

ИММУНОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИИ

МАРКЕРЫ НАРУШЕНИЯ РЕГУЛЯЦИИ АНГИОГЕНЕЗА ПРИ УГРОЗЕ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ В ПЕРВОМ ТРИМЕСТРЕ

Газиева И.А., Чистякова Г.Н.

ФГУ «УНИИ охраны материнства и младенчества
Росздрава», г. Екатеринбург, Россия

Введение. Иммуностимуляция во время беременности ведет к продукции цитокинов, инициирующих в первую очередь процессы неоваскуляризации и кровоснабжения, необходимые для успешной имплантации и плацентации. Нарушение адекватной перестройки цитокинового баланса может служить причиной различных осложнений гестационного процесса и преждевременного прерывания беременности. Так, переключение на Th1 тип иммунного ответа в ранние сроки беременности приводит к неполноценной инвазии ворсин трофобласта в стенку матки, нарушению гестационной перестройки спиральных артерий, в том числе сохранению мышечного слоя, неполной замене его фибриноидом. Это способствует сохранению спонтанности спиральных артерий отвечать вазоконстрикцией на сосудосуживающие стимулы, что ведет к локальной ишемии хориона и является пусковым моментом в развитии эндотелиальной дисфункции в фетоплацентарном комплексе, способствующей нарушению функции плаценты. Известно, что эндотелий является ключевым звеном в процессах ангиогенеза. Несмотря на то, что в настоящее время сложились достаточно стройные представления о механизмах ангиогенеза, последовательности событий, ультраструктуре вновь образующихся сосудов, регуляции этого процесса остается мало изученной.

Цель: оценить содержание цитокинов, являющихся регуляторами процессов ангиогенеза, в первом триместре беременности, осложненной угрозой прерывания.

Материалы и методы. Проведено иммунологическое исследование периферической крови 23 женщин с угрозой прерывания беременности в сроке 4-12 недель. Угрозу прерывания констатировали по клиническим признакам и данным УЗИ-исследования. Группу сравнения составили 20 женщин, беременность которых протекала физиологически. Концентрацию цитокинов IFN γ , IFN α , IL-2, IL-6, IL-8 определяли методом ИФА с использованием тест-систем «Cytimmune» (США). Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows 5.5», достоверность различий между группами оценивали с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни.

Основные результаты. Наиболее выраженные изменения выявлены в содержании интерферонов. Так, концентрация IFN γ в основной группе превышала аналогичный показатель группы сравнения в 10,7 раза (127,6 \pm 17,45 против 11,9 \pm 1,58 пг/мл), а содержание IFN α – в 32 раза (553,9 \pm 76,3 против 17,23 \pm 1,42 пг/мл). По данным литературы, избыточная продукция интерферонов угнетает секрецию ростовых факторов, необходимых для роста и дифференцировки трофоб-

ласта. Уровень IL-6 повышался при осложненной беременности в 2,9 раза (31,31 \pm 2,38 против 10,95 \pm 1,52 пг/мл), IL-8 – в 2,5 раза (44,97 \pm 3,19 против 17,8 \pm 0,85 пг/мл). В то же время содержание IL-2 снижалось при угрозе прерывания в 1,3 раза по сравнению с уровнем данного цитокина при неосложненной беременности (278,26 \pm 45,3 против 348,92 \pm 37,06 пг/мл). Анализ проведенных исследований показал, что угроза прерывания беременности в первом триместре ассоциирована с усиленной выработкой интерферонов, которые обладают выраженными ангиостатическими свойствами и оказывают как прямое, так и опосредованное антипролиферативное действие через угнетение миграции, пролиферации и дифференцировки стимулированных факторами роста эндотелиальных клеток. Кроме того, повышение уровня провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-8, выступающих в качестве стимуляторов процесса ангиогенеза, было зафиксировано на фоне дефицита продукции IL-2, который является мощным эндогенным иммуномодулятором, направляющим активированную клетку по пути пролиферации.

Заключение. Оценка соотношения факторов, непосредственно контролирующих процессы ангиогенеза, показала, что угроза прерывания беременности в первом триместре сопровождается дисбалансом выработки про- и антиангиогенных стимулов. Усиленный синтез медиаторов межклеточного взаимодействия, обладающих прямым ангиостатическим потенциалом, может приводить к нарушению процессов ангиогенеза и подавлять неоваскуляризацию формирующейся фетоплацентарной единицы, что в свою очередь приводит в дальнейшем к развитию различной акушерской патологии (фетоплацентарной недостаточности, гестоза, синдрома задержки развития плода). Таким образом, прерыванию беременности в раннем сроке может способствовать не только переключение на иммунный ответ Th1-типа, но и нарушение процессов инвазии трофобласта и плацентации, связанное с гиперпродукцией интерферонов и недостаточной выработкой гемопоэтических факторов роста.

РОЛЬ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ПАТОЛОГИИ БЕРЕМЕННОСТИ

Ганковская Л.В.¹, Бахарева И.В.¹, Ковальчук Л.В.¹, Романовская В.В.¹, Ганковская О.А.²

¹ ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, Москва, Россия

² ГУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН, Москва, Россия

Урогенитальная инфекция является одной из наиболее частых причин, приводящих к внутриутробному инфицированию плода, следствием чего является перинатальная и младенческая заболеваемость и гибель. В последние годы активно изучаются механизмы функционирования системы врожденного иммунитета, ее роль в развитии ответа на различные патогены при урогени-

тальной инфекции. Рецепторы врожденного иммунитета (Toll-подобные рецепторы) распознают консервативные молекулярные образы различных патогенов, включая вирусы, бактерии, грибы и запускают выработку цитокинов, противомикробных пептидов и кислородных радикалов. В настоящее время появляются работы о роли TLR в эпителии слизистых женской половой системы. Доказана экспрессия Toll-like рецепторов в эпителии эндометрия и эпителиальных клетках нижних отделов репродуктивной системы. При патологии беременности особое внимание уделяется TLR2 (распознающему пептидогликаны, липотейхоевые кислоты, зимозан грибов) и TLR4 (распознающему липополисахариды).

Целью нашей работы явилось изучение изменения экспрессии TLR2 и TLR4 клетками слизистой цервикального канала и клетками трофобласта беременных с урогенитальной инфекцией.

Было обследовано 56 беременных (конец второго – начало третьего триместра, 19-31 год), из них 34 с урогенитальной инфекцией и 22 здоровых беременных контрольной группы, находящихся на базе родильного отделения ГБ № 8. РНК из клеток трофобласта и клеток слизистой цервикального канала выделяли с помощью метода кислото-фенольной экстракции. Методами обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в реальном времени был определен уровень экспрессии TLR2 и TLR4.

В результате в клетках слизистой цервикального канала здоровых беременных была определена экспрессия TLR2 и TLR4, причем TLR4 экспрессировался в большей степени. При урогенитальной инфекции экспрессия TLR2 возрастала на порядок, в то время как TLR4 – в 3,5 раза. Увеличение уровня экспрессии TLR в цервикальном канале коррелировало с выявлением стафилококка, микоплазмы, вируса простого герпеса и цитомегаловируса и повышенной выработкой провоспалительных цитокинов ИЛ-8, ИЛ-6, ИФН β .

Уровень экспрессии TLR4 в клетках трофобласта увеличивается в несколько раз при УГИ по сравнению со здоровыми беременными. В работах зарубежных авторов показано, что взаимодействие TLR4 с патогеном индуцирует выработку ФНО α , который запускает апоптоз клеток трофобласта. Этот процесс наблюдается при многих осложнениях беременности.

Таким образом, гиперактивация факторов врожденного иммунитета в ряде случаев может являться одной из причин патологии беременности и возникновения нарушений развития плода.

АНАЛИЗ ЦИТОКИНО-ГОРМОНАЛЬНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ У ДЕТЕЙ С ПЕРИНАТАЛЬНЫМ ГИПОКСИЧЕСКИМ ПОВРЕЖДЕНИЕМ ЦНС

Громада Н.Е.

ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Росздрава, г. Екатеринбург, Россия

Введение. Роль иммунорегуляторных процессов в осуществлении гуморальных реакций при повреждении головного мозга в результате перинатального гипоксического повреждения ЦНС мало исследована. Регуляторные медиаторы (цитокины) оказывают как стимулирующее,

так и подавляющее влияние на продукцию эндокринных медиаторов.

Цель: исследовать содержание про- и противовоспалительных цитокинов и концентрацию гормонов (кортизола) у новорожденных детей с тяжелым поражением ЦНС в остром периоде.

Материалы и методы. Нами было обследовано 36 доношенных детей на 1-е, 3-и-5-е, 7-е сут жизни с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС (1-я группа – 18 детей) и с интравентрикулярными кровоизлияниями разной степени тяжести (2-я группа – 18 детей). Все дети имели клинические признаки тяжелого поражения ЦНС, которое было диагностировано на основании данных анамнеза, неврологического статуса и нейросонографического исследования в динамике. Основные клинические признаки были следующие: угнетение ЦНС, кома, судороги. Необходимость проведения ИВЛ с первых ч жизни была у 80,5% детей. 32 ребенка без неврологической патологии входили в группу сравнения. Из исследования исключены дети с врожденными пороками развития, инфекционно-воспалительными заболеваниями, недоношенные. Цитокиновый профиль (IL-1 β , IL-4, TNF α , IL-6) в сыворотке крови определяли методом ИФА с использованием наборов (ООО «Протеиновый контур», СПб) и уровень кортизола методом ИФА (Cortisol, Human GmbH).

Результаты. У детей 1-й и 2-й групп достоверно ($p < 0,001$) отмечался высокий уровень цитокинов IL-1 β – соответственно ($62,5 \pm 1,8$ и $89,3 \pm 2,1$), TNF α – ($122,8 \pm 1,95$ и $182,1 \pm 1,4$), IL-4 – ($210,4 \pm 1,11$ и $260,6 \pm 1,5$) и снижение IL-6 – ($10,5 \pm 0,9$ и $20,5 \pm 0,69$) в течение острого периода (1-е-7-е сутки). Наблюдались высокие концентрации кортизола в крови на 1-е-3-и и сутки, особенно во 2-й группе – ($1401,1 \pm 83,61$ нмоль/л), ($p < 0,001$). У детей обеих групп на фоне высоких уровней цитокинов IL-1 β , TNF α , IL-4, концентрация кортизола снижалась к 5-м суткам и вновь повышалась после 7-х суток жизни.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что на фоне тяжелой перинатальной гипоксии активируется стресс-система с рилизинг-гормональными эффектами цитокинов.

ОСОБЕННОСТИ СЕКРЕЦИИ ЦИТОКИНОВ У БЕРЕМЕННЫХ С ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО ДВС-СИНДРОМА

Златогорская С.Л.

Самарский государственный медицинский университет, г. Самара, Россия

Введение. Нарушение функционирования маточно-плацентарного комплекса сопровождается активацией системы гемостаза и иммунитета на локальном уровне. Образование тромбов в микроциркуляторном русле обуславливают формирование гипоксии с последующей ишемией плаценты. Создается порочный круг, вызывающий формирование хронической фетоплацентарной недостаточности с одной стороны и диссеминированного внутрисосудистого свертывания с другой. Результатом взаимообусловленной патологии является угроза преждевременных родов, отслойка нормально расположенной

плаценты, синдром внутриутробной задержки развития плода, определяющей основную долю перинатальных потерь. Системе цитокинов отводится важная роль в прогрессировании ДВС-синдрома, развитии системной и локальной воспалительной реакции.

Цель исследования: определение концентраций про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке и секрете цервикального канала у беременных женщин с признаками хронического ДВС-синдрома.

Материалы и методы. Проведено обследование 50 беременных женщин в возрасте 22-28 лет в III триместре. Критериями отбора служили лабораторные признаки хронического ДВС-синдрома. Было сформировано две группы: женщины с первой беременностью, осложненной хронической фетоплацентарной недостаточностью (хФПН) и с хФПН, имеющих в анамнезе невынашивание беременности. Контрольную группу составили 15 беременных женщин с физиологическим течением беременности в III триместре в возрасте 20-25 лет без осложненного акушерско-гинекологического анамнеза. Оценка профиля цитокинов проводилась с использованием тест-систем ООО «Цитокин» (СПб). Определялась концентрация провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-1RA, IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , IFN γ в сыворотке крови и секрете цервикального канала.

Основные результаты. Исследование профиля цитокинов в сыворотке беременных с хФПН выявило преобладание цитокинов Th1-профиля разной степени выраженности в зависимости от степени компенсации фетоплацентарной недостаточности, дисбаланс в продукции про- и противовоспалительных цитокинов на местном и системном уровне. При хФПН отмечается достоверное увеличение концентрации IL-6 в сыворотке крови в сравнении с физиологически протекающей беременностью (38,4 \pm 5,64 пг/мл, и 11,0 \pm 0,64 пг/мл соответственно), наиболее выраженное при хФПН, развивающейся на фоне гестоза (до 68,0 пг/мл). Различий в концентрациях IL-1 β , IL-1RA в секрете цервикального канала у беременных с хФПН не выявлено. Для компенсированной формы хФПН отмечено увеличение TNF α в сыворотке крови и секрете цервикального канала (53,3 \pm 7,32 пг/мл и 246,4 \pm 35,76 пг/мл). В секрете цервикального канала у беременных с декомпенсированной формой хФПН и наличии синдрома задержки развития плода отмечено увеличение концентрации TNF α , IL-6, IFN γ (до 115,0 пг/мл, 235,0 пг/мл, 334,0 пг/мл соответственно) в сравнении с другими группами пациенток. При появлении в секрете цервикального канала лохий, уровень TNF α повышается в 1,5 раза, для IL-6 и IFN γ – в 1,2 и 1,6 раз соответственно, с момента появления угрозы прерывания беременности. Для системы гемостаза беременных с хФПН с невынашиванием в анамнезе характерно выраженное снижение активности естественных антикоагулянтов AT III (до 78,0%) и протеина С (до 0,74) в сравнении с аналогичными гемостазиологическими параметрами у беременных с физиологически протекающей беременностью. Достоверных различий в уровне тромбемии в группах с хФПН обнаружен не был. Волчаночный антикоагулянт у данных пациентов не выявлен.

Выводы. Отмеченное увеличение провоспалительных цитокинов на системном и местном уровне коррелирует со степенью угнетения системы протеина С при хроническом ДВС-синдроме. Полученные данные со-

гласуются с ключевой ролью протеина С в регуляции гемостаза и развития воспалительной реакции. Критерии хронического ДВС-синдрома настоящего времени четко не очерчены. Его особенностью является длительное волнообразное течение, выраженная дисфункция органов-мишеней и формирование тромбофилического статуса. Выявленный дисбаланс в продукции про- и противовоспалительных цитокинов на местном и системном уровне с учетом гемостазиологических параметров позволяет оценить характер активации системы гемостаза, прогнозировать развитие хронической формы ДВС-синдрома, протекающей без выраженной клинической картины.

ЭКСПРЕССИЯ РОСТОВЫХ ФАКТОРОВ В ГЕТЕРОТОПИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИИ БОЛЬНЫХ НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

Кондратьева П.Г.², Колобов А.В.¹, Соколов Д.И.¹,
Селютин А.В.¹, Ярмолинская М.И.¹, Гагарина А.В.¹,
Ниаури Д.А.², Кветной И.М.¹, Сельков С.А.¹

¹ ГУ НИИ акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта РАМН

² СПбГУ, медицинский факультет, кафедра акушерства
и гинекологии, Санкт-Петербург

Особенности развития наружного генитального эндометриоза (НГЭ) позволяют рассматривать это заболевание в ряду опухолевидных процессов. Активность пролиферации в эндометриодном очаге во многом зависит от присутствия ростовых факторов, их соотношения, интенсивности секреции и локальных концентраций.

Целью настоящего исследования было изучение экспрессии ростовых факторов VEGF и bFGF в ткани эндометриодных гетеротопий.

Были обследованы 16 женщин репродуктивного возраста с НГЭ I-II степени тяжести. Диагноз НГЭ установлен на основании эндоскопических данных и по результатам гистологического исследования. Степень тяжести НГЭ оценивалась по классификации R-AFS. Забор ткани эктопического эндометрия проводили в процессе проведения лапароскопических операций и использовали для последующего иммуногистохимического анализа экспрессии VEGF и bFGF. Для проведения иммуногистохимической реакции с антителами к VEGF и bFGF (1:50, Novocastra) использовали стандартный одноэтапный протокол. Анализ полученных данных проводили при помощи компьютерной системы анализа микроскопических изображений и программы Морфология 4.0.

Исследованы гетеротопические участки эндометрия в брюшине, в котором представлены железы эндометрия, окруженные цитогенной стромой. Вокруг прилежащих сосудов отмечались единичные периваскулярные нейтрофильные и макрофагальные инфильтраты. При иммуногистохимическом исследовании гистологических препаратов ткани гетеротопического эндометрия отмечено, что площадь экспрессии VEGF (13,1 \pm 1,2%) в три раза превышает площадь экспрессии bFGF (4,38 \pm 1,15%). Полученные данные свидетельствуют о преимущественной роли VEGF в регуляции роста сосудов в эндометриодных гетеротопиях и согласуются с полученными нами ранее данными о высокой проангиогенной активности

в отношении эндотелиальных клеток перитонеальной жидкости больных НГЭ и надосадочных жидкостей, полученных при органотипическом культивировании кусочков ткани гетеротопического эндометрия.

Работа поддержана грантом Президента РФ № МК-2589.2005.7

НАРУШЕНИЕ ПРОЦЕССОВ АКТИВАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ СИНДРОМЕ ЗАДЕРЖКИ РАЗВИТИЯ ПЛОДА И ГЕСТОЗЕ

Кудряшова А.В., Сотникова Н.Ю., Панова И.А.

ФГУ «ИвНИИ М и Д им. В.Н. Городкова Росздрава», г. Иваново

Беременность ассоциируется с развитием реакций, определяющих особый тип иммунного ответа материнского организма. Нарушение иммунорегуляции при беременности приводит к формированию фето-плацентарной недостаточности, проявляющейся в развитии гестоза беременных и синдроме задержки развития плода (СЗРП). Нами проводилось исследование параметров активации периферических лимфоцитов и содержание основных популяций Т-хелперов в периферической крови 15 небеременных женщин и 36 женщин в 1 триместре беременности. Впоследствии у 15 из них развился гестоз, в 10 случаях отмечалось рождение ребенка с СЗРП, у 11 женщин беременность протекала без осложнений на всем протяжении гестационного периода. В эксперименте *in vitro* оценивалось влияние 1-часовой стимуляции эмбриональным АГ на экспрессию CD25 и HLA-DR молекул лимфоцитами 10 небеременных доноров. Было установлено, что при неосложненном течении беременности в ранние сроки гестации происходило усиление активации лимфоцитов, о чем свидетельствовал рост содержания CD25⁺-, HLA-DR⁺-, CD4⁺IL-2⁺-, CD4⁺IFN γ ⁺- и CD4⁺IL-4⁺-клеток по сравнению с показателями небеременных женщин. При этом пул CD4⁺IL-4⁺-клеток более чем в 2 раза превышал показатели содержания Th1 клеток. При гестозе и при СЗРП также отмечалось усиление экспрессии CD25 молекул лимфоцитами, однако данные изменения в группе женщин с СЗРП были менее выраженными. Наряду с этим при гестозе отмечалось повышение уровня HLA-DR⁺ лимфоцитов, в то время как при СЗРП уровень HLA-DR⁺ лимфоцитов не отличался от показателей небеременных женщин. Также как и при неосложненной беременности, при гестозе и при СЗРП мы отметили рост содержания CD4⁺IL-2⁺-, CD4⁺IFN γ ⁺-, CD4⁺IL-4⁺-клеток по сравнению с показателями небеременных женщин. Причем в группе с гестозом данные изменения проявлялись в максимальной степени, а при СЗРП они были менее выраженными, чем при неосложненной гестации и гестозе. Показатель содержания CD4⁺IL-4⁺-лимфоцитов при СЗРП был достоверно сниженным, как по сравнению с аналогичным показателем в группе с физиологической беременностью, так и в группе с гестозом. Однако и при гестозе, и при СЗРП сохранялось преобладание пула Th2. Наиболее явным отличием в дифференцировке Т-хелперов при гестозе и при СЗРП был достоверный рост содержания периферических CD4⁺IL-6⁺Т-хелперов относительно показателей небеременных женщин, наиболее выраженный при гестозе. Таким образом, по нашим данным позитивные эффекты,

способствующие прогрессированию беременности и развитию плода, определяются усилением активации периферических лимфоцитов, дифференцировки Т-хелперов и преобладающим влиянием Th2. Возможно, изменение уровня активации лимфоцитов определяется особенностями гормонального и цитокинового фона в ранние сроки гестации и/или появлением в материнском кровотоке отдельных клеток плода и небольших участков ворсин хориона. По нашим данным, непосредственно усиливать активацию клеток могли факторы плодового происхождения, так как в эксперименте *in vitro* эмбриональный АГ стимулировал экспрессию CD25 и HLA-DR молекул лимфоцитами небеременных доноров. При последующем развитии гестоза уже в ранние сроки гестации отмечается наиболее выраженное усиление дифференцировки Th2, продуцирующих IL-6, а при СЗРП угнетение активации периферических лимфоцитов, вероятно, в результате недостаточной и/или неадекватной стимуляции факторами плодово-плацентарного происхождения. Увеличение пула лимфоцитов, продуцирующих IL-6, при гестозе и при СЗРП могло отражать развитие воспалительных и аутоиммунных реакций, характерных для данных патологий, и способствовать подавлению обмена веществ и нарушению трофической функции плаценты.

ЦИТОКИНОВЫЙ ДИСБАЛАНС В МЕХАНИЗМАХ РАЗВИТИЯ ГЕСТАЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Левкова Е.А., Чинова Г.В., Ступак В.С., Фролова М.А.

ГУЗ «Перинатальный центр»

ГОУДПО «Институт повышения квалификации специалистов здравоохранения», г. Хабаровск

Цель исследования: оценка цитокинового профиля при нормальном и осложненном течении беременности.

Материалы и методы. Определение цитокинов, интерферонов, фактора некроза опухоли-альфа проводили у 105 беременных женщин с различными типами течения беременности в третьем триместре беременности.

Распределение женщин по группам было произведено с учетом особенностей течения беременности:

- 1-я группа – 38 женщины с физиологическим течением беременности;
- 2-я группа – 35 женщины с угрозой прерывания беременности;
- 3-я группа – женщины с ОПГ-гестозами.

В работе использовали наборы реагентов «ИЛ-1, 2, 4, 6, 8 – ИФА–БЕСТ», «альфа-ФНО – ИФА–БЕСТ», «альфа, гамма-ИФН – ИФА–БЕСТ».

Результаты. Модель угрозы прерывания беременности связана с высокой антигенной нагрузкой преимущественно неинфекционного генеза, исходящей от плода, участие в данной ситуации инфекционного раздражения невелико, отсюда концентрация ИЛ-1 незначительно превышает эквивалентную концентрацию в группе женщин с физиологическим течением беременности и достоверно меньше, чем в группе женщин с ОПГ-гестозами. Иммунологическая ситуация разворачивается по аутоиммунному типу, свидетельством чего является уменьшение концентрации

ИЛ-4, изменяющего процессы клеточного моделирования по Th2 типу. Передача информации сопровождается высвобождением ИЛ-2 и интерферонов, особенно гамма, которые помимо активации клеток хелперной направленности, активизируют систему естественной цитотоксичности.

Для ОПГ-гестозов характерна иммуносупрессорная направленность параметров иммунной системы, связанная с выраженной антигенной нагрузкой инфекционного характера. Следствием указанных нарушений является отсюда и изменение концентраций таких «цитокинов» как ФНО α и связанные с ним уровни ИЛ-6, ИЛ-8. Следствием указанных нарушений является отсюда и изменение концентраций таких «цитокинов» как ФНО α и связанными с ним уровни ИЛ-6, ИЛ-8.

Вывод. Максимальные различия по сравнению с группой женщин с физиологическим течением беременности были получены по таким цитокинам, как ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО α , ИФН γ , ИФН α . Зафиксированные параметры достаточно убедительно демонстрируют направленность в системе иммуногенеза при угрозе прерывания беременности – аутоиммунную, при ОПГ-гестозе – иммуносупрессорную, опосредованную через инфекционный фактор, с максимальным увеличением ИЛ-8 и ФНО α .

ВЛИЯНИЕ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ НА ФОРМИРОВАНИЕ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА ФОНЕ УРОГЕНИТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ

Левкович М.А.

ФГУ «РНИИАП Росздрава», г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение. В последние годы изучению механизмов развития плацентарной недостаточности (ПН) посвящены многочисленные исследования. Одной из основных причин, приводящих к ее развитию и определяющей состояние здоровья новорожденных, является инфекционный фактор. Мало – и даже бессимптомные бактериально-вирусные инфекции у беременных могут быть причиной выраженной плацентарной недостаточности, приводящей к гипотрофии плода, внутриутробной гибели или тяжелой инвалидизации ребенка. Важную роль в развитие данной патологии отводят иммунным изменениям, приводящим к нарушению плацентарного кровообращения.

Цель исследования: изучение параметров иммунной системы у беременных с ПН на фоне активной урогенитальной инфекции во 2 и 3 триместрах беременности.

Материалы и методы. Было проведено обследование 56 женщин с беременностью осложненной плацентарной недостаточностью и наличием маркеров урогенитальной инфекции и 25 женщин с физиологическим течением беременности. Для выявления инфекционных агентов (*Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium*, *Herpes virus*, *Cytomegalovirus*) использовался метод ПЦР с использованием реагентов НПФ «Литех» при НИИ ФХМ. Материалом для исследования служил соскоб эпителия цервикального канала. Определение уровня неоптерина, ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-4, ФНО α в сыворотке крови проводили методом ИФА с использованием

диагностических наборов фирмы IBL (Германия) и «Цитокин» (Санкт-Петербург) соответственно.

Результаты. При анализе результатов было выявлено, что доминирующие позиции в развитии ПН занимают вирусы герпетической группы и хламидии. Отмечено достоверное повышение уровня неоптерина, ФНО α ($p < 0,05$), соотношения ИЛ-2/ИЛ-4 по сравнению с контрольной группой, что является отражением активации клеточного иммунитета и изменения профиля иммунной альтерации. Полученные данные свидетельствуют о возможном вовлечении Th1 типа иммунного ответа в патогенез плацентарной недостаточности. Соответственно, анализ иммунных показателей у беременных на фоне урогенитальной инфекции может позволить прогнозировать данное осложнение гестационного периода.

ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ, СТРАДАЮЩИХ ПЕРВИЧНОЙ ДИСМЕНОРЕЕЙ

Мусаходжаева Д.А.¹, Музафарова С.А.², Хайдарова Ф.А.²

¹ Институт иммунологии АН РУз

² НИИ эндокринологии МЗ РУз, г. Ташкент, Узбекистан

Дисменорея, или болезненная менструация, – частая жалоба в подростковом возрасте. У 50% подростков этот симптом настолько выражен, что нарушается привычное течение жизни. Это состояние возникает при овуляторных циклах. Боль обусловлена сокращением миометрия, связанного с избыточной продукцией простагландинов. Как известно, менструальный цикл включает в себя изменения не только репродуктивной, но и иммунной системы.

Целью нашего исследования явилось изучение некоторых параметров иммунной системы у девочек-подростков с дисменореей по фазам менструального цикла. Нами были обследованы 23 девочки-подростка в возрасте от 14 до 17 лет. Было установлено, что у обследованных девочек наблюдались боли в первый день цикла, имеющие схваткообразный характер, локализирующиеся внизу живота. Помимо более дисменорея сопровождалась тошнотой, рвотой, жидким стулом, слабостью, мигренеподобной головной болью. Контрольную группу составили 20 здоровых девочек-подростков с нормальным двухфазным характером менструального цикла. Иммунологические исследования проводились изучением количественного определения лимфоцитов с фенотипом CD3, CD4, CD8, CD16, CD20 CD25, CD95 с помощью моноклональных антител серии LT («Сорбент», Москва, Россия). Уровни провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β и ФНО α) определяли в цервикальной слизи иммуноферментным методом, используя диагностические тест-системы ООО «Цитокин» СПб.

Иммунные нарушения при дисменорее отражают дефекты Т-клеточного звена иммунитета. Достоверно низкая экспрессия молекул CD4 в лютеиновой фазе свидетельствует, что пролиферативный ответ является достаточно слабым при снижении секреторной фазы развития эндометрия. Незначительное повышение экспрессии CD8⁺Т-лимфоцитов в лютеиновую фазу у девочек с дисменореей по сравнению с контролем показывает, что

ответ ЦТЛ недостаточен при отсутствии цирхорального ритма секреции гонадолиберина. Предполагают существование нескольких путей индукции экспансии и дифференцировки цитотоксических CD8⁺T-клеток. Один из них связан с действием АПК, способных обеспечивать достаточный стимул, чтобы активизировать CD8⁺-клетки и заставить их вырабатывать ИЛ-2 аутокринный фактор, обуславливающий их дальнейшее развитие и пролиферацию. Лимфоциты, усиленно экспрессирующие CD95 у девушек с дисменореей в лютеиновую фазу, возможно, в свою очередь, подвержены апоптозу, что может вести к развитию дефицита АПК и ко-стимулирующих молекул, необходимых для активации CD8⁺-клеток. Допускается, что CD4⁺-клетки после стимуляции АПК синтезируют большое количество ИЛ-2 (паракринный механизм), которым они обеспечивают умеренно стимулированные CD8⁺-клетки. Активация CD8⁺T-клеток по этому механизму недостаточна, что связано с низкой экспрессией CD4 и CD25 при лютеиновой фазе у девушек с дисменореей. В результате этого возрастает уровень ИЛ-1β и ФНОα, принимающих непосредственное участие в осуществлении иммунного ответа. Интерлейкины воздействуют на гипоталамус, изменяя его активность. По механизмам обратных связей эти изменения приводят к нарушениям нормального ритма секреции гипоталамо-гипофизарных гормонов, что в свою очередь усугубляет нарушения гормонального гомеостаза репродуктивной системы. Наряду с этим тропные гипофизарные и стероидные гормоны оказывают непосредственное влияние на иммунокомпетентные клетки и активность иммунной системы.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОКИНОВОЙ ПРОДУКЦИИ И СЕКРЕЦИИ МАКРОФАГОВ ПЛАЦЕНТЫ

Павлов О.В., Лесничия М.В., Сельков С.А.

НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Плацентарным макрофагам приписывают множество различных биологических функций: защита от инфекции, презентация антигена, участие в процессах апоптоза и ремоделирования ткани, иммунорегуляция. Предполагается, что эти клетки могут играть определенную гестационную роль, в частности, участвовать в регуляции срочных и преждевременных родов. Большинство этих функций так или иначе связано с продукцией и секрецией цитокинов. Однако до сих пор свойства макрофагов плаценты остаются недостаточно изученными. В значительной степени это объясняется методическими трудностями. Исследования клеточных культур, содержащих гомогенную популяцию клеток определенного типа, зачастую являются единственной возможностью охарактеризовать фенотипические и функциональные особенности этих клеток.

Нами были изучены особенности продукции ряда цитокинов (IFNγ, IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNFα) в культурах изолированных макрофагов (88-97% чистоты), выделенных из плодовой части плацент в конце беременности. Внутриклеточную детекцию цитокинов осуществляли методами проточной цитометрии и иммуноцитохимии. Оценивалась спонтанная и LPS-индуцированная продукция цитокинов. Секретор-

ную активность исследовали методом проточной цитометрии с использованием иммобилизованных на микробусах специфических антител (Cytometric Bead Array).

Согласно полученным данным, продукция IL-1α и IL-1β наблюдалась в 25-30% CD68-положительных клеток. В присутствии эндотоксина количество клеток, продуцирующих IL-1α и IL-1β, возрастало в 1,5-2 раза. Доля макрофагов, в которых обнаруживали IL-6 и TNFα, составляла не более 5%, однако под действием LPS количество клеток, синтезирующих IL-6 и TNFα, существенно возрастало до 25% и 60% соответственно. Доля IL-10-продуцирующих клеток составляла всего 1-2% в отсутствие LPS и 2-4% в присутствии LPS. Популяция CD68-положительных клеток состояла из двух субпопуляций, различающихся по интенсивности окраски на CD68: CD68⁺ и CD68⁺⁺. Были обнаружены различия в спонтанной и LPS-стимулированной цитокинпродуцирующей активности этих двух субпопуляций.

Исследования спонтанной секреторной активности культивируемых макрофагов плаценты выявили чрезвычайно высокий уровень продукции IL-8. Уровни секреции провоспалительных цитокинов за 13 ч культивирования составили 230, 3300 и 3100 пкг/10⁵ клеток для IL-1β, IL-6 и TNFα соответственно. Секреция противовоспалительного цитокина IL-10 составила около 150 пкг/10⁵ клеток.

Полученные данные позволяют охарактеризовать макрофаги зрелых плацент с точки зрения их способности синтезировать и секретировать наиболее значимые про- и противовоспалительные цитокины. Гетерогенность популяции может отражать различия в функциональной активности и/или степени дифференцировки этих клеток. Обсуждаются участие макрофагов плаценты в изменении уровня ряда цитокинов при внутриутробной инфекции и родовой деятельности, а также возможности использования культуральных моделей для изучения взаимодействия плацентарных макрофагов с другими клетками плаценты.

ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННЫХ ОРАЛЬНЫХ КОНТРАЦЕПТИВОВ (КОК) НА ФАКТОРЫ ИММУНИТЕТА СЛИЗИСТЫХ РЕПРОДУКТИВНОГО ТРАКТА

Пермякова И.С., Телешева Л.Ф.

НИИ иммунологии ГОУ ВПО ЧелГМА Росздрава, Россия

Введение. В последнее время исследователи отмечают увеличение процента стертых и первично хронических форм воспалительных заболеваний репродуктивного тракта женщин. Среди них чаще приходится сталкиваться со случаями подострого и хронического рецидивирующего вульвовагинального кандидоза, необоснованными подходами к диагностике и лечению этого заболевания, отмечается тенденция к увеличению числа устойчивых к антимикотикам штаммов. Развитие и исход кандидозов как любых заболеваний микробной этиологии зависят от персистентных свойств микроорганизмов, направленных на инактивацию факторов естественной резистентности организма человека (лизоцим, комплемент, фагоциты и др.). Ранее было показано, что характер течения кандидозов зависит от выраженности факторов персистенции возбудителя. Однако до настоящего времени не были исследованы маркеры персистенции кандид

в полном объеме и влияние гормонов на факторы персистенции кандид.

В связи с вышеизложенным, модель искусственной колонизации на примере *Candida albicans* как одного из возбудителей кандидоза на эпителии слизистой влагалища крыс-самок, получающих комбинированный препарат «Регулон», является простым и удобным способом оценки адгезивного потенциала данных микроорганизмов; позволяет оценить воздействие пероральных гормональных контрацептивов на примере эстроген-прогестагенового таблетированного препарата «Регулон» на факторы мукозального иммунитета репродуктивного тракта в системе «Макроорганизм-микроорганизм».

Актуальность выбранной проблемы связана с интересом количественной оценки степени адгезивной способности *Candida albicans* как наиболее частого возбудителя вагинального кандидоза у женщин репродуктивного возраста при приеме наиболее широко используемого и доступного контрацептивного препарата «Регулон». Исследование состояния антимикробной резистентности репродуктивного тракта крыс при приеме КОК не только расширит представления об иммуннопатогенезе воспалительных заболеваний гениталий, но и откроет перспективы к совершенствованию диагностики и повышению эффективности лечения многих гинекологических заболеваний.

Цель: целью настоящего исследования является определение влияния гормонов на адгезию одного из возбудителей генитальной инфекции в системе «Микроорганизм-эпителиоциты влагалища».

Материалы и методы. Исследование проводилось на 80 белых нелинейных крысах-самках. Для оценки иммунологических показателей вагинального секрета использовались показатели функциональной активности нейтрофилов: число жизнеспособных нейтрофилов, активность лизосом, НСТ-тест, спонтанный и индуцированный, функциональный резерв, активность и интенсивность фагоцитоза. Оценку адгезии *Candida albicans* производили исходя из индекса адгезии. В работе использовали штамм *Candida albicans*, выделенный НИИ гигиены и профпатологии МЗ РФ 601.

Результаты и их обсуждение. Выделение групп сравнения белых нелинейных крыс осуществляли, исходя из основного критерия – прием/отсутствие комбинированного препарата «Регулон» в различной дозировке в течение не менее двух месяцев. Первую группу (20 голов) составили крысы, получавшие 1/100 таблетки «Регулон» (0,0003 мг этинилэстрадиола и 0,0015 мг дезогестрела), вторую группу (20 голов) – крысы, принимавшие 1/10 таблеток «Регулон» (0,003 мг этинилэстрадиола и 0,015 мг дезогестрела), третью группу (20 голов) – крысы, принимавшие 1/2 таблетки «Регулон» (0,015 мг этинилэстрадиола и 0,075 мг дезогестрела), исследованные до и после инфицирования чистой культурой *Candida albicans*. Сравнение производили с контрольной группой крыс-самок (20 голов), не получавших «Регулон», содержащихся в аналогичных температурно-пищевых условиях.

При изучении состояния иммунитета и оценке влияния препарата «Регулон» на антимикробную защиту репродуктивного тракта крыс выявлено, что изменения выражались в понижении показателей жизнеспособности нейтрофилов, активности лизосом, их кислородзависимого метаболизма и активности фагоцитоза по сравне-

нию с показателями контрольной группы. При изучении адгезивного потенциала изучаемого микроорганизма было установлено повышение индекса адгезии.

Выводы. Установлена зависимость показателей функциональной активности нейтрофилов вагинальной слизи и адгезивной активности *Candida albicans* животных, получавших препарат «Регулон». С увеличением дозы принимаемого препарата «Регулон» адгезивная активность *Candida albicans* увеличивалась пропорционально дозе препарата. В то время как показатели противомикробной защиты вагинального секрета у крыс оставались на одном уровне, независимо от дозы принимаемого препарата.

ЭКСПРЕССИЯ ПРОАНГИОГЕННЫХ И АНТИАНГИОГЕННЫХ ФАКТОРОВ В ПЛАЦЕНТЕ

Соколов Д.И., Колобов А.В., Лесничья М.В., Аржанова О.Н., Кветной И.М., Сельков С.А.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Нарушения секреции проангиогенных и антиангиогенных факторов в плаценте, а также экспрессии их рецепторов может явиться причиной нарушения процессов ангиогенеза в плаценте, что в свою очередь приведет к плацентарной недостаточности и дисфункции эндотелиальных клеток.

Целью настоящего исследования был анализ изменения экспрессии проангиогенного фактора bFGF, а также антиангиогенных факторов: тромбоспондина-1 (TSP-1) и рецептора трансформирующего ростового фактора- β (TGF β -R1) в ткани плаценты в норме и при гестозе. Всего обследовано 10 плацент беременных с нормальным течением беременности (контроль) и 10 плацент беременных с гестозом. Родоразрешение проводилось путем кесарева сечения. Экспланты плацент фиксировали в формалине для последующего иммуногистохимического анализа экспрессии bFGF, TSP-1 и TGF β -R1 в ткани плаценты. Для проведения иммуногистохимической реакции с антителами к bFGF, TSP-1 и TGF β -R1 (1:50, Novocastra) использовали стандартный одноэтапный протокол. Анализ полученных данных проводили при помощи компьютерной системы анализа микроскопических изображений и программы Морфология 4.0.

При иммуногистохимическом исследовании гистологических препаратов плаценты отмечено, что экспрессия bFGF клетками синцитиотрофобласта и децидуальными клетками базальной пластинки была достоверно ниже при гестозе ($2,0 \pm 1,01\%$), чем при нормальной беременности ($5,2 \pm 0,52\%$, $p < 0,05$). Напротив, при иммуногистохимическом исследовании гистологических препаратов плаценты отмечено, что экспрессия TSP-1 была достоверно выше при гестозе (площадь экспрессии $0,61 \pm 0,05\%$), чем при нормальной беременности (площадь экспрессии $0,08 \pm 0,01\%$, $p < 0,05$). При этом экспрессия TSP-1 отмечалась в строме ворсин и в контроле и была представлена единичными участками положительной реакции в стромальных элементах, расположенных вблизи сосудов промежуточных ворсин, в то время как при токсикозе носила диффузный характер и преобладала в стромальных элементах терминальных ворсин. Экспрессия TGF β -

R1 отмечалась преимущественно в области синцитио-капиллярных мембран клетками синцитиальных узлов. Экспрессия TGF β -R1 была достоверно ниже при гестозе (площадь экспрессии $0,21 \pm 0,02\%$), чем при нормальной беременности (площадь экспрессии $0,96 \pm 0,25\%$, $p < 0,05$). Снижение секреции проангиогенного фактора bFGF эндотелиальными клетками плаценты и увеличение экспрессии антиангиогенного фактора TSP-1 вокруг сосудов при гестозе отражает нарушение баланса проангиогенных и антиангиогенных факторов в сторону последних, что может являться причиной нарушения процессов ангиогенеза в плаценте. Снижение экспрессии TGF β -R1 эндотелиальными клетками плаценты при гестозе может свидетельствовать как о нарушении их функции, так и о компенсаторной реакции этих клеток в ответ на действие антиангиогенных факторов.

Работа поддержана грантом Президента РФ НШ-5268.2006.7

СПОНТАННАЯ ПРОДУКЦИЯ ИФН γ И ФНО α ПЕРИФЕРИЧЕСКИМИ МНК ЖЕНЩИН С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ РАННИХ СРОКОВ ИНФЕКЦИОННОГО ГЕНЕЗА И АНТИФОСФОЛИПИДНЫМ СИНДРОМОМ

Соловьева А.Е., Сотникова Н.Ю., Вторушина В.В., Кривенцова Т.А.

ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Росздрава», г. Иваново, Россия

Нарушение продукции цитокинов играет важную роль в патогенезе привычного невынашивания беременности. Согласно литературным данным, у женщин с привычным невынашиванием беременности в сыворотке крови повышается количество провоспалительных цитокинов. Для уточнения патогенетических механизмов невынашивания беременности на ранних сроках нами был проведен сравнительный анализ спонтанной продукции ИФН γ и ФНО α МНК периферической крови женщин с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) ранних сроков инфекционного генеза и антифосфолипидным синдромом (АФС).

Материалы и методы: проводилось обследование 5 женщин с ПНБ ранних сроков (до 12 недель) инфекционного генеза и АФС, 5 женщин с ПНБ ранних сроков (до 12 недель) инфекционного генеза без АФС и 5 соматически здоровых женщин с ненарушенной фертильной функцией (контрольная группа). Материалом для исследования служила гепаринизированная периферическая венозная кровь. Выделение обогащенных популяций мононуклеарных клеток из периферической крови осуществляли стандартным методом скоростного центрифугирования в градиенте плотности фиколл-верографина ($d = 1,078$). Затем проводили культивирование МНК в течение 24 ч при 37°C и 5% CO $_2$. Спонтанную продукцию цитокинов оценивали в супернатантах клеточных культур, содержащих 2×10^6 кл/мл мононуклеарных клеток периферической крови. После окончания 24-часовой инкубации клетки осаждали на дно пробирок центрифугированием при 4000 об/мин в течение 10 минут. Определение спонтанной продукции цитокинов в супернатантах 24-часовых клеточных культур проводилось методом ELISA на мик-

ропланшетном ридере Multiscan EX Labsystems (Финляндия) с использованием тест-систем ЗАО «Вектор-Бест».

Проведенные нами исследования показали, что в СН коротко живущих культур периферических МНК женщин с ПНБ инфекционного генеза без АФС существенно повышался уровень ФНО α , а у женщин с АФС отмечалось достоверное снижение его концентрации по сравнению с показателями группы контроля ($p < 0,05$) и женщин с ПНБ без АФС ($p < 0,01$). Спонтанная продукция ИФН γ периферических МНК женщин с ПНБ инфекционного генеза без АФС существенно не менялась ($p > 0,05$), но была значительно ниже у женщин с ПНБ инфекционного генеза с АФС по сравнению с показателями группы здоровых женщин ($p < 0,05$). При сравнении спонтанной продукции ИФН γ в двух подгруппах женщин с привычным невынашиванием беременности инфекционного генеза в зависимости от наличия АФС существенных различий в продукции цитокина не отмечалось, однако отмечалась тенденция к более низкой продукции ИФН γ у женщин с ПНБ без АФС ($p > 0,05$). Таким образом, изменения продукции ИФН γ при ПНБ носили однонаправленный характер и степень снижения уровня данного цитокина зависела от наличия АФС. ИФН γ играет важную роль в обеспечении инвазии трофобласта и снижение его продукции при привычном невынашивании ранних сроков может обуславливать нарушение плацентации, а дисбаланс выработки ФНО α характерен для воспалительной реакции при наличии инфекционного фактора в генезе привычного невынашивания беременности.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ОСОБЕННОСТЕЙ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ ФАГОЦИТАРНЫХ КЛЕТОК ПРИ МИОМЕ МАТКИ С ТЕМПОМ И ТИПОМ РОСТА ОПУХОЛИ

Соснина А.Е., Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Бойко О.М., Перетятко Л.П.

ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Росздрава», г. Иваново, Россия

Патогенез лейомиомы матки остается дискуссионным и до конца неизученным. До сих пор до конца не выявлены иммунные механизмы, определяющие различный темп и тип роста миомы матки. Известно, что клетки фагоцитарного ряда играют важную роль в поддержании клеточного гомеостаза, процессах регенерации, дифференцировки и роста тканей. В то же время роль фагоцитарных клеток и синтезируемых ими цитокинов, в процессах, определяющих различный темп и характер роста лейомиомы матки, остается недостаточно изученной.

Целью исследования было определить особенности внутриклеточного синтеза цитокинов фагоцитами периферической крови и эндометрия женщин с миомой матки в зависимости от темпа и типа роста опухоли. Материалом для исследования служила периферическая кровь и биоптаты эндометрия, полученные при диагностическом выскабливании у женщин с быстрорастущей миомой с размерами матки более 12 недель и у женщин с миомой матки стабильно малых размеров (менее 12 недель). Группа женщин с быстрорастущей миомой матки была разделена на 2 подгруппы в зависимости от типа роста: 1-я – рост за счет пролиферации и 2-я – рост за счет отека. Здоровые фертильные женщины составили контроль-

ную группу. Для проведения внутриклеточного окрашивания проводили процедуру пермеабиллизации клеточной мембраны моноцитов, нейтрофилов и макрофагов с помощью коммерческого набора FIX & PERM (CALTAG Laboratories, USA). Внутриклеточную экспрессию цитокинов (IL-1 β , IL-12, IFN γ , IL-8, IL-10) оценивали с помощью моноклональных АТ (CALTAG Laboratories, USA) на цитометре FACScan («Becton Dickinson», USA). Нами было установлено, что у женщин с миомой стабильно малых размеров внутриклеточный синтез IL-1 β , IL-12, IL-8 как моноцитами и нейтрофилами периферической крови, так и эндометриальными макрофагами был снижен, а уровень IL-10⁺ моноцитов/макрофагов был, напротив, повышен по сравнению с аналогичными значениями в группе здоровых женщин. Уровень IFN γ ⁺ моноцитов/макрофагов в группе женщин со стабильными размерами опухоли не изменялся относительно контрольных значений, синтез IFN γ в популяции нейтрофилов крови был снижен. При быстрорастущей лейомиоме матки внутриклеточный синтез цитокинов IL-1 β , IL-12, IFN γ , IL-8, IL-10 моноцитами и нейтрофилами крови достоверно повышался независимо от типа роста опухоли. В эндометрии женщин с быстрорастущей миомой матки синтез провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-12, IFN γ , IL-8) макрофагами также был повышен, при этом внутриклеточная экспрессия макрофагами IL-12 и IFN γ зависела от типа роста миомы. Так, в группе женщин, у которых рост миомы матки происходил преимущественно за счет усиления пролиферации, продукция IL-12 и IFN γ макрофагами эндометрия была достоверно снижена по сравнению с аналогичными показателями в группе женщин с ростом опухоли за счет отека. При проведении сравнительного анализа показателей внутриклеточного синтеза цитокинов в группах женщин с различным темпом роста опухоли было установлено, что уровень IL-1 β ⁺, IL-12⁺, IFN γ ⁺, IL-8⁺ и IL-10⁺ периферических моноцитов, нейтрофилов и эндометриальных макрофагов был достоверно выше у женщин с быстрым ростом миомы. Таким образом, независимо от темпов роста миомы матки как на системном, так и на локальном уровне продукция фагоцитарными клетками IL-10 была повышена. Учитывая важную роль этого цитокина в подавлении противоопухолевого иммунитета, можно предположить, что высокий уровень синтеза IL-10 является одним из факторов, определяющих благоприятные условия для формирования миоматозных узлов в матке. Отсутствие быстрого увеличения размеров миомы матки было ассоциировано со сниженной продукцией фагоцитарными клетками провоспалительных цитокинов, тогда как быстрый рост опухоли происходил на фоне значительного усиления внутриклеточного синтеза провоспалительных цитокинов и хемокинов фагоцитами периферической крови и эндометрия. Как известно, провоспалительные цитокины, в частности IL-1 β , могут оказывать прямое цитотоксическое действие на опухолевые клетки, а с другой стороны, эти цитокины индуцирует выработку факторов роста. Хемокин IL-8 обладает высокой ангиогенной активностью и усиление его продукции может определять усиление процессов неоваскуляризации в ткани миомы, что необходимо для обеспечения роста опухоли. Заслуживает особого внимания тот факт, что при увеличении размеров миомы за счет пролиферации в эндометрии отмечался более низкий уровень продукции макрофагами IL-12 и IFN γ макрофа-

гами эндометрия. Известно, что IL-12 и IFN γ являются основными факторами, определяющими активацию ЕК. По-видимому, снижение их выработки ведет к нарушению локального противоопухолевого иммунитета, осуществляемого ЕК, с последующим усилением процессов клеточной пролиферации в миометрии.

РОЛЬ TGF β В РАЗВИТИИ ЭНДОМЕТРИОДНЫХ ОЧАГОВ

Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Посисеев Д.В.

ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Росздрава», г. Иваново, Россия

Гипотеза об иммунных механизмах развития и роста эктопического эндометрия при наружном эндометриозе является на сегодняшний день ведущей. Большой интерес исследователей вызывает роль TGF β в механизмах развития эндометриоза. Показано, что в перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом повышено содержание этого фактора роста, что, по мнению ряда авторов, ведет к угнетению активности перитонеальных ЕК. Характер продукции TGF β на уровне эндометрия у женщин с наружным эндометриозом менее изучен. В то же время полученные в последнее время данные о важной роли TGF β в регуляции клеточной пролиферации, дифференцировки, апоптоза и тканевого ремоделирования позволяют предположить непосредственное участие TGF β в развитии эндометриодных гетеротопий. **Целью** данного исследования было установить характер продукции и рецепции TGF β на уровне эутопического и эктопического эндометрия, а также оценить влияние TGF β на активность апоптоза эндометриальных стромальных клеток. Материалом для исследования служили биоптаты эутопического и эктопического эндометрия 17 женщин с наружным генитальным эндометриозом (основная группа) и эндометрий 7 здоровых женщин (контрольная группа). Уровень экспрессии мРНК TGF β в эндометриальной ткани и в эндометриальных лимфоцитах оценивали количественным методом RT-PCR в режиме реального времени. Поверхностную экспрессию рецептора TGF β (CD105) эндометриальными стромальными клетками, лимфоцитами и макрофагами, а также количество регуляторных Т-лимфоцитов в эндометриальной ткани определяли методом проточной цитометрии. Обогащенную популяцию эндометриальных МНК культивировали в течение 24 ч без стимуляции для получения супернатантов (СН) культур МНК. В эксперименте *in vitro* оценивали действие эндометриальных СН и TGF β на поверхностную и внутриклеточную экспрессию FasL молекул эндометриальными стромальными клетками. Было установлено, что экспрессия мРНК TGF β в эутопическом эндометрии практически не отличалась от таковой в эндометрии здоровых женщин. В лимфоцитах, инфильтрирующих ткань эутопического эндометрия, уровень экспрессии мРНК TGF β был достоверно снижен по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе. В ткани эндометриодного очага уровень экспрессии мРНК TGF β был значительно повышен как по сравнению с аналогичным параметром эутопического эндометрия женщин с эндометриозом, так и по сравнению с контрольными значениями. Та же направленность изменений отмечалась нами и в лимфоцитах, инфильтрирующих ткань эндометриодных гетеротопий. Экспрессия рецептора TGF β CD105

на поверхности эндометриальных стромальных клеток, эндометриальных лимфоцитов и макрофагов не изменялась в эутопическом эндометрии, но была значительно повышена в эндометриоидном очаге. Параллельно с увеличением синтеза TGF β в ткани эндометриоидного очага нами отмечалось достоверное повышение уровня регуляторных T-клеток, о чем свидетельствовало увеличение количества CD4⁺CD25⁺- и CD4⁺CTLA-4⁺-лимфоцитов. Изменение продукции TGF β в эндометрии при эндометриозе может определяться изменением цитокинового профиля эндометрия. Нами было установлено, что воздействие комплекса цитокинов, продуцируемых МНК эндометриоидного очага, на эндометрий здоровых женщин приводило к резкому повышению уровня экспрессии в ткани мРНК TGF β . Развитие эндометриоидного очага сопровождалось выраженными изменениями Fas и FasL молекул эндометриальных стромальных клетками. Так, количество Fas⁺-клеток в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом было значительно ниже аналогичного показателя в контрольной группе. В эктопическом эндометрии резко усиливалась экспрессия FasL молекул на поверхности стромальных клеток при уменьшении пула клеток, экспрессирующих FasL внутриклеточно. Сам TGF β оказывал регулирующее действие на экспрессию молекул, ассоциированных с апоптозом, эндометриальными стромальными клетками. Инкубация *in vitro* эндометриальных стромальных клеток здоровых женщин с TGF β приводила к увеличению экспрессии FasL на поверхностной мембране стромальных клеток, но снижала внутриклеточную экспрессию FasL молекул. Таким образом, в основе иммунных механизмов, ведущих к росту эктопического эндометрия в перитонеальной полости, лежит усиление синтеза и рецепции TGF β , которое, по-видимому, приводит к усилению активности регуляторных пулов эндометриальных лимфоцитов. Известно, что эта популяция клеток участвует в развитии роста опухолевых клеток. С другой стороны TGF β , продуцируемый на уровне очага эндометриоза, может модулировать апоптоз стромальных клеток, индуцируя на их поверхности экспрессию FasL молекул и делая их, таким образом, недоступным для цитотоксического действия со стороны клеток иммунной системы.

ТИМОМЕГАЛИЯ, НАРУШЕНИЯ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ВРОЖДЕННОЙ ГЛАУКОМЕ У ДЕТЕЙ

Теплинская Л.Е., Мазанова Е.В., Хватова А.В.

ФГУ МНИИ глазных болезней им. Гельмгольца
Росздрава, Москва, Россия

Как известно, тимомегалия сопровождается широким симптомокомплексом клинических, иммунологических, нейроэндокринных нарушений. Среди соматической патологии чаще упоминаются пороки развития, гипоплазия надпочечников, сердца, аорты, бронхиальная астма и другие при сохранной гистоархитектонике органа. Вместе с тем в доступной литературе нам не встретилось работ о сочетании тимомегалии с врожденной глаукомой.

Цель: изучить состояние системного и локального гуморального иммунитета у детей с тимомегалией и врожденной глаукомой.

Материал и методы. Исследованы сыворотка крови (СК) и слезная жидкость (СЖ) 11 детей с тимомегалией

и врожденной глаукомой в возрасте от 1 месяца до 8 лет. Диагноз тимомегалии у детей был установлен на основании рентгенологической картины. Концентрации IgG, А, М, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), ААТ к ДНК нативной, денатурированной, общему белку миеллина (ОБМ) определялись с помощью метода иммунодиффузии, 3%-ПЭГ-теста, ИФА.

Результаты. Результаты показали наличие гуморального иммунодефицита у 7 из 11 (63,6%) обследованных детей преимущественно за счет изолированной/сочетанной гипои иммуноглобулинемии класса А (45,5%). В единичных случаях обнаруживался дефицит IgG и IgM, поликлональная гипериммуноглобулинемия G, А, М, и сывороточные ААТ к ДНКд и ОБМ. ЦИК выявлялись у 5 из 11 детей (45,5%). Глаукоматозный процесс также сопровождался локальным дефицитом IgA (5 из 9 детей – 55,6%, 10 из 20 глаз – 50,0%).

Анализ родословных позволил установить у всех родственников первой линии наличие глазной патологии в виде миопии и/или глаукомы, хронических инфекционных болезней. У всех матерей отмечался отягощенный акушерский анамнез в виде пиелонефрита и анемии. Все дети имели высокую частоту ОРВИ, в том числе на 1 году жизни и у 3- атопический дерматит. Один ребенок в 2 мес перенес гепатит С. Среди общесоматических заболеваний у 1 ребенка диагностирован врожденный порок сердца и у 1 ребенка железодефицитная анемия. В неврологическом статусе 6 детей обнаруживались признаки гипертензионно-гидроцефального синдрома и перинатальной энцефалопатии.

При оценке глаукоматозного процесса у детей отмечен высокий процент далекозашедшей и терминальных стадий (7 из 11 – 63,6%), ранний возраст (до 1 года) проявления глаукомы у 9 из 11 (81,8%). У 6 из 11 детей врожденная глаукома сочеталась с аномалиями анатомического строения переднего отрезка глаза и синдромами (аниридия, синдром Ригера, синдром Стерджа-Вебера). Послеоперационный период у 4 из 11 детей (36,4%) сопровождался осложнениями пролиферативного характера на фоне низких уровней IgA в СК и СЖ.

Заключение. Проведенное обследование детей с тимомегалией и врожденной глаукомой показало состояние системного и локального гуморального иммунодефицита, значительную инфицированность детей, наличие пороков развития, тяжелое течение глаукомы, осложненный послеоперационный период, свидетельствующие об ущербности иммунной системы, что необходимо учитывать при проведении хирургического лечения и назначении иммунокорректирующего лечения, проявляя при этом особую осторожность.

СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БЕРЕМЕННЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ (ВПГ I, II) ИНФЕКЦИЕЙ

Тупиков В.А., Долгушин И.И., Долгушина В.Ф., Гафурова Д.Н.

НИИ иммунологии ГОУ ВПО ЧелГМА Росздрава, Россия

Введение. Вирус простого герпеса является одним из наиболее распространенных возбудителей генитальной герпетической инфекции, играющих важную роль

в патологии беременности и структуре перинатальной смертности. Частота встречаемости генитального герпеса среди женщин репродуктивного возраста составляет до 25% и неуклонно растет с каждым годом. По данным многих авторов, генитальный герпес у беременных встречается в 7-35% случаев и регистрируется в 2 раза чаще, чем у небеременных женщин репродуктивного возраста. Вирус простого герпеса является вторым по частоте после вируса краснухи тератогенным вирусным агентом, способствующим развитию различной внутриутробной патологии и неонатальной инфекции. В настоящее время доказана роль вируса простого герпеса (30-50%) в генезе самопроизвольных выкидышей, неразвивающейся беременности, преждевременных родов и внутриутробной гибели плода. В настоящее время доказано, что течение и исход герпетической инфекции, а также эффективность ее лечения во многом зависят от состояния иммунной системы организма.

Цель: изучить субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у беременных женщин с хронической герпетической (ВПГ) инфекцией.

Материалы и методы исследования. Нами было проведено клинико-иммунологическое обследование 84 беременных с хронической герпетической (ВПГ) инфекцией. Диагноз хронической герпетической (ВПГ) инфекции ставился на основании данных анамнеза, жалоб больных, результатов клинико-лабораторного обследования. Контрольную группу составили 10 практически здоровых беременных женщин. Для оценки иммунологических показателей в периферической крови было определено абсолютное и относительное количество лимфоцитов, а также содержание их субпопуляций (CD3, CD4, CD8, CD10, CD11b, CD16, CD20, CD25, CD34, CD56, CD95, HLA-DR).

Результаты и их обсуждение. По результатам клинико-лабораторного обследования все беременные с хронической герпетической (ВПГ) инфекцией были разделены на 4 группы. Первую группу составили беременные женщины с клиническими проявлениями генитального герпеса, с наличием или отсутствием ДНК вируса простого герпеса I, II типов, при этом в периферической крови определялись специфические иммуноглобулины класса М и G в титрах 1:800 и более. Вторую группу составили пациентки, у которых в цервикальном канале было обнаружено ДНК вируса простого герпеса I, II типов, а в периферической крови присутствовали специфические иммуноглобулины класса М и G в титрах 1:800 и более, при отсутствии клинических проявлений генитального герпеса. В третью группу респондентов вошли беременные, у которых отсутствовали клинические проявления генитального герпеса, в цервикальном канале не было обнаружено ДНК вируса простого герпеса I, II типов, в периферической крови отсутствовали специфические иммуноглобулины класса М, а класса G были в титрах 1:800 и более. Четвертую группу обследованных составили беременные женщины, у которых отсутствовали клинические проявления инфекции, в цервикальном канале не было обнаружено ДНК вируса простого герпеса I, II типов, в периферической крови отсутствовали специфические иммуноглобулины класса М, а иммуноглобулины класса G были в титрах 1:400 и менее. При изучении иммунологических показателей системного иммунитета было выявлено,

что при хронической герпетической (ВПГ) инфекции абсолютное и относительное количество лимфоцитов в периферической крови не превышало данное количество в контрольной группе. При изучении субпопуляционного состава лимфоцитов было зарегистрировано снижение уровня CD3, CD4-лимфоцитов при одновременном повышении содержания CD8- и CD95-лимфоцитов у пациенток с хронической герпетической (ВПГ) инфекцией. Уровень CD20-лимфоцитов не отличался от содержания данного показателя у женщин контрольной группы. Колебание уровней CD4- и CD8-лимфоцитов привели у этой категории женщин к снижению иммунорегуляторного индекса.

Выводы: у данной категории женщин зарегистрировано изменение субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, при этом колебание уровней CD4 и CD8-лимфоцитов привели к снижению иммунорегуляторного индекса, который является одним из основных показателей, характеризующих гармоничность функционирования иммунной системы. Выявленное увеличение содержания CD95-клеток иллюстрирует повышенную готовность лимфоцитов периферической крови к апоптозу у пациенток с хронической герпетической инфекцией. При этом наиболее выраженные изменения наблюдались у беременных с клиническими проявлениями генитальной герпетической (ВПГ) инфекции.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Челябинской области.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИММУННОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОК С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ И БЕСПЛОДИЕМ

Улейская Г.И., Пономаренко М.В.

ГУЗ Городская больница № 31, Санкт-Петербург

В настоящее время очевидным стал факт, что в инициации преждевременного прерывания беременности важную роль играют иммунные механизмы. К таким процессам относится наличие у супругов повышенного количества общих антигенов HLA. В сохранении беременности важна несовместимость супругов по HLA-системе и отличие генотипа плода от генотипа матери.

Целью данного исследования было изучение иммунологических особенностей у пациенток с привычной потерей беременности и пациенток с бесплодием, направляемых на ЭКО.

Материалы и методы. Было обследовано 65 супружеских пар с бесплодием и привычной потерей беременности. Все супружеские пары были разделены на две группы. 1-ю группу составили 30 пар с бесплодием, направляемые на ЭКО, вторую группу составили 35 пар с привычной потерей беременности. Контрольную группу (n = 32) составили женщины репродуктивного возраста без патологии.

У всех пациенток определялись факторы клеточного иммунитета (CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, HLA-DR), концентрация иммуноглобулинов А, М и G, содержание ЦИК. Определение HLA-фенотипа по антигенам HLA-A-, В-локуса проводили в комплементзависимом лимфоцитотоксическом тесте.

В группе пациенток с привычной потерей беременности выявлены тенденции к снижению относительного

ТАБЛИЦА. ПАРАМЕТРЫ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ЖЕНЩИН С ПАТОЛОГИЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ (к работе Улейской Г.И. и Пономаренко М.В.)

Показатели	1 группа	2 группа	Контрольная группа
CD3 ⁺ лимфоциты, %	70,7±8,03	62,2±7,73	71,6±6,1
CD3 ⁺ лимфоциты, 10 ⁹	1,39±0,3	1,26±0,26	1,3±0,4
CD4 ⁺ лимфоциты, %	44,1±5,9	37,4±4,1	44,3±6,5
CD8 ⁺ лимфоциты, 10 ⁹	0,88±0,31	0,42±0,15	0,8±0,3
CD8 ⁺ лимфоциты, %	26,0±5,23	23,6±4,96	27,8±7,2
CD8 ⁺ лимфоциты, 10 ⁹	0,49±0,15	0,42±0,17	0,5±0,2
CD25 ⁺ лимфоциты, %	1,6±0,11	1,08±0,12	1,8±1,5
CD25 ⁺ лимфоциты, 10 ⁹	0,02±0,01	0,01±0,01	0,02±0,01
CD20 ⁺ лимфоциты, %	8,6±2,34	11,38±3,01	11,1±4,2
CD20 ⁺ лимфоциты, 10 ⁹	0,11±0,03	0,24±0,05	0,2±0,1
CD16 ⁺ лимфоциты, %	12,3±3,12	13,3±2,91	14,2±5,1
CD16 ⁺ лимфоциты, 10 ⁹	0,25±0,09	0,29±0,12	0,3±0,1
HLA-DR ⁺ лимфоциты, %	21,6±3,86	20,92±3,76	21,5±7,1
HLA-DR ⁺ лимфоциты, 10 ⁹	0,53±0,12	0,47±0,11	0,5±0,2
CD4/CD8	1,83±0,65	2,2±0,59	1,75±2,5
IgA, г/л	2,74±0,59	2,35±0,60	2,2±1,0
IgG, г/л	12,9±3,95	12,8±3,87	10,3±3,5
IgM, г/л	2,62±0,65	2,65±0,76	1,5±1,1
ЦИК, ед.	55,2±12,32	57,85±11,34	80±30

содержания CD3-, CD4- и CD8-клеток, а также активационного маркера CD25 по сравнению с контрольной группой, значительное снижение абсолютного содержания CD4 клеток. В связи с этим отмечается увеличение иммунорегуляторного индекса у данной группы пациентов. Содержание В-клеток достоверно не отличается от контрольной группы. Основные показатели содержания Т-клеток в группе пациенток с бесплодием (CD3, CD4 и CD8) сравнимы с показателями в контрольной группе. Отмечается выраженное снижение содержания CD20 клеток на фоне значительного увеличения IgM. Подобное увеличение острофазового иммуноглобулина отмечается и в другой группе пациенток, что указывает на вовлечение в процесс механизмов гуморального иммунитета. Определение общих антигенов HLA I класса между супругами не выявило достоверных различий в исследуемых группах.

В ходе исследования выявлено снижение клеточного иммунитета у женщин с привычной потерей беременности, что возможно является одной из причин данной патологии.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ HLA II КЛАССА У МУЖЧИН С ТЯЖЕЛЫМИ ФОРМАМИ ПАТОЗООСПЕРМИИ

Фетисова И.Н.

ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Росздрава», г. Иваново, Россия

Роль иммунологических факторов, в частности, HLA-антигенов в нарушении фертильности человека, остается спорным вопросом и до сих пор продолжает дискутироваться. **Целью** настоящего исследования явилось изучение характера распределения аллелей, генотипов и гаплотипов HLA II класса у мужчин с различными типами

патозооспермии в семьях с нарушенной репродуктивной функцией (НРФ). Анализ по трем локусам II класса системы HLA (DRB1, DQA1, DQB1) был проведен у 78 мужчин из супружеских пар с первичным бесплодием и первичной привычной потерей беременности (основная группа) и у 52 здоровых мужчин из семей с нормальной репродукцией (контрольная группа). Пациенты основной группы были подразделены на подгруппы в зависимости от результатов спермиологического обследования и диагностированного типа патозооспермии: у 24 мужчин в семьях с нарушенной репродукцией наблюдалась нормозооспермия, у 37 была диагностирована астенозооспермия, у 17 пациентов определялись тяжелые формы нарушения сперматогенеза (олигозооспермия III степени и азооспермия). У мужчин основной группы с нормозооспермией и астенозооспермией по сравнению с контрольной группой не было выявлено особенностей в характере распределения аллелей по указанным локусам. У больных с тяжелыми формами патозооспермии достоверно чаще по сравнению со здоровыми мужчинами регистрировался аллель DRB1 01 (29,4% и 12,5% соответственно, $p = 0,022$, OR = 2,9 [1,2-7,2]), аллель DQA1 0101 (35,3% и 15,4% соответственно, $p = 0,012$, OR = 3,0 [1,3-7,0]) и аллель DQB1 0503 (8,8% и 1,0% соответственно, $p = 0,046$, OR = 7,7 [1,4-41,3]). Анализ генотипов у пациентов с нормо- и астенозооспермией в семьях с НРФ не выявил достоверных отличий по сравнению с контрольной группой. При тяжелых формах патозооспермии у больных наблюдалось некоторое увеличение частоты генотипа 01/01 в локусе DRB1 и генотипа 0101/0101 в локусе DQA1. Каждый из указанных генотипов у мужчин с выраженным нарушением гаметогенеза определялся в 11,8% случаев при отсутствии таковых в контрольной группе ($p = 0,058$). Анализ гаплотипов показал, что у пациентов с астенозооспермией несколько чаще, чем в контроле определяется гаплотип DRB1-DQA1-DQB1

06-0102-0602 (8,6% и 1,9% соответственно, $p = 0,062$). Достоверные отличия от контроля при изучении гаплотипов были выявлены в группе пациентов с тяжелыми патозооспермиями. У больных с выраженным нарушением гаметогенеза в 8,8% случаев определялся гаплотип DRB1-DQA1 06-0101, частота встречаемости которого в контрольной выборке составила лишь 1,0% ($p = 0,046$, $OR = 7,7 [1,4-41,3]$). Таким образом, установлена ассоциация между присутствием аллелей DRB1 01, DQA1 0101, DQB1 0503, гаплотипа DRB1-DQA1 06-0101 и развитием тяжелых форм патозооспермии.

ИММУНОЦИТОКИНОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ГЕСТАЦИИ

Фролова М.А., Левкова Е.А., Чижова Г.В., Ступак В.С.

ГУЗ «Перинатальный центр»

ГОУДПО «Институт повышения квалификации специалистов здравоохранения», г. Хабаровск

Цель исследования: изучение параметров клеточного звена иммунитета и цитокинового профиля у женщин с различными типами течения гестационных процессов в 3-м триместре беременности.

Материалы и методы. Обследована 171 беременная женщина. Физиологическое течение беременности было зарегистрировано у 60 женщин, 57 женщин имели угрозу прерывания, 54 – среднетяжелые формы гестоза.

В нашем исследовании оценка клеточных параметров проводилась с использованием отечественных моноклональных антител (МКА) серии ИКО в соответствии с номенклатурой антигенов CD. В работе использовали наборы реагентов «ИЛ-1, 2, 4, 6, 8 – ИФА–БЕСТ», «альфа-ФНО – ИФА–БЕСТ», «альфа, гамма-ИНФ – ИФА–БЕСТ». Функциональные параметры оценивали в реакции торможения миграции лейкоцитов с ФГА и плацентарными антигенами («материнская» и «детская» части) (собственная модификация).

Результаты.

1) У беременных женщин угроза прерывания беременности ассоциировалась с аутоиммунными изменениями в системе иммунитета с достоверным увеличением общей популяции CD3⁺-лимфоцитов, CD4⁺-клеток, с резким увеличением клеток CD16⁺ и CD25⁺, уровней цитокинов ИЛ-2, ИФН γ и резким уменьшением РТМЛ с ФГА и плацентарными антигенами по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$).

2) Гестозы у женщин протекали с иммуносупрессорными изменениями в системе иммуногенеза: снижение общей популяции CD3⁺-лимфоцитов, равномерного снижения CD4⁺-клеток и CD8⁺-клеток (ИРИ 1,1 + 0,106), увеличением Т-активированных лимфоцитов (CD25⁺) и натуральных киллеров (CD16⁺) ($p > 0,05$), выраженным увеличением концентрации ИЛ-8, ФНО α , ($p > 0,05$) резким увеличением РТМЛ с ФГА ($p < 0,05$) по сравнению с группой с физиологическим течением беременности ($p < 0,05$).

3) Неосложненное течение беременности характеризовалось состоянием «физиологической иммуносупрессии» с резким снижением концентрации клеток CD16⁺ и CD25⁺.

ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ ИММУНОХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АУТОАНТИТЕЛ К АНТИГЕНУ ЭНДОМЕТРИАЛЬНОЙ ТКАНИ И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ДИАГНОСТИКЕ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Хохлов П.П., Михнина Е.А., Калинина Н.М., Давыдова Н.И., Комаров Е.К.

ГУ НИИАГ им. Д.О. Отта РАМН, ВЦЭРМ МЧС РФ, Санкт-Петербург

Введение. Многие заболевания репродуктивной сферы сопровождаются проявлениями аутоиммунного характера. Показано хроническое аутоиммунное воспаление при хроническом эндометрите, эндометриозах и других заболеваниях. Подобные заболевания представляют собой распространенные причины невынашивания беременности и других нарушений репродуктивной сферы. Аутоиммунный синдром, как правило, чаще всего выявляют путем гистологического обследования, а также при помощи иммуногистохимических методов. Адекватным методом диагностики для многих аутоиммунных заболеваний принято считать выявление циркулирующих органоспецифических антител.

Цель и задачи: определение связывания специфических аутоантител с различными клеточными фракциями эндометрия, оценка качества количественного определения АТ, определение диагностической значимости определения эндометриальных АТ.

Материалы и методы. Количественное определение аутоантител проводили при помощи иммуноферментного метода определения антител согласно оригинально разработанному методу (Заявка на изобретение № 2005118857, приоритет от 8/06/2005). В основе метода лежит использование в качестве иммобилизованных на твердой фазе антигенов фракций микросом стромальных клеток эндометриальной ткани. Определение АТ проводили путем непрямого варианта твердофазного иммуноферментного анализа антител. Статистический анализ проводили при помощи пакета прикладных программ «SPSS13.0».

Основные результаты. Среди клеток и клеточных фракций эндометрия наиболее сильное связывание специфических антител отмечено для фракций микросом (МФ) стромальных клеток эндометрия. В данном случае имели место различия более чем в 10 раз между образцами сывороток здоровых женщин и страдающих хроническим эндометритом. Фракция микросом была успешно использована в форме «мультиспецифичного» антигена при проведении ИФА-определения АТ. Анализ других клеточных фракций, равно фракций железистых клеток продемонстрировал меньшие различия. Качество измерения антител к МФ путем ИФА соответствует требованиям, предъявляемым к иммунохимическим диагностикумам: уровнем точности, надежности, воспроизводимости. У женщин без заболеваний репродуктивной сферы и иммунных заболеваний уровень эндометриальных АТ не превышал 200-250 Е/мл. Средний уровень АТ больных женщин составил 735 (± 114) Е/мл и интервале значений 185-1220 Е/мл. Отмечена достоверная положительная корреляция между уровнем эндометриальных АТ и другими показателями иммунного статуса. Обследование 355 больных женщин и 56 здоровых в качестве контрольной группы продемонстриро-

вало достоверно повышенный уровень АЭАТ у женщин с хроническим эндометритом и эндометриозом.

Заключение. Метод ИФА-определения АЭАТ представляет собой достоверный способ диагностики аутоиммунного компонента нарушений репродуктивной сферы женщин. Метод может быть предпочтителен особенно в случае масштабного скрининга и дает возможность широкого сравнительного количественного обследования.

ФОРМИРОВАНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ НОВОРОЖДЕННЫХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПАТОЛОГИИ БЕРЕМЕННОСТИ

Чистякова Г.Н., Гагиева И.А., Ремизова И.И.

ФГУ «УНИИ охраны материнства и младенчества Росздрава», г. Екатеринбург

Внутриутробное развитие плода во многом определяется характером гестационного процесса и состоянием иммунной системы материнского организма. По современным представлениям, наиболее распространенные осложнения беременности, такие как фетоплацентарная недостаточность (ФПН), гестоз, урогенитальная инфекция (УГИ) характеризуются собственным «иммунологическим профилем», однако особенности функционирования иммунной системы новорожденных от женщин с определенной патологией беременности остаются в стадии изучения.

Цель: выявление иммунологического профиля новорожденных в период ранней постнатальной адаптации в зависимости от осложнения беременности у матери.

Материалы и методы. Проведено клинико-иммунологическое обследование 40 детей от женщин с гестозом, 47 новорожденных от женщин с ФПН и 34 ребенка от женщин с УГИ. Группу сравнения составили 42 здоровых новорожденных от женщин, беременность которых протекала физиологически. Иммунофенотипирование лимфоцитов крови осуществляли методом проточной лазерной цитофлуориметрии на анализаторе «FACS Calibur» фирмы «Becton Dickinson» (США). Уровень иммуноглобулинов классов А, М, G определяли по G. Mancini et al. (1965), концентрацию циркулирующих иммунных комплексов – по методу V.J. Haskova et al. [1978], общую гемолитическую активность комплемента – по Л.С. Резниковой (1967), содержание цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF α – методом ИФА с использованием тест-систем Cytimmune (США). Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA for Windows 5.5».

Основные результаты. При оценке показателей пуповинной крови выявлены однотипные изменения в развитии иммунной системы новорожденных в антенатальном периоде (повышение относительного содержания лимфоцитов, моноцитов, палочкоядерных нейтрофилов, CD25⁺ и CD95⁺-клеток, общей численности CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺CD56⁺, HLA-DR⁺-лимфоцитов и уровня IL-1 β , IL-6, снижение гемолитической активности комплемента), характерные для всех детей от женщин с патологическим течением беременности. В пуповинной крови детей от женщин с гестозом снижалось количество Т-лимфоцитов, экспрессирующих маркер CD95, уменьшался процент наивных клеток (CD45RA⁺)

в общем пуле лимфоцитов, у новорожденных от женщин с инфекцией характерным было повышение численности активированных CD3⁺CD95⁺-клеток и лимфоцитов, экспрессирующих изоформу CD45RA.

На 1-3 сутки жизни выраженные изменения в системе иммунитета новорожденных от женщин с осложненной беременностью сохранялись для продукции IL-6 и экспрессии молекул активации HLA-DR в общем пуле лимфоцитов. Процент палочкоядерных нейтрофилов оставался достоверно повышенным, активность комплемента сохранялась на сниженном уровне в сравнении с показателями здоровых детей. В периферической крови новорожденных от женщин с осложненной беременностью наблюдалось повышение уровня TNF α и увеличение доли наивных лимфоцитов. Количество IgA было сниженным, а концентрация ЦИК – повышенной. К концу раннего периода адаптации у новорожденных от женщин с осложненной беременностью выявлено высокое относительное содержание NK-клеток и моноцитов, сопровождающееся повышенной спонтанной и стимулированной активностью нейтрофилов. Сохранялось повышенное содержание непримированных лимфоцитов (CD45RA⁺) и противовоспалительных цитокинов (IL-6 и TNF α), а также снижение активности комплемента по сравнению с аналогичными показателями в группе здоровых детей. Таким образом, количество общих признаков, характеризующих нарушение иммунологической адаптации новорожденных от женщин с осложненной беременностью, к концу периода ранней адаптации сокращалось, и появлялись признаки, свойственные для каждой группы детей. Наряду с повышением уровня IL-6 и TNF α во всех группах новорожденных, показатели клеточного иммунитета у детей от женщин с ФПН были сопоставимы со значениями здоровых новорожденных. У детей от женщин с гестозом усиленный синтез TNF α и IL-6 сопровождался некоторой активацией клеточного иммунитета (увеличением абсолютной численности CD3⁺, CD8⁺, CD16⁺CD56⁺, CD19⁺, CD45RA⁺, CD45RO⁺, CD95⁺-лимфоцитов, а у новорожденных от матерей с инфекцией – иммуносупрессией, на что указывало снижение данных показателей.

Заключение. На основании полученных данных можно сделать вывод, что состояние иммунного гомеостаза матери, формирующегося под воздействием патологических факторов при осложненной беременности, определяет тип иммунного реагирования новорожденного в период ранней постнатальной адаптации.

ОСОБЕННОСТИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ И ЦИТОХРОМОВ ПРИ ПОТЕРЯХ И ПОРОКАХ ПЛОДА В КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Шабалдин А.В.¹, Глушкова О.А.¹, Симонова Т.А.², Савченко Я.А.¹, Ветрова И.В.¹, Хрипко Ю.И.³, Филипенко М.Л.³, Глушков А.Н.¹

¹ *Институт экологии человека СО РАН, г. Кемерово*

² *Областной перинатальный центр, г. Кемерово*

³ *Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск*

В регионах с высокой техногенной нагрузкой особую роль в формировании патологии плода и беременности имеют так называемые репродуктивные токсиканты. К ним относят полициклические ароматические углево-

дороды (ПАУ), которые за счет своей химической структуры мимикрируют с половыми гормонами. Кроме того, некоторые из них являются тератогенами. Метаболизм и выведение этих низкомолекулярных соединений происходит посредством конъюгации с аминокислотами, белками и связывания специфическими антителами. Детерминируют этот процесс полиморфные гены цитохромов (CYP1A1, CYP1A2), трансфераз (GSTT, GSTM) и интерлейкинов (семейство IL-1). Одними из маркеров текущего мутагенеза могут быть хромосомные абберации в лимфоцитах периферической крови. Исходя из этого **целью** настоящего исследования был поиск генетических маркеров ПНБ и ВППП, индуцированных мутагенами. Тест-системы для молекулярно-генетического анализа полиморфизма CYP1A1, CYP1A2, GSTT, GSTM, IL1 β , IL1Ra разработаны совместно с ИХБФМ СО РАН. Уровень мутагенеза оценивали с помощью процента хромосомных аббераций в лимфоцитах женщины. Анализ полиморфизма исследуемых генов и наличие текущего мутагенеза проводили в трех группах женщин с ВППП, с ПНБ в анамнезе и с физиологическим течением беременности (контроль), в сроки беременности 15-22 нед. Обнаружены положительные ассоциации ВППП с гетерозиготным генотипом С/Т интерлейкина 1 β , а также с гомозиготными генотипами IL-1Ra 2r/2r, 4r/4r, 5r/5r. ПНБ была положительно ассоциирована с гомозиготными генотипами IL1Ra 2r/2r. Гомозиготный генотип С/С CYP1A2 имел положительную ассоциацию с ВППП и ПНБ. Сравнение частот хромосомных аббераций в опытных и контрольной группах показал следующее. В группе женщин с ВППП частота хромосомных аббераций в лимфоцитах крови было достоверно выше, чем в контроле (2,2 \pm 0,3 против 4,4 \pm 0,6, $p < 0,05$). Достоверных различий между группами ПНБ и контроль не обнаружено. Таким образом впервые показано, что у женщин с гетерозиготным генотипом С/Т IL1 β и гомозиготным генотипом С/С CYP1A2 риск формирования ВППП, индуцированных мутагенами был выше. Маркером ПНБ был гомозиготный генотип 2r/2r IL1Ra. Высказано предположение, что стимуляция тератогенеза связана с активным трансплацентарным переносом мутагенов из разряда ПАУ.

СРЫВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С ГЕНИТАЛЬНЫМ КАНДИДОЗОМ. МИНИМИЗАЦИЯ УГРОЗЫ ВЫКИДЫША ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРЕПАРАТА КИПФЕРОН

Шмарина Г.В.¹, **Алешкин В.А.**², **Пухальский А.Л.**¹, **Точиева М.Х.**³, **Пухальская Д.А.**¹, **Савченко Т.Н.**³, **Макаров О.В.**³

¹ *Медико-генетический научный центр РАМН, Москва, Россия*

² *Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия*

³ *Российский государственный медицинский университет, Москва, Россия*

Известно, что клинические проявления генитального кандидоза связаны с агрессивной воспалительной реакцией, которая сопровождается выраженной нейтрофиль-

ной инфильтрацией и продукцией большого количества медиаторов воспаления, включая свободную эластазу. При этом имеет место стимуляция не только местного, но и системного иммунного ответа.

Целью работы было изучение характерных особенностей воспалительной реакции у беременных женщин с генитальным кандидозом, госпитализированных по поводу угрозы выкидыша.

Методика исследования. В исследовании принимали участие 90 беременных женщин в возрасте 18-35 лет (срок беременности 6-12 нед). Двадцать здоровых женщин с физиологически протекающей беременностью составили контрольную группу. 70 женщин с генитальным кандидозом были госпитализированы с признаками начинающегося выкидыша. Терапия пациенток с генитальным кандидозом осуществлялась антимикотическим препаратом «Пимафуцин®» (YAMANOUCHI, Голландия; 1 свеча в сутки) и препаратом «Кипферон®» (АЛФАРМ, Россия; 1 свеча 2 раза в день). Последний представляет собой комплексный иммуноглобулиновый препарат, содержащий IgG, IgA и IgM человека и обогащенный рекомбинантным интерфероном- $\alpha 2$. В периферической крови и образцах цервикальной слизи с помощью коммерческих иммуноферментных наборов исследовали цитокиновый профиль. Кроме того, в цервикальной слизи биохимическим методом определяли активность нейтрофильной эластазы.

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования выявили выраженное повышение активности нейтрофильной эластазы в слизи цервикального канала у пациенток с кандидозной инфекцией, тогда как уровень протеазной активности в образцах слизи здоровых женщин был относительно низким (соответственно 109,3 и 2,9 МЕ/мг белка; $p < 0,02$). Кроме того, у пациенток с генитальным кандидозом в цервикальной слизи было обнаружено существенное повышение уровня провоспалительных цитокинов (ИЛ-8, ИЛ-12, ФНО α , ИФН γ). Так, уровень ИЛ-8 в группе больных в 2 раза превышал соответствующий показатель в контроле (4,9 и 2,2 нг/мг белка, $p = 0,09$). Концентрации ФНО α и ИЛ-12 в цервикальной слизи пациенток с генитальным кандидозом были чрезвычайно высокими и достигали, соответственно, 29,9 и 27,2 нг/мг белка. В контрольной группе концентрации этих цитокинов составили 2,5 и 4,3 нг/мг белка (оба $p < 0,02$). В то же время уровень ИЛ-10 в слизи больных был значимо ниже соответствующего показателя в контроле (соответственно 2,8 и 16,2 нг/мг белка, $p = 0,003$). В плазме большинства здоровых женщин содержании ИФН γ (цитокин типа Th1) было ниже 25 пг/мл (граница чувствительности метода), тогда как концентрация этого цитокина у больных с кандидозной инфекцией составляла 154,9 пг/мл. Содержание ИЛ-4 (цитокин Th2 типа) в плазме обследованных больных и здоровых беременных женщин было сходным и колебалось в пределах 16-24 пг/мл. Таким образом, можно констатировать, что вследствие выраженного иммунного ответа по типу Th1 у беременных женщин с генитальным кандидозом возникает опасность срыва толерантности к полуаллогенному с генетической точки зрения плоду, что в совокупности с активацией нейтрофилов и освобождением эластазы существенно повышает риск спонтанного аборта. Комплексная терапия с использованием препаратов пимафуцин и кипферон была не только клинически эффектив-

ной, но и приводила к нормализации уровня маркеров воспаления в крови и цервикальной слизи пациенток. Так, повторное исследование выявило существенное снижение активности нейтрофильной эластазы (0,2 МЕ/ мг белка) и уровня ИЛ-8 (2,4 нг/мг белка) в цервикальной слизи, а также концентрации ИФН γ (4,1 пг/мл) в образцах плазмы обследованных женщин. Полученные результаты дают основание утверждать, что применение препарата кипферон быстро и эффективно подавляет не только местную воспалительную реакцию, но и оказывает системный иммунокорректирующий эффект, что в сочетании с отсутствием побочных эффектов позволяет рассматривать кипферон как препарат выбора.

НЕКОТОРЫЕ ПАРАМЕТРЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ЖЕНЩИН С ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИЕЙ

Шоикрамова Н.Х.¹, Асатова М.М.¹,
Мусаходжаева Д.А.², Гафарова Д.Х.¹

¹ Институт усовершенствования врачей МЗ РУз

² Институт иммунологии АН РУз,
г. Ташкент, Узбекистан

Синдром гиперпролактинемии – это сочетание гиперпролактинемии с бесплодием, нарушениями менструального цикла и галактореей. Одной из возможных причин гиперпролактинемии могут быть аутоиммунные нарушения – синтез антител к пролактину и лактоглобулинам. Наличие антител к пролактину приводит к агрегации низкомолекулярных мономеров пролактина с иммуноглобулином G, что приводит к образованию иммунных комплексов. Установлено, что у женщин с гиперпролактинемией наблюдается активация Th1-хелперов и синтез цитокинов, оказывающих супрессивный эффект на гуморальный иммунитет. Включается цитотоксический механизм поражения, который связан с Т-киллерами. Основой поражения служат Th1-зависимые клеточные иммунные процессы. При этом гиперактивация Th1-лимфоцитов способствует повышению синтеза простагландинов, которые, в свою очередь, оказывают влияние на синтез антител к пролактину и могут быть причиной аутоиммунного нарушения.

В связи с вышесказанным целью данного исследования явилось изучение состояния иммунной системы женщин с гиперпролактинемией. Были обследованы 34 женщины репродуктивного возраста – 18-35 лет с НБ в анамнезе. У всех обследованных женщин проводилось трехкратное определение уровня пролактина в сыворотке крови, компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография – МРТ. Всем женщинам было проведено определение уровня стероидных гормонов и содер-

жание гонадотропинов. Проведенный анамнез показал, что у 8 женщин (23,5%) наблюдалась первичная аменорея, у 7 женщин (20,5%) – вторичная аменорея, у 12 женщин (35,3%) наблюдалась опсоменорея, у 7 женщин (20,5%) наблюдалась олигоменорея. Галакторея наблюдалась у 62% (21) обследованных женщин. У 57% обследованных женщин (19) наблюдалось невынашивание беременности, у 43% женщин (15) наблюдалось бесплодие. Контрольную группу составили 16 практически здоровых женщин репродуктивного возраста. Иммунологические исследования проводились изучением количественного определения лимфоцитов с фенотипом CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD95, CDHLA-DR с помощью моноклональных антител серии LT (Ин-т иммунологии, ТОО «Сорбент», Москва, Россия). Концентрацию иммуноглобулинов определяли общеизвестным методом радиальной иммунодиффузии по Mancini (моноспецифические сыворотки института им. Н.Ф. Гамалеи, Москва). Было выявлено, что у женщин с гиперпролактинемией уровни CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ снижено по сравнению с параметрами контрольной группы ($p < 0,01$). При этом уровни CD20⁺, CD95⁺, CD HLA-DR⁺ достоверно повышены. Уровни IgG и IgA достоверно повышены ($p < 0,01$). Результаты исследования показали, что при гиперпролактинемии экспрессия на Т-лимфоцитах активационного маркера CD25, представляющего собой рецептор для ИЛ-2 находилось на уровне контрольных значений. При этом количество клеток, экспрессирующих антиген CD95, увеличивалось. Эти данные с нашей точки зрения, свидетельствуют в пользу того, что развитие вторичного иммунодефицита при гиперпролактинемии может быть связано с нарушением процессов активации эффекторных клеток, возникающим вследствие отсутствия полноценного второго сигнала, возникающего при взаимодействии ИЛ-2R и ИЛ-2. Исследуя активационные процессы по экспрессии маркера на Т-лимфоцитах крови HLA-DR, мы обнаружили, что количество активационных маркеров увеличивается на фоне усиления экспрессии клетками периферической крови маркера CD95. По данным литературы, процесс увеличения числа клеток CD95⁺ сопряжен со значительным повышением концентрации провоспалительных цитокинов, которые, как известно, обладают плейотропными эффектами и способны индуцировать синтез ИЛ-8.

Таким образом, представленные данные указывают на значительную патогенетическую роль иммунных нарушений в процессе формирования иммунодефицитного состояния при гиперпролактинемии. Глубокие и стойкие нарушения механизмов регуляции и взаимодействия иммунокомпетентных клеток в процессе иммунного ответа приводят к разбалансировке и в цитокиновой системе регуляции и вытекающих из этого явлений повышенной готовности к апоптотической гибели эффекторных клеток.