

# ИММУНОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИИ

## ОСОБЕННОСТИ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ЦЕРВИКАЛЬНОГО КАНАЛА У ЖЕНЩИН С ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ШЕЙКИ МАТКИ, АССОЦИИРОВАННЫМИ С ОДНИМ И БОЛЕЕ ТИПАМИ ВПЧ ВКР

Абрамовских О.С., Телешева Л.Ф., Беренда М.А., Ахматова А.Н.

НИИ иммунологии Челябинской государственной медицинской академии, г. Челябинск, Россия

**Введение.** К факторам риска инфицирования и персистенции папилломавирусной инфекции относятся нарушение локальных механизмов иммунной защиты. Одним из факторов злокачественной трансформации эпителия шейки матки является коинфицирование разными типами ВПЧ ВКР (вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска).

**Цель:** выявить особенности механизмов локальной иммунной защиты шейки матки у женщин с доброкачественными заболеваниями шейки матки, ассоциированными с одним и более типами ВПЧ ВКР.

**Задачи:** изучить и проанализировать иммунологические показатели цервикального секрета, провести генотипирование ВПЧ ВКР (12 типов) методом ПЦР у женщин с доброкачественными заболеваниями шейки матки, установить характерные особенности факторов местного иммунитета при наличии одного и более типов ВПЧ ВКР.

**Материалы и методы.** Проведено клинико-иммунологическое обследование 36 женщин детородного возраста. Все пациентки прошли тестирование методом ПЦР при помощи диагностических наборов производства «Амплисенс» ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора на наличие ДНК ВПЧ ВКР (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 типы) в соскобах из цервикального канала. На основании результатов генотипирования было сформировано 2 группы сравнения: I группа – 12 женщин с доброкачественными заболеваниями шейки матки, у которых был обнаружен один тип ВПЧ ВКР, II группа – 12 женщин с доброкачественными заболеваниями шейки матки с двумя и более типами ВПЧ ВКР. Контрольную группу составили 12 практически здоровых женщин (без патологии шейки матки и ДНК ВПЧ ВКР). Для изучения местного иммунитета цервикального канала определяли общее количество лейкоцитов и процент жизнеспособных клеток, лизосомальную, НСТ- и фагоцитарную функции полиморфноядерных лейкоцитов.

Статистическая обработка проводилась с использованием программы «Statistica 6.0».

**Основные результаты.** У пациенток I и II групп общее количество лейкоцитов было достоверно выше, чем в контрольной группе ( $p = 0,0464$  и  $p = 0,0032$  соответственно), при этом абсолютное количество жизнеспособных клеток во II группе достоверно превышало этот показатель по сравнению с группой практически здоровых женщин ( $p = 0,0047$ ).

При анализе фагоцитарной функции нейтрофилов у больных обеих групп выявлено достоверное снижение показателей активности ( $p = 0,0032$  и  $p = 0,0002$ ), интенсивности ( $p = 0,0008$  и  $p = 0,0009$ ) и фагоцитарного числа ( $p = 0,0079$  и  $p = 0,0464$ ) по сравнению с контрольной группой.

По результатам исследования индуцированного НСТ-теста нейтрофилов было установлено достоверное снижение его активности в I группе сравнения ( $p = 0,0262$ ), а интенсивности ( $p = 0,0166$ ) – во II относительно группы практически здоровых женщин.

**Заключение.** Установлено, что у женщин с доброкачественными заболеваниями шейки матки независимо от количества типов ВПЧ ВКР характерны общие нарушения локальных механизмов иммунной защиты – повышение абсолютного количества лейкоцитов и угнетение фагоцитарной функции полиморфноядерных лейкоцитов. При этом более выраженные изменения отмечались в группе с двумя и более типами ВПЧ ВКР по сравнению с группой практически здоровых женщин.

Характерной особенностью иммунологических нарушений при инфицировании одним типом ВПЧ ВКР является снижение индуцированной НСТ-редуцирующей активности нейтрофилов, тогда как при коинфицировании двумя и более типами ВПЧ ВКР – достоверное усиление притока жизнеспособных клеток и снижение интенсивности НСТ-индуцированного теста.

## ИММУННЫЕ МЕХАНИЗМЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ НАРУШЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГОВ С ЭУТОПИЧЕСКИМ ЭНДОМЕТРИЕМ У ЖЕНЩИН С НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

Анциферова Ю.С., Сотникова Н.Ю., Посисеева Л.В., Елисеева М.А., Филиппова Е.С.

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

Существует гипотеза, что развитие эндометриоидных очагов связано с неадекватной реакцией перитонеальных макрофагов на клетки эутопического эндометрия, попадающего в перитонеальную полость в результате

менструального рефлюкса, хотя механизмы, определяющие нарушение функции перитонеальных макрофагов при эндометриозе, до конца не установлены. Известно, что за удаление макрофагами клеточного дебриса и апоптирующих клеток отвечают специфические рецепторы, получившие название «рецепторов-мусорщиков». Но характер экспрессии этих рецепторов перитонеальными макрофагами при наружном генитальном эндометриозе в настоящее время остается практически не изученным. Возможность эктопического роста эндометрия может также определяться и изменением антигенных и инвазивных свойств самой эндометриальной ткани у женщин с эндометриозом. В связи с этим особый интерес представляет уточнение молекулярных механизмов, определяющих особенности взаимодействия перитонеальных макрофагов и эндометриальных клеток при эндометриозе. Целью настоящего исследования было в эксперименте *in vitro* определить характер экспрессии «рецепторов-мусорщиков» и адгезионных молекул перитонеальными макрофагами при их взаимодействии с эктопическим эндометрием и параллельно оценить изменение апоптоза и инвазивных свойств эндометриальных клеток после их культивирования с макрофагами для уточнения механизмов формирования очагов эктопического эндометрия в перитонеальной полости. Были обследованы 32 женщины с наружным эндометриозом, 14 женщин с бесплодием, обусловленным трубно-перитонеальным фактором и 5 здоровых женщин (контрольная группа). Материалом для исследования служила перитонеальная жидкость и биоптаты эктопического эндометрия. Обогащенную фракцию перитонеальных макрофагов культивировали в присутствии измельченных фрагментов эктопического эндометрия (опыт) или только в среде RPMI 1640 (контроль) в течение 24 часов при 37 °С и 5% CO<sub>2</sub>. Затем определяли фенотип макрофагов методом проточной цитометрии. В ткани эндометрия определяли уровень экспрессии мРНК матриксной металлопротеиназы-2 (ММР-2) и тканевого ингибитора ММР-2 (ТИМР-2) методом RT-PCR в масштабе реального времени. Параллельно ферментативным методом выделяли эндометриальные стромальные клетки и определяли уровень апоптоза стромальных клеток с помощью аннексинового теста. Было установлено, что у женщин с эндометриозом в отличие от бесплодных женщин с трубным фактором и здоровых фертильных женщин была снижена экспрессия CD204 и CD11b молекул перитонеальными макрофагами. После совместного культивирования макрофагов с фрагментами аутологичного эндометрия у пациенток с эндометриозом отмечалось достоверное снижение количества CD11b<sup>+</sup> и CD49e<sup>+</sup> макрофагов. Выраженных изменений в экспрессии «рецепторов-мусорщиков» CD36 и CD204 при этом не отмечалось. При этом у женщин с бесплодием, обусловленным трубным фактором, и у здоровых женщин инкубация перитонеальных макрофагов с аутологичным эндометрием приводила к значительному увеличению уровня CD36<sup>+</sup> макрофагов. При наружном эндометриозе в ткани эндометрия после его инкубации с перитонеальными макрофагами было выявлено снижение уровня экспрессии РНК ТИМР-2 и уменьшение количества апоптирующих стромальных эндометриальных клеток. Изучение апоптоза в эндометрии женщин с бес-

плодием, обусловленным трубным фактором, показало, что в целом взаимодействие макрофагов с аутологичным эндометрием усиливало апоптоза эндометриальных стромальных клеток преимущественно за счет повышения уровня клеток, находящихся на поздних необратимых стадиях апоптоза. В эндометрии здоровых женщин в этих условиях отмечалось значительное повышение уровня эндометриальных клеток, находящихся на ранних стадиях апоптоза. Таким образом, отмечаемое после совместного культивирования перитонеальных макрофагов с аутологичным эндометрием у женщин с эндометриозом снижение экспрессии адгезионных молекул и отсутствие изменений в экспрессии «рецепторов-мусорщиков» перитонеальными макрофагами при повышении инвазивных свойств и жизнеспособности клеток аутологичного эндометрия может лежать в основе иммунных нарушений, ведущих к формированию эндометриоидных очагов в перитонеальной полости.

### ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У БЕРЕМЕННЫХ С ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ, ПРОЖИВАЮЩИХ В РЕГИОНЕ ПРИАРАЛЬЯ

Арипова Т.У., Атанязова О.А.<sup>1</sup>, Мусаходжаева Д.А., Мамбетова Г.К.<sup>1</sup>

*Институт иммунологии АН РУз, г. Ташкент, Республика Узбекистан*

<sup>1</sup>*Нукусский филиал педиатрического института МЗ РУз, г. Нукус, г. Ташкент, Республика Узбекистан*

Фетоплацентарная недостаточность представляет собой сочетанную реакцию плода и плаценты на неблагоприятные факторы, воздействующие на организм беременной женщины. При этом фетоплацентарная недостаточность сопровождается гипоксией, задержкой внутриутробного развития плода и является одной из основных причин перинатальной заболеваемости и смертности. Фетоплацентарная недостаточность у беременных сопровождается изменением состояния иммунной системы. Снижается уровень CD4<sup>+</sup> клеток, изменяется соотношение цитокинов Th-1/Th-2-типов. Целью исследования явилось изучение уровней про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1β, IL-4, IL-6, IL-10 и ИФНγ) в сыворотке крови у 58 женщин в III триместре беременности с фетоплацентарной недостаточностью. Диагноз фетоплацентарной недостаточности ставился по данным ультразвукового исследования и результатов доплерографии. Изучение уровня цитокинов проводили с использованием тест-систем ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург). Было выявлено, что у женщин с фетоплацентарной недостаточностью наблюдается преобладание цитокинов Th-1-профиля разной степени выраженности в зависимости от компенсации фетоплацентарной недостаточности, дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов. Полученные данные были отнесены с различной степенью готовности к родам. Внутриутробное состояние плода, возникающее в результате ФПН, часто является показанием к оперативному родоразрешению. Полученные результаты позволяют оценить степень активации различных звеньев иммунитета и прогнозировать возможность развития различного типа фетоплацентарной недостаточности.

**ОСОБЕННОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА +14BP/-14BP 3'UTR HLA-G ПРИ ТРУБНОПЕРИТОНЕАЛЬНОМ БЕСПЛОДИИ**Беленкова О.В.<sup>1</sup>, Земерова Т.В.<sup>1</sup>, Шабалдин А.В.<sup>2</sup>, Лисаченко Г.В.<sup>3</sup>, Шабалдина Е.В.<sup>3</sup><sup>1</sup>МУЗ Детская городская клиническая больница № 5, г. Кемерово, Россия<sup>2</sup>Институт угля и углехимии СО РАН, г. Кемерово, Россия<sup>3</sup>ГОУ ВПО Кемеровская государственная медицинская академия Росздрава, г. Кемерово, Россия

HLA-G является эмбриональным антигеном I класса главного комплекса гистосовместимости (6p21.3), обеспечивающего толерантность делящегося плодного яйца и трофобласта бластоцисты по отношению к материнскому иммунному микроокружению [Kurszenbaum et al., 1994]. Показано, что альтернативный сплайсинг мРНК в клетках трофобласта приводит к потере в кодируемом протеине альфа 3 домена. Именно это феномен способствует блокированию натуральных киллеров материнского микроокружения и перестройки иммунного ответа женщины по отношению к эмбриональным антигенам на Т-хелперный второго типа, с преимущественной секрецией трофических интерлейкинов: IL-4, IL-6, IL-10 [Rizzo et al., 2005]. С альтернативным сплайсингом мРНК HLA-G связан полиморфизм в 3'-нетранслируемом регионе (8 экзон), так, наличие 14 добавочных пар нуклеотидных оснований (+14bp) приводит к снижению экспрессии мРНК, и наоборот, аллель -14bp ассоциирован с высоким коррелированием мРНК. Если учесть, что именно последний вариант обеспечивает иммунную толерантность полуаллогенного эмбриона и плода, то вполне вероятно, что аллель +14bp будет связан с иммунными формами репродуктивных потерь [Ober et al., 2003, Thomas Vauvert F. Nviid, 2005]. В патогенезе трубноперитонеального бесплодия роль HLA-G может сводиться к нарушению точности межклеточных контактов. Исходя из этого проанализировали 16 образцов ДНК здоровых доноров женского пола и 33 образца ДНК женщин с трубноперитонеальным бесплодием. Для выявления полиморфизма 14bp-делеция / 14bp-инсерция использовали ПЦР с тест-системами, разработанными в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН г. Новосибирска. Продукты амплификации детектировали в 6% полиакриламидном геле. Частоту аллелей и генотипов в контрольной и опытной группах сравнивали с помощью точного метода Фишера с поправкой на непрерывность, а также рассчитывали относительный фактор риска – RR [Л.А. Животовский, 1991]. Результаты считали достоверными при ошибке менее 5%, что допустимо для медико-биологических исследований. В ходе исследования показано, что частота аллелей в группах контроля и опыта не имела достоверных различий. При сравнении генотипов выявлено, что гомозиготный генотип +14bp/+14bp встречался в 30,3% образцов ДНК женщин с трубноперитонеальным бесплодием, в то время как в контрольной группе частота ДНК с таким генотипом не превышала 6,2% ( $p = 0,05$ ;  $\chi^2 = 3,61$ ;  $RR = 4,62$ ). Высокий уровень относительного фактора риска указывает на то, что гомозиготность по добавочным 14 парам нуклеотидных оснований в 3'UTR HLA-G является кандидатом

в генетические маркеры трубно-перитонеального бесплодия. Патогенез этого типа бесплодия может быть связан как с эффективностью межклеточных контактов в первые дни беременности, так и с инфекционными аднекситами вне беременности. Последние данные указывают, что HLA-G экспрессируется и в иммунокомпетентных клетках взрослого человека, выполняя роль ограничителей иммунных реакций [Onno et al., 1994]. Тем самым женщины с генотипом +14bp/+14bp подвержены выраженным воспалительным реакциям, приводящим к спаечным процессам.

**ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ ПАТОЛОГИИ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ППЦНС**

Белолова Р.А., Дудникова Э.В., Вороненко И.И.

Ростовский государственный медицинский университет, г. Ростов-на-Дону, Россия

Незрелость системы нейрогуморальной регуляции, мощная антигенная нагрузка в периоде ранней адаптации определяется напряженностью функционирования системы местного иммунитета, обеспечивающего резистентность организма новорожденных детей.

Целью исследования явилось выявление взаимосвязи особенностей реакции иммунной системы при катаральных и эрозивно-язвенных колитах у новорожденных детей с ППЦНС разной степени тяжести.

Обследовано 21 ребенка с тяжелым (I группа) и 35 со среднетяжелым (II группа) течением ППЦНС. Неврологические нарушения проявлялись у детей I группы наличием синдрома угнетения в 6%, и гидроцефально-гипетензионного – 32,1%, внутричерепной гипертензии – 37,5%, судорожных пароксизмов – 25%, двигательных нарушений – 18,7%, вегето-висцерального синдрома – 72%, цереброспинальных нарушений – 56,2% случаев. У детей II группы вегето-висцеральный синдром был у 95,7%, церебро-спинальные нарушения у 32,6%, другие синдромы встречались реже, чем у детей I группы. Вегето-висцеральный синдром у детей группы в 70% случаев проявлялся колитами, у детей I группы число колитов увеличивалось до 77,2% за счет увеличения числа язвенно-некротических колитов. Диагноз колита верифицировался по результатам ректороманоскопии. Иммунологическое обследование включало определение субпопуляций лимфоцитов с помощью моноклональных антител, содержания сывороточных иммуноглобулинов основных классов реакцией иммунопреципитации в геле, уровня ЦИК осаждением ПЭГ. Все дети обследованы на кишечный дисбактериоз и копрограмму.

Общей закономерностью реакции иммунной системы у детей с колитами были развитие дисбаланса субпопуляционного состава лимфоцитов, дисиммуноглобулинемия и повышение уровня ЦИК. Снижение CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, повышение количества В-лимфоцитов с маркерами CD20<sup>+</sup> наблюдалось при катаральном и эрозивном колитах. Увеличение уровня IgM, снижение содержания IgG, увеличение уровня ЦИК наиболее существенны были при эрозивных колитах. Нарушения переваривающей функции кишечника проявлялись стеатореей, наличием

лейкоцитов, мышечных волокон в кале. Дибактериоз регистрировался у всех детей и проявлялся снижением количества бифидо- и лактобактерий, кишечной палочки с типичными свойствами и увеличением высеваемости условно-патогенной микрофлоры. Степень снижения бифидо- и лактобактерий была более выражена при эрозивных колитах.

Таким образом, у новорожденных детей с вегетовисцеральным синдромом ППЦНС формируется синдром вторичной иммунной недостаточности. Выраженность нарушений иммунного статуса не имеет прямой зависимости от тяжести ППЦНС, но ассоциирована с формой колитов, особенностями микробиоценоза кишечника, что необходимо учитывать при планировании комплексного обследования и проведения комбинированной терапии с включением иммунокоррекции.

### ПОЛИМОРФИЗМ ПРОМОТОРНОГО РЕГИОНА ГЕНА TNF $\alpha$ В ПОЗИЦИЯХ -308 И -238 У ЖЕНЩИН, БОЛЬНЫХ ВВК, И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ РУССКОЙ НАЦИОНАЛЬНОСТИ

Букова А.С., Бурмистрова А.Л., Сулова Т.А., Сташкевич Д.С., Самышкина Н.Е., Мокринская Е.А.

Научно-учебный центр молекулярной иммуногенетики  
УрО РАН, г. Челябинск, Россия  
Челябинский государственный университет,  
г. Челябинск, Россия  
Челябинская станция переливания крови, г. Челябинск,  
Россия

**Введение.** Вульвовагинальный кандидоз (ВВК) — составляет 40-50% в структуре инфекционной патологии нижнего отдела женского репродуктивного тракта. В 90-95% случаев возбудителем заболевания является представитель условно-патогенной микрофлоры — *Candida albicans*, проявляющий дуалистические способности, выступая в качестве комменсала, с одной стороны, и в качестве патогена — с другой. Взаимодействие *C. albicans* с эпителием слизистой оболочки женского репродуктивного тракта ведет к воспалительному процессу, выраженность которого во многом определяется ассортиментом и уровнем цитокинов, то есть признаками, зависящими как от патогена, так и от иммуногенетической составляющей организма хозяина. Одним из наиболее значимых провоспалительных цитокинов является TNF $\alpha$ , ген которого характеризуется высокой полиморфностью. Описано для гена TNF $\alpha$  несколько SNP (полиморфизм по одному нуклеотиду) полиморфизмов в промоторном регионе, которые оказывают влияние на уровень транскрипции и экспрессии гена и, таким образом, осуществляют вклад в патогенез заболевания. Наиболее известными SNP являются нуклеотидные замены G на A в точках -308 и -238. Согласно литературным данным мутантный аллель A в положении -308 повышает транскрипционную активность гена и продукцию цитокина, а нуклеотидная замена в положении -238 снижает продукцию TNF $\alpha$ .

**Цель исследования:** провести сравнительный анализ частот распределения аллельных вариантов и генотипов SNP полиморфизма в точках -308 и -238 промоторного региона гена TNF $\alpha$  у здоровых лиц и женщин русской национальности, больных ВВК. Оценить межгенные соче-

тания исследуемых полиморфизмов гена TNF $\alpha$  в группах женщин, больных ВВК, и здоровых лиц.

**Задачи.** 1. Изучить распределение аллельных вариантов и генотипов SNP полиморфизма в точках -308 и -238 промоторного региона гена TNF $\alpha$  у здоровых лиц и женщин русской национальности, больных ВВК. 2. Оценить частоты сочетаний генотипов исследуемых полиморфизмов гена TNF $\alpha$  в группах женщин, больных ВВК, и здоровых лиц.

**Материалы и методы.** Диагноз ВВК был поставлен 67 женщинам на основании комплексного обследования больных, подтвержденного стандартными методами микробиологического исследования. Контрольная группа составила 213 здоровых на момент исследования кадровых доноров Челябинской областной станции переливания крови русской национальности. Принадлежность к этнической группе определялась по данным генеалогического анамнеза в третьем поколении (согласно рекомендациям 8-й Международной рабочей встречи в 1980 г., Лос-Анджелес, США). Типирование SNP в гене TNF $\alpha$  проводилось методом ПДРФ — анализ полиморфизма длинны рестрикционных фрагментов: амплификация с последующей обработкой ампликонов эндонуклеазами рестрикции NcoI для положения -308 (G/A), BamHI для положения -238 (G/A) при 37 °C. Детекция результатов осуществлялась методом электрофореза в 8% ПААГе. Статистическая обработка результатов — критерий Пирсона ( $\chi^2$ ).

**Основные результаты.** 1. Анализ распределения аллельных вариантов и генотипов SNP полиморфизма в позициях -308 и -238 гена TNF $\alpha$  у женщин, больных ВВК, и здоровых лиц не выявил статистически значимых различий.

2. Частоты сочетаний генотипов SNP в позициях -308 и -238 гена TNF $\alpha$  не отличались в исследуемых группах.

**Заключение.** В данном исследовании представлены предварительные результаты распределения аллелей и генотипов SNP -308 и -238 гена TNF $\alpha$  у женщин, больных ВВК. В этом направлении будут проводиться дальнейшие исследования.

### НЕЙРОИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ РАННЕЙ АДАПТАЦИИ ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ ПУТЕМ ОПЕРАЦИИ КЕСАРЕВА СЕЧЕНИЯ

Бычкова С.В., Чистякова Г.Н., Газиева И.А.  
ФГУ «НИИ охраны материнства и младенчества  
Росмедтехнологий», г. Екатеринбург, Россия

В последние годы в условиях увеличения возраста первородящих женщин, ухудшения показателей их соматического и репродуктивного здоровья отмечается увеличение частоты осложнений беременности и оперативных родов. Ранняя адаптация новорожденных детей при оперативном родоразрешении имеет свои особенности. У детей, рожденных путем операции кесарева сечения, достоверно чаще встречается респираторный дистресс-синдром, перинатальная патология ЦНС, они представляют категорию высокого риска по формированию инфекционного процесса.

Несмотря на большое количество работ, посвященных ранней адаптации детей, родившихся путем

абдоминального родоразрешения, мало внимания уделяется изучению закономерностей функционирования иммунной системы в периоде новорожденности, позволяющих выявить уязвимые звенья, которые приводят к развитию заболеваний. Наряду с параметрами физического развития, оценкой по шкале Апгар, показателями газов и кислотно-щелочного состояния крови использование нейроиммунологических методов оценки процессов постнатальной адаптации этих детей дает важную информацию о состоянии здоровья детей в последующие периоды жизни.

В настоящее время одним из направлений в изучении механизмов формирования неврологической патологии у детей раннего возраста является исследование содержания нейроспецифических белков в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости. Нейроспецифическая енолаза (NSE) является одним из маркеров поражения клеток мозга. NSE содержится преимущественно в нейронах и нейроэндокринных клетках и, участвуя в процессах гликолиза, выполняет в нейронах ферментативную функцию. В норме нейроспецифическая енолаза присутствует в сыворотке крови в концентрациях от 2 до 13 нг/мл. Повышение количества данного фермента в сыворотке при поражениях ЦНС объясняется поступлением в кровоток в результате деструктивных процессов в клетках мозга и повышенной проницаемостью гемато-энцефалического барьера. Другим значимым маркером повреждения ЦНС является глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), входящий в состав оболочки, окружающей отростки нейронов. Увеличение значений GFAP в сыворотке крови новорожденных также рассматривается как маркер тяжести церебральной ишемии.

**Цель исследования** заключалась в изучении содержания нейроспецифических белков крови у детей, родившихся путем операции кесарева сечения. Обследовано 23 доношенных новорожденных ребенка, из них 15 детей, родившихся путем операции кесарева сечения, составили основную группу и 8 детей от спонтанных родов вошли в группу сравнения. Содержание NSE и GFAP определяли методом ИФА в 1-е сутки жизни (пуповинная кровь) и в возрасте 12-18 месяцев жизни. Установлено, что уровень NSE в пуповинной крови у детей от оперативных родов более чем в 2 раза ниже, чем у детей от спонтанных родов, что можно объяснить меньшей травматизацией головного мозга ребенка при операции КС. В возрасте 12-18 месяцев жизни достоверной разницы в концентрации NSE у детей от разных способов родоразрешения не обнаружено. Уровень глиофибрилярного кислого протеина в обеих группах достоверно не отличался ни в раннем неонатальном периоде, ни в возрасте 12-18 месяцев.

На втором этапе исследований проведена оценка содержания NSE в пуповинной крови детей основной группы в зависимости от перенесенного гипоксического воздействия. При оценке по шкале Апгар на 1-й минуте 5-6 баллов среднее значение NSE составило 36,71 нг/мл, при оценке по шкале Апгар на 1-й минуте 7-8 баллов среднее значение NSE составило 18,45 нг/мл. Таким образом, у новорожденных, перенесших острую или сочетанную гипоксию, повышение концентрации NSE в 1-е сутки жизни может служить маркером степени тяжести интранатального гипоксического поражения ЦНС.

Концентрация нейроспецифической енолазы в пуповинной крови может служить отражением гипоксического воздействия на плод и использоваться для прогноза степени тяжести перинатального поражения ЦНС. Уровень нейроспецифических белков у детей, рожденных способом операции КС, свидетельствует о том, что абдоминальное родоразрешение представляет собой щадящий вариант родоразрешения и является методом выбора для завершения беременности в случаях тяжелой фетоплацентарной недостаточности, задержки внутриутробного роста плода, особенно на фоне гестоза. Дефицит кислорода и перенесенная гипоксия способствуют гибели нейронов и клеток окружения, нарушению функций гемато-энцефалического барьера и определяют напряженность процессов адаптации таких новорожденных.

### **ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ «КЛИМОДИЕН» И «АНЖЕЛИК» НА АПОПТОЗ МНК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ЭНДОМЕТРИЯ ЖЕНЩИН ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ПЕРИОДА**

**Васильева И.А., Сотникова Н.Ю., Букина Е.А.**

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

Климактерический синдром (КС) развивается у 40-70% женщин менопаузального периода при нарушении процессов адаптации к эстрогендефицитному состоянию. По литературным данным, в постменопаузе увеличивается частота возникновения опухолевых, аутоиммунных и инфекционных заболеваний, что связывают с эстрогендефицитным состоянием. С целью лечения симптомов эстрогендефицитного состояния назначается заместительная гормональная терапия (ЗГТ). Наиболее часто используемыми в клинической практике препаратами ЗГТ являются «Анжелик» и «Климодаиен». Известно, что половые стероидные гормоны оказывают выраженное влияние на иммунную систему, в частности, на апоптоз иммунных клеток. Однако литературные данные, характеризующие особенности апоптоза иммунных клеток и его регуляции у женщин постменопаузального периода, противоречивы, нет данных о влиянии препаратов ЗГТ на апоптоз клеток иммунной системы. В связи с чем целью нашего исследования было выявить особенности апоптоза и экспрессии молекул Fas и FasL лимфоцитами и моноцитами/макрофагами периферической крови и эндометрия женщин постменопаузального периода до и после лечения препаратами «Анжелик» и «Климодаиен». Нами было проведено обследование 20 женщин климактерического периода (48-60 лет) дважды в динамике, до и после лечения препаратами «Анжелик» и «Климодаиен», и 15 здоровых женщин фертильного возраста (20-35 лет), составивших контрольную группу. Содержание CD95<sup>+</sup> и CD95L<sup>+</sup> клеток и параметры аннексинового теста определяли с помощью моноклональных антител (Caltag USA) методом проточной цитофлюориметрии. Уровень sFas, sFasL, Bcl-2, p53 оценивали методом ELISA. У женщин в постменопаузе по сравнению с женщинами фертильного возраста, было снижено содержание АннексинV<sup>+</sup>, АннексинV<sup>+</sup>Pi<sup>-</sup> лимфоцитов, но повышен уровень CD95<sup>+</sup> клеток. Кроме

того, у женщин в постменопаузе было снижено содержание АннексинV<sup>+</sup>, АннексинV<sup>+</sup>Pi<sup>+</sup> и CD95L<sup>+</sup> клеток. На локальном уровне у женщин постменопаузально-го периода содержание АннексинV<sup>+</sup>, АннексинV<sup>+</sup>Pi<sup>+</sup>, АннексинV<sup>+</sup>Pi<sup>+</sup> лимфоцитов эндометрия, АннексинV<sup>+</sup>, АннексинV<sup>+</sup>Pi<sup>+</sup> макрофагов эндометрия, а так же содержание CD95<sup>+</sup> макрофагов было достоверно ниже, чем у женщин фертильного возраста. После лечения препаратами «Анжелик» и «Климодиен» достоверно повышалось содержание апоптирующих лимфоцитов периферической крови и эндометрия, практически достигая уровня аналогичных значений у фертильных женщин. Апоптоз моноцитов крови и макрофагов эндометрия после лечения не изменялся, и оставался сниженным. В то же время препарат «Климодиен» повышал апоптоз-индуцирующую функцию МНК крови, а «Анжелик» усиливал готовность лимфоцитов эндометрия к апоптозу. Сывороточный уровень Vcl-2, p53 в постменопаузе был снижен и не изменился после проводимой терапии, однако оба препарата снижали сывороточный содержание sFas, который способен блокировать апоптоз, конкурируя с mFas в связывании лиганда. При снижении уровня sFas, вероятно, улучшается рецептор-лигандное взаимодействие Fas-FasL молекул, что может приводить к усилению апоптоза лимфоцитов. Учитывая имеющиеся литературные данные о снижении в постменопаузе количества циркулирующих лимфоцитов и моноцитов, можно предположить, что снижение апоптоза МНК является компенсаторной реакцией на лимфо- и монопению, направленной на сохранение достаточного количества клеток иммунной системы. Выявленное снижение апоптоз-индуцирующей способности моноцитов может приводить к ухудшению иммунного надзора над опухолевыми и инфекционно-трансформированными клетками мишенями. По-видимому, изучаемые препараты ЗГТ могут способствовать элиминации активированных клонов лимфоцитов, но за счет разных механизмов.

#### **ХАРАКТЕР ЭКСПРЕССИИ АКТИВИРУЮЩИХ И ИНГИБИРУЮЩИХ РЕЦЕПТОРОВ НА ПОВЕРХНОСТИ CD56<sup>+</sup> ЕСТЕСТВЕННЫХ КИЛЛЕРОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ДЕЦИДУАЛЬНОЙ ОБОЛОЧКИ ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ ТЕЧЕНИИ БЕРЕМЕННОСТИ И ПРИ СПОНТАННОМ АБОРТЕ НА РАННИХ СРОКАХ ГЕСТАЦИИ**

**Воронин Д.Н., Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Крошкина Н.В., Дмитриенко Т.А.**

*ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени В.Н. Городкова Росмедтехнологий», г. Иваново, Россия*

Наступление беременности сопровождается значительными изменениями в иммунном ответе матери, особенно в интерфазе мать-плацента-плод. Показано, что в материнской части плаценты — децидуальной оболочке (ДО) — в ранние сроки гестации резко увеличивается содержание специфической популяции децидуальных CD56<sup>+</sup> клеток. Несмотря на высокое содержание CD56<sup>+</sup> ЕК в ранней плаценте, эти клетки не оказывают цитотоксического воздействия на клетки плодового происхождения. Многие исследователи считают, что этот феномен определяется репертуаром специфических

мембранных рецепторов децидуальных ЕК, которые относятся преимущественно к рецепторам ингибиторного типа, блокирующим проведение активирующего сигнала в клетку. Лигандами этих рецепторов являются неклассические МНС антигены, экспрессируемые клетками трофобласта плодового происхождения, поэтому связывание ингибирующих рецепторов на поверхности ЕК с их лигандами не приводит к усилению литической активности ЕК. В то же время характер экспрессии активирующих рецепторов децидуальными ЕК в настоящее время остается мало изученным. Нет данных о взаимосвязи особенностей рецепторного репертуара периферических и децидуальных ЕК с характером течения беременности на ранних сроках. Целью настоящего исследования было установить характер экспрессии активирующих (NKG2D), ингибирующих (NKG2A) и функциональных (CD161) рецепторов на поверхности периферических и децидуальных CD56<sup>+</sup> лимфоцитов при неосложненной беременности и самопроизвольном выкидыше (СВ) на ранних сроках гестации. Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь и децидуальная оболочка плаценты. Было проведено обследование 15 женщин в сроке гестации 8-12 недель, беременность которых закончилась медицинским абортом (контрольная группа) и 10 женщин с самопроизвольным прерыванием беременности на ранних сроках гестации. Лимфоциты из децидуальной оболочки выделялись механическим способом. Обогащенную популяцию лимфоцитов получали стандартным методом скоростного центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина. Фенотип лимфоцитов оценивали с помощью моноклональных антител методом двухцветной проточной цитометрии. Было установлено, что спонтанное прерывание беременности на ранних сроках сопровождалось значительными изменениями в соотношении экспрессии на поверхности CD56<sup>+</sup> ЕК активирующих и ингибирующих рецепторов, причем это изменение в большей степени было выражено на локальном уровне. У женщин с СВ нами отмечалось увеличение количества периферических CD56<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup> лимфоцитов по сравнению с таковым показателем в контрольной группе. При этом значительных изменений в экспрессии молекул NKG2A и NKG2D периферическими CD56<sup>+</sup> лимфоцитами у женщин данной клинической группы выявлено не было. При анализе данных, характеризующих активацию ЕК на локальном уровне, было установлено, что развитие СВ сопровождалось выраженным возрастанием в децидуальной оболочке плаценты количества CD56<sup>+</sup> лимфоцитов, экспрессирующих CD161 молекулы, тогда как уровень децидуальных CD56<sup>+</sup>NKG2A<sup>+</sup> клеток, напротив, значительно снижался по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы. Нами не было выявлено существенных отличий в содержании CD56<sup>+</sup>NKG2D<sup>+</sup> лимфоцитов в децидуальной оболочке плаценты при физиологической беременности и при СВ. Таким образом, развитие спонтанного аборта в I триместре беременности сопровождается увеличением пула функционально активных периферических CD56<sup>+</sup> ЕК. Отличительной чертой децидуальных CD56<sup>+</sup> лимфоцитов при самопроизвольном прерывании беременности на ранних сроках является

снижение экспрессии на поверхности ЕК ингибирующих рецепторов. Такая ситуация позволяет говорить о нарушении соотношения активирующих и ингибирующих рецепторов и активации ЕК в плаценте при СВ. Одновременное повышение экспрессии децидуальными ЕК функциональных рецепторов, определяющих развитие цитолитической активности, может вести к активации цитотоксических реакций материнской иммунной системы в отношении антигенов плодового происхождения и лежать в основе механизмов досрочного прерывания беременности на ранних сроках гестации.

### АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА СИГНАЛЬНОГО РЕЦЕПТОРА ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА TLR9 С ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫМИ РОДАМИ ИНФЕКЦИОННОГО ГЕНЕЗА

Ганковская О.А., Ганковская Л.В.<sup>1</sup>, Макаров О.В.<sup>1</sup>, Лавров В.Ф., Зверев В.В.

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

<sup>1</sup>ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, Москва, Россия

**Введение.** В последние годы активно изучается роль генетических факторов в формировании полноценных механизмов врожденного иммунитета. При этом особое внимание уделяется не только эффекторным молекулам иммунитета – цитокинам, но также распознающим структурам врожденного иммунитета, которые представлены Toll-подобными рецепторами (TLR). TLR9 располагается в эндосомах и распознает неметилированные повторы CpG ДНК вирусов и бактерий. В результате взаимодействия TLRs с лигандами происходит активация механизмов врожденного иммунитета. Известно, что такие полиморфизмы (single nucleotide polymorphisms) TLR9, как 1174A/G, 1635A/G, 2848G/A ассоциированы с красной волчанкой, развитием HIV-1 инфекции и другими заболеваниями. Вышеперечисленные полиморфизмы располагаются как в домене TLR9, распознающим патоген, так и в TIR-домене, участвующем в проведении сигнала в клетку. Нами в предыдущих исследованиях была показана значительная роль TLRs в развитии патологии беременности инфекционного генеза: преждевременные роды, реализация внутриутробного инфицирования и др. Однако связь различных TLR-опосредованных механизмов врожденного иммунитета при урогенитальной инфекции (УГИ) беременных с генетическими факторами практически не изучена.

**Цель данного исследования:** изучение ассоциации полиморфизма 2848G/A TLR9 с преждевременными родами инфекционного генеза в русской популяции.

**Материалы и методы.** В соответствии с поставленными задачами было обследовано 160 беременных женщин, находящихся в родильном доме при 8-й городской больнице, у 124 из которых была выявлена урогенитальная инфекция, а 36 составляли контрольную группу. Срок беременности составлял 28-30 недель. Возраст исследуемых женщин – 19-38 лет. Диагностика урогенитальной инфекции (уреаплазма, микоплазма, цитомегаловирус, вирус простого герпеса, *Candida albicans*) осуществлялась с помощью полимеразной цепной реакции. В качестве клинического материала использовали клетки слизистой цервикального канала. Из клеток была выделена ДНК

и с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в присутствии TaqMan зондов (R6G и ROX) образцы были исследованы на наличие аллеля А или G в положении +2848 гена TLR9. Праймеры для последовательности гена TLR9 были подобраны с помощью программы Vector NTI. Статистический анализ полученных результатов проводится с помощью точного критерия Фишера (для сравнения частот аллелей использовали), а также показателя соотношения шансов OR.

**Основные результаты.** В нашей работе было показано, что частота аллеля G в группе беременных с УГИ составила 0,500, а в группе физиологически протекающей беременностью – 0,611, в то время как частота аллеля А составляла 0,500 и 0,389 в исследуемых группах соответственно. По результатам ретроспективного анализа группа беременных с урогенитальной инфекцией была разделена на две подгруппы: с преждевременными и со срочными родами. Распределение частот аллелей в группе с преждевременными родами составило 0,581 (аллель G) и 0,419 (аллель А), а группе со срочными родами – 0,436 (аллель G) и 0,564 (аллель А). В группе с реализацией внутриутробной инфекции распределение частот не сильно отличалось от такового в норме и составило 0,621 (аллель G) и 0,379 (аллель А). При рассмотрении распределения частот генотипов в исследуемых группах можно сказать, что в группе с физиологически протекающей беременностью преобладал генотип GG (частота составила 0,527), схожая картина наблюдалась в группе с реализацией внутриутробной инфекции (частота – 0,517) и в группе с преждевременными родами (частота – 0,441). Генотипы AA и AG в большей степени доминировали в группе со срочными родами при УГИ и их частота составляла 0,382 и 0,364 соответственно.

**Заключение.** Сравнительный анализ выявил достоверные различия частот аллелей и генотипов полиморфного маркера 2848G/A TLR9. При этом можно сделать вывод, что аллель А и генотип AA являются протективными в случае преждевременных родов инфекционного генеза.

### УРОВЕНЬ ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ЦЕРВИКАЛЬНОМ СЕКРЕТЕ У ЖЕНЩИН С ХЛАМИДИЙНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ДО И ПОСЛЕ ТЕРАПИИ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ ЛАЗЕРОМ С ПЕРЕМЕННОЙ ГЕНЕРАЦИЕЙ ИМПУЛЬСА

Гизингер О.А., Колесников О.Л., Ишпахтина К.Г., Маркова В.А.

НИИ иммунологии Челябинской государственной медицинской академии, г. Челябинск, Россия

**Введение.** Провоспалительные цитокины являются основными медиаторами развития местной воспалительной реакции иммунного ответа организма. Исход взаимодействия хламидий с клетками мишенями во многом определяется продукцией цитокинов иммунокомпетентными клетками. Цитокины не влияют непосредственно на хламидии, но, изменяя метаболизм клетки-хозяина, интерферируют с процессами нормального внутриклеточного развития хламидий. Необходимым условием для реализации иммунного ответа с образованием цитокинов является синтез бактериальных белков. Липополисахарид, ассоциированный с мембраной хламидий, индуцирует продукцию

IL-1 моноцитами и макрофагами, что, в свою очередь, стимулирует выработку TNF $\alpha$  – еще одного потенциального инициатора воспалительного процесса. Предполагается, что инфицированные хламидиями эпителиальные клетки могут играть существенную роль в развитии воспалительной реакции за счет таких цитокинов воспаления, как IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, TNF $\alpha$ . Низкоинтенсивный лазер используется в комплексной терапии урогенитального хламидиоза как иммуномодулирующее, бактерицидное, противовоспалительное средство. Он воздействует практически на все составляющие патологического процесса: клеточный, гуморальный, тканевый и органнй.

**Целью** настоящей работы явилось изучение содержания провоспалительных цитокинов в цервикальной слизи женщин с хламидийной инфекцией до и после терапии низкоинтенсивным лазером спременной генерацией импульса.

**Материалы и методы.** На клиничко-лабораторном контроле находились 50 женщин в возрасте 24 $\pm$ 5 лет с диагнозом урогенитальный хламидиоз. Первую группу составили 25 пациенток, получавших базисную терапию без применения лазера, 25 пациенток второй группы наряду с базисной получали лазеротерапию аппаратом «Мустанг», работающем в непрерывном режиме инфракрасного излучения, длина волны 632 нм, мощность 50 Вт, частота 80 Гц в количестве 10 процедур по 5 минут.

**Обсуждение.** У пациенток первой группы в цервикальной слизи были зарегистрированы достоверно низкие уровни IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  и особенно TNF $\alpha$  и повышение концентрации IL-8 по сравнению со здоровыми женщинами. У пациенток второй группы, получавших лазеротерапию наряду с базисной, наблюдалось значительное повышение уровня провоспалительных цитокинов как по сравнению с аналогичными показателями здоровых женщин, так и по сравнению с показателями цитокинов цервикальной слизи у пациенток первой группы.

**Вывод.** Таким образом, проведенные исследования выявили нарушение синтеза провоспалительных цитокинов у женщин с хламидийной инфекцией. Воздействие низкоинтенсивным лазером с переменной генерацией импульса усиливает выработку провоспалительных цитокинов в цервикальной слизи и способствует устранению дисбаланса со стороны факторов местного иммунитета у женщин с генитальным хламидиозом.

## АССОЦИАЦИЯ МАТЕРИНСКИХ HLA I КЛАССА С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ РАЗВИТИЯ У ПЛОДА

Гордеева Л.А.<sup>1</sup>, Глушков А.Н.<sup>1</sup>, Гареева Ю.В.<sup>2</sup>, Шабалдин А.В.<sup>3</sup>, Симонова Т.А.<sup>3</sup>, Сутулина И.М.<sup>2</sup>, Крюков П.М.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт экологии человека СО РАН, г. Кемерово, Россия

<sup>2</sup>ГОУ ВПО КемГМА МЗ РФ, г. Кемерово, Россия

<sup>3</sup>МУЗ ДГКБ № 5, г. Кемерово, Россия

**Введение.** Известно, что врожденный порок развития плода (ВПП) является мультифакториальным заболеванием, т.е. результатом аддитивного действия большого числа внешних и внутренних, в том числе генетических, факторов. Генетические механизмы возникновения ВПП до сих пор не изучены.

**Целью** исследования стало изучение ассоциаций материнских антигенов главного комплекса гистосовместимости человека (HLA) с ВПП. Изначально предположили, что установленные ассоциации не будут строго специфичны для того или иного порока, а будут в целом отражать риск их развития.

**Материалы и методы.** Были обследованы 169 женщин в возрасте от 18 до 43 лет, проживающих на территории Кемеровской области, наблюдавшихся в МУЗ ДГКБ № 5. Группу сравнения составили 92 женщины с физиологическим течением беременности, в сроки беременности 15-30 недель и отсутствием в анамнезе спонтанных аборт и ВПП. Исследуемую группу составили 77 беременных женщин (15-30 недель), вынашивающих плод, у которого с помощью ультразвукового исследования был установлен ВПП. Структура ВПП была следующей: патология ЦНС (анэнцефалия, гидроцефалия, синдром Арнольда-Киари II, экзенцефалия, *spina bifida*), гастрошизис, пороки мочевыводящей системы, пороки сердца, множественные пороки развития плода. HLA-типирование проводили с помощью стандартного лимфоцитотоксического теста, в работе использовали панель гистотипирующих сывороток против HLA I класса ЗАО «Межрегионального центра иммуногенетики и гистотипирующих реагентов "Тисанс"», г. Санкт-Петербург. Неидентифицированные HLA A и B были отнесены к группе Blank. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью четырехпольной таблицы сопряженности с поправкой Йетса на непрерывность вариации. Нулевую гипотезу отвергали при  $p < 0,05$ . Силу ассоциации анализируемых признаков определяли с помощью величины относительного риска RR [Певницкий Л.А., 1988].

**Основные результаты.** Сопоставление частот HLA локуса A у женщин исследуемой группы и группы сравнения показало отсутствие статистически значимых различий между ними. Однако при сопоставлении частот HLA локуса B было найдено, что статистически значимая положительная ассоциация с ВПП была характерна для женщин, экспрессирующих HLA B15, а также входящим в его сплит HLA Bw62, в отличие от женщин группы сравнения (23,4% против 8,7%,  $\chi^2 = 5,86$ ;  $p = 0,015$ ; RR = 3,09). У женщин, в фенотипе которых присутствовал HLA B21 (49), беременность чаще протекала нормально в отличие от женщин с ВПП (14,1% против 1,3%,  $\chi^2 = 7,44$ ;  $p = 0,006$ ; RR = 0,12). Подобная ситуация наблюдалась и у женщин, экспрессирующих HLA B51 (21,7% против 9,1% соответственно,  $\chi^2 = 4,35$ ;  $p = 0,036$ ; RR = 0,38). Сопоставление частот фенотипов HLA локуса A и B у женщин исследуемой группы и группы сравнения показало отсутствие статистически значимых различий между ними. В то же время при сопоставлении частот гаплосочетаний HLA в этих двух группах было установлено, что только HLA A24, B35 статистически значимо чаще встречался у женщин с ВПП (6,5% против 0% в группе сравнения;  $\chi^2 = 4,10$ ;  $p = 0,043$ ; RR = 14,03).

**Заключение.** Таким образом, наше исследование подтверждает, что HLA женщины оказывают влияние на формирование ВПП. Не исключено, что наследование будущим ребенком HLA B15(w62) и HLA A24, B35 от матери чаще сочетается с развитием патологии. Очевидно, что HLA-типирование матери позволяет оценить риск формирования у плода пороков развития.

## ВЛИЯНИЕ HLA DRB1\* МАТЕРИ НА ФОРМИРОВАНИЕ ВРОЖДЕННОГО ПОРОКА РАЗВИТИЯ У ДЕТЕЙ И ПЛОДОВ

Гордеева Л.А.<sup>1</sup>, Макаренченко О.С.<sup>1</sup>, Глушкова О.А.<sup>1</sup>, Гареева Ю.В.<sup>2</sup>, Симонова Т.А.<sup>3</sup>, Мун С.А.<sup>1</sup>, Глушков А.Н.<sup>1</sup>, Шабалдин А.В.<sup>3</sup>, Сутулина И.М.<sup>2</sup>, Крюков П.М.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт экологии человека СО РАН, г. Кемерово, Россия

<sup>2</sup>ГОУ ВПО КемГМА МЗ РФ, г. Кемерово, Россия

<sup>3</sup>МУЗ ДГКБ № 5, г. Кемерово, Россия

**Введение.** Роль HLA DRB1\* матери в патогенезе врожденного порока развития плода (ВПП) до сих пор не установлена. Лишь в одной работе говорится о связи HLA DRB1\*08 с расщелиной неба и верхней губы (Sakata Y. с соавт., 1999). Поэтому целью настоящего исследования стало изучение ассоциации материнских HLA DRB1\* с ВПП у детей и плодов. Изначально предположили, что установленные ассоциации не будут строго специфичны для того или иного порока, а будут в целом отражать риск их развития.

**Материалы и методы.** Обследовано 400 женщин в возрасте от 18 до 43 лет, проживающих на территории Кемеровской области. Группу сравнения (I) составили 195 женщин с отсутствием в анамнезе спонтанных абортов и ВПП. Из них на момент обследования 133 женщины были с физиологическим течением беременности в сроки 15–35 недель, а 62 женщины-роженицы условно «здорового» ребенка. Исследуемая группа (II) включала 205 женщин, где 131 женщина была беременной (15–35 недель) и вынашивала плод, у которого с помощью ультразвукового исследования был установлен порок (у 33 беременность в дальнейшем была прервана), а 74 женщины-роженицы с диагнозом новорожденного ВПП. Структура ВПП была следующей: патология ЦНС (анэнцефалия, гидроцефалия, синдром Арнольда–Киари II, экзенцефалия, *spina bifida*), гастрошизис, пороки мочевыводящей системы, пороки сердца, множественные пороки развития плода. Геномную ДНК выделяли из периферической крови с помощью метода фенол-хлороформной экстракции, образцы ДНК растворяли в 10 мМ Tris/1 EDTA, pH 8,0 и хранили при -20 °С. Типирование гена HLA DRB1\* проводили с помощью коммерческой тест-системы HLA-ДНК-ТЕХ (фирма «НПФ ДНК-технология», Россия). Детекцию продуктов амплификации осуществляли электрофоретически в 3% агарозном геле. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью четырехпольной таблицы сопряженности с поправкой Йетса на непрерывность вариации ( $\chi^2$ ). Нулевую гипотезу отвергали при  $p < 0,05$ . Силу ассоциации анализируемых признаков определяли с помощью величины относительного риска RR [Певницкий Л.А., 1988].

**Основные результаты.** Анализ распределения частот специфичностей HLA DRB1\* у женщин I и II групп показал, что только со специфичностью HLA DRB1\*12 была установлена статистически значимая положительная ассоциация с ВПП у плода и новорожденного. Так, специфичность HLA DRB1\*12 в три с половиной раза

чаще встречалась у женщин II группы, чем у женщин группы I (9,3% против 2,6% соответственно;  $\chi^2 = 7,02$ ;  $p = 0,008$ ; RR = 3,62). Статистически значимые отрицательные ассоциации материнских HLA DRB1\* с ВПП отсутствовали. Исследование частот HLA DRB1\* генотипов у женщин I и II групп показало отсутствие статистически значимых положительных ассоциаций генотипов HLA DRB1\* с ВПП у плода и новорожденного. В то же время установлена статистически значимая отрицательная ассоциация генотипа HLA DRB1\*11,13 с ВПП, который значительно чаще встречался у женщин группы I, чем у женщин группы II (7,17% против 1,46% соответственно;  $\chi^2 = 6,68$ ,  $p = 0,009$ ; RR = 0,21).

**Заключение.** Установлена статистически значимая положительная ассоциация материнской специфичности HLA DRB1\*12 и статистически значимая отрицательная ассоциация генотипа HLA DRB1\*11,13 с ВПП у плода и новорожденного. Таким образом, HLA DRB1\*-типирование можно расценивать как метод донозологической оценки риска формирования ВПП.

## ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ РАЗЛИЧНОМ ТЕМПЕ РОСТА МИОМЫ МАТКИ

Исанбаева Л.М.<sup>1</sup>, Арипова Т.У., Асатова М.Ю., Мусаходжаева Д.А.<sup>1</sup>

ТашИУВ МЗ РУз, \*Институт иммунологии АН РУз, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Установлено, что регуляторные Т-лимфоциты непосредственно участвуют в развитии опухолевого роста. Миома матки, представляющая собой доброкачественную опухоль в миометрии, является одним из самых распространенных гинекологических заболеваний, патогенез которого до конца не выявлен. Целью исследования явилось определение особенностей содержания субпопуляций Т-лимфоцитов в периферической крови женщин репродуктивного возраста с миомой матки различных темпов роста. Нами были обследованы 68 женщин в возрасте от 24 до 37 лет, которые были разделены на 2 группы: 1-я группа – 36 женщин с миомой матки стабильно малых размеров; 2-я группа – 32 женщины с быстрорастущей миомой матки. Контрольную группу составили 22 практически здоровые женщины того же возраста. Изучали количество лимфоцитов с фенотипом CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD-HLADR, CD95 в периферической крови с помощью МАТ серии LT (Ин-т иммунологии, ТОО «Сорбент», Москва, Россия). Было установлено, что при миоме матки стабильно малых размеров содержание регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови достоверным изменениям не подвергалось. Развитие быстрого роста опухоли происходило на фоне значительного усиления активности CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> лимфоцитов. Таким образом, повышение уровня субпопуляций лимфоцитов определяет активность данной клеточной популяции, что ведет к подавлению противоопухолевого ответа и, как следствие, развитию быстрого роста миомы матки.

## СОДЕРЖАНИЕ АНГИОГЕННЫХ И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ В ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ БОЛЬНЫХ НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ И ЭНДОМЕТРИОИДНЫХ ГЕТЕРОТОПИЯХ

Кондратьева П.Г.<sup>1</sup>, Соколов Д.И., Ярмолинская М.И., Сельков С.А., Ниаури Д.А.<sup>1</sup>

Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отто РАМН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Проведен анализ динамики продукции VEGF, bFGF, ангиогенина, MIG, MCP-1, RANTES и IL-8 в перитонеальной жидкости больных наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) различной степени тяжести (ПЖ) и надосадочной жидкости, полученной после культивирования «красных» эндометриоидных гетеротопий (НЖ). Была обследована 51 женщина репродуктивного возраста с НГЭ различной степени тяжести, контрольную группу составили 24 здоровые женщины. Диагноз НГЭ верифицирован на основании эндоскопических данных и по результатам гистологического исследования. Степень тяжести НГЭ оценивалась по классификации R-AFS. Забор ПЖ и ткани эктопического эндометрия осуществляли в процессе проведения лапароскопических операций. Продукцию цитокинов оценивали с помощью метода проточной цитофлуориметрии с использованием тест-систем BD Cytometric Bead Array (США). Концентрация VEGF в ПЖ больных НГЭ III-IV степени тяжести была в 2 раза выше, чем при I-II степени тяжести и в 3 раза выше, чем в группе контроля. В НЖ уровень VEGF составил  $1705,43 \pm 299,6$  пг/мл. Мы не обнаружили значимого количества bFGF в ПЖ больных НГЭ и здоровых женщин, в НЖ концентрация bFGF составила  $432,9 \pm 59,9$  пг/мл. Концентрация ангиогенина была достоверно выше в ПЖ больных НГЭ и НЖ по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,001$ ). Уровень RANTES в ПЖ больных НГЭ был достоверно выше ( $p < 0,001$ ), чем в контрольной группе, и в 2 раза превышал аналогичные показатели НЖ. Содержание MCP-1 было достоверно выше в ПЖ больных НГЭ по сравнению с контрольной группой, в НЖ значения данного хемокина превышали аналогичные показатели ПЖ в 2 раза. MIG проявил себя в большей степени на системном уровне в ПЖ, чем в НЖ ( $2320,2 \pm 276,1$  пг/мл и  $1316,5 \pm 170,6$  пг/мл,  $p < 0,001$ ). Содержание IL-8 в ПЖ больных НГЭ было выше, чем в контрольной группе. В НЖ содержание данного цитокина более чем в 800 раз превышало показатели ПЖ больных НГЭ. Полученные данные могут свидетельствовать о нарушении баланса ангиогенных и провоспалительных факторов при НГЭ, что может способствовать развитию и прогрессированию заболевания.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ САЛЬПИНГОФООРИТОМ

Конопля А.А., Кеня А.А., Кобелева Ю.И., Цуркина М.А., Рыбников В.Н., Гаврилюк В.П.

Курский государственный медицинский университет, г. Курск, Россия

**Введение.** В основе хронизации воспалительного процесса придатков матки лежит сложный иммунопатоло-

гический процесс, на течение которого влияет исходная функциональная активность иммунокомпетентных клеток, продукция ими тех или иных иммуноглобулинов, цитокинов, патогенных иммунных комплексов и адгезивных молекул и структурно-функциональные свойства эритроцитов, играющих важную роль в регуляции иммунного гомеостаза.

**Цель и задачи.** Цель работы – установление взаимосвязей между изменениями показателей иммунного статуса и физико-химическими свойствами эритроцитов в условиях обострения хронического сальпингоофорита (ХСО).

**Материалы и методы.** В работе представлены данные обследования и лечения на базе Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа 62 женщин в возрасте от 21 до 44 лет с установленным диагнозом хронической сальпингоофорит в стадии обострения.

**Основные результаты.** У больных ХСО в крови выявлено снижение относительного содержания CD4<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> клеток, повышение представительности CD95<sup>+</sup> клеток. При этом наблюдались выраженные изменения цитокинового статуса, что проявлялось дисбалансом про- и противовоспалительных цитокинов: в плазме крови повышены концентрации практически всех изученных цитокинов, обладающих провоспалительной активностью: TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-8 при снижении концентрации противовоспалительного цитокина IL-4; выявлена активация системы комплемента, о чем свидетельствует повышение в плазме крови концентрации C<sub>3</sub> и C<sub>4</sub> компонентов системы комплемента. Кроме этого, у пациенток имеет место повышение в плазме крови концентрации малонового диальдегида (МДА) и ацилгидроперекисей (АГП). У пациенток с ХСО выявлены также изменения в представительности белков мембран эритроцитов: снижение количества  $\alpha$ - и  $\beta$ -спектрина, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, повышение содержания белка полосы 4.1, дематина и актина. Кроме этого, установлено повышение внутриэритроцитарной концентрации МДА и общей сорбционной способности этих клеток (ССЭ). Используя метод ранговой корреляции Спирмена, нами построена матрица множественной корреляции между изучаемыми показателями иммунного, оксидантного статуса и структурно-функциональных свойств эритроцитов. При анализе установлены достоверные взаимосвязи между изменениями концентрации провоспалительных цитокинов и представительностью в мембране эритроцитов подфракций спектрина и количества глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы; функционально-метаболической активностью нейтрофилов, состоянием перекисного окисления липидов и показателем ССЭ.

**Заключение.** Полученные в работе данные свидетельствуют о том, что в условиях хронического воспалительного процесса в малом тазу, в частности ХСО, нарушается целый ряд параметров структурно-функциональных свойств эритроцитарной мембраны, перекисного окисления липидов и иммунного статуса, изменения которых взаимообусловлены. Данный факт свидетельствует о необходимости коррекции нарушений не только показателей иммунитета, но и структурно-функциональных свойств эритроцитов, что необходимо учитывать при лечении больных с данной патологией.

**ВЛИЯНИЕ ИЦТ НА СОДЕРЖАНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ У ЖЕНЩИН С УГРОЗОЙ НЕВЫНАШИВАНИЯ**

Крошкина Н.В., Сотникова Н.Ю., Чухина С.И., Бойко Е.Л.

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

При изучении иммунных механизмов, определяющих физиологическое и патологическое развитие беременности, в последнее время большое внимание исследователей привлекает роль так называемых регуляторных Т-клеток (Трег). Трег определяют своевременную супрессию иммунного ответа, которая необходима для предотвращения развития чрезмерной иммунной реакции. При невынашивании ранних сроков беременности по данным ряда авторов отмечается повышенная активация лимфоцитов. В связи с этим особый интерес представляет изучение роли Трег в развитии угрозы невынашивания беременности ранних сроков. В лечении привычного невынашивания беременности метод иммуноцитотерапии (ИЦТ) применяется в акушерстве сравнительно давно, однако механизмы его влияния на процессы гестационной иммуносупрессии при данной патологии изучены еще недостаточно.

**Целью** нашего исследования было установить особенности влияния ИЦТ лимфоцитами донора на изменение количества Трег в крови у женщин с УН ранних сроков.

Проводилось иммунологическое обследование 30 женщин с угрозой невынашивания беременности на ранних сроках до и после проведения ИЦТ донорскими лимфоцитами. Контрольную группу составили 20 беременных женщин I триместра с неосложненным течением беременности.

Оценку количества Трег в периферической крови проводили по определению содержания CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>CD152<sup>+</sup> лимфоцитов методом проточной цитофлуориметрии на приборе FACScan («Becton Dickinson», USA).

Нами было установлено, что у женщин при развитии угрозы невынашивания беременности на ранних сроках в периферической крови происходило резкое снижение количества CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>CD152<sup>+</sup> лимфоцитов по сравнению с показателями при физиологической беременности. После проведения ИЦТ в группе женщин с УН ранних сроков нами определялось достоверное повышение количества Трег с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>CD152<sup>+</sup>. Отмеченные изменения в количестве Трег клеток сопровождалось улучшением общего состояния женщин, исчезновением симптомов угрозы прерывания и дальнейшим прогрессированием беременности.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что Трег играют определенную роль в патогенезе невынашивания беременности ранних сроков. По-видимому, индуцированная трансфузией аллогенных клеток иммуномодуляция может способствовать восстановлению нарушенной при угрозе невынашивания регуляции материнского иммунного ответа.

**ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОДУКЦИИ ХЕМОКИНОВ У ЖЕНЩИН III ТРИМЕСТРА ПРИ УГРОЗЕ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ**

Крошкина Н.В., Сотникова Н.Ю., Таланова И.Е., Борзова Н.Ю.

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

Несмотря на большое число исследований, механизмы развития угрозы преждевременных родов остаются до настоящего времени до конца не изученными. Известно, что при угрозе преждевременных родов цитокиновый профиль меняется в сторону преобладания синтеза провоспалительных цитокинов. Однако не меньшую роль в развитии угрозы преждевременного прерывания беременности играют хемокины. В то же время работы, посвященные этой проблеме, немногочисленны.

**Целью** нашего исследования было установить особенности продукции RANTES и фракталкина на системном и локальном уровне при развитии угрозы преждевременного прерывания беременности в III триместре. Было проведено иммунологическое обследование 30 женщин III триместра с угрозой преждевременных родов (УПР) и 20 беременных женщин тех же сроков гестации с неосложненным течением беременности. Материалом для исследования служили периферическая кровь и децидуальная оболочка плаценты. Содержание RANTES и фракталкина в сыворотке крови и тканевых экстрактах децидуальной оболочки плаценты оценивали методом твердофазного ИФА.

Анализ полученных данных показал, что у женщин, имевших на момент обследования клинические признаки УПР, в периферической крови уровень RANTES был выше, чем при неосложненной беременности, тогда как концентрация фракталкина в сыворотке крови женщин обеих обследуемых групп была ниже пределов чувствительности тест-системы. В плацентарных экстрактах женщин группы с УПР уровень RANTES и фракталкина был значительно ниже, чем в контрольной группе. Сравнительный анализ системной и локальной продукции исследуемых хемокинов показал, что и у женщин с УПР, и у женщин с неосложненным течением беременности сывороточное содержание RANTES превышало таковое в тканевых экстрактах, а уровень фракталкина, напротив, был более высоким в децидуальной оболочке плаценты. Таким образом, в III триместре беременности большую значимость выработка RANTES приобретала на системном уровне, а фракталкина — на локальном. Складывается впечатление, что чрезмерная продукция RANTES в периферической крови ассоциируется с развитием клинических признаков угрозы преждевременных родов. В то же время снижение содержания RANTES и фракталкина в плаценте женщин, беременность которых осложнилась УПР, может свидетельствовать о нарушении физиологического процесса направленного хоминга активированных клонов иммунокомпетентных клеток в ткани плаценты в конце гестационного периода при данной акушерской патологии.

## НАРУШЕНИЕ РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ГЕСТОЗЕ

Кудряшова А.В., Сотникова Н.Ю., Панова И.А., Мальгина Л.Ю., Мамалыга И.Н.

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

Большинство исследователей, занимающихся проблемой гестоза, отмечают значительный рост и активацию популяций цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ) и ЕК как на системном, так и на локальном уровнях. Увеличение активности цитотоксических клеток в конце беременности может обуславливать развитие клинических проявлений гестоза – поражение эндотелия сосудов и других тканей. В тоже время само развитие гестоза, проявляющееся в выраженных нарушениях в плаценте, может определять сенсбилизацию материнской иммунной системы фетальными АГ с последующим развитием реакций врожденного и адаптивного иммунного ответа. Известно, что основным механизмом ограничения чрезмерной пролиферации активированных лимфоцитов является процесс естественной их гибели – апоптоз. Регуляция апоптоза осуществляется различными механизмами, в том числе и опосредовано при воздействии эндогенных факторов роста. В связи с этим целью нашей работы было оценить уровень цитотоксической активности ЦТЛ и ЕК по данным внутриклеточной продукции гранзима В (GrB), а также определить особенности раннего и позднего апоптоза периферических лимфоцитов женщин с гестозом, и исследовать *in vitro* влияние факторов роста TGFβ2 и VEGF на данные показатели.

Всего было обследовано 40 женщин в 35-40 недель беременности. Из них у 21 женщины отмечался гестоз, у 19 женщин беременность на момент обследования протекала без осложнений. Методом проточной цитофлюориметрии с использованием аннексинового теста исследовали содержание периферических лимфоцитов, находящихся на ранних (AnnexinV<sup>+</sup>PI<sup>-</sup>) и поздних (AnnexinV<sup>+</sup>PI<sup>+</sup>) этапах апоптоза, определяли: относительное содержание CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup> лимфоцитов; уровень GrB<sup>+</sup>, AnnexinV<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup> и CD95L<sup>+</sup> клеток в популяциях CD8<sup>+</sup> ЦТЛ, CD16<sup>+</sup> и CD56<sup>+</sup> ЕК. В эксперименте *in vitro* оценивали влияние TGFβ2 в концентрации 1000 пг/мл и VEGF в концентрации 20000 пг/м на показатели аннексинового теста. Для этого лимфоциты периферической крови культивировали в течении 24 часов в среде RPMI 1640 при 37 °С в 5% CO<sub>2</sub> в присутствии факторов роста и без них. Нами было установлено, что в периферической крови женщин с гестозом возрастало содержание AnnexinV-позитивных лимфоцитов в результате роста пула AnnexinV<sup>+</sup>PI<sup>-</sup> клеток, но отсутствовали изменения в содержании AnnexinV<sup>+</sup>PI<sup>+</sup> клеток по сравнению с показателями при физиологической беременности. В тоже время при гестозе отмечался рост содержания ЦТЛ и ЕК, а также GrB<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> и GrB<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> клеток. Исследование параметров апоптоза ЦТЛ показало, что при гестозе отсутствовали достоверные изменения в содержании CD8<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>CD95L<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>AnnexinV<sup>+</sup> лимфоцитов, но достоверно возрастал пул CD8<sup>+</sup>AnnexinV<sup>-</sup> клеток. Изменения параметров апоптоза ЕК при гестозе были более выраженными. Для обеих

популяций ЕК при незначительном росте CD16<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup> и CD56<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup> клеток было характерным более выраженное повышение относительного содержания клеток, экспрессирующих молекулу FasL и неапоптирующих клеток. Результаты эксперимента показали, что TGFβ2 оказывал более выраженное апоптоз-регулирующее действие, чем VEGF. Так, и при физиологической беременности, и при гестозе TGFβ2 способствовал переходу лимфоцитов из обратимой фазы в необратимую фазу апоптоза. VEGF в обеих группах женщин не влиял на показатели раннего апоптоза, но вызывал увеличение содержания AnnexinV<sup>+</sup>PI<sup>+</sup> лимфоцитов только при неосложненном течении беременности.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что при гестозе возрастание уровня активированных ЦТЛ и ЕК может быть обусловлено нарушением их естественного апоптоза. С одной стороны, это могло быть обусловлено усилением поверхностной экспрессии FasL ЕК, а с другой стороны, нарушением при гестозе продукции факторов роста. Ранее нами было показано снижение уровня TGFβ2 в периферической крови женщин с гестозом при отсутствии значительных изменений в содержании VEGF. Возможно ослабление контроля со стороны апоптоз-регулирующих факторов, одними из которых являются факторы роста, обуславливает увеличение содержания потенциально опасных клеток, активно продуцирующих гранзим В.

## СВЕТОПОГЛОЩАЮЩИЕ ХРОМОФОРЫ В ЦЕРВИКАЛЬНОЙ СЛИЗИ ШЕЙКИ МАТКИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН

Маргенова А.А., Сотникова Н.Ю., Лебедева Н.Ш.

ФГУ «Ив НИИ МиД им. В.Н. Городкова Росмедтехнологий», ИХР РАН, г. Иваново, Россия

Свет является основой жизни, поскольку с помощью света переносится энергия. Человек подвергается воздействию естественных и искусственных источников лучистой энергии с самой различной спектральной характеристикой и чрезвычайно обширным диапазоном интенсивности: от 100 000 лк и более днем при прямом солнечном свете до 0,2 лк ночью при свете луны. Каждый отдельный участок спектра имеет определенные длины волн и частоту электромагнитных колебаний, что в свою очередь качественно характеризует эти участки спектра, их биологическое действие и значение. Большинство фотохимических процессов начинается с того, что вещество поглощает свет. Это приводит к переходу электронов его атомов или молекул на более высокий энергетический уровень – иначе говоря, к переходу их в возбужденное состояние. Такие атомы и молекулы ведут себя по-другому, чем когда они находятся в основном состоянии, и процессы, в которых они могут принимать участие, отличаются от обычных «тепловых» химических реакций. Спектры поглощения биообъектов (в том числе и иммунокомпетентных клеток) определяются типом доминирующих поглощающих центров, так называемых хромофоров, и содержащейся в них водой. Селективность воздействия света на биологический объект в большинстве случаев зависит от спектрального диапазона. Ультрафиолетовое излучение преимущественно поглощается молекулами

нуклеиновых кислот, белков и липидов. Свет видимой области спектра преимущественно поглощается хромофорными группами белковых молекул, отчасти кислотом. Наиболее важная роль принадлежит гемоглобину, меланину и ряду ферментов.

Современные методы подготовки беременных женщин к родам и их ведения должны обеспечивать рождение не только живого, но и здорового ребенка. От успешности подготовки к родам и качества их проведения во многом зависит дальнейшее физическое развитие и здоровье ребенка. Для эффективного прогрессирования нормальной родовой деятельности одним из важных условий является наличие «зрелой» шейки матки, что отражает готовность организма матери и плода к родам. «Созревание» шейки матки предшествует физиологическому развязыванию родовой деятельности. Перед родами в шейке матки усиливается лейкоцитарная инфильтрация, преимущественно нейтрофильная. Нейтрофилы и макрофаги являются источниками коллагеназы, эластазы и других энзимов, способных расщеплять белки экстрацеллюлярного матрикса, способствуя созреванию шейки матки. При «незрелой» шейке матки проводить родовозбуждение и усиливать родовую деятельность нельзя из-за опасности нарушения сократительной деятельности матки, возникновения гипоксии и травмы плода.

**Целью** наших исследований являлось изучение светопоглощающих хромофоров цервикальной слизи при созревающей и зрелой шейке матки.

Образцы цервикальной слизи мы готовили следующим образом: растворяли в смешанном растворителе (ацетон: этанол = 1:5 v/v), выпавший осадок отделяли на фильтре Шотта. Осадок помещали в аппарат Сокслета и экстрагировали N, N-диметилформамидом. Растворы (фильтрат и после аппарата Сокслета) объединяли и выпаривали досуха. Сухой образец растворяли в хлороформе и регистрировали электронные спектры поглощения. Электронные спектры снимали на спектрофотометре SPECORD M40. Кюветы кварцевые 10 мм, в качестве раствора сравнения использовали чистый хлороформ. Снимали электронные адсорбционные спектры образцов, в них присутствовали хромофорные системы. В образцах цервикальной слизи «созревающей» шейки матки выявляли хромофоры с максимумом поглощения 695 нм (сине-зеленый), в образце цервикальной слизи «не созревшей» шейки матки наблюдали максимум поглощения, приходящийся на 600 нм (зеленый). Рекомендуется изучение светопоглощающих хромофоров в иммунокомпетентных клетках, что необходимо для понимания протекающих иммунологических механизмов, происходящих на системном и локальном уровнях при различных патологических состояниях биосистемы.

### **ИЗМЕНЕНИЕ АДГЕЗИВНЫХ СВОЙСТВ МОНОНУКЛЕАРОВ КРОВИ ПРИ ПАТОЛОГИИ БЕРЕМЕННОСТИ – ГЕСТОЗЕ**

**Михайлова В.А., Сельков С.А., Соколов Д.И.**

*ГУ НИИ АГ им. Д.О. Отто РАМН, Санкт-Петербург,  
Россия*

Гестоз является одной из наиболее распространенных патологий беременности, для которой характерны отеки,

гипертензия и протеинурия. Одной из основных причин этой патологии является эндотелиальная дисфункция. Предполагают, что в ходе беременности активированные лейкоциты поступают в системный кровоток матери и секретируют ряд провоспалительных цитокинов, вызывая активацию эндотелия.

**Целью** настоящего исследования явилось изучение функции адгезии мононуклеаров периферической крови небеременных женщин, здоровых беременных и беременных с гестозом к человеческим эндотелиальным клеткам линии EA.hy926.

Обследовано 75 женщин во время и вне беременности: первая (контрольная) группа – 14 здоровых небеременных женщин, вторая (физиологическая беременность) – 22 женщины при сроке 32-39 недель, третья (беременность с гестозом различной степени тяжести) – 39 женщин. Для исследования функции адгезии мононуклеары периферической крови выделяли методом центрифугирования в градиенте плотности фиколл-верографин (Sigma, США). На монослой интактных и активированных TNF $\alpha$  эндотелиальных клеток наслаивали полученные мононуклеары в концентрации  $1 \times 10^6$  клеток на лунку в 500 мкл теплой культуральной среды DMEM/F12 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки («ICN», США), 50 мкг/мл сульфата гентамицина, 2 мМ L-глутамин, («ICN», США) и культивировали во влажной атмосфере с 5% CO $_2$  при 37 °С в течение 30 минут. Мононуклеары, адгезировавшие к монослою эндотелиальных клеток, переводили в суспензию путем 5-минутной инкубации в растворе версена. Для количественной и качественной оценки популяций мононуклеаров периферической крови адгезировавших к эндотелию использовали метод проточной цитометрии. При этом использовали следующие антитела: анти-CD3, анти-CD16\*56, анти-CD4, анти-CD8, анти-CD14, анти-CD16 (BD, США) в различных комбинациях и проводили анализ при помощи проточного цитофлюориметра FACScan (BD, США).

У здоровых небеременных женщин лимфоциты и моноциты одинаково адгезируют к интактному и активированному TNF $\alpha$  эндотелию. Лимфоциты и моноциты беременных женщин по сравнению с небеременными прилипают к активированному эндотелию в 1,5-2 раза ( $p < 0,01$ ). Адгезия лимфоцитов к активированному TNF $\alpha$  эндотелию имеет более выраженный характер при гестозе, нежели чем при физиологической беременности ( $p < 0,01$ ). Адгезия моноцитов к интактному и активированному TNF $\alpha$  эндотелию увеличивается при нормальной беременности ( $p < 0,05$ ) и еще в большей степени возрастает при гестозе ( $p < 0,05$ ).

Различия в степени адгезии лимфоцитов и моноцитов не зависят от фенотипа клеток. Вероятно, эти изменения объясняются функциональным состоянием клеток и спектром экспрессируемых адгезионных молекул. При гестозе мононуклеары периферической крови значительно более активированны, что оказывает негативное влияние на организм женщины и состояние плода.

Работа поддержана грантами Президента РФ № НШ-1066.2008.7 и МК-1355.2007.7.

## ЭКСПРЕССИЯ МРНК ХЕМОКИНОВ И ХЕМОКИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ АНГИОГЕНЕЗ, В ТКАНЯХ МИОМЕТРИЯ ПРИ ЛЕЙОМИОМЕ МАТКИ

Морозова Е.Б., Чухловин А.Б., Кулагина Н.В.<sup>1</sup>, Сысоев К.А., Тотолян Арег А.<sup>2</sup>

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>1</sup>Медицинская академия последипломного образования, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Лейомиома матки (ЛМ) является доброкачественной опухолью миометрия. Наиболее опасны осложнения ЛМ, такие как быстрый рост, множественные узловые формы, кровотечения, которые часто приводят к радикальным операциям на матке. Известно, что ангиогенез является необходимым условием для развития опухоли. Существует целый ряд хемокинов, участвующих в этом процессе. Был исследован операционный материал (ткань лейомиомы и нормального миометрия) 22 пациенток в возрасте от 34 до 56 лет (средний возраст составил  $46 \pm 4,9$  года), имевших ЛМ, верифицированную морфологически. У всех пациенток была выявлена симптомная ЛМ, проявлявшаяся быстрым темпом роста опухоли, нарушением функции смежных органов. С целью изучения молекулярно-биологических аспектов патогенеза ЛМ проводилась оценка экспрессии мРНК следующих хемокинов: CXCL1/GRO $\alpha$ , CXCL5/ENA-78, CXCL6/GCP2, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL13/BCA, CXCL12/SDF-1, CCL11/эотаксин, CCL24/эотаксин-2, CXCL8/IL-8, CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$ , CCL5/RANTES и соответствующих им рецепторов. Содержание мРНК хемокинов и рецепторов было проанализировано в соответствии с клинической картиной ЛМ. При простой форме ЛМ в ткани лейомиомы по сравнению с миометрием было достоверно понижено содержание мРНК CCL4/MIP-1 $\beta$  ( $p = 0,002$ ), CCR5 ( $p = 0,009$ ) и CCL11/эотаксин ( $p = 0,004$ ). При малоузловой форме ЛМ уровень экспрессии мРНК CCL11/эотаксин был достоверно выше, чем при многоузловой ( $p = 0,04$ ). При субмукозном расположении узлов в ткани лейомиомы отмечено повышенное содержание мРНК CXCL8/IL-8 ( $p = 0,01$ ) по сравнению с другими локализациями. Также в ткани миометрия при субмукозной локализации узлов выявлено увеличение экспрессии мРНК CCL3/MIP-1 $\alpha$  ( $p = 0,003$ ), CCL4/MIP-1 $\beta$  ( $p = 0,002$ ), CXCR1 ( $p = 0,03$ ), CCR3 ( $p = 0,04$ ), CXCR5 ( $p = 0,03$ ), CXCR4 ( $p = 0,005$ ), CXCR3 ( $p = 0,02$ ). Для больных с аденомиозом была показана повышенная экспрессия мРНК CXCL6/GCP2 ( $p = 0,02$ ). Полученные нами данные свидетельствуют о том, что развитие и прогрессирование лейомиомы матки определяется дисбалансом ангиогенных и ангиостатических факторов. Совокупность представленных результатов предполагает существенную роль хемокиновых рецепторов в иммунных реакциях, связанных с осложнениями лейомиомы.

## ВЛИЯНИЕ ГОРМОНАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ЯИЧНИКОВ НА ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ У ДЕВУШЕК-ПОДРОСТКОВ

Музафарова С.А., Мусаходжаева Д.А.<sup>1</sup>, Хайдарова Ф.А.

Институт эндокринологии МЗ РУз, г. Ташкент, Узбекистан

<sup>1</sup>Институт иммунологии АН РУз, г. Ташкент, Узбекистан

При патологически высокой продукции андрогенов корой надпочечников или яичниками в организме происходит целый ряд изменений. Избыточная секреция андрогенов, являющаяся биологическим антагонистом эстрогенов, приводит впоследствии к функциональному и анатомическому инфантилизму, бесплодию, невынашиванию беременности. Целью настоящего исследования явилось изучение концентрации IL-1 $\beta$  и IL-6 в сыворотке крови у девушек-подростков с гиперандрогемией. Были обследованы 84 девушки-подростка, которые составили 3 группы: 1-я группа – 20 девушек-подростков с идиопатическим гирсутизмом, 2-я группа – 50 девушек-подростков с СПКЯ и 3-я группа – 14 девушек-подростков с надпочечной гиперандрогемией. Контрольную группу составили 20 практически здоровых девушек-подростков. При сборе анамнеза учитывали перенесенные заболевания; наследственную отягощенность по сахарному диабету, гипертонической болезни, ожирению; социальный статус, антропометрические данные (рост, вес, ИМТ, ОТ, ОБ, отношение ОТ/ОБ); оценку гирсутизма по шкале Ферримана; гинекологический анамнез (время наступления менархе, регулярность, болезненность МЦ, наличие ПМС); оценивали состояние щитовидной железы (пальпация, рефлексометрия, УЗИ); УЗИ органов малого таза (размеры матки, эндометрий, размеры яичников, количество фолликулов, их размеры, наличие капсулы); гормональное исследование (тестостерон, ДГЕА-С, 17-гидроксипрогестерон, СССГ, ЛГ, ФСГ) проводилось радиоиммунным методом наборами фирмы «IMMUNOTECH a.s.». Уровни IL-1 $\beta$  и IL-6 определяли в сыворотке крови ИФА-методом (ООО «Цитокин», СПб). Анализ результатов проведенных исследований показал, что у девушек-подростков с идиопатическим гирсутизмом гиперандрогемией наблюдалось достоверное снижение уровня изученных интерлейкинов по сравнению с данными контрольной группы –  $6,8 \pm 1,3$  и  $15,4 \pm 1,9$  пг/мл против  $18,7 \pm 1,8$  и  $29,5 \pm 3,1$  пг/мл соответственно,  $p < 0,05-0,001$ . Эти результаты совпадают с мнением некоторых авторов, что оба эти цитокина угнетают образование эстрадиола, индуцируемое гонадотропином, а также синтез тестостерона.

## СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ У ЖЕНЩИН С САМОПРОИЗВОЛЬНЫМИ ВЫКИДЫШАМИ В АНАМНЕЗЕ

Мусаходжаева Д.А.

Институт иммунологии АН РУз, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Цель исследования – изучение состояния иммунной системы у женщин с самопроизвольными выкидышами (СВ) в анамнезе. При клиническом скрининговом

обследования 146 женщин г. Ташкента и Ташкентской области было установлено, что наиболее частым нарушением генеративной функции у обследованных было СВ (19,6%). Среди женщин с СВ частота гирсутизма составила 12%. Гирсутизм носил умеренный характер, гирсутное число не превышало 13-16 баллов. Среди женщин с гирсутизмом у 80% отмечался привычный выкидыш, в 10 раз чаще – неразвивающаяся беременность. В структуре гиперандрогении у обследованных преобладала (в 52,6%) смешанная форма, обусловленная комбинированной овариально-надпочечниковой гиперсекрецией андрогенов. У 29% пациенток преимущественным источником гиперпродукции андрогенов были надпочечники. Гиперандрогения преимущественно яичникового происхождения была выявлена у 18,4% больных. Контрольную группу составили 35 практически здоровых женщин репродуктивного возраста. Изучали количество лимфоцитов с фенотипом CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD-HLADR<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup> в периферической крови с помощью МАТ серии LT (Институт иммунологии, ТОО «Сорбент», Москва, Россия), уровень иммуноглобулинов определяли по Manchini, фагоцитоз определяли с латексными частицами. Исследования показали, что число CD3<sup>+</sup> D4<sup>+</sup> клеток колебалось в пределах контрольных значений. Число CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup> лимфоцитов было выше контрольных ( $p < 0,05$ ). Количество CD25<sup>+</sup>, CD-HLADR<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup> лимфоцитов было незначительно выше контрольных значений. Уровень IgG и IgA в 1,5 раза превышал контрольных значений ( $p < 0,01$ ). Таким образом, приведенные данные свидетельствуют об изменениях изученных параметров иммунной системы у женщин с гиперандрогенией, которых нельзя недооценить, когда речь идет о тактике корректирующих мероприятий.

### **ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ IL-15 И IL-17 МАКРОФАГАМИ ПЛАЦЕНТЫ**

**Павлов О.В., Крамарева Н.Л., Лесничия М.В.,  
Аржанова О.Н., Сельков С.А.**

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

В последние годы в научной литературе появились сведения о способности маточно-плацентарных макрофагов продуцировать провоспалительные цитокины IL-15 и IL-17. Предполагается, что в децидуе IL-15, секретируемый макрофагами, участвует в модуляции функций NK-клеток и Т-лимфоцитов, однако о продукции этого цитокина макрофагами плацентарных ворсин ничего не сообщается. Для IL-17 постулируется иммунорегуляторная функция и участие в регуляции процессов ангиогенеза. Экспрессия этого цитокина и его мРНК была продемонстрирована в разных типах клеток плацентарных ворсин, в том числе макрофагах, но особенности его секреции не были изучены.

**Целью данного исследования** было изучение особенностей продукции и секреции IL-15 и IL-17 изолированными культурами макрофагов и эксплантами плацентарных ворсин.

Клеточные и тканевые культуры получали из ткани срочных плацент ( $n = 26$ ). Внутриклеточное содержание цитокинов изучали методом проточной цитометрии. Содержание цитокинов в культуральной среде определяли методом иммуноферментного анализа (ELISA) после 13-часовой (клеточные культуры) или 24-часовой (тканевые культуры) инкубации.

Было показано, что значительная доля популяции плацентарных макрофагов способна синтезировать IL-17: 77% клеток содержали внутриклеточный цитокин, однако лишь 2% макрофагов экспрессировали на своей поверхности рецептор к IL-23, посредством которого осуществляется регуляция продукции IL-17. Внутриклеточный IL-15 был обнаружен менее чем в 5% клеточной популяции. Интересно, что, несмотря на значительное количество IL-17-продуцирующих клеток, нам не удалось обнаружить сколько-нибудь заметную секрецию этого цитокина как изолированными макрофагами, так и эксплантами ворсин. Плацентарные макрофаги также не секретировали IL-15, тогда как уровень этого цитокина в среде достоверно повышался при культивировании тканевых эксплантов (медиана: 636 пкг/мг ткани). Стимуляция LPS не приводила к заметному увеличению доли IL-15<sup>+</sup> и IL-17<sup>+</sup> клеток, также как не индуцировала секрецию IL-17 и не приводила к достоверному увеличению секреции IL-15 тканью плаценты (медиана: 702 пкг/мг ткани).

На основании полученных данных можно сделать выводы о том, что подавляющее большинство макрофагов плацентарных ворсин, в отличие от децидуальных макрофагов, не синтезируют и не секретуют IL-15, а его продукция в ткани плаценты обеспечивается другими клеточными популяциями. Отсутствие сколько-нибудь заметной секреции IL-17 при наличии значительного количества клеток-продуцентов этого цитокина может свидетельствовать о регуляторных функциях плацентарных макрофагов, имеющих физиологическое значение, и требует дополнительного изучения.

### **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ И ОВАРИАЛЬНЫХ ФАГОЦИТОВ У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭКО**

**Посисеева Л.В., Сотникова Н.Ю., Речистова И.В.,  
Веденева М.В., Анциферова Ю.С.,  
Полумискова Е.В.**

*ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени  
В.Н. Городкова Росмедтехнологий», г. Иваново, Россия*

Макрофаги идентифицированы во всех тканях женской репродуктивной системы, включая яичники, матку, фаллопиевы трубы и молочные железы, что позволяет предположить их важную роль в регуляции процессов

репродукции. В последние годы возрос интерес исследователей к роли макрофагов в обеспечении нормального функционирования яичников. Считают, что регуляция процессов роста фолликулов в яичниках осуществляется не только половыми стероидными гормонами, но и макрофагами благодаря их трофическим функциям. Показано, что макрофаги, локализованные в фолликулах, способны к продукции разнообразных факторов роста, что определяет их участие в регуляции клеточной пролиферации, роста и апоптоза фолликулов. Однако особенности функционального состояния макрофагов, локализованных в фолликулах, экспрессия ими специфических рецепторов в настоящее время изучены мало. Нет данных об особенностях функционирования макрофагов в яичниках женщин с бесплодием различного генеза. Нарушения фертильности, обусловленные трубным фактором и наружным генитальным эндометриозом, в последнее время являются показаниями к проведению у женщин ЭКО. В связи с этим особый интерес представляет уточнение особенностей функционирования овариальных макрофагов при различных исходах ЭКО, что позволит разработать критерии прогноза наступления беременности у женщин с бесплодием различного генеза.

**Целью** нашего исследования было провести сравнительный анализ экспрессии ряда функциональных молекул и внутриклеточной продукции IL-8 моноцитами периферической крови и макрофагами фолликулярной жидкости, у женщин с бесплодием различного генеза для определения взаимосвязи между показателями функционального состояния фагоцитов и успехом ЭКО. Нами было проведено обследование 27 женщин с бесплодием, обусловленным трубно-перитонеальным фактором и наружным генитальным эндометриозом, которым проводилось экстракорпоральное оплодотворение. Выбор схемы стимуляции суперовуляции проводили с учетом овариального резерва пациенток. В процессе проведения ЭКО проводилась оценка качества эмбриона с учетом морфологических признаков.

**Материалом** для исследования служила периферическая кровь и фолликулярная жидкость. Поверхностный фенотип моноцитов/макрофагов и внутриклеточную экспрессию ими IL-8 определяли с помощью моноклональных антител методом проточной цитометрии. Проведение сравнительного анализа уровня экспрессии поверхностных функциональных молекул периферическими моноцитами и фолликулярными макрофагами показало, что отличительной особенностью фолликулярных макрофагов являлась сниженная экспрессия CD11b молекул. Для макрофагов, выделенных из фолликулярной жидкости женщин с бесплодием при наружном эндометриозе, была характерна более низкая экспрессия HLA-DR и CD16 молекул и повышенная внутриклеточная экспрессия IL-8 по сравнению с аналогичными параметрами у женщин с бесплодием, обусловленным трубным фактором. Проведение ретроспективного анализа состояния периферических и фолликулярных фагоцитов в зависи-

мости от успеха различных этапов ЭКО показало наличие взаимосвязи показателей функционального состояния периферических моноцитов с качеством эмбриона. Так, более высокие показатели содержания периферических HLA-DR<sup>+</sup> моноцитов и более низкие IL-8<sup>+</sup> моноцитов коррелировали с высоким качеством эмбриона. Наступление беременности с большей частотой отмечалось у женщин с низкими показателями CD16<sup>+</sup> и IL-8<sup>+</sup> моноцитов крови и макрофагов фолликулярной жидкости. Таким образом, макрофаги фолликулярной жидкости характеризуются сниженной экспрессией адгезионных молекул по сравнению с моноцитами периферической крови, что может свидетельствовать о снижении значимости реакций, обусловленных взаимодействиями по типу клетка – клетка и клетка – внеклеточный матрикс, непосредственно на уровне яичников. По-видимому, большую роль в регуляции процессов, связанных с созреванием фолликулов, играют цитокины, продуцируемые макрофагами, в частности IL-8. Чрезмерная его продукция фагоцитами как на системном уровне, так и непосредственно в фолликулярной жидкости связана с негативным исходом различных этапов программы ЭКО у женщин с бесплодием при наружном эндометриозе и трубно-перитонеальном факторе.

#### **ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ IL-8, MMP-9 И TIMP-1 НЕЙТРОФИЛАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЖЕНЩИН ПРИ ПОДГОТОВКЕ ОРГАНИЗМА К РОДАМ**

**Посисеева Л.В., Сотникова Н.Ю., Дорофеева Н.К., Анциферова Ю.С., Панова И.А.**

*ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени В.Н. Городкова Росмедтехнологий», г. Иваново, Россия*

В современном практическом акушерстве проблема подготовки к родам остается чрезвычайно актуальной. Большое значение для развития нормальной регулярной родовой деятельности имеет готовность организма к родам и особенно состояние шейки матки, степень ее зрелости. При отсутствии биологической готовности к родам увеличивается частота аномалий родовой деятельности, внутриутробной гипоксии плода и, следовательно, частота акушерских операций, родовой травматизм матери и новорожденного. Показано, что процесс созревания шейки матки характеризуется рядом морфологических изменений в структуре шейки матки, выражающиеся в деградациии соединительной ткани протеолитическими ферментами. Однако до сих пор не установлена взаимосвязь между активацией протеолитических процессов на локальном и функциональным состоянием периферических нейтрофилов, которые, по литературным данным, являются одними из основных продуцентов протеолитических ферментов, в частности матриксных металлопротеиназ (ММР). В связи с этим целью нашей работы было оценить характер экспрессии мРНК ММР-9, ее тканевого ингибитора TIMP-1 и IL-8 периферическими нейтрофилами женщин с различной степенью «зрелости» шейки

матки для уточнения роли нейтрофилов в механизмах, определяющих подготовку организма к родам. Нами было обследовано 58 первобеременных первородящих женщин в сроке гестации 38-40 недель с различной степенью «зрелости» шейки матки, определявшейся по шкале Бишопа. Женщины были разделены на группы: у 31 женщины была выявлена «незрелая» шейка матки, у 10 — «созревающая» и у 17 — «зрелая». Все обследованные женщины были сопоставимы по среднему возрасту, характеру становления менструальной функции, экстрагенитальной патологии в анамнезе и характеру течения беременности. Материалом для исследования служила периферическая кровь. Обогащенную популяцию периферических нейтрофилов получали методом скоростного центрифугирования в двойном градиенте плотности фиколю-урографина. Тотальную РНК выделяли из нейтрофилов гуанидин-тиоцианат-фенол-хлороформ методом. Экспрессию мРНК MMP-2 и TIMP-2 и IL-8 оценивали методом RT-PCR в масштабе реального времени с использованием амплификатора с оптической насадкой iCycler iQ. Нами было установлено, что в процессе подготовки организма к родам уровень экспрессии мРНК IL-8 повышается, достигая максимума в группе с «созревающей» шейкой матки, затем постепенно снижаясь, достигает минимального значения непосредственно перед родами. При анализе уровня экспрессии генов протеолитических ферментов периферическими нейтрофилами была выявлена другая направленность изменений. Уровень экспрессии мРНК MMP-9 периферическими нейтрофилами в процессе структурных изменений шейки матки прогрессивно увеличивался и характеризовался постепенным повышением экспрессии мРНК MMP-9 у женщин с «созревающей» и «зрелой» шейкой матки по сравнению с аналогичным показателем у женщин с абсолютным отсутствием готовности организма к родам. При этом у женщин со «зрелой» шейкой матки данный более чем в 10 раз превышал значения экспрессии мРНК MMP-9 у женщин с «незрелой» шейкой матки. Динамика экспрессии мРНК ингибитора MMP-9 — TIMP-1 характеризовалась снижением экспрессии гена на начальном этапе «созревания» шейки матки с последующим повышением уровня экспрессии мРНК TIMP-1 непосредственно перед родами. Таким образом, локальные процессы деградации коллагеновых волокон в структуре шейки матки ассоциированы с изменениями активности нейтрофилов на системном уровне, в частности, с усилением экспрессии нейтрофилами генов протеолитических ферментов. Отмечаемое нами уменьшение уровня нейтрофилов, экспрессирующих мРНК IL-8 на поздних стадиях «созревания» шейки матки, может быть связано с перераспределением пулов нейтрофилов, активное продуцирующих хемокины, ведущим к увеличению содержания активированных нейтрофилов на локальном уровне, а именно в ткани шейки матки.

## СОДЕРЖАНИЕ ОКСИДА АЗОТА В ТРАХЕО-БРОНХИАЛЬНЫХ АСПИРАТАХ У НОВОРОЖДЕННЫХ С РДС ПРИ ВОЗНИКНОВЕНИИ ИВЛ-АССОЦИИРОВАННЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Пушкарева Ю.Э., Федоров И.А.

ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Росздрава», г. Челябинск, Россия

Оксид азота (NO) — это мельчайшая, но весьма активная молекула цитотоксичности, обладающая также свойствами вазодиллятора, ингибитора свертывания крови, иммуномодулятора. NO — короткоживущее соединение, срок стабильного его существования в тканях составляет 5-30 секунд. Клиренс NO происходит путем образования более стойких окислов азота — ионов нитрита (NO<sub>2</sub>) и нитрата (NO<sub>3</sub>).

**Цель работы:** изучить динамику продукции эндогенного NO в трахео-бронхиальных аспиратах (ТБА) у новорожденных с РДС в зависимости от тяжести ИВЛ-ассоциированных инфекционных осложнений.

**Материал и методы.** Под наблюдением находилось 32 недоношенных новорожденных ребенка (ГВ 30-37 нед) с РДС, получавших лечение в отделении детской реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) МУЗ ГКБ № 1 г. Челябинска. ИВЛ была начата в первые часы жизни у всех пациентов. Все дети были госпитализированы в ОРИТ в первые сутки жизни. В процессе проведения ИВЛ у 10 новорожденных развился вентилятор-ассоциированный трахеобронхит (ВАТ) легкой степени, у 6 детей — средней степени тяжести, у 7 пациентов возникла вентилятор-ассоциированная пневмония (ВАП), и у 9 детей инфекционных осложнений не отмечалось. Продукцию эндогенного NO в ТБА исследовали по определению концентрации конечных стабильных метаболитов NO с помощью реакции Грисса (определяли содержание NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub> и NO<sub>x</sub>). Взятие ТБА проводилось по общепринятой методике дважды — при поступлении ребенка в ОРИТ и экстубации. Для возможности корректного сравнения показателей была проведена стандартизация результатов по содержанию общего белка в каждой пробе ТБА. Результаты представлены в таблице.

Как видно из таблицы, у новорожденных с вентилятор-ассоциированными инфекционными осложнениями отмечалась тенденция к снижению уровня метаболитов NO к моменту окончания ИВЛ. Отсутствие потребности в ИВЛ является клиническим показателем положительной динамики состояния ребенка. Вероятно, снижение уровня метаболитов NO в ТБА при экстубации можно рассматривать как критерий уменьшения выраженности воспалительного процесса в слизистой оболочке респираторного тракта. Ранее мы показали, что у новорожденных с РДС к моменту экстубации отмечалось снижение относительного количества макрофагов и увеличение процента нейтрофилов, особенно выраженное у пациентов с ВАП. Этим может быть обусловлено снижение продукции NO, так как макрофаги являются одними из основных клеток-

продуцентов оксида азота в легких. Обращала на себя внимание тенденция к повышению содержания всех метаболитов NO в ТБА при увеличении степени тяжести инфекционных осложнений уже на момент госпитализации: показатель  $NO_x$  при поступлении в ОРИТ у детей с ВАП был наиболее высоким. По-видимому, высокий уровень NO в ТБА у новорожденных с РДС в первые дни жизни может оказывать повреждающее действие на дыхательный эпителий, тем самым способствуя присоединению инфекции. В условиях повышенной контаминации слизистой оболочки дыхательных путей госпитальной микрофлорой, что характерно для пациентов, находящихся на ИВЛ, этот процесс может являться благоприятной предпосылкой для возникновения вентилятор-ассоциированных инфекционных осложнений различной степени тяжести.

Таким образом, динамическое определение уровня метаболитов оксида азота в ТБА у новорожденных с РДС при проведении ИВЛ может являться информативным показателем интенсивности текущего инфекционно-воспалительного процесса в дыхательных путях.

#### ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У НОВОРОЖДЕННЫХ С ПЕРИНАТАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ЦНС ПРИ ВНУТРИУТРОБНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Рахманкулова З.Ж.

Ташкентский педиатрический медицинский институт,  
г. Ташкент, Республика Узбекистан

Внутриутробные инфекции на современном этапе обеспечивают широкий спектр перинатальной патологии. Среди них цитомегаловирусная и герпесвирусная инфекции, склонные к длительному персистированию, латентному течению в организме матери, вызывают у новорожденных частые поражения ЦНС. Вместе с тем известно, что в основе инфекций, вызываемых ДНК-содержащими вирусами, лежат иммунные механизмы.

**Цель исследования:** изучить состояние клеточного иммунитета у новорожденных с поражением ЦНС при внутриутробных инфекциях.

**Материал и методы.** Проведено обследование 15 здоровых новорожденных (1 группа контроля) и 18 новорожденных (2 группа) с перинатальным поражением ЦНС, родившихся от матерей с герпесвирусными инфекциями (ЦМВИ, ВПГ 1/2). Идентификация диагноза проводилась ИФА методом и ПЦР. Показатели клеточного иммунитета определялись с изучением субпопуляционного состава лимфоцитов с помощью моноклональных антител  $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD16^+$ ,  $CD25^+$  и  $CD95^+$  (производство ООО «Сорбент», РФ, Москва). Проведены также общие клинические исследования и нейросонография. У всех наблюдаемых нами детей отмечалась неонатальная энцефалопатия, гипоксически-ишемические изменения в головном мозге были II-III степени тяжести. У 12 новорожденных энцефалопатия сопровождалась синдромом общего угнетения, у 6 – гипертензионным синдромом, внутрижелудочковые кровоизлияния II-III степени наблюдались у 5 детей, перивентрикулярные кровоизлияния – у 8, у 2 детей – отек мозга, у 3 – гидроцефалия. Бронхопневмония развилась у 9 детей, двое новорожденных родились с врожденными пороками: один – с врожденным пороком сердца, второй – с множественными пороками развития.

**Результаты.** Анализ показателей иммунитета показал, что у новорожденных детей 2-й группы происходит достоверное увеличение абсолютных и относительных чисел циркулирующих лимфоцитов. Однако на фоне незначительной тенденции к повышению абсолютных чисел  $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD16^+$  отмечалось достоверное снижение их относительных чисел по отношению к 1-й группе. Относительное число В-лимфоцитов незначительно повышалось, хотя их абсолютное значение увеличивалось в 1,5 раза по сравнению с контролем. Важным обстоятельством явилось достоверное возрастание популяции циркулирующих клеток с маркерами

ТАБЛИЦА (К ТЕЗИСАМ ПУШКАРЕВОЙ Ю.Э., ФЕДОРОВА И.А.)

Осложнения	Без осложнений (n = 9)	ВАТ легкой степени (n = 10)	ВАТ средней степени (n = 6)	ВАП (n = 7)
Показатель	$NO_2$ (M±m, мкмоль/л/мг белка)			
Поступление	0,43±0,16	0,37±0,13	0,68±0,21	0,72±0,22
Экстубация	0,6±0,21	0,44±0,2	0,38±0,06	0,38±0,16
Показатель	$NO_3$ (M±m, мкмоль/л/мг белка)			
Поступление	1,37±0,45	1,34±0,51	1,74±0,34	1,9±0,32
Экстубация	1,76±0,4	1,26±0,43	1,56±0,37	1,66±0,25
Показатель	$NO_x$ (M±m, мкмоль/л/мг белка)			
Поступление	1,81±0,58	1,71±0,56	2,43±0,52	2,62±0,4
Экстубация	2,36±0,45	1,7±0,59	1,94±0,39	2,04±0,32

CD25 и CD95, как в относительном, так и в абсолютном значениях.

Таким образом, у новорожденных при внутриутробных инфекциях с поражением ЦНС происходит угнетение основных популяций Т-клеточного звена иммунитета на фоне активации клеток с маркерами к IL-2 (CD25) и маркерами FAS- апоптоза (CD95).

### **ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ КЛЕТЧНОГО ИММУНИТЕТА У НОВОРОЖДЕННЫХ С ПЕРИНАТАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ**

**Рахманкулова З.Ж.**

*Ташкентский педиатрический медицинский институт, г. Ташкент, Республика Узбекистан*

Среди основных причин заболеваемости и смертности перинатального периода лидирующее место занимают ВУИ. Широкое распространение герпесвирусных инфекций в популяции и их повреждающее воздействие на иммунную систему новорожденного определяют актуальность данного вопроса.

**Цель исследования:** изучить особенности становления клеточного иммунитета у новорожденных, родившихся от матерей с герпесвирусными инфекциями (ЦМВИ, ВПГ 1/2) в раннем и позднем неонатальном периодах.

**Материал и методы.** Обследовано 15 здоровых новорожденных детей (1 гр.), 12 новорожденных, родившихся от матерей с диагностированной сочетанной ЦМВИ и герпесвирусной инфекцией с гестационным возрастом от 30 до 39 недель. Из них 7 новорожденных обследовано в раннем неонатальном периоде (2 гр.) и 5 детей (3 гр.) в позднем неонатальном периодах. Диагностическими тестами были ИФА и ПЦР. Показатели клеточного иммунитета определялись с помощью моноклональных антител CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> и CD95<sup>+</sup> (производство ООО «Сорбент», РФ, Москва).

**Результаты.** Установлено, что у новорожденных детей 2-й и 3-й групп относительное и абсолютное число лимфоцитов превышало таковое в группе контроля и в динамике отмечалась тенденция к их нарастанию в позднем периоде. Уровень относительных значений CD3 в этих группах по отношению к контролю достоверно снижался, но существенных различий в раннем и позднем неонатальном периодах не обнаружено, абсолютные же значения имели тенденцию к повышению. Количество циркулирующих хелперных клеток (CD4) у детей обеих групп было достоверно ниже контроля, и в динамике отмечена тенденция к их дальнейшему снижению. Абсолютные значения последних существенно не различались в раннем, позднем периодах и в сравнении с контролем. Обнаружено также, что относительные значения CD8 были достоверно ниже контроля, а в позднем неонатальном периоде они снижались еще ниже. Относительные числа CD16 достоверно снижены в обеих группах, а в динамике в позднем неонатальном периоде происходит их резкое достоверное снижение, хотя абсолютные их значения существенной разницы не имели. Выявлено достоверное повышение относительного и абсолютного числа

В-лимфоцитов (CD19), которое в течение всего неонатального периода существенно не изменялось. Относительные и абсолютные числа CD25 в раннем неонатальном периоде существенно не отличались от контроля. Однако в позднем неонатальном периоде происходило их достоверное увеличение. Значения CD95, относительные и абсолютные, достоверно увеличивались у детей 2-й и 3-й групп по отношению к контролю, в динамике в позднем неонатальном периоде отмечалось резкое их увеличение.

Таким образом, у новорожденных при внутриутробных инфекциях в позднем неонатальном периоде происходит угнетение клеточного иммунитета, характеризующееся значительным снижением числа циркулирующих хелперов, цитотоксических клеток и особенно натуральных киллеров.

### **ХАРАКТЕРИСТИКА ИНТЕРФЕРОНА-ИНДУЦИРОВАННЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК БЕРЕМЕННЫХ В НОРМЕ И ПРИ НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ ГИПЕРАНДРОГЕНИИ**

**Селедцова Н.В., Тихонова М.А., Сахно Л.В., Пасман Н.М., Черных Е.Р.**

*НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск, Россия*

**Введение.** Развитие беременности у женщин с надпочечниковой гиперандрогенией (ГА), характеризующейся гиперпродукцией дегидроэпиандростерона сульфата (ДГЭАС) надпочечниками, сопряжено с повышенным риском невынашивания. В патогенезе самопроизвольного аборта значительная роль отводится иммунным нарушениям: сдвигу цитокинового баланса в сторону Th-1-медиаторов, увеличению пролиферативной активности Т-лимфоцитов. Указанные изменения могут быть обусловлены как прямым воздействием ДГЭАС на Th-1/Th-2-баланс, так и опосредоваться через эффект гормона на дендритные клетки. В то же время в литературе практически отсутствуют данные о свойствах ДК при беременности на фоне надпочечниковой ГА.

**Цель и задачи:** охарактеризовать дендритные клетки беременных (фенотип, аллостимуляторную и Th-1/Th-2-стимулирующую активность) в норме и при надпочечниковой гиперандрогении.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 55 здоровых доноров крови, 64 женщины с физиологической беременностью и 44 беременные с надпочечниковой ГА во II триместре гестации. Мононуклеарные клетки (МНК) периферической крови выделяли путем центрифугирования в градиенте плотности фикола-верографина. ДК получали путем культивирования прилипающей фракции МНК в течение 3 суток в среде RPMI-1640 (Sigma, США) и 10% FCS в присутствии GM-CSF (Leucostax, Шеринг-Плау, Швейцария) 1000 Ед/мл и IFN $\alpha$  (Роферон-А, Roche, Швейцария) 1000 Ед/мл (IFN-DC). Для индукции созревания ДК культивировали 24 часа в присутствии LPS (10 мкг/мл, Sigma, США). Поверхностные маркеры IFN-DC определяли методом проточной цитофлюориметрии. Аллостимуляторную и Th-1/Th-2-стимулирующую активность IFN-DC оценивали в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ). В качестве отвечающих

клеток использовались МНК доноров. Стимуляторами служили ДК в соотношении МНК:IFN-DC = 10:1. Пролиферативный ответ оценивался на 5 сут. радиометрически, клетки с внутриклеточным содержанием IL-4 и IFN $\gamma$  подсчитывали с помощью проточной цитофлуориметрии. Статистическую обработку проводили с использованием критерия Вилкоксона–Манна–Уитни

**Основные результаты** исследования представлены в таблице.

Показано, что по сравнению с донорами IFN-DC женщин с физиологической беременностью отличается более низким содержанием клеток, экспрессирующих CD14, CD83 и CD25-маркеры (данные в таблице). Также при физиологической беременности регистрируется сниженная способность IFN-DC стимулировать пролиферацию МНК в СКЛ. Кроме того, IFN-DC беременных в отличие от IFN-DC доноров стимулируют МНК к продукции IL-4, в то время как их способность стимулировать продукцию IFN $\gamma$  снижена. IFN-DC беременных с ГА отличаются от IFN-DC здоровых беременных большим количеством CD14, CD83 и CD25-позитивных клеток, более высокой аллостимуляторной активностью и способностью стимулировать МНК не только к продукции IL-4, но и IFN $\gamma$ .

**Заключение.** Таким образом, развитие ГА сопровождается снижением «супрессивных» свойств ДК и приобретением ими Th-1-стимулирующей активности, что может приводить к срыву иммунологической толерантности при беременности.

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ НАТУРАЛЬНЫХ Т-РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ

Селютин А.В., Сельков С.А.

ГУ НИИАГ им. Д.О. Отто РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Одной из основных функций иммунной системы является защита организма от патогенов различного про-

исхождения путем уничтожения инфицированных клеток. При этом следует максимально уменьшить сопутствующее разрушение тканей и органов. В необходимом ограничении иммунного ответа на чужеродные антигены и предотвращении аутоиммунных реакций важную роль играют Т-регуляторные клетки. Клетки этого типа играют важную роль для поддержания физиологического течения беременности, предотвращая иммунный ответ организма матери на плод, а снижение их количества и/или функциональной активности может приводить к прерыванию беременности.

**Целью** настоящей работы было определение содержания Т-регуляторных клеток в периферической крови у женщин с привычным невынашиванием беременности.

Для идентификации Т-регуляторных клеток в нашей лаборатории был модифицирован и адаптирован протокол, разработанный фирмой BD Bioscience. Для исследования использовали венозную кровь, фракцию мононуклеарных клеток получали с помощью центрифугирования в градиенте плотности, CD4<sup>+</sup> лимфоциты выделяли с помощью иммуномагнитной сепарации. В суспензию клеток вносили антитела с флуорохромами: CD3-FITC, CD4-PE-Cy7, CD25-APC, CD127-PE и инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 30 минут. После чего клетки исследовали на проточном цитофлуориметре FACSCantoII (BD Bioscience). Клетки с фенотипом CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25(hi-int)CD127(low) идентифицировали как натуральные Т-регуляторные клетки.

Нами были исследованы образцы крови, полученные от 15 женщин с диагнозом привычное невынашивание беременности. Натуральные Т-регуляторные клетки составляли 3,47±1,68% от общего количества CD4<sup>+</sup> лимфоцитов, в то время как в группе здоровых доноров их доля составляла 4,18±1,74%.

Таким образом, несмотря на отсутствие статистически значимого снижения содержания натуральных Т-регуляторных клеток в периферической крови женщин с привычным невынашиванием беременности можно сделать вывод о тенденции к уменьшению количества клеток этого типа при развитии данной патологии.

**ТАБЛИЦА. ХАРАКТЕРИСТИКА IFN-DC ДОНОРОВ И БЕРЕМЕННЫХ С ОТСУТСТВИЕМ И НАЛИЧИЕМ ГИПЕРАНДРОГЕНИИ (К ТЕЗИСАМ СЕЛЕДЦОВОЙ Н.В. И ДР.)**

Показатель	Доноры	Беременные ГА (-)	Беременные ГА (+)
CD14 <sup>+</sup> , %	24,8±3,2 (n = 24)	16,7±2,4* (n = 33)	31,1±5,8# (n = 10)
CD83 <sup>+</sup> , %	25,2±3,0 (n = 27)	10,7±1,2** (n = 33)	25,9±1,8### (n = 18)
CD25 <sup>+</sup> , %	22,7±4,1 (n = 17)	9,3±1,3** (n = 18)	26,9±2,9### (n = 13)
Аллостим. акт., ИС, расч. ед.	23,7±3,9 (n = 8)	7,6±0,9* (n = 13)	21,9±8,7# (n = 8)
% IFN $\gamma$ + МНК в СКЛ	5,2±1,0 (n = 8)	1,5±0,3* (n = 8)	2,5±0,3*# (n = 8)
% IL-4 <sup>+</sup> МНК в СКЛ	2,9±0,5 (n = 8)	8,6±1,0* (n = 8)	7,4±1,0* (n = 8)
IFN $\gamma$ <sup>+</sup> / IL-4 <sup>+</sup> , расч. ед.	1,7±0,4 (n = 8)	0,2±0,1*(n = 8)	0,4±0,1** (n = 8)

**Примечание.** Данные представлены в виде M±SE; n – количество человек в группе; ИС-индекс стимуляции (отношение уровня пролиферации МНК при стимуляции IFN-DC к уровню спонтанной пролиферации МНК), \*P<sub>U</sub> < 0,05, \*\* – P<sub>U</sub> < 0,01, достоверность различий по сравнению с группой доноров; #P<sub>U</sub> < 0,05, ###P<sub>U</sub> < 0,01 – по сравнению с группой здоровых беременных.

## ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ ОКСИДА АЗОТА У НОВОРОЖДЕННЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ГИПОКСИЮ

Скарденнова Е.Ю., Чистякова Г.Н., Газиева И.А., Ремизова И.И.

ФГУ «НИИ охраны материнства и младенчества Росмедтехнологий», г. Екатеринбург, Россия

**Введение.** Дефицит кислорода является важным фактором нарушения функционирования и повреждения клеток и органов. Наиболее высокая скорость оксидативного метаболизма обнаружена в сердечно-сосудистой и центральной нервной системах, в связи с чем гипоксия оказывает существенное влияние в первую очередь на эти системы и, соответственно, является патогенетическим звеном большинства осложнений неонатального периода, прежде всего кардио-респираторных и неврологических. В условиях гипоксии у плода происходит значительная гемодинамическая перестройка, которая определяет характер и скорость постнатальной адаптации. Перинатальная гипоксия инициирует процессы, приводящие к повышению проницаемости клеточных мембран, гибели нейронов и глиальных клеток вследствие некроза и/или апоптоза, нарушению целостности структуры гематоэнцефалического барьера. В механизмах адаптации к гипоксии существенная роль принадлежит оксиду азота (NO). Снижение продукции NO в эндотелии сосудов приводит к вазоконстрикции, что еще сильнее затрудняет доступ кислорода к мозгу. Содержание метаболитов NO в пуповинной крови может отражать тяжесть гипоксических повреждений, что имеет значение для прогнозирования осложнений в последующие периоды жизни ребенка.

**Цель:** оценить особенности продукции оксида азота у доношенных новорожденных, перенесших асфиксию различной степени тяжести при рождении.

**Материалы и методы.** Проведено клинико-лабораторное обследование 60 доношенных новорожденных с асфиксией различной степени тяжести при рождении, из них 22 ребенка с тяжелой асфиксией и 38 детей со средней и умеренной. Группу сравнения составили 30 здоровых новорожденных. Содержание NO в пуповинной крови оценивали по уровню более стабильных NO-метаболитов, нитритов ( $\text{NO}_2^-$ ) и нитратов ( $\text{NO}_3^-$ ) с использованием тест-систем «R&D» (США). Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с использованием пакета «Statistica 6.0». Для оценки достоверности различий между группами применяли непараметрический критерий Манна–Уитни.

**Основные результаты.** Содержание стабильных метаболитов  $\text{NO}_2^-$  в пуповинной крови новорожденных, перенесших среднюю и умеренную асфиксию было в 2,4 раза ниже аналогичного показателя в группе здоровых новорожденных ( $11,10 \pm 2,63$  мкмоль/л против  $27,00 \pm 2,28$  мкмоль/л). Уровень нитритов у новорожденных с тяжелой асфиксией практически не отличался от концентрации  $\text{NO}_2^-$  при средней и умеренной асфиксии в родах и составил  $12,04 \pm 2,31$  мкмоль/л. Содержание

метаболитов  $\text{NO}_3^-$  в пуповинной крови новорожденных, перенесших среднюю и умеренную асфиксию, было почти в 7 раз, а у детей с тяжелой асфиксией – в 4,5 раза ниже аналогичного показателя в группе здоровых новорожденных ( $1,42 \pm 0,78$  и  $2,20 \pm 1,17$  мкмоль/л соответственно против  $9,91 \pm 2,47$  мкмоль/л). NO образуется при окислении аминокислоты L-аргинина с участием NADPH и одной из трех изоформ ферментов семейства NO-синтазы (нейрональной nNOS, эндотелиальной eNOS и индуцибельной iNOS). Нейрональная NO-синтаза в большом количестве экспрессируется нейронами центральной и периферической нервной системы, а эндотелиальная NO-синтаза – эндотелием и другими клетками. Дефицит NO у новорожденных, перенесших асфиксию при рождении, может свидетельствовать о снижении активности NO-синтаз под влиянием усиленной гибели нейронов, а также дисфункции эндотелия, развивающейся в ответ на гипоксическое воздействие. В физиологических условиях в ответ на гипоксию наблюдается существенное увеличение продукции NO, что играет защитную роль, способствуя поддержанию кальциевого гомеостаза клеток и защищая их от гибели. Повышенная продукция NO в ответ на стрессорное воздействие приводит к снижению тонуса сосудов головного мозга и тем самым улучшению микроциркуляции и питания нервных клеток. Отсутствие такой компенсаторной реакции у детей основной группы свидетельствует о нарушении ферментативной функции ЦНС и эндотелия. Кроме того, ранее нами было показано, что при асфиксии различной степени тяжести содержание NSE в пуповинной крови практически в 2 раза превышало уровень данного фермента в группе здоровых новорожденных, что свидетельствует о непосредственном влиянии дефицита кислорода на усиление процессов гибели нейронов и клеток нейроэндокринной дифференцировки. На основании полученных данных можно заключить, что перенесенная при рождении асфиксия способствует гибели нейронов головного мозга и эндотелиальной дисфункции, что приводит к нарушению экспрессии NO-синтаз. Результаты исследования позволяют рассматривать гипоксию как стрессорный фактор, приводящий к нарушению механизма регуляции сосудистого тонуса с ослаблением депрессорной функции.

## ЦИТОКИНОВАЯ СЕТЬ ПЛАЦЕНТЫ РАЗВИВАЮЩЕЙСЯ ПЛАЦЕНТЫ В НОРМЕ И ПРИ ГЕСТОЗЕ

Соколов Д.И., Михайлова В.А., Степанова О.И., Сельков С.А.

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

Ростовые факторы и цитокины определяют развитие ткани плаценты и принимают участие в регуляции взаимоотношений между иммунокомпетентными клетками материнского организма и клетками плаценты.

**Целью исследования** явилось сравнительное изучение цитокиновой сети плаценты на разных сроках беременности, а также при гестозе.

Исследованы плаценты 25 женщин, у которых беременность протекала без осложнений (38-39 недель) и плаценты 40 женщин с течением беременности, осложненным гестозом (38-39 недель, гестоз), родоразрешение у которых проводилось путем кесарева сечения. Также исследовано 20 плацент, полученных при искусственном аборте у женщин с физиологическим течением беременности на сроке 9-11 недель. Кусочки ворсинчатого хориона из центральной части плаценты культивировали в питательной среде DMEM\F12 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки в течение 24 часов. В надосадочных жидкостях определяли содержание ангиогенина, VEGF, bFGF, IL-8, IP-10, MCP-1, MIG, RANTES, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-12p70, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-5, IL-10 с использованием стандартных тест-систем BD Cytometric Bead Array (BD, США) и проточного цитофлюориметра FACSCanto II (BD, США). Исходная концентрация указанных цитокинов в питательной среде DMEM/F12 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки не превышала 2 пг/мл. Статистический анализ полученных данных проводили при помощи компьютерной программы «Statistica 6.0» используя непараметрический критерий Манна–Уитни, медианный тест и корреляционный анализ Спирмена.

Обнаружена повышенная секреция ангиогенина, IL-8, bFGF и IL-6 и сниженная секреция остальных хемокинов и провоспалительных цитокинов в первый триместр физиологической беременности. К третьему триместру происходило снижение секреции ангиогенина, IL-8, bFGF и IL-6 при одновременном повышении секреции остальных хемокинов и провоспалительных цитокинов. При гестозе наблюдалось увеличение секреции тканью плаценты ангиогенина, IL-8, IL-6, сохранение секреции TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , снижение секреции bFGF, а также хемокинов и цитокинов, участвующих в воспалительной реакции. Работа поддержана грантами Президента РФ № НШ-1066.2008.7, МК-1355.2007.7.

#### **ХАРАКТЕРИСТИКА ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ Т-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ГЕСТОЗЕ**

**Сотникова Н.Ю., Кудряшова А.В., Лазарева Ю.Ю., Мамалыга И.Н., Панова И.А.**

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

В последние годы во многом пересматриваются вопросы, связанные с дифференцировкой Т-лимфоцитов. Наивные лимфоциты в процессе дифференцировки приобретают характерный спектр маркеров, способность продуцировать определенный набор цитокинов и функцию. Наивные Т-клетки подвергаются экспансии, при этом часть клеток уходит в апоптоз, а часть клеток стабилизируется и превращается в клетки памяти, которые в зависимости от стадии дифференцировки экспрессируют различные адгезионные и хемокиновые рецепторы. Известно, что гестоз ассоциируется с усилением функциональной активности цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ). При этом различают 4 стадии дифференцировки ЦТЛ: наивные, центральные, претерминально-дифферен-

цированные и терминально-дифференцированные клетки памяти, функция которых различна, однако данные о дифференцировке ЦТЛ при гестозе практически отсутствуют.

**Целью** работы было уточнить характер дифференцировки и функциональной активности ЦТЛ при гестозе в 3 триместре беременности. Под наблюдением находилось 20 женщин с нефропатией. Контрольную группу составили 20 здоровых беременных женщин того же срока беременности. Методом проточной цитофлюориметрии в периферической крови беременных женщин с неосложненным течением беременности и с гестозом исследовали содержание наивных (CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>; CD45RO-CD62L<sup>+</sup>), центральных (CD45RA-CD62L<sup>+</sup>; CD45RO<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>), претерминально-дифференцированных (CD45RA-CD62L<sup>-</sup>; CD45RO<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>) и терминально-дифференцированных (CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>; CD45RO-CD62L<sup>-</sup>) клеток памяти в популяции цитотоксических CD8<sup>+</sup> лимфоцитов. Кроме того, определяли содержание GrB<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>, CD95L<sup>+</sup>, AnnexinV<sup>+</sup>, IL-2<sup>+</sup>, IFN $\gamma$ <sup>+</sup> клеток в популяциях CD8<sup>+</sup> цитотоксических Т-лимфоцитов.

При гестозе в популяции ЦТЛ снижался уровень наивных и центральных клеток памяти, но возрастал уровень терминально-дифференцированных клеток памяти по сравнению с показателями контрольной группы. Гестоз характеризовался ростом относительно содержания ЦТЛ, внутриклеточно продуцирующих гранзим В. Исследование параметров апоптоза ЦТЛ показало, что при гестозе отсутствовали достоверные изменения в содержании CD8<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>CD95L<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>AnnexinV<sup>+</sup> лимфоцитов, но достоверно возрастал пул CD8<sup>+</sup>AnnexinV<sup>-</sup> клеток. Это может быть обусловлено либо усилением влияния антиапоптотических, либо ослаблением контроля со стороны проапоптотических факторов. При гестозе также был достоверно выше уровень ЦТЛ, внутриклеточно продуцирующих IL-2 и IFN $\gamma$ . Известно, что терминально-дифференцированные клетки памяти более устойчивы к апоптозу и являются наиболее мощными клетками-эффекторами, не требующими предварительной активации. Накопление терминально-дифференцированных ЦТЛ, по-видимому, является одним из механизмов, обуславливающих усиление цитотоксических реакций при гестозе.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00123-а.

#### **РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК В МЕХАНИЗМАХ БЫСТРОГО РОСТА ЛЕЙОМИОМЫ МАТКИ**

**Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Бойко О.М.**  
*ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Росмедтехнологий», г. Иваново, Россия*

Патогенез миомы матки и механизмы, лежащие в основе быстрого темпа роста миомы, до конца не установлены. Традиционно миома матки считается доброкачественной опухолью. В последние годы было показано, что образование опухолей, как злокачественных, так и доброкачественных, сопровождается ослаблением иммунной защиты, в частности, нарушением функции регуляторных Т-лимфоцитов (Treg). Однако роль данной

клеточной популяции в механизмах развития быстрого роста миомы матки до сих пор не изучена. Известно, что TGF $\beta$  играет важную роль в индукции активности Treg. В связи с этим целью нашей работы было уточнить роль Treg и TGF $\beta$  в патогенезе быстрого роста лейомиомы матки. Было обследовано 20 женщин с миомой матки стабильно малых размеров, 44 женщины с быстрорастущей миомой матки и 15 здоровых женщин репродуктивного возраста. Материалом для исследования служила периферическая кровь, биоптаты эндометрия и операционный материал. Уровень Treg и экспрессию рецептора TGF $\beta$  эндоглина на поверхности периферических и эндометриальных лимфоцитов оценивали с помощью проточной цитометрии. Уровень TGF $\beta$  в тканевых экстрактах эндометрия, миометрия и миоматозных узлов определяли методом ИФА. Уровень экспрессии мРНК TGF $\beta$  в ткани эндометрия и миоматозных узлов определяли методом количественной RT-PCR в режиме реального времени. Было установлено, что у женщин с миомой матки вне зависимости от темпа роста опухоли в периферической крови повышался уровень индуцированных CD4<sup>+</sup>IL-10<sup>+</sup> Treg, а в эндометрии увеличивалось содержание пула естественных Treg, имеющих фенотип CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>CD152<sup>+</sup>. Развитие быстрого роста миомы матки дополнительно сопровождалось другими изменениями активности регуляторных Т-лимфоцитов. Только у женщин этой группы отмечалось повышение уровня естественных Treg клеток в периферической крови и увеличение содержания индуцированных Treg в эндометрии. Уровень индуцированных Treg также зависел и от типа быстрого роста миомы матки. Дифференцированный анализ данных в зависимости от типа роста миомы матки показал, что в тех случаях, когда увеличение размеров опухоли происходило преимущественно за счет усиления пролиферативной активности в миоматозном узле («истинный» тип роста), содержание в периферической крови CD4<sup>+</sup>IL-10<sup>+</sup> лимфоцитов было повышено как по сравнению с показателями контрольной группы, так и по сравнению с показателями женщин с «ложным» типом роста, характеризующимся развитием отека и некроза в узле. У всех женщин с миомой матки отмечалось повышение сывороточного содержания TGF $\beta$ 2. Максимальный уровень TGF $\beta$ 2 был выявлен у пациенток с пролиферирующим типом миомы матки. Мы не выявили значительных изменений в содержании TGF $\beta$ 2 в тканевых экстрактах эндометриальной ткани женщин с миомой матки. При этом характер синтеза и продукции TGF $\beta$ 2 в миоматозных узлах непосредственно коррелировали с размером опухоли. В миоматозных узлах больших размеров уровень экспрессии мРНК TGF $\beta$ 2, а также содержание самого протеина были резко повышены как по сравнению с аналогичными показателями в неизменном миометрии, так и по сравнению с показателями в миоматозных узлах малых размеров. Изменения в синтезе TGF $\beta$  были ассоциированы с нарушением рецепции TGF $\beta$  периферическими и эндометриальными лимфоцитами. При отсутствии роста опухоли экспрессия вспомогательного рецептора TGF $\beta$  – эндоглина лимфоцитами эндометрия была ниже, чем у здоровых женщин, а у женщин с быстрым ростом опухоли экспрессия эндоглина эндометриальными лимфоцитами, напротив, была значительно повышена. Таким образом, усиление синтеза

и рецепции TGF $\beta$ , которое ведет к аккумуляции Treg на системном и локальном уровне, по-видимому, лежит в основе нарушения развития противоопухолевого иммунного ответа у женщин с миомой матки и определяет развитие быстрого роста опухоли.

#### **ИММУННЫЙ АПОПТОЗ НА СИСТЕМНОМ И ЛОКАЛЬНОМ УРОВНЕ У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ, АССОЦИИРОВАННЫМ С ТРУБНЫМ ФАКТОРОМ И НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ**

**Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Посисеева Л.В., Кирсанов А.Н., Филиппова Е.С.**

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

Апоптоз играет важную роль в обеспечении нормального функционирования репродуктивной системы человека. Показано, что нарушения апоптоза негативно влияют на репродуктивный процесс и во многих случаях приводят к развитию бесплодия, например, при эндометриозе, занимающего в настоящее время одно из первых мест среди причин нарушения фертильности у женщин. Известно, что развитие эндометриозных очагов сопровождается снижением апоптоза эндометриальных клеток, что определяется нарушением системной и локальной продукции эндогенных регуляторов апоптоза, таких как Bcl-2, P53, Вах. Менее изучен характер регуляции апоптоза у бесплодных женщин, причиной нарушения фертильности у которых является трубно-перитонеальный фактор. Показано, что данная форма бесплодия связана с хламидийным инфицированием женщин, которое приводит к значительным нарушениям апоптоза инфицированных клеток. Развитие бесплодия во многих случаях связано с иммунными нарушениями, поэтому изучение особенностей иммунного апоптоза может дать важную информацию о патогенетических механизмах, определяющих нарушение фертильности в обоих случаях. Целью нашего исследования было оценить характер иммунного апоптоза на системном и локальном уровне у женщин с бесплодием, ассоциированным с наружным генитальным эндометриозом и трубным фактором. Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь, перитонеальная жидкость и биоптаты эутопического эндометрия бесплодных женщин с наружным генитальным эндометриозом (20 человек), фертильных женщин с эндометриозом (9 человек), женщин с бесплодием, ассоциированным с трубным фактором (10 человек) и здоровых фертильных женщин (15 человек). Уровень экспрессии CD95 и CD95L молекул на поверхности лимфоцитов и моноцитов/макрофагов периферической крови и перитонеальной жидкости оценивали с помощью моноклональных антител методом проточной цитометрии. Экспрессию мРНК XIAP (X-связанного ингибитора апоптоза) в эндометриальной ткани оценивали методом количественной RT-PCR в масштабе реального времени. Было установлено, что для всех женщин с эндометриозом вне зависимости от состояния их репродуктивной функции

было характерно снижение количества периферических CD95<sup>+</sup> лимфоцитов и уменьшение как в периферической крови, так и в перитонеальной жидкости содержания моноцитов/макрофагов, экспрессирующих CD95L молекулы. Параллельно у всех женщин с эндометриозом нами отмечалось достоверное повышение уровня экспрессии мРНК XIAP в ткани эндометрия. Уровень экспрессии CD95 молекул перитонеальными макрофагами при эндометриозе был различен у бесплодных и фертильных женщин. В группе женщин с нормальной репродуктивной функцией количество CD95<sup>+</sup> макрофагов в перитонеальной жидкости было снижено, а у бесплодных женщин – напротив, повышено по сравнению с показателями здоровых женщин. У женщин с бесплодием, ассоциированным с трубным фактором, количество CD95-позитивных перитонеальных лимфоцитов и макрофагов было значительно выше аналогичного параметра у женщин контрольной группы. Таким образом, высокая готовность перитонеальных макрофагов к апоптозу является отличительной чертой бесплодия, развивающегося как на фоне наружного эндометриоза, так и трубного фактора. Это может быть связано с высоким уровнем активации данного пула клеток и свидетельствовать о развитии воспалительных процессов в перитонеальной полости при данных формах бесплодия. Ряд особенностей иммунного апоптоза при эндометриозе связан не с бесплодием, а с развитием и ростом эндометриоидных гетеротопий. Выявленное нами снижение количества CD95L-позитивных макрофагов свидетельствует об угнетении апоптоз-индуцирующей функции фагоцитов при эндометриозе, чего не отмечается при бесплодии, обусловленным трубным фактором. Принимая во внимание установленный нами факт угнетения апоптоза самих эндометриальных клеток у женщин с эндометриозом, можно предположить, что повышение жизнеспособности эндометриального эндометрия на фоне снижения способности макрофагов к элиминации измененных аутологических клеток являются факторами, провоцирующими развитие и рост эктопического эндометрия в перитонеальной полости.

### ЭКСПРЕССИЯ PLGF И MMP КЛЕТКАМИ ПЛАЦЕНТЫ

**Степанова О.И., Соколов Д.И., Сельков С.А.**

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

В развитии плаценты важную роль играют ростовой фактор PIGF и металлопротеиназы MMPs. PIGF участвует в регуляции ангиогенеза и поддержании жизнеспособности клеток трофобласта, MMPs контролируют инвазию трофобласта и ангиогенез в плаценте.

**Целью** настоящего исследования явилось сравнительное изучение секреции тканью плаценты PIGF, MMP-2 и MMP-9 при физиологической беременности и при гестозе.

Были исследованы плаценты, полученные при искусственном аборте у женщин с физиологическим течением беременности на сроке 9-11 недель (n = 15), а также плаценты женщин с физиологической беременностью

на сроке 38-39 недель (n = 30) и плаценты женщин с гестозом на сроке 38-39 недель (n = 35), полученные после кесарева сечения. Кусочки плацентарной ткани культивировали в питательной среде DMEM/F12 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки в течение 24 часов. Затем кондиционированные среды собирали и замораживали при температуре -20 °C до исследования. В полученных кондиционированных средах при помощи иммуноферментного анализа определяли содержание PIGF (Bender Medsystems, Австрия), MMP-2 и MMP-9 (Amersham Biosciences, Великобритания). Статистический анализ полученных данных проводили при помощи компьютерной программы «Statistica 6.0». Для анализа данных использовали непараметрический критерий Манна-Уитни.

Секреция MMP-2 снижается на поздних сроках беременности ( $42,7 \pm 2,3$  нг/мл,  $p < 0,05$ ) по сравнению с ранними сроками развития беременности ( $114,7 \pm 10,3$  нг/мл). При этом секреция MMP-2 в третьем триместре физиологической беременности и при гестозе была одинаковой. Секреция MMP-9 клетками плаценты у женщин всех изученных групп не имела различий. На ранних сроках беременности концентрация MMP-9 белка равна  $8,0 \pm 1,1$  нг/мл, при физиологической беременности на поздних сроках –  $8,6 \pm 1,5$  нг/мл и при гестозе –  $10,2 \pm 0,7$  нг/мл. Секреция PIGF снижалась на поздних сроках беременности ( $340 \pm 35$  пг/мл) по сравнению с ранним сроком ( $530 \pm 75$  пг/мл,  $p < 0,05$ ). При физиологической беременности и беременности с гестозом продукция PIGF клетками плаценты была одинаковой.

На ранних сроках PIGF стимулирует развитие ткани плаценты, на поздних, вероятно, служит для поддержания жизнеспособности клеток плаценты. Высокая секреция MMP-2 на ранних сроках беременности связана с высоким уровнем пролиферации клеток трофобласта и активным разрушением матрикса в процессе инвазии. На поздних сроках происходит стабилизация ткани плаценты, поэтому роль MMPs снижается. MMP-9 имеет, вероятно, второстепенное значение в развитии ткани плаценты. Отсутствие отличий в секреции MMP-2 и MMP-9 тканью плаценты в третьем триместре физиологической беременности и при гестозе позволяет сделать вывод о том, что данные факторы не вовлечены в развитие гестоза.

Работа поддержана грантами Президента РФ № НШ-1066.2008.7 и МК-1355.2007.7.

### ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ В1-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ

**Ходунова Т.В., Семикина Е.Л., Копыльцова Е.А., Милая О.В.**

*Научный центр здоровья детей РАМН, Москва, Россия*

Изучение особенностей становления клеточного и гуморального иммунитета в детском возрасте остается одной из актуальных проблем иммунологии.

**Цель** нашего исследования – изучить возрастную динамику субпопуляций В1-лимфоцитов крови у детей и ее взаимосвязь с иммуноглобулинами.

Нами были обследованы 40 детей в возрасте 4-7 дней, 20 – к концу первого месяца жизни, 15 – от 2 до 12 месяцев, 10 – от 1 года до 6 лет и 10 – от 7 до 17 лет.

Определение субпопуляций В-лимфоцитов крови проводилось методом проточной цитофлюорометрии с трехцветной меткой по комбинациям CD19<sup>+</sup>, CD5<sup>+</sup> и CD10<sup>+</sup>. Количество В1-лимфоцитов определялось в процентах из общего числа В-клеток, а содержание молодых активированных В1-лимфоцитов рассчитывалось в процентах из общего числа В1-лимфоцитов.

В результате проведенных исследований было отмечено, что у детей первой недели жизни уровень В1-лимфоцитов составил в среднем  $65 \pm 3,5\%$  клеток, уровень молодых активированных В1-клеток составил  $36,4 \pm 3,5\%$  от всех В1-лимфоцитов. К концу первого месяца жизни количество В1-лимфоцитов и молодых активированных В1-лимфоцитов остались на прежнем уровне. В дальнейшем по мере взросления прослеживается отчетливая, статистически достоверная тенденция к падению числа как В1-лимфоцитов в целом, так и молодых активированных форм. Так для детей первого года жизни количество В1-лимфоцитов составило  $59 \pm 2,2\%$ , а молодых активированных В1-лимфоцитов –  $31,1 \pm 4,5\%$ , у детей от 1 года до 6 лет –  $48,6 \pm 3,5$  и  $19,4 \pm 2,5\%$ ; в группе от 7 до 17 лет –  $35,2 \pm 5,2$  и  $17,1 \pm 3,2\%$  соответственно. Установлены тесные отрицательные корреляционные связи между возрастом и процентным содержанием В1-лимфоцитов ( $r = -0,72$ ), а также между возрастом и процентом молодых активированных В1-лимфоцитов ( $r = -0,55$ ). Кроме того, выявлены отрицательные корреляции между концентрацией IgM и числом молодых В1-лимфоцитов, а также между IgG и уровнем В1-клеток.

Таким образом, изучение состава субпопуляций В-лимфоцитов у детей в различных возрастных группах позволило нам установить следующую закономерность, а именно постепенное снижение долей В1-лимфоцитов и молодых активированных В1-лимфоцитов в составе В-клеток по мере роста и развития ребенка. Особенности состава В1-лимфоцитов находятся в тесной связи с уровнем иммуноглобулинов в крови у детей. Установленные возрастные особенности показателей В1-лимфоцитов позволяют внести вклад в понимание становления не только клеточного, но и гуморального иммунитета.

#### **ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПЕНТОКСИФИЛЛИНА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ, АССОЦИИРОВАННЫМ С МАЛЫМИ ФОРМАМИ НАРУЖНОГО ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА**

**Шаалали Ю.С., Малышкина А.И., Анциферова Ю.С.**  
*ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Росмедтехнологий», г. Иваново, Россия*

Эндометриоз занимает в структуре гинекологической патологии третье место после воспалительных заболеваний и миомы матки. Согласно литературным данным, эндометриозом страдает 5-10% женщин репродуктивного возраста, при этом эндометриоз диагностируется у 46-60% женщин с бесплодием неясного генеза. Наиболее широко распространенным методом лечения бесплодия у женщин с эндометриозом является хирургический метод, основанный на удалении эндометриодных очагов с использованием лапароскопии. Но сравнительно невысокая эффективность хирургического метода лечения бесплодных женщин с эндометриозом, а также выявленные в последнее время значительные иммунные нарушения у данного контингента пациентов диктуют необходимость разработки новых медикаментозных методов лечения данного заболевания. Ранее было продемонстрировано позитивное воздействие пентоксифиллина на восстановление репродуктивной функции мышей с экспериментальным эндометриозом. Однако иммуномодулирующее действие Пентоксифиллина при эндометрии в настоящее время менее изучено. Целью данного исследования было определить влияние Пентоксифиллина на показатели, характеризующие состояние гуморального звена иммунитета, у женщин с бесплодием при наружном генитальном эндометриозе. Исследования проводились на базе эндоскопического отделения ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Росмедтехнологий». Было проведено иммунологическое обследование 51 женщины с малыми формами наружного генитального эндометриоза и бесплодием (основная группа) и 15 здоровых женщин с ненарушенной репродуктивной функцией (контрольная группа). У всех женщин основной группы были исключены другие причины бесплодия (трубно-перитонеальные, эндокринные, мужские). Всем пациенткам была произведена лапароскопия, при которой был диагностирован наружный генитальный эндометриоз I-II степени по классификации ASF и проведена деструкция очагов. 35 женщин основной группы получали «Пентоксифиллин» в раннем послеоперационном периоде в течение 5 дней. 16 женщин получали традиционную терапию после проведения лапароскопии. Иммунологическое обследование проводилось дважды: до операции и через 1 месяц после лечения. Материалом для исследования служила периферическая кровь. Фенотип периферических лимфоцитов и внутриклеточную продукцию ими цитокинов оценивали с помощью моноклональных антител методом проточной цитометрии. Анализ данных иммунологического обследования показал, что в целом все пациентки с бесплодием при малых формах наружного генитального эндометриоза характеризовались выраженным усилением активации реакций гуморального звена иммунитета. В пользу чего свидетельствовало повышение уровня внутриклеточного синтеза лимфоцитами IL-4, IL-5 и IL-6, увеличение содержания Th-2 лимфоцитов с фенотипом CD4<sup>+</sup>IL-4<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>IL-5<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>IL-6<sup>+</sup> и В-1-клеток. Проведение курса лечения «Пентоксифиллином» приводило к значительному снижению количества периферических лимфоцитов и Т-хелперов, продуцирующих внутриклеточно IL-4 и IL-6. Кроме того, после лечения «Пентоксифиллином» у женщин отмечалось достоверное снижение уровня периферических В-1-лимфоцитов. У женщин, получавших традиционную терапию в послеоперационном периоде,

значительных изменений в продукции лимфоцитами IL-4 и IL-6 выявлено не было. Предварительный анализ характера восстановления репродуктивной функции у пациенток с эндометриозом показал, что у женщин, применявших «Пентоксифиллин», с большей частотой отмечалось наступление беременности в течение первого года после проведения лечения, чем у женщин,

которым назначались традиционные методы лечения в раннем послеоперационном периоде. Полученные данные позволяют говорить о возможности применения «Пентоксифиллина» у женщин с бесплодием при малых формах наружного генитального эндометриоза, у которых выражена активация реакций гуморального звена иммунитета.