостазом, и любые его изменения приводят, соответственно, к нарушению нормальной иммунологической реактивности.

Целью исследования явилось изучение некоторых параметров иммунной системы у женщин с гиперандрогенией яичниковой формы. Обследовано 56 женщин репродуктивного возраста. Из них у 32 женщин диагностирована гиперандрогения яичниковой формы. 24 практически здоровых женщин составили контрольную группу. Иммунологические исследования проводили изучением уровня С-реактивного белка (СРБ), С3 компонента комплемента, TNF α , IL-1 β и IL-6 методом ИФА.

Важную роль в выполнении специфических функций макрофагов играют рецепторы для С3-фракции комплемента, определяют иммунную адгезию и фагоцитоз, способствуют секреции лизосомальных энзимов. Выявленный в концентрации $48,5\pm 2,7$ нг/мл уровень С3 компонента комплемента у женщин контрольной группы оказался в 1,6 раза ниже, чем в группе женщин с гиперандрогенией ($P < 0,01$). Такое превышение уровня С3 компонента комплемента определяет его иммунорегуляторную роль, проявляющуюся в усилении и выделении хемоаттрактантов, интерлейкинов и др. Изучение уровня С-реактивного белка (СРБ) показало повышенный его уровень в 3,6 раза у женщин основной группы ($P < 0,001$). Такое действие С-реактивного белка (СРБ) может быть связано с тем, что он ингибирует активность фосфолипаз, в том числе внутриклеточной фосфолипазы А2, участвующей в обмене арахидоновой кислоты, которая является субстратом для образования биологически активных веществ.

Гонадотропины находятся во взаимосвязи с секрецией цитокинов. Уровень и количественное соотношение цитокинов меняется в зависимости от фазы и состояния фолликулогенеза. Было выявлено, что у женщин с гиперандрогенией яичниковой формы уровень TNF α выше в 2 с лишним раза данных контрольной группы ($53,8\pm 2,2$ пг/мл против $25,7\pm 1,3$ пг/мл в контроле, $P < 0,01$), уровень IL-1 β выше значений контрольной группы в 1,7 раза ($P < 0,01$), а синтез IL-6 — выше в 2,5 раза ($P < 0,01$).

Таким образом, иммунологические аспекты репродуктивного здоровья — сложная загадка. Однако, роль

иммунных факторов неоспорима. Результаты настоящего исследования показали, что одной из функционально-метаболических систем женского организма, способной быстро и универсально реагировать на разные эндогенные влияния, является иммунная система.

ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНОГО ЭФФЕКТА ВВИГ С ЦЕЛЬЮ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Чепанов С.В.¹, Соколов Д.И.^{1,2}, Шляхтенко Т.Н.¹,
Пустьгина А.В.¹, Сельков С.А.¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия
² ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Иммуноглобулины для внутривенного введения (ВВИГ) представляют собой полиспецифические иммуноглобулины преимущественно IgG класса, изготовленные из плазмы здоровых доноров. Использование ВВИГ в акушерской практике является наиболее современным и эффективным методом терапии невынашивания беременности, связанного с развитием тромбофилических состояний, в частности антифосфолипидного синдрома (АФС). В то же время следует учитывать, что эти препараты имеют высокую стоимость и далеко не всегда могут оказывать требуемый терапевтический эффект. Антифосфолипидный синдром на сегодняшний день не включен в список показаний к применению иммуноглобулинов для внутривенного введения. Использование ВВИГ при АФС носит рекомендательный характер.

Цель. Разработка метода прогнозирования клинической эффективности использования ВВИГ у женщин с привычным невынашиванием беременности на фоне АФС.

Материалы и методы. В исследование было включено 109 беременных женщин, из которых 42 женщины с диагнозом привычное невынашивание на фоне АФС, 36 женщин с диагнозом привычное невынашивание без АФС и 31 женщина с физиологически протекающей беременностью. У пациенток забирали кровь из локтевой вены, центрифугировали, сыворотки отбирали в стерильных условиях. В работе использовали эндотелиальные клетки линии EA.Hy926, воспроизводящие все основные морфологические, фенотипические и функциональные характеристики, присущие эндотелию. В исследовании применяли препарат иммуноглобулинов для внутривенного введения «Интрадекс» (Biotest, Германия).

Результаты. Установлено снижение цитопатического влияния сывороток крови в отношении клеток эндотелия, после обработки их ВВИГ, по сравнению с эндотелиальными клетками необработанными ВВИГ. У женщин с привычным невынашиванием беременности без АФС на $71,5\% \pm 16,2$, у женщин с привычным невынашиванием беременности и АФС на $70,1\% \pm 24,3$. С целью формализации полученных данных был предложен цитопротективный коэффициент (ЦК), который показывает, насколько снизилась цитотоксичность сыворотки периферической крови в отношении эндотелиальных клеток после их обработки ВВИГ по сравнению с интактными клетками. Если ЦК составлял более 55%, то он оценивался как поло-

жительный — ВВИГ способны оказать защитное действие в отношении клеток эндотелия от цитопатических факторов содержащихся в сыворотке крови. Если ЦК был менее 55%, то ВВИГ в меньшей степени оказывают защитное действие в отношении клеток эндотелия. При сопоставлении данных расчета ЦК и исходах беременности у женщин с АФС и применением ВВИГ установлено, что ЦК позволяет прогнозировать клиническую эффективность применения ВВИГ. Так у женщин с ЦК более 55%, беременность заканчивалась срочными родами в 88% случаях, преждевременными родами в 22% случаях. У женщин с ЦК менее 55%, беременность заканчивалась срочными родами в 25% случаях, преждевременными родами в 75% случаях.

Выводы. Разработанный метод лабораторной оценки эндотелиопротективного эффекта ВВИГ с определением цитопротективного коэффициента, позволяет прогнозировать клиническую эффективность их применения у женщин с привычным невынашиванием беременности и АФС.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНДОТЕЛИЯ У РОЖЕНИЦ С ХРОНИЧЕСКОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И ПАЦИЕНТОК С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Бычкова С.В.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения РФ, Екатеринбург, Россия

Артериальная гипертензия в период беременности является одной из главных причин заболеваемости и смертности матери, плода и новорожденного, а также отрицательно влияет на отдаленный прогноз для женщин и дальнейшее развитие детей. Несмотря на повышенный интерес исследователей к гипертензивным состояниям при беременности, ожидаемых успехов в прогнозировании, профилактике и лечении этих патологических состояний не достигнуто.

Цель. Оценить функциональное состояние эндотелия и продукцию провоспалительных и регуляторных медиаторов у женщин с хронической артериальной гипертензией и пациенток с преэклампсией.

Материалы и методы. Проведено иммунологическое исследование 67 рожениц с гипертензивными нарушениями, из них: 1-я группа — 31 женщина с хронической артериальной гипертензией (ХАГ), 2-я группа — 36 пациенток с преэклампсией тяжелой степени. Группу сравнения (3-ю) составили 27 женщин, беременность которых протекала без признаков артериальной гипертензии и закончилась рождением живых доношенных детей. Проводили изучение соматического, акушерско-гинекологического анамнеза матерей, особенностей течения настоящей беременности, результатов иммунологического обследования женщин накануне родов. Методом иммуноферментного анализа определяли содержание провоспалительных и регуляторных цитокинов (IL-1 β , TNF α , IL-4, IL-10), концентрацию С-реактивного протеина (CRP) и маркеров эндотелиальной дисфункции (эндотелина-1 — ЭТ-1, стабильных метаболитов оксида азота, гомоцистеина).

Результаты. Установлено, что уровень эндотелина-1, обладающего высокой вазоконстрикторной активностью, в группе женщин с ХАГ был в 1,8 раз ниже, а у пациенток с преэклампсией в 6,1 раза превышал показатели группы сравнения (0,05 (0,0-0,93) и 0,55 (0,22-1,57) против 0,09 (0,0-0,27) фмоль/мл, соответственно, $p_{1-2, 2-3} = 0,003$). Повышенное содержание общего нитрита (NO²⁻) и нитрата

(NO³⁻) отмечалось у всех женщин с гипертензионными нарушениями (11,95 (8,69-13,71), 11,79 (8,73-15,37) и 9,75 (8,73-11,28) мкмоль/л, $p_{1-3, 2-3} = 0,010$); увеличение концентрации эндогенного нитрита регистрировалось при наличии у женщины преэклампсии (0,9 (0,88-2,98) против 0,11 (0,09-1,11) и 0,35 (0,14-1,48) мкмоль/л в 1-й и 3-й группах, $P_{1-2, 2-3} = 0,010$), что свидетельствует о включении защитных механизмов, ограничивающих вазоконстрикцию при гипертензивных состояниях. Одним из основных маркеров эндотелиальной дисфункции и оксидативного стресса является гомоцистеин. Гипергомоцистеинемия может нарушать формирование плацентарных сосудов и приводить к нарушению целостности эндотелия с последующим развитием преэклампсии. Исследования показали, что у женщин с преэклампсией наблюдалось увеличение концентрации гомоцистеина 11,48 (7,45-15,28) против 9,05 (7,8-10,2) и 7,5 (2,83-10,06) мкмоль/л в 1-й и 3-й группах ($P_{1-2, 2-3} = 0,010$). Другим активатором эндотелиальных клеток принято считать изменение цитокинового окружения (TNF α , IL-1 β , IFN γ), а также увеличение продукции остеофазных белков. Повышение уровня эндотелина-1 у женщин 1-й и 2-й групп, сопровождалось статистически значимым увеличением содержания TNF α : 36,45 (24,7-56,47) и 29,52 (25,83-50,5) против 23,11 (15,67-30,2) пг/мл, $P_{1-3, 2-3} = 0,0001$. При наличии у женщины преэклампсии наблюдалось возрастание кон-

центрации С-реактивного белка: 7,2 (7,0-9,1) против 4,6 (3,2-7,0) и 4,8 (4,28-6,73) мг/л и уровня IL-10 – 6,38 (4,38-20,68) против 4,31 (4,17-4,54) и 4,37 (4,02-4,55) пг/мл, $P_{2-3, 1-2} = 0,010$. Увеличение концентрации CRP, выявленной у женщин с преэклампсией может способствовать повышению артериального давления, тормозя защитную реакцию эндотелия на воспалительный процесс. При проведении корреляционного анализа у всех женщин с гипертензивными нарушениями установлены прямые корреляционные связи между уровнем ЭТ-1 и концентрацией TNF α ($r = 0,37$ и $r = 0,52$ при $p = 0,001$), ЭТ-1 и CRP ($r = 0,35$ и $r = 0,38$ при $p = 0,01$), содержанием гомоцистеина и CRP ($r = 0,79$ и $r = 0,67$ при $p = 0,001$), что косвенно свидетельствует о патогенетической роли воспалительных медиаторов в формировании эндотелиальной дисфункции. Таким образом, развитие преэклампсии в период беременности, характеризуется нарушением дисбаланса вазоконстрикторов и вазодилаторов, а также выраженной активацией эндотелиальных клеток, ассоциированной с повышением уровня гомоцистеина и медиаторов воспаления (TNF α , IL-10 и CRP) что возможно связано с изначально повышенным артериальным давлением и дисфункцией эндотелия не диагностированной у этих женщин до беременности, в отличие от пациенток с ХАГ, функции эндотелия которых с находятся под контролем постоянного лечения.