

## ИММУНОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИИ

### ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ТЕСТИКУЛЯРНОЙ ИЗОФОРМЫ АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА НА ПОВЕРХНОСТИ ЖИВЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ ЧЕЛОВЕКА

**Алексинская М.А., Николаева М.А.<sup>1</sup>,  
Сухих Г.Т.<sup>1</sup>, Данилов С.М.<sup>2</sup>**

*Московский Государственный Университет им.  
М.В. Ломоносова, Москва;*

*<sup>1</sup>Научный Центр Акушерства, Гинекологии и  
Перинатологии, Россия;*

*<sup>2</sup>Университет Иллиноиса, Чикаго, США*

Ангиотензин-превращающий фермент (АПФ) (АСЕ, CD143) - цинкзависимая пептидил-дипептидаза, регулирующая давление крови и гомеостаз электролитов. АПФ представлен двумя изоформами: соматической (сАПФ) и тестикулярной (тАПФ), которая экспрессируется только на сперматозоидах и незрелых клетках сперматогенеза. До сих пор не существует единой точки зрения на роль АПФ в процессе репродукции.

**Целью** исследования являлась количественная оценка экспрессии тАПФ на поверхности сперматозоидов человека и определение ее взаимосвязи с другими параметрами спермограммы.

Методом проточной цитометрии (ПЦМ) анализировали связывание впервые полученных (Данилов, США) моноклональных антител (МАТ) к тАПФ (1E10) с поверхностью живых сперматозоидов нативной спермы и активно-подвижных клеток, полученных методом флотации. Определяли процент АПФ-позитивных (ПЦМ%) клеток. При помощи компьютерного анализа спермы (Computer Aided Sperm Analysis, CASA) проводили анализ подвижности сперматозоидов. Акросомальную реакцию индуцировали ионофором А23187. Акросомальный статус определяли с помощью ФИТЦ-меченного лектина *Pisum sativum*, связывающегося с акросомальным матриксом.

Уровень неспецифического связывания соматической изоформы контролировали, используя МАТ (i2H5+9B9), специфично взаимодействующие с сАПФ. Минимизировали возможность шеддинга тАПФ (работа при 4°C).

Проанализировано 102 эякулята. Было показано, что МАТ 1E10 специфичны к тАПФ, которая выявляется на поверхности 9–98% сперматозоидов, и не связываются с сАПФ. Более высокий уровень тАПФ ( $P=0,0036$ ) был выявлен во фракции сперматозоидов, полученных методом флотации (ПЦМ%=73,9%) по сравнению со сперматозоидами нативной спермы (ПЦМ%=63,9%).

При анализе клеток нативной спермы получена положительная корреляция между уровнем тАПФ и процентом клеток с нормальной морфологией головки ( $r=0,42$ ,  $P=0,0164$ , для ПЦМ%).

Выявлена позитивная корреляция между трековой ( $r=0,611$ ,  $P=0,018$ ) и прогрессивной ( $r=0,505$ ,  $P=0,05$ ) скоростями движения сперматозоидов, полученных методом флотации, и экспрессией тАПФ.

Наблюдалась отрицательная корреляция ( $r=-0,47$ ,  $P=0,0089$ ) между экспрессией тАПФ на поверхности спер-

матозоидов, полученных методом флотации и спонтанной акросомальной реакцией.

Таким образом, функционально-активные сперматозоиды с нормальной морфологией характеризуются высоким уровнем экспрессии тАПФ. Эти данные являются основой для дальнейшей оценки клинической значимости экспрессии тАПФ при диагностике некоторых форм мужского бесплодия.

### ВЛИЯНИЕ ГУМОРАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ ИММУНИТЕТА НА ФОРМИРОВАНИЕ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ЦНС У ГЛУБОКОНЕДОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

**Аронскинд Е.В., Ковтун О.П., Тузанкина И.А.**

*Уральская Государственная Медицинская  
Академия, г.Екатеринбург;*

*Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,  
г.Екатеринбург, Россия*

По мнению большинства клиницистов, иммунитет при асфиксии имеет черты иммунодефицитного состояния с признаками аутоагрессии, иммунологической толерантности и, иногда, изосенсибилизации тканевыми антигенами (групп крови, лейкоцитарными, тромбоцитарными и др.). Иммунологическая недостаточность в этом случае проявляется как со стороны неспецифических факторов иммунитета (состояния барьеров кожи и слизистых, активности фагоцитов, продукции неспецифических гуморальных факторов), так и со стороны специфических (продукции специфических киллеров и антител). Результатом перенесенной асфиксии является формирование патоморфологических изменений головного мозга.

**Цель и задачи.** Выявить влияние гуморальных факторов иммунитета на формирование патоморфологических субстратов поражения головного мозга у недоношенных детей.

**Материалы и методы.** Работа основана на изучении результатов динамического проспективного исследования 88 недоношенных детей с массой тела при рождении менее 1500 грамм и сроке гестации менее 32 недели, перенесших асфиксию тяжелой и среднетяжелой степени. Все дети находились на лечении в неонатальных отделениях областной детской клинической больницы №1 г.Екатеринбурга. В зависимости от патоморфологических изменений в нервной системе при гипоксии (визуализированной по данным нейросонографии) все больные были разделены на 3 клинические группы: I группа - дети, перенесшие ВЖК III-IV степени (по Levene) и перивентрикулярную ишемию (ПВИ) ( $n=17$ ), II группа - дети, перенесшие ВЖК I-II степени (по Levene) и ПВИ ( $n=41$ ), III группа - дети, перенесшие перивентрикулярную лейкомаляцию ( $n=30$ ). Дети исследуемых групп значительно не отличались по сроку гестации (Me (LQ-UQ)=29 (28-31,5) недель, Me(LQ-UQ)=28,5 (27,5-30) недель и (Me (LQ-UQ)=29 (28-31) недель в I, II и III группе соответственно), что позволило провести нам корректные сравнения. Число детей, перенесших, как генерализованные, так и локальные инфекционно-воспалительные заболевания также было

сопоставимым в сравниваемых группах. Одним из исследуемых параметров было определение концентрации иммуноглобулинов сыворотки крови (Манчини, 1965), которое проводилось в первые трое суток после поступления в ОРИТН и в возрасте 6 недель жизни. Статистическая обработка осуществлялась методом квартильного анализа, а проверка значимости различий – по непараметрическому критерию Краскала-Уоллеса.

**Результаты.** Оценивая гуморальные факторы иммунитета недоношенных детей, особое внимание было уделено факторам специфической иммунной защиты – иммуноглобулинам. IgA в сыворотке крови недоношенных детей практически отсутствует не только при рождении, но и в 6 недель жизни, обнаруживаясь в следовых концентрациях. Уровень IgG был сопоставим у детей I, II и III исследуемых групп (Me (LQ-UQ)=5,8(4,5–6,9) г/л, Me (LQ-UQ)=4,8 (4,1–6,5) г/л Me(LQ-UQ)=5,7 (4,5–7,5) г/л соответственно). К 6 неделе жизни выявлена тенденция к снижению уровня IgG у детей всех исследуемых групп, в среднем до (Me (LQ-UQ)=4,5 (3,5–5) г/л, что закономерно, т.к. после рождения происходит элиминация указанных иммуноглобулинов из кровотока ребенка. Уровень IgM после рождения также сопоставим у детей исследуемых групп, составляя в среднем (Me (LQ-UQ)=0,2(0–0,4) г/л. Отмечено достоверное увеличение количества IgM к шестой неделе жизни у детей III группы ((Me (LQ-UQ)=0,6 (0,3 – 1,1) г/л) и только тенденция к его увеличению у детей других групп. Выявленные изменения связаны с активацией собственного синтеза данного класса Ig. Не выявлено значимых отличий в уровне и динамике IgE в сравниваемых группах (среднее количество (Me(LQ-UQ)=3(0–8) г/л.

**Выводы.** Большинство анализируемых параметров были сопоставимы у детей, имеющих разные патоморфологические изменения в ЦНС. Следовательно, иммунологические составляющие гипоксии, как основного фактора, вызывающего дистрофию и дегенерацию нейронов, однотипны и развиваются в рамках основного патофизиологического ответа на гипоксию, а выявленные изменения характеризуют прежде всего незрелость иммунной системы недоношенного ребенка.

### **ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С СОЧЕТАННОЙ ПАТОЛОГИЕЙ – С ТЯЖЕЛЫМИ ПЕРИНАТАЛЬНЫМИ ПОРАЖЕНИЯМИ ЦНС И С ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ**

**Беликова М.Э., Чаша Т.В., Сотникова Н.Ю., Турова А.В., Кудряшова А.В., Ларионова А.В.**

*Федеральное государственное учреждение «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н.Городкова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Россия*

Тяжелые перинатальные поражения ЦНС – одна из ведущих причин неонатальной смертности и инвалидизации детей. В большинстве случаев у новорожденных с тяжелыми перинатальными поражениями ЦНС гипоксически-ишемической этиологии отмечается присоединение инфекционно-воспалительных заболеваний. Для подбора адекватного лечения таких детей необходимо знать особенности иммунного статуса.

Мы поставили перед собой цель исследовать экспрессию маркеров активации иммунокомпетентных клеток, а также спонтанного и стимулированного синтеза цитокинов иммунокомпетентными клетками у новорожденных с тяжелыми перинатальными поражениями ЦНС и с инфекционно-воспалительными заболеваниями.

Для реализации поставленной цели было обследовано 19 доношенных новорожденных (основная группа), находящихся на лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии на 5-7 день жизни. Критерием включения в исследование было наличие тяжелого перинатального поражения ЦНС гипоксически-ишемического генеза. Группу сравнения составили 36 новорожденных, без перинатальных поражений ЦНС и без инфекционно-воспалительных заболеваний на момент обследования. Из исследования были исключены дети с врожденными пороками развития, недоношенные.

В периферической крови определяли содержание популяций иммунокомпетентных клеток (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup> лимфоцитов), а также нейтрофилов и макрофагов и экспрессии ими активационных маркеров (CD25<sup>+</sup>, HLADR<sup>+</sup>, CD11b<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>) методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител. Содержание цитокинов (IL-1, IL-4, IL-8, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) в супернатантах 24-часовых культур лейкоцитов определяли методом иммуоферментного анализа.

У всех детей основной группы имели место инфекционно-воспалительные заболевания, протекавшие преимущественно в тяжелой форме (пневмония – 89,5%, в том числе, врожденная – 52,9%, неонатальная – 47,1%; пиелонефрит – 21,1%, системные формы кандидоза – 21,1%, язвенно-некротический энтероколит – 36,9%). У 1 ребенка (5,3%) пневмония сочеталась с гнойным менингитом. Также были диагностированы: инфекция мочевыводящих путей (10,5%), омфалит (21,1%), дакриоцистит (5,3%), гнойный конъюнктивит (5,3%), везикулопустулез (15,8%), ринит (21,1%), отит (10,5%).

При анализе иммунологических параметров у детей основной группы на фоне снижения показателей Т-клеточного иммунитета (снижение относительного содержания CD3<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup> лимфоцитов;  $p < 0,05$  в обоих случаях) отмечалось увеличение содержания В-лимфоцитов ( $p < 0,05$ ). Исследование параметров активации иммунокомпетентных клеток крови в этой группе выявило повышение количества лимфоцитов, экспрессирующих маркер ранней активации CD25<sup>+</sup>, снижение экспрессии маркеров поздней активации цитотоксическими лимфоцитами CD8<sup>+</sup>/HLADR<sup>+</sup>, повышение содержания активированных В-лимфоцитов CD20<sup>+</sup>/HLADR<sup>+</sup>, снижение готовых к апоптозу Т-хелперов CD4<sup>+</sup>/95<sup>+</sup> ( $p < 0,05$  во всех случаях), значительное повышение адгезионных свойств лимфоцитов CD11b<sup>+</sup> ( $p < 0,05$ ), особенно естественных киллеров CD16<sup>+</sup>/11b<sup>+</sup> ( $p < 0,01$ ). Исследование параметров А-звена иммунитета показало, что у новорожденных основной группы нарушения характеризовались достоверно значимым снижением функциональной активности нейтрофилов, проявляющимся снижением НСТ-активности полиморноядерных лейкоцитов ( $p < 0,05$ ) и экспрессии на них поздних активационных маркеров (Hf HLADR<sup>+</sup>). Число CD16-позитивных моноцитов было достоверно ниже при тяжелых перинатальных поражениях ЦНС по сравнению с аналогичными показателями в группе сравнения ( $p < 0,02$ ). Были выявлены достоверные изменения содержания цитокинов в периферической крови у детей основной группы: повышение сывороточного IL-1 ( $p < 0,05$ ),

IL-4 ( $p < 0,02$ ), а также снижение сывороточного IFN $\gamma$ , индуцированного синтеза TNF $\alpha$ , спонтанного синтеза IL-8 ( $p < 0,05$  во всех случаях). Эти особенности иммунного ответа у новорожденных с тяжелой перинатальной патологией ЦНС объясняются, на наш взгляд, наличием тяжелых форм инфекционно-воспалительной патологии.

Выполненные нами исследования показали значительные отклонения параметров иммунного статуса у новорожденных с сочетанной патологией – тяжелыми перинатальными поражениями ЦНС и с инфекционно-воспалительными заболеваниями от аналогичных показателей у относительно здоровых новорожденных детей. Выявленные особенности иммунного ответа должны быть учтены при назначении иммунокорректирующей терапии. Предметом последующих исследовательских работ в этом направлении должно стать изучение влияния препаратов, применяемых в неонатологии на иммунный ответ детей с тяжелыми перинатальными поражениями ЦНС.

### **ИЗМЕНЕНИЯ ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У ЖЕНЩИН В ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНЫЙ ПЕРИОД**

**Богатова И.К., Сотникова Н.Ю., Астраух Н.В., Шныркова М.А.**

*ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени В.Н.Городкова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Иваново, Россия*

Известно, что половые стероидные гормоны оказывают выраженное влияние на иммунную систему женщины, поэтому изменения гормонального фона в постменопаузальном периоде ведет к значительным иммунологическим изменениям. По данным литературы в этот возрастной период резко повышается риск развития аутоиммунной патологии. Однако исследования, посвященные изучению состояния иммунной системы у женщин в постменопаузу немногочисленны и достаточно противоречивы. В связи с этим, целью нашего исследования было выявить особенности активации и функционального состояния клеток, опосредующих развитие реакций гуморального звена иммунитета у женщин в постменопаузальном периоде.

**Материалом для исследования** служила периферическая венозная кровь женщин постменопаузального периода. В качестве контроля использовали аналогичные показатели здоровых женщин фертильного возраста. Обогащенную фракцию лимфоцитов периферической крови получали стандартным методом скоростного центрифугирования в градиенте плотности фиколл-верографина. Экспрессию активационных маркеров в популяции Т- и В-лимфоцитов и уровень внутриклеточного синтеза цитокинов, опосредующих активацию В-лимфоцитов (IL-4, IL-6) определяли с помощью моноклональных антител (CALTAG Laboratories, USA) методом проточной цитофлюориметрии на приборе FACScan фирмы («Becton Dickinson», USA). При определении внутриклеточного синтеза цитокинов проводили дополнительную процедуру пермеабиллизации клеточной мембраны с помощью набора FIX & PERM (CALTAG Laboratories, USA). Сывороточное содержание иммуноглобулинов основных классов определяли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини. Анализ данных показал, что показатели гуморального звена иммунитета характеризовались значительными изменениями у женщин постменопаузального периода по сравнению с таковыми у здоровых женщин фертиль-

ного возраста. Так, в периферической крови женщин постменопаузального периода содержание клеток с фенотипом CD19<sup>+</sup> было выше, чем у женщин фертильного возраста. Для женщин данной клинической группы наблюдения было характерно достоверное повышение экспрессии на поверхности В-лимфоцитов активационных маркеров, таких как CD25 молекулы и HLA-DR-антигены. Об активации реакций гуморального звена иммунитета у женщин в постменопаузальный период свидетельствовало также выявленное нами увеличение содержания сывороточных IgG и IgA по сравнению с аналогичными показателями в группе здоровых женщин фертильного возраста. Кроме этого, усиление активации В-лимфоцитов у женщин постменопаузального периода по сравнению с показателями контрольной группы сопровождалось достоверным повышением внутриклеточного синтеза IL-4 в популяции CD4<sup>+</sup> периферических лимфоцитов. Следует отметить, что изменений во внутриклеточной продукции IL-6 лимфоцитами периферической крови женщин в постменопаузу нами выявлено не было. Таким образом, у женщин постменопаузального периода наблюдается выраженное усиление активации В-лимфоцитов с повышением продукции ими иммуноглобулинов. Возможно, это связано с усилением процессов дифференцировки Th в сторону Th2-го типа, о чем свидетельствует возрастание уровня Т-хелперов с фенотипом CD4<sup>+</sup>IL-4<sup>+</sup>. Выявленные нами изменения параметров активации и функционального состояния В-лимфоцитов у женщин постменопаузального возраста могут обуславливать развитие аутоиммунной патологии в этом возрастном периоде.

### **ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕВУШЕК-ПОДРОСТКОВ В РАЗЛИЧНЫЕ СРОКИ ГЕСТАЦИИ**

**Богатова И.К., Астраух Н.В., Сотникова Н.Ю., Глухова В.Н., Беляева Н.В.**

*ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н.Городкова федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Иваново, Россия*

Ускорение физического и полового развития подростков, наряду с недостаточной психологической и социальной зрелостью большинства из них, обуславливают особенности их репродуктивного поведения. Состояние иммунитета у подростков имеет свои особенности, так как этот возрастной период характеризуется резкими изменениями гормонального фона, сопровождающим половое созревание. Известно, что наступление беременности вызывает значительные изменения в иммунной системе женщины, однако характер иммунореагирования при беременности в подростковом возрасте изучен недостаточно. В связи с этим, целью нашего исследования было выявить направленность изменения параметров активации лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови у беременных подростков в динамике гестационного процесса.

**Материалом для исследования** служила периферическая венозная кровь девушек-подростков со сроком гестации 5-6, 7-8, 9-10, 11-12 и 20-22 недели. В качестве контроля использовали аналогичные показатели здоровых небеременных подростков. Обогащенную фракцию лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови получали стандартным методом скоростного центрифугирования в двой-



ном градиенте плотности ( $d=1,078$  и  $d=1,114$ ) фикокол-верографина. Уровень экспрессии активационных молекул на поверхности лимфоцитов определяли с помощью моноклональных антител («МедБиоСпектр», Москва) методом проточной цитофлуориметрии (FACSscan фирмы «Becton Dickinson», USA). Для исследования использовались следующие моноклональные антитела: CD25, CD95, CD11b и HLA-DR, конъюгированные с FITC. Бактерицидную активность нейтрофилов оценивали в реакции спонтанного и стимулированного зимозаном НСТ-тесте с определением относительного количества НСТ-позитивных клеток. Нами было установлено, что в 5-6 недель гестации в периферической крови подростков значительно увеличилось количество CD25<sup>+</sup> лимфоцитов, которое оставалось стабильно высоким до 20-22 недели беременности по сравнению с таковым у небеременных подростков. Начиная с 7-8 недель гестации, было выявлено значительное снижение уровня периферических CD95<sup>+</sup> лимфоцитов, которое наблюдалось на протяжении всего 1-го триместра. При этом в 20-22 недели беременности количество лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности Fas молекулы, возрастало, однако не достигало уровня, характерного для небеременных подростков. В течение 1-го триместра гестации количество периферических CD11b<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>+</sup> лимфоцитов не отличалось от показателей здоровых небеременных подростков, однако в 20-22 недели беременности уровень экспрессии HLA-DR AG на поверхности периферических лимфоцитов существенно возрастал. Было выявлено, что во все периоды гестационного процесса уровень спонтанной НСТ-активности периферических нейтрофилов не отличался от аналогичного показателя в контрольной группе. Одновременно нами наблюдалось достоверное снижение количества НСТ-позитивных нейтрофилов в индуцированном зимозаном НСТ-тесте у беременных подростков по сравнению с данными контроля, причем, выраженность этого снижения коррелировала со сроком беременности. Таким образом, усиление процессов активации лимфоцитов периферической крови беременных подростков, как на ранних, так и на поздних ее этапах в течение гестационного периода сопровождается рядом негативных моментов. Так, снижение уровня экспрессии Fas AG периферическими лимфоцитами в 1-ом триместре беременности может свидетельствовать о снижении готовности лимфоцитов к вступлению в апоптоз, что в свою очередь может приводить к нарушению регуляции иммунного ответа и накоплению в кровотоке аутореактивных клеток. Кроме этого, выявленное нами снижение функциональной активности нейтрофилов позволяет говорить о высоком риске развития инфекционных заболеваний при беременности в данном возрастном периоде.

#### **ВЛИЯНИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ГОРМОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ НА АПОПТОЗ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ В ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ**

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

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

В период менопаузы происходит постепенное снижение и «выключение» гормональной функции яичников, поэтому значительные гормональные перестройки

в климактерическом периоде оказывают влияние и на процесс апоптоза. Однако литературные данные, касающиеся вопросов иммунного апоптоза у женщин постменопаузального периода немногочисленны. Практически отсутствуют работы, посвященные изучению влияния заместительной гормональной терапии на характер Fas-зависимого апоптоза клеток иммунной системы. В связи с этим целью нашего исследования было установить закономерности изменения апоптоза клеток иммунной системы и оценить характер экспрессии Fas и FasL молекул на их поверхности у женщин в постменопаузальном периоде, а также оценить характер влияния заместительной гормональной терапии на параметры апоптоза лимфоцитов и моноцитов периферической крови. Было проведено иммунологическое обследование 15 здоровых женщин фертильного возраста (20-35 лет) и 20 женщин климактерического периода. Женщины постменопаузального возраста были обследованы дважды, в динамике до и после лечения эстрогенгестаген содержащим препаратом «Климодиен» (Schering AG, Germany).

**Материалом для исследования** служила периферическая венозная кровь. Уровень экспрессии CD95, CD95L молекул на поверхности лимфоцитов и моноцитов определяли с помощью моноклональных антител (Caltag, USA) методом проточной цитофлуориметрии. Количество клеток, вступивших в апоптоз, определяли в аннексиновом тесте с использованием Аннексина V и пропидиума иодида (Pi). В результате проведенного исследования нами было установлено, что у женщин в постменопаузальном периоде в периферической крови снижалось общее количество Annexin<sup>+</sup> лимфоцитов, в том числе лимфоцитов, находящихся на ранних/обратимых стадиях апоптоза, по сравнению с аналогичными показателями женщин фертильного возраста. При этом достоверно увеличивался уровень экспрессии CD95 молекул на поверхности периферических лимфоцитов, тогда как содержание CD95L-позитивных лимфоцитов не изменялось. Количество апоптирующих моноцитов в периферической крови женщин менопаузального периода характеризовалось снижением общего количества клеток как на ранних/обратимых стадиях апоптоза, так и на поздних/необратимых стадиях. Кроме того, на поверхности моноцитов крови женщин постменопаузального возраста была достоверно снижена экспрессия FasL молекул. Заместительная гормональная терапия (ЗГТ) Климодиеном оказывала выраженное влияние на апоптоз иммунокомпетентных клеток периферической крови женщин постменопаузального периода. Так, после курса ЗГТ увеличивалось общее количество лимфоцитов, вступивших в апоптоз преимущественно за счет числа клеток, находящихся на ранних/обратимых стадиях, а также отмечалось достоверное увеличение количества CD95L-позитивных лимфоцитов. Периферические моноциты женщин, прошедших курс ЗГТ, характеризовались усилением экспрессии FasL-молекул. Количество апоптирующих моноцитов в периферической крови женщин данной клинической группы наблюдения было снижено за счет достоверного уменьшения клеток, находящихся на поздних/необратимых стадиях. Таким образом, наступление климактерического периода сопровождается угнетением апоптоза иммунокомпетентных клеток на системном уровне, которое, вероятно, связано с перестройкой гормонального фона женщины. Заслуживает внимания тот факт, что наблюдаемое нами снижение апоптоза лимфоцитов не было обусловлено повышением готовности к апоптозу, определяемой по уровню мембранной экспрессии

Fas молекул. Складывается впечатление, что угнетение апоптоза иммунокомпетентных клеток женщин постменопаузального периода связано не только с Fas/FasL системой, а может быть обусловлено включением и других путей регуляции апоптоза, таких, например, как перфорин-гранзимовый путь, белки семейства Bcl, рецепторы семейства TNFR. Применение заместительной гормональной терапии усиливало апоптоз лимфоцитов, приводя этот показатель к уровню, характерному для женщин фертильного возраста. Параллельно у женщин, прошедших курс лечения стероидными гормонами, повышалась готовность клеток к вступлению в апоптоз через Fas молекулы. Вероятно, стимулирующее апоптоз действие Климодиена реализуется через Fas/FasL систему.

### **МАРКЕРЫ АУТОИММУННОГО ПРОЦЕССА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ МАЛЫХ АНОМАЛИЙ РАЗВИТИЯ СЕРДЦА У ПЛОДА**

**Вторушина В.В., Павлова Н.Н., Сотникова Н.Ю., Горожанина Т.З.**

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

Среди патологии сердечно-сосудистой системы у детей до 33% составляют малые аномалии развития сердца (МАРС) - анатомические врожденные изменения сердца и магистральных сосудов, не приводящие к грубым нарушениям функций сердечно-сосудистой системы. Наиболее часто наблюдают: аномально расположенные хорды; пролапсы митрального и трикуспидального клапанов; открытое овальное окно; длинный евстахийев клапан; аневризму межпредсердной перегородки. МАРС - генетически детерминированная патология, в формировании которой играют роль врожденные онтогенетические нарушения метаболизма компонентов соединительной ткани сердца – коллагена, эластина и др. Структурный дефект экстрацеллюлярного матрикса соединительной ткани обуславливает снижение ее стабильности, устойчивости и прочности. Согласно литературным данным предполагается существование взаимосвязи МАРС с аутоиммунными процессами, которые оказывают влияние на формирование данной патологии, а также усугубляют ее течение. Данная проблема остается актуальной из-за высокой частоты встречаемости этой патологии в популяции, а также из-за риска развития таких осложнений, как инфекционный эндокардит, легочная гипертензия, нарушения ритма сердца, тромбэмболии и др.

В связи с этим, целью нашей работы было оценить в сыворотке периферической венозной крови женщин в III триместре беременности и их новорожденных детей с МАРС содержание антител к коллагену и эластину.

Нами было обследовано 25 беременных женщин и их доношенных новорожденных детей с МАРС (основная группа) и 10 беременных женщин и их новорожденных детей без МАРС (группа сравнения). Диагноз МАРС ставился на основании эхокардиографического исследования сердца плода в III триместре беременности и подтверждался в 1-2 сутки жизни ребенка. В группе новорожденных с МАРС аномально расположенные хорды наблюдались у 78,6% детей, длинный евстахийев клапан (заслонка) - в 21,4% случаев, открытое овальное окно – в 14,3%, аневризмы межпредсердной перегородки - в 7,1%, пролапс митрального клапана – в 3,6%. У матерей обеих исследуемых групп МАРС определялись приблизительно с одинаковой

частотой (8,3% в группе сравнения и 14,3% в основной группе,  $p > 0,05$ ). Определение содержания антител к коллагену и эластину в сыворотке периферической венозной крови проводилось в 36-40 недель беременности у женщин и на 4-5 сутки у детей методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) на микропланшетном ридере «Мультискан» («Labsystems», Финляндия) с использованием тест-систем (ООО «Навина», г. Москва, Россия).

Проведенный сравнительный анализ данных показал, что в группе матерей и новорожденных с МАРС наблюдалось достоверное увеличение содержания в сыворотке крови антител к коллагену и эластину ( $p < 0,05$  во всех случаях) по сравнению с показателями группы беременных женщин и детей без МАРС. Наличие антител к коллагену и эластину отражает наличие процессов аутоиммунного повреждения, ведущее в свою очередь к нарушению процессов депозиции коллагена в интерстиции соединительной ткани сердца, что в конечном итоге, скорее всего, играет роль в процессе формирования МАРС. Обнаружение более высокого содержания в крови антител к коллагену и эластину не имеет диагностической значимости, но указывает на более серьезный прогноз и возможность развития осложнений.

### **НЕКОТОРЫЕ ПАРАМЕТРЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ДЕВУШЕК С ЯИЧНИКОВОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ**

**Гафарова Д.Х.**

*Институт Усовершенствования врачей МЗ РУз, Ташкент, Узбекистан*

В структуре гинекологической заболеваемости девушек и девочек нарушения овариального менструального цикла занимают одно из ведущих мест (от 43% до 90%), причем более чем у каждой второй заболевшей приобретаются черты тяжелого недуга с потерей трудоспособности и социальной адаптации. Общим признаком яичниковой недостаточности является снижение уровня эстрогенов и нарушение циклической выработки их. Как известно, менструальный цикл включает в себя изменения не только репродуктивной, но и других систем организма, в том числе иммунной. Последнее обусловлено, во-первых, участием компонентов иммунной системы в регуляции менструального цикла в яичниках и органах-мишенях, во-вторых, наличием тесных двухсторонних взаимосвязей иммунной системы с нейроэндокринной.

В связи с вышесказанным **целью** данного исследования явилось изучение состояния иммунной системы у девушек с яичниковой недостаточностью.

**Материалы и методы.** Иммунный статус изучался по данным обследования 132 девушек с задержкой полового и физического развития в возрасте 15-17 лет. Контрольную группу составили 35 практически здоровых девушек. Иммунологические исследования проводились изучением количественного определения лимфоцитов с фенотипом CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, HLA-DR, CD95 в периферической крови с МАТ серии LT (Ин-т иммунологии, ТОО «Сорбент», Москва, Россия), уровень иммуноглобулинов определяли по Manchini, фагоцитоз определяли с использованием латексных частиц.

**Результаты.** Особенностью иммунологической характеристики обследованных девушек было низкое содержание в периферической крови CD3<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>-клеток, что характеризует адекватность реакции иммунной системы развивающемуся патологическому процессу. Коли-

чество CD16<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup> - лимфоцитов было достоверно выше ( $P < 0,01$ ). Количество лимфоцитов ранней активации с фенотипом CD25<sup>+</sup>, и лимфоцитов поздней активации HLA-DR<sup>+</sup> клеток и лимфоцитов, экспрессирующих антиген апоптоза - CD95<sup>+</sup>-клетки показало их повышение по сравнению с контрольной группой ( $P < 0,05$ ).

В сыворотке крови девушек с отставанием развития уровень IgG, IgA и IgM был снижен ( $P < 0,01$ ). Широко распространена функциональная недостаточность фагоцитов - в 1,2 раза ниже значений контрольной группы ( $P < 0,05$ ). Таким образом, приведенные данные свидетельствуют об изменениях изученных параметров иммунной системы девушек, которые нельзя недооценить, когда речь идет о физическом и половом развитии и, которое является основой формирования репродуктивного здоровья женщины

### ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ IL-6, IL-1 И РЕЦЕПТОРНОГО АНТАГОНИСТА IL-1: АССОЦИАЦИЯ С ДЫХАТЕЛЬНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ У НОВОРОЖДЕННЫХ

Данилко К.В.<sup>1</sup>, Богданова Р.З.<sup>2</sup>, Фатыхова А.И.<sup>2</sup>, Ахмадишина Л.З.<sup>1</sup>, Викторова Т.В.<sup>1,2</sup>, Викторов В.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики Уфимского Научного Центра РАН, Уфа, Россия;

<sup>2</sup>Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

Дыхательные нарушения – чрезвычайно распространенная причина заболеваемости и смертности новорожденных. Одним из этиологических факторов, лежащих в основе патологий дыхания является недостаток или дефект сурфактанта. Подобное может быть вызвано незрелостью легочной ткани или разрушением сурфактанта избыточным количеством цитокинов. Интерлейкин (IL) 6, IL-1 и рецепторный антагонист IL-1 (IL-1RA) являются индуцибельными цитокинами, продукция которых повышена даже у здоровых новорожденных. По данным литературы полиморфные варианты генов *IL6*, *IL1B* и *IL1RN* связаны с различными патологиями.

Целью исследования являлась оценка роли полиморфных локусов генов *IL-6*, *IL-1*, *IL-1RN* в развитии синдрома дыхательных расстройств (СДР) и врожденной пневмонии (ВП) у новорожденных. Мы провели генотипирование в группах больных и здоровых новорожденных по локусам *IL6-176G/C*, *IL1B-511C/T*, *IL1B+3953C/T* и пентааллельному локусу *IL1RN*.

Для тестирования собраны образцы ДНК из венозной крови 108 новорожденных с СДР и ВП, находившихся на лечении в ОРИТН ГКБ № 17 г. Уфы. В контрольную группу вошли здоровые новорожденные, родившиеся в РД № 8 г. Уфы, ДНК которых была получена из пуповинной крови.

Исследование проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим анализом размеров рестрикционных фрагментов. Для статистического анализа данных использовали  $\chi^2$ -тест и оценку отношения шансов при помощи программ BIostat (Primer of Biostatistics v. 4.03) и Statistica v. 6.0.

Полученные данные показали, что генотип -176\*G/\*C гена *IL6* более чем в два раза реже обнаруживался в группе доношенных новорожденных с ВП (N=35), где составил 25,7%, а в контроле – 47,1% ( $\chi^2=4,09$ ,  $p=0,04$ ). Одновременно, частота генотипа -176\*C/\*C в этой группе больных

равнялась 22,9%, что значительно выше, чем в контроле – 9,6%, но различия не достигли статистической значимости ( $\chi^2=2,98$ ;  $p=0,08$ ).

Распределение частот генотипов и аллелей двух локусов гена *IL-1B* в изученных группах не различалось. Короткий же аллель *IL-1RN\*2* достоверно чаще встречался в группе с легкой формой (ЛФ) СДР (N=24), по сравнению с контролем (37,5% против 20,2%;  $\chi^2=5,58$ ;  $p=0,019$ ). Длинный аллель *IL-1RN\*4*, наоборот, оказался относительно редким в данной группе больных (56,2% против 77,9% в контроле;  $\chi^2=8,36$ ;  $p=0,005$ ), как и генотип *IL-1RN\*4/\*4* (33,3% и 61,5% соответственно;  $p=0,02$ ).

При анализе комбинаций генотипов генов *IL-1B* и *IL-1RN* мы выявили более высокий риск заболевания ЛФ СДР для носителей вариантов *IL1B-511\*C/\*C-IL1B+3953\*C/\*T* (40,9% против 15,7% в контроле;  $p=0,018$ ; OR=3,72, 95%CI=1,21-11,37;) и *IL-1RN\*4/\*2-IL1B-511\*C/\*C-IL1B+3953\*C/\*T* (13,6% против 1,9%; OR=7,97; 95%CI=0,98-74,33;  $p=0,052$ ).

Таким образом, генотип *IL6-176\*G/\*C* является прогностическим для развития ВП, а аллель *IL1RN\*4* и генотип *IL1RN\*4/\*4* – для заболевания легкой формой СДР. Рисковыми для СДР являются аллель *IL1RN\*2* и комбинация генотипов *IL1B-511\*C/\*C-IL1B+3953\*C/\*T*, что может быть обусловлено неадекватной выработкой цитокинов у новорожденных - носителей данных вариантов. Полученные данные могут быть использованы для оценки риска развития врожденной пневмонии и СДР у новорожденных.

### СОСТОЯНИЕ ИММУНИТЕТА У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ С ДИСФУНКЦИЕЙ ЯИЧНИКОВ

Дмитриева Н.В.

Челябинская государственная медицинская академия, Челябинск, Россия

В структуре нарушений менструального цикла (НМЦ) у девочек-подростков ведущее место занимает дисфункция яичников, которая характеризуется нерегулярными менструациями через год после менархе.

Все девочки с дисфункцией яичников имеют экстрагенитальную патологию, наиболее часто встречается патология щитовидной железы (диффузный нетоксический зоб, гипотиреоз).

НМЦ у девочек-подростков, особенно в сочетании с патологией щитовидной железы, являются следствием хронических иммунодефицитных состояний.

**Цель исследования:** изучить состояние иммунитета у девочек-подростков с дисфункцией яичников.

**Материалы и методы:** 120 девочкам-подросткам 14-17 лет было проведено клиническое, гормональное, ультразвуковое и иммунологическое исследования. Для гормонального анализа применялась тест-система «ДИА плюс» (г. Москва) для иммуноферментного анализа, исследовались гормоны: ФСГ, ЛГ, пролактин, тестостерон, кортизол. Иммунологическое исследование периферической крови включало в себя: определение количества и состава субпопуляции лимфоцитов методом CD-типирования (CD – 3, 4, 8, 16, 20, 95) с помощью моноклональных антител, исследование количества и функциональной активности нейтрофилов (НСТ-тест, лизосомальная и фагоцитарная активность), компонентов комплемента ( $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$ ,  $C_4$ ,  $C_5$ ), иммуноглобулинов сыворотки крови (IgA, IgM, IgG), а также изучение уровня цитокинов (IL-1, IL-8, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ) методом ИФА.

Контрольная группу составили 40 практически здоровых девочек-подростков.

**Результаты.** Девочки-подростки с дисфункцией яичников были разделены на две группы: без патологии щитовидной железы (1 группа) и с патологией щитовидной железы (2 группа). Всем девочкам с функциональными изменениями в щитовидной железе была назначена тиреоидная терапия в сочетании с препаратами йода.

По результатам исследования установлено, что иммунологические изменения присутствуют как в 1-й, так и во 2-й группе. Но наибольшие отклонения в иммунитете отмечаются у девочек-подростков с дисфункцией яичников и патологией щитовидной железы, особенно гипотиреозом. Наблюдалось угнетение Т-клеточного звена иммунитета и снижение фагоцитарной активности нейтрофилов на фоне гиперпродукции ИЛ-1, ИЛ-8. Отмечена активация В-клеточного звена иммунитета, снижение содержания компонентов комплемента.

Основным критерием эффективности проведенной терапии явилось восстановление регулярного менструального цикла в течение 3-6 месяцев.

Контрольные иммунологические исследования выявили нормализацию абсолютного и относительного числа лимфоцитов, стабилизацию фагоцитарной активности нейтрофилов, увеличение уровня иммуноглобулинов и компонентов комплемента, снижение выработки ИЛ-1.

Таким образом, у девочек-подростков с дисфункцией яичников, вне зависимости от наличия или отсутствия эндокринной патологии, наблюдаются характерные изменения иммунного статуса. Наиболее выражены нарушения иммунитета при сочетании дисфункции яичников с патологией щитовидной железы. В этой связи лечение девочек-подростков с НМЦ предпочтительно начинать с коррекции функции щитовидной железы.

#### **ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ АПОПТОГЕННЫХ ФАКТОРОВ АЛЬТЕРАЦИИ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ НОВОРОЖДЕННЫХ С РЕСПИРАТОРНЫМ ДИСТРЕСС-СИНДРОМОМ**

**Ефанова Е.А., Эстрин В.В., Яковенко Е.А.**

*ФГУ Ростовский НИИ акушерства и педиатрии, МЗ РФ, Ростов-на-Дону, Россия*

Летальность доношенных новорожденных, поступивших в реанимационное отделение по поводу респираторного дистресс-синдрома (РДС), вызванного мекониевой аспирацией остается все еще высокой, несмотря на внедрение в клиническую практику современных методов лечения и выхаживания. С целью прогнозирования исходов заболевания у таких детей было проведено исследование в крови уровней гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), интерлейкинов (ИЛ) 1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-4, фактора некроза опухолей (TNF), фактора роста фибробластов (ФРФ) растворимого FAS (sFAS) методами иммуноферментного анализа, а также количества клеток, вступивших в апоптоз (ранний и поздний) методами проточной цитометрии. В исследование вошли 40 доношенных новорожденных с респираторной патологией, вызванной мекониевой аспирацией. Все дети находились на ИВЛ, родились в сроке гестации 39 $\pm$ 2,1 недель, с массой тела 3700 $\pm$ 565 грамм, от матерей в возрасте 26 $\pm$ 7,4 лет с отягощенным акушерским анамнезом, с оценкой по Апгар 3,2 $\pm$ 1,6 баллов. Ретроспективно дети были разделены на две группы. Заболевание 24 (1 группа) детей закончилось

благоприятно, у новорожденных, составивших вторую группу (n=16) - летально. Образцы крови забирались в день поступления в отделение до назначения лекарственной терапии.

В результате анализа полученных данных было установлено, что концентрация ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8 ИЛ-4 в крови обеих групп детей достоверно не различались между собой. Концентрации G-CSF, ФРФ и sFAS у выживших детей достоверно выше (p<0,0005). Используя характерологические кривые, были найдены точки разделения (cutoff) для каждого медиатора. При cutoff 1400 пг/мл для G-CSF предсказательная ценность отрицательного результата (ПЦО) составила 86,7%, а предсказательная ценность положительного результата (ПЦП) – 92 %. Для sFAS cutoff была равна 5288 пг/мл, при этом ПЦО составила 71%, а ПЦП – 78 %. Для ФРФ с целью прогноза исходов заболевания была найдена точка cutoff равная 6,3 пг/мл. ПЦО составила 100%, а ПЦП – 99 %. То есть из всех детей, у кого ФРФ ниже 6,3 пг/мл, с достоверностью равной 100% можно прогнозировать летальный исход заболевания. С точностью в 99% для детей при поступлении, в крови которых регистрируется ФРФ выше 6,3 пг/мл можно предполагать положительный исход при равных стандартных методиках лечения. Точность анализа при данном cutoff составила 96,9%. Клеток, вступивших в апоптоз, у умерших новорожденных было достоверно больше, чем у выживших. Таким образом, у новорожденных с РДС преобладают процессы альтерации клеток иммунной системы, опосредованные естественной гибелью. У новорожденных с РДС развивается апоптогенное иммунодефицитное состояние, которое чрезвычайно опасно в плане развития гнойно-септических осложнений.

#### **РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОВ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ САЛЬПИНГОФОРИТОМ**

**Каганова М.А., Жестков А.В.**

*СамГМУ, Самара, Россия*

**Введение.** Диагностика и лечение хронических воспалительных заболеваний придатков матки относятся к числу наиболее актуальных проблем современной гинекологии, что обусловлено их высокой частотой, тяжестью клинического течения, развитием осложнений, утратой репродуктивной функции. С каждым годом возрастает необходимость поиска новых подходов к вопросу о патогенезе и объективных факторов риска хронизации воспалительного процесса. Течение и исход воспалительных заболеваний придатков матки в значительной степени зависят от состояния иммунологической реактивности организма. По данным различных авторов (Зарецкая Ю.М., 2002; Черешнев В.А., 2005) гены комплекса HLA определяют иммунологическую индивидуальность организма, направляя характер и силу иммунного ответа. Между наличием определенных антигенов HLA и некоторыми заболеваниями существует ассоциативная, статистически достоверная, но не абсолютная связь.

**Целью** настоящего исследования явился анализ ассоциаций генетических маркеров предрасположенности и реценности к развитию хронического воспаления придатков матки.

**Задачи:** изучить распределение генов гистосовместимости комплекса HLA I класса в группе здоровых доноров и больных хроническим сальпингофоритом, определить относительный риск развития заболевания у женщин с определенными генетическими маркерами.



Антигены HLA	Группа контроля (%)	Группа больных с хроническим аднекситом (%)	Относительный риск развития заболевания
A 3	20,6	41,3	2,59
23	3,2	6,52	2,1
28	8,8	19,56	2,54
36	0,8	4,35	5,68
B 40	10,0	4,35	2,85
41	2,0	8,69	4,73
48	0,4	2,17	5,54
53	1,6	4,35	2,85
73	0,8	2,17	2,76

**Материал и методы.** Для решения поставленных задач нами были сформированы группы больных хроническими воспалительными заболеваниями придатков матки (основная группа) и практически здоровых женщин (группа контроля). Всего обследовано 92 человека в основной группе и 50 из группы контроля. Определение антигенов гистосовместимости комплекса HLA I класса проводилось с помощью радиальной иммунодиффузии с использованием моноклональных антител. Силу ассоциаций между антигенами и болезнью определяли с помощью критерия относительного риска развития заболевания RR, который указывал на риск развития заболевания у носителей HLA –антигена по сравнению с индивидами, не имеющими данный антиген. Показатель относительного риска более двух считался значимым.

**Результаты.** Проведенные нами исследования позволили считать, что наличие в фенотипе антигенов HLA A3, A23, A28, B 40, B 41, B 48, B 53, B73 могут являться факторами риска развития хронических воспалительных процессов в придатках матки (таблица). Причем сочетание A28B40 встречалось в 4 случаях в основной группе и ни в одном - в контрольной. У больных с наличием в фенотипе HLA A28B40 клинические проявления заболевания были ярко выраженными (резкие боли, явления перитонита, лихорадка, значительные сдвиги лейкоформулы, интоксикация) с тенденцией к формированию гнойных тубовариальных образований и развитию синдрома системной воспалительной реакции, резистентного к стандартной терапии.

**Выводы.** Проведенные нами исследования позволяют считать, что наличие указанных аллелей может свидетельствовать о генетической детерминированности развития хронических воспалительных заболеваний придатков матки. Это дает возможность прогнозировать степень тяжести заболевания, развитие осложнений.

Таким образом, изучение распределения антигенов системы HLA может служить для ранней диагностики воспалительных заболеваний придатков матки и определения индивидуального прогноза заболевания.

#### СОДЕРЖАНИЕ ХЕМОКИНОВ И ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ БОЛЬНЫХ НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

Кондратьева П.Г.<sup>1</sup>, Соколов Д.И.,  
Селютин А.В., Ярмолинская М.И.,  
Крамарева Н.Л., Ниаури Д.А.<sup>1</sup>, Сельков С.А.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О.Отта,  
РАМН;

<sup>1</sup>СПбГУ, медицинский факультет, кафедра акушерства и гинекологии, Санкт-Петербург, Россия

Наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) сопровождается воспалительной реакцией. С целью уточнения выра-

женности воспалительного процесса при НГЭ нами исследовалось содержание хемокинов интерлейкина-8 (IL-8), RANTES, MCP-1, MIG и цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 в перитонеальной жидкости больных НГЭ. Были обследованы 22 женщины репродуктивного возраста с НГЭ, среди них I-II степень тяжести НГЭ были установлены у 11 пациентов, у 11 женщин – III-IV степень тяжести НГЭ. Семь женщин, обратившихся для проведения диагностической лапароскопии в рамках планирования беременности без признаков эндометриозной болезни, составили группу контроля. Диагноз НГЭ установлен на основании эндоскопических данных и по результатам гистологического исследования. Степень тяжести НГЭ оценивалась по классификации R-AFS. Забор перитонеальной жидкости осуществляли в процессе проведения лапароскопических операций. Продукцию хемокинов и цитокинов оценивали с помощью метода проточной цитофлуориметрии с использованием тест-систем BD Cytometric Bead Array (BD, США). Для анализа полученных данных использовали непараметрические методы статистики. Уровень RANTES в перитонеальной жидкости больных НГЭ превышал таковой в группе контроля ( $10,6 \pm 1,24$  pg/ml и  $7,6 \pm 1,07$  pg/ml соответственно) и был выше при НГЭ I-II степени тяжести по сравнению с НГЭ III-IV степени тяжести ( $12,72 \pm 1,08$  pg/ml и  $10 \pm 1,07$  pg/ml). Содержание MCP-1 в перитонеальной жидкости было выше при III-IV степени тяжести заболевания, чем при I-II степени тяжести НГЭ и в группе контроля ( $457,6 \pm 116,5$  pg/ml,  $311,7 \pm 88,6$  pg/ml и  $133,0 \pm 26,4$  pg/ml соответственно). Концентрация MIG в перитонеальной жидкости больных НГЭ была выше, чем в группе контроля ( $469,7 \pm 64,6$  pg/ml и  $342,1 \pm 61,9$  pg/ml соответственно) и коррелировала со степенью тяжести заболевания. Проведенные исследования показали, что уровни IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 в перитонеальной жидкости больных НГЭ были значительно выше по сравнению с группой контроля и коррелировали со степенью тяжести заболевания. Однако в перитонеальной жидкости больных НГЭ нами не были обнаружены TNF- $\alpha$  и IL-2. Полученные данные свидетельствуют о несомненном участии в развитии и прогрессировании НГЭ цитокинов и хемокинов, которые обеспечивают инвазию клеток эндометрия, рост эндометриозных очагов, формирование микроциркуляторного русла, индукцию процессов воспаления. Работа поддержана грантом Президента РФ № МК-2589.2005.7

#### ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В I ФАЗУ ОВУЛЯТОРНОГО МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛА У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

Корниенко Е.Б., Щеголева Л.С., Корниенко Т.Ф.

Институт физиологии природных адаптаций  
УрО РАН, Архангельск, Россия

**Введение.** Регуляция процессов репродуктивной функции в организме женщины происходит при участии



как нейроэндокринной системы, так и иммунной (Говалло В.И., 1987; Шилов, 1984; Кеворков и др., 1993; Ширшев С.В., 2002). Однако, у разных авторов данные о состоянии иммунной системы в разные фазы овуляторного цикла достаточно противоречивы.

**Цель работы:** изучить состояние иммунологической реактивности у женщин репродуктивного возраста в I фазу овуляторного менструального цикла.

**Материалы и методы.** Проведено исследование состояния иммунной системы у 96 практически здоровых женщин в возрасте 25-34 лет, жительниц города Архангельска. Забор крови проводили на 6-11 дни менструального цикла. Фенотипы лимфоцитов определяли в непрямой иммунопероксидазной реакции с моноклональными антителами.

**Результаты.** В фолликулярную фазу цикла у женщин репродуктивного возраста, проживающих на Севере, регистрируется наибольший дефицит общего количества Т-клеток (95,86%) и функционально зрелых Т-лимфоцитов (87,50%), дефицит % активных фагоцитов (16,66%), также отмечается высокий уровень лимфопролиферации - у 12,60% женщин. В этот же период регистрируются высокие концентрации цитотоксических лимфоцитов ( $0,39 \pm 0,03 \times 10^9$  кл/л), естественных киллеров ( $0,39 \pm 0,03 \times 10^9$  кл/л) и клеток, готовых к апоптозу ( $0,48 \pm 0,03 \times 10^9$  кл/л ( $p < 0,05$ )). Активация гуморального звена иммунитета происходит за счет антигенов главного комплекса гистосовместимости II класса ( $r = 0,66$ ;  $p < 0,05$ ). В I фазу менструального цикла одновременно регистрируются высокие уровни CD4<sup>+</sup> и CD25<sup>+</sup> - у 16,66% обследуемых. При корреляционном анализе выявлена сильная взаимосвязь между этими показателями ( $r = 0,73$ ;  $p < 0,05$ ). Таким образом, в фолликулярную фазу регистрируется высокая фоновая активность, в первую очередь Т-клеточного звена иммунитета.

#### **ХАРАКТЕРИСТИКА СИНТЕЗА И ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ У ЖЕНЩИН С УГРОЗОЙ НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ РАННИХ СРОКОВ**

**Крошкина Н.В., Сотникова Н.Ю., Борзова Н.Ю., Лепилова И.Б.**

*ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени В.Н.Городкова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Иваново, Россия*

Угроза невынашивания (УН) является одним из наиболее часто встречающихся осложнений беременности ранних сроков. Показано, что развитие данной акушерской патологии происходит на фоне выраженных нарушений материнского иммунного ответа, в частности, изменений в продукции различных цитокинов. В настоящее время цитокинам отводится важная роль в обеспечении развития иммунного ответа матери на антигены плода, направленного, с одной стороны, на подавление реакций отторжения семиаллогенного плода, а с другой стороны, на формирование и развитие плаценты. Однако особенности продукции цитокинов при угрозе невынашивания пока еще до конца не установлены. В связи с этим, целью нашего исследования было установить особенности цитокинового каскада на системном уровне при угрозе невынашивания беременности ранних сроков. Было проведено иммунологическое обследование беременных женщин в 7-12 недель гестации, имеющих клинические признаки угрозы невынашивания беременности. Контрольную группу составили женщины 1 триместра с неосложненным на мо-

мент обследования течением беременности. Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь. Оценивали уровень внутриклеточного синтеза регуляторных цитокинов с помощью моноклональных антител методом проточной цитометрии. Для оценки продукции цитокинов лимфоцитами периферической крови *in vitro* получали супернатанты (СН) 24-часовых нестимулированных культур периферических лейкоцитов с последующим определением в СН концентрации цитокинов методом ИФА. Кроме того, проводилось определение уровня цитокинов в сыворотке крови беременных женщин. При анализе полученных данных было установлено, что развитие угрозы невынашивания на ранних сроках гестации сопровождалось значительным усилением по сравнению с показателями контрольной группы внутриклеточного синтеза IFN $\gamma$  периферическими лимфоцитами, тогда как уровень лимфоцитов, экспрессирующих внутриклеточно IL-2, в группе женщин с УН был достоверно ниже аналогичного параметра у здоровых женщин. Характер продукции цитокинов в культуре *in vitro* в целом соответствовал выявленным нами особенностям внутриклеточного синтеза цитокинов. Так, уровень IFN $\gamma$  в СН периферических лейкоцитов женщин с УН был достоверно выше, а IL-2 – ниже таковых у женщин с неосложненным течением беременности на ранних сроках. Кроме того, нами отмечалось значительное повышение продукции TGF $\beta$ 2 периферическими лейкоцитами в группе женщин с УН. Анализ сывороточного содержания цитокинов показал, что при угрозе невынашивания возрастала концентрация IFN $\gamma$  и TGF $\beta$ 2 в периферической крови, но снижался уровень IL-2. Таким образом, изменения в продукции цитокинов у женщин с угрозой невынашивания беременности имели одинаковую направленность на различных этапах цитокинового каскада и совпадали как на уровне внутриклеточного синтеза цитокинов, так и на уровне их продукции и содержания *in vivo*. Отличительной чертой цитокинового фона при УН являлось падение выработки IL-2, сопровождающееся усилением синтеза и продукции IFN $\gamma$  и TGF $\beta$ . Известно, что TGF $\beta$ 2 является одним из основных цитокинов регуляторных Т-клеток, обеспечивающих супрессию иммунного ответа. По-видимому, усиление его синтеза может обуславливать угнетение продукции IL-2 лейкоцитами периферической крови женщин с УН. По данным ряда авторов, IL-2 выполняет важную функцию в поддержании иммунного гомеостаза при беременности, регулируя активность уникального пула децидуальных CD56<sup>bright</sup> лимфоцитов. Вероятно, падение синтеза IL-2 может быть одним из неблагоприятных факторов, обуславливающих включение механизмов досрочного прерывания беременности. С другой стороны, важную роль в развитии УН играет усиление продукции IFN $\gamma$ , обладающего выраженным абортивным эффектом. Высокий уровень выработки IFN $\gamma$  может служить триггерным фактором для формирования воспалительных реакций, отмечаемых при угрозе невынашивания беременности как на системном уровне, так и в плаценте.

#### **МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ АУТОИММУННЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ СИНДРОМЕ ЗАДЕРЖКИ РАЗВИТИЯ ПЛОДА**

**Кудряшова А.В., Сотникова Н.Ю.**

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

По данным ряда авторов синдром задержки развития плода (СЗРП) сопровождается патологическими измене-

ниями в плаценте, свидетельствующими о развитии аутоиммунного процесса, при этом в периферической крови матери выявляются антитела к нативной ДНК, к кардиолипину, фосфатидилэтаноламину и  $\beta$ 2-гликопротеину. В связи с этим, исследование механизмов развития аутоиммунных реакций при СЗРП представляет несомненный интерес.

Нами было проведено исследование иммунологических параметров, характеризующих развитие аутоиммунного процесса в периферической крови женщин в динамике беременности, в лейкоцитарном инфильтрате децидуальной оболочки плаценты и в экстрактах децидуальной ткани. Исследования проводились в группах с СЗРП и без СЗРП при беременности не осложнившейся угрозой невынашивания и гестозом. Это позволяет утверждать, что выявленные изменения параметров иммунного статуса характеризуют не развитие сопутствующей акушерской патологии, а только формирование СЗРП.

Проведенные исследования показали, что в отличие от группы с неосложненным развитием плода в группе с СЗРП в 1 триместре беременности в периферической крови возрастало содержание  $CD20^+CD5^+$  лимфоцитов, а в экстрактах децидуальной ткани зрелой плаценты выявлялись антифосфолипидные АТ. Наряду с этим и в плаценте, и в периферической крови при СЗРП повышалось содержание В-лимфоцитов, а в сыворотке периферической крови отмечался стабильно повышенный уровень IgM. Известно, что поликлональную активацию В-лимфоцитов и развитие аутоиммунных реакций может индуцировать ИЛ-6. По нашим данным при СЗРП в 1 триместре беременности в периферической крови росло содержание ИЛ-6<sup>+</sup> моноцитов. В поздние сроки гестации при СЗРП усиливалась экспрессия мРНК ИЛ-6 периферическими и децидуальными лимфоцитами и моноцитами/макрофагами, а также спонтанная секреция ИЛ-6 периферическими лимфоцитами и децидуальными мононуклеарными клетками, возрастал уровень  $CD4^+IL-6^+$  клеток в децидуальной оболочке плаценты. Активация  $CD4^+IL-6^+$  Т-хелперов и стимуляция клеток бактериальными ЛПС могут вызывать нарушение процесса переключения синтеза IgM на IgG. По данным наших исследований в поздние сроки гестации и в периферической крови, и в плацентах группы СЗРП снижалось содержание  $CD3^+CD40L^+$  лимфоцитов, ответственных за переключение синтеза иммуноглобулинов, а в сыворотке периферической крови возрастала частота высоких титров IgG антител к *Chl. trachomatis* и *M. hominis*. Известно, что представители класса *Mollicutes* способны вступать в межмембранное взаимодействие с клетками хозяина и нарушать процесс распознавания АГ, индуцируя выработку аутоантител против собственных тканей и клеток. Особый интерес, представляет отмеченное нами при СЗРП снижение содержания  $CD3^+TCR\gamma\delta^+$  клеток в децидуальной оболочке плаценты. По нашим данным, при неосложненном развитии плода в децидуальной оболочке плаценты 44% Т-лимфоцитов экспрессировали TCR $\gamma\delta$  типа, а при СЗРП данная популяция была представлена лишь 20% клеток. Известно, что при физиологической беременности в интерфазе мать-плод значительная часть популяции Т-лимфоцитов представлена  $CD3^+TCR\gamma\delta^+$  клетками, способными связывать непротессированные суперантигены, особенно инфекционного происхождения, и распознавать эндогенные тканеспецифические пептиды, появляющиеся при деструктивных процессах. По-видимому, при СЗРП увеличивается пул клеток, реагирующих только на протессированный антиген,

и уменьшается пул клеток, способных воспрепятствовать развитию инфекционного и аутоиммунного ответа.

Таким образом, повышение содержания периферических В1 клеток и наличие в децидуальной ткани зрелой плаценты антифосфолипидных антител свидетельствуют о развитии аутоиммунных реакций при СЗРП, начиная с самых ранних сроков гестации с локализацией процесса в интерфазе мать-плод. Факторами, инициирующими и поддерживающими данный процесс, являются: инфицирование урогенитального тракта представителями класса *Mollicutes*, усиление синтеза и секреции мононуклеарными клетками периферической крови и децидуальной оболочки плаценты ИЛ-6, нарушение механизмов переключения синтеза иммуноглобулинов и снижение уровня децидуальных TCR $\gamma\delta^+$  Т-лимфоцитов.

### **ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ У БЕРЕМЕННЫХ С ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ И ИНФЕКЦИЕЙ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ПЕРИНАТАЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ ЦНС НОВОРОЖДЕННОГО**

Левкович М.А.

НИИ акушерства и педиатрии МЗ РФ,  
г. Ростов-на-Дону, Россия

Наиболее частой причиной развития перинатального поражения ЦНС является хроническая фетоплацентарная недостаточность (ФПН). В последние годы появились сообщения о роли цитокинов в развитие воспалительных процессов при персистирующей урогенитальной инфекции, важность которой в генезе развития ФПН доказана.

Несмотря на большое количество исследований, остаются нерешенными вопросы определения степени риска перинатального поражения ЦНС у беременных с признаками ФПН и урогенитальной инфекцией

Целью данного исследования являлось выявление взаимосвязи между уровнем неоптерина и TNF $\alpha$  в околоплодных водах у женщин при ФПН и урогенитальной инфекции и риском неврологических нарушений у их новорожденных.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находились 50 беременных женщин в сроке беременности 32-38 недель гестации с наличием ФПН и маркерами урогенитальной инфекции.

Ретроспективно в зависимости от исхода беременности женщины были разделены на 2 группы. 1 группа - новорожденные которых имели клинические проявления перинатального поражения ЦНС и 2 группа - новорожденные без клинических проявлений перинатального поражения ЦНС.

Определение видовой и количественной идентификации возбудителей проводилось беременным на основании вирусологического и микробиологического обследования. Проводилась реакция амплификации специфических фрагментов ДНК возбудителей *Herpes virus*, *Cytomegalovirus*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*. Сыворотка крови исследовалась на специфические антитела к данным патогенам. В околоплодных водах, взятых путем амниоцентеза или в родах, методом иммуноферментного анализа проводилось определение уровня неоптерина и TNF $\alpha$  (диагностические наборы IBL - Германия и «Протеиновый контур» - Санкт-Петербург, соответственно).

Была выявлена зависимость между уровнем неоптерина и TNF $\alpha$  в околоплодных водах и риском перинатального поражения ЦНС.

В результате проведенного статистического анализа с использованием критерия Mann-Whitny в среде пакета прикладных программ Statistika 6 было установлено, что имеется обоснованное статистическое отличие в группах беременных с различными перинатальными исходами показателей в околоплодных водах TNF $\alpha$  с достоверностью  $P=0,000003$  и неоптерина с достоверностью  $0,000021$ . Этот результат послужил основанием для разработки прогностического правила формирования групп риска развития гипоксически-ишемического поражения ЦНС. При значении неоптерина в околоплодных водах выше  $17,3 \pm 1,6$  нг/мл и TNF $\alpha$  выше  $88,1 \pm 7,9$  нг/мл прогнозируется перинатальное гипоксически-ишемическое поражение ЦНС новорожденного (приоритетная справка N 2005124792 от 4.08.05 г.)

В нашей работе у 33 беременных уровень неоптерина и уровень TNF $\alpha$  в околоплодных водах был выше указанных, что свидетельствовало о риске развития гипоксически-ишемического поражения ЦНС у новорожденных, что было подтверждено в процессе дальнейшего клинико-лабораторного наблюдения. У 17 беременных данные показатели были ниже и у новорожденных, родившихся от них, поражения ЦНС не выявлено.

На наш взгляд, с одной стороны, микробная инвазия активизирует синтез провоспалительных цитокинов клетками амниона, хориона, децидуальной и плодовой ткани, что приводит к нарушению системы гемостаза, дисфункции эндотелиальных клеток плаценты, внутриутробному страданию плода. Кроме того, повышенный уровень провоспалительных цитокинов в среде, окружающей эмбрион, может иметь существенное воздействие на развивающийся мозг, приводя к нарушению проницаемости гематоэнцефалического барьера и появлению неврологической симптоматики в раннем периоде новорожденности.

Таким образом, оценка уровня неоптерина и TNF $\alpha$  в околоплодных водах дает возможность использовать этот метод у беременных из группы высокого инфекционного риска для прогноза церебральных нарушений у их новорожденных с целью раннего назначения адекватной терапии, что позволит снизить частоту неврологических расстройств и инвалидизирующих состояний у детей раннего возраста.

### **ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ ЛИМФОЦИТОВ И МАКРОФАГОВ ЭНДОМЕТРИЯ У ЖЕНЩИН С МИОМОЙ МАТКИ РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПОВ РОСТА**

**Мальшикина А.И., Посисеева Л.В., Сотникова Н.Ю., Соснина А.Е., Бойко О.М., Анциферова Ю.С.**

*ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н.Городкова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Иваново, Россия*

Установлено, что развитие миомы матки ассоциировано со значительными иммунными нарушениями как на системном, так и на локальном уровне, при этом, особое значение в усилении процессов роста миомы имеют изменения в продукции цитокинов и факторов роста, происходящие непосредственно в миоматозном узле и прилегающем к нему миометрии. Однако остается пока не изученным характер продукции цитокинов в эндометрии женщин с миомой матки, нет данных о связи между цитокиновым фоном в эндометрии и темпом роста миомы матки.

**Целью** нашего исследования было установить особенности внутриклеточного синтеза ряда регуляторных и провоспалительных цитокинов лимфоцитами и макрофагами эндометрия женщин с миомой матки стабильно малых размеров и с быстрорастущей миомой матки для уточнения роли локальных иммунных факторов в механизмах быстрого темпа роста опухоли.

**Материалом для исследования** служили биоптаты эндометрия, полученные при раздельном диагностическом выскабливании у женщин с быстрорастущей миомой с общими размерами матки 12 недель и более, и у женщин с миомой матки стабильно малых (менее 12 недель) размеров. Показатели здоровых женщин фертильного возраста использовались в качестве контроля. Обогащенную популяцию мононуклеарных клеток выделяли из ткани эндометрия механическим безферментативным методом с последующим центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографина. Внутриклеточную экспрессию цитокинов лимфоцитами и макрофагами оценивали с помощью моноклональных антител (CALTAG Laboratories, USA) методом проточной цитометрии. Для проведения внутриклеточного окрашивания дополнительно проводили процедуру пермеабиллизации клеточной мембраны с помощью коммерческого набора FIX & PERM (CALTAG Laboratories, USA). Было установлено, что внутриклеточный синтез IL-4 и IFN $\gamma$  в общей популяции эндометриальных лимфоцитов и в популяции Т-хелперов в группе женщин с миомой матки стабильно малых размеров не имел статистически достоверных отличий от аналогичных показателей контрольной группы. Развитие быстрого роста миомы матки происходило на фоне значительного повышения содержания в эндометрии уровня IFN $\gamma^+$  клеток как в общей популяции лимфоцитов, так и в популяции CD4 $^+$  клеток. Кроме того, характерной чертой эндометриальных лимфоцитов данной клинической группы наблюдения было увеличение пула клеток с фенотипом CD4 $^+$ IL-10 $^+$ . При анализе особенностей внутриклеточного синтеза цитокинов эндометриальными макрофагами было установлено, что в эндометрии женщин с миомой матки стабильно малых размеров внутриклеточный синтез макрофагами провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-12 и IFN $\gamma$  был достоверно снижен по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе, тогда как уровень IL-10 $^+$  макрофагов был выше аналогичных значений у здоровых женщин. Характер продукции макрофагальных цитокинов при быстром темпе роста миомы матки был другим. Так, быстрый темп роста опухоли ассоциировался со значительным усилением внутриклеточного синтеза IL-1 $\beta$ , IL-12 и IFN $\gamma$  эндометриальными макрофагами. Следует особо отметить, что у женщин с быстрорастущей миомой матки было резко повышено содержание фагоцитов с внутриклеточной экспрессией IL-10 как по сравнению с показателями контрольной группы, так и по сравнению с данным параметром у женщин с миомой матки стабильно малых размеров. Как известно, этот цитокин обладает иммуносупрессорным действием. Показано, что усиление его продукции может вести к подавлению противоопухолевого иммунного ответа. Можно предположить, что высокая локальная продукция IL-10 как лимфоцитами, так и макрофагами эндометрия обуславливает нарушение иммунного надзора в миометрии и приводит к усилению процессов клеточной пролиферации в миоматозном узле. Усиление продукции провоспалительных цитокинов при быстром темпе роста миомы может служить дополнительным триггерным фактором быстрого роста опухоли.



## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ БЕСПЛОДНОГО БРАКА

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

НИИ Эндокринологии МЗ РУз;

<sup>1</sup>Институт Иммунологии АН РУз, Ташкент,  
Узбекистан

Бесплодие в браке – важная медико-социальная проблема. В настоящее время каждая десятая супружеская пара является бездетной. Брак считается бесплодным, если супруги живут половой жизнью без применения контрацептивов в течение двух лет и не наступает беременность. В последнее время установлено, что при наличии у супругов хронических воспалительных заболеваний репродуктивных органов в патогенезе бесплодия существенную роль играют иммунные механизмы системного и местного характера. Нами проведено эпидемиологическое исследование в изучении бесплодного брака в узбекской популяции 1930 семейных пар (отклик 96,5%). Анонимно интервьюировали репрезентативные группы лиц фертильного возраста методом случайной выборки, проживающих в г.Ташкенте и Ташкентской области. Анализ проведенных исследований показал, что 211 пар (11%) страдают различными формами бесплодия, которым проведено полное клиническое, гормональное, иммунологическое обследование. У всех партнеров имелись хронические воспалительные заболевания урогенитального тракта. Наиболее часто выявлялась хламидийная инфекция (78%), в большинстве случаев в сочетании с другими инфекциями (*Ureaplasma*, *Gardnerella*, *Mycoplasma*). Проведенные иммунологические исследования показали наличие иммунодефицита у обследованных пар. Так, отмечен низкий уровень Т-лимфоцитов и их субпопуляций CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>-клеток у 73%. Отмечался недостаточный уровень естественных киллеров и лимфоцитов с маркером ранней (CD25) и поздней (HLA-DR) активации. Закономерным оказалось и снижение неспецифического фактора защиты фагоцитоза - у 58% обследованных. Исследование гуморального звена выявило снижение концентрации IgG у 47%, IgA - у 36% и IgM - у 34% обследованных лиц. Выявленные нарушения свидетельствуют о дисбалансе в системе иммунитета, что может играть существенную роль в патогенезе бесплодия и выборе корректирующей терапии.

## РОЛЬ ЦИТОКИНОВ В РЕГУЛЯЦИИ ООЦИТО- И СПЕРМАТОГЕНЕЗА

Останин А.А., Айзикович И.В., Айзикович Б.И.,  
Черных Е.Р.

ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН,  
Новосибирск, Россия

В последние годы накоплено значительное количество фактов, свидетельствующих о важной роли цитокинов в репродуктивной физиологии человека. Однако клиническая значимость измерения цитокинов в лабораторной диагностике бесплодия, в оценке фертилизационного потенциала спермы или ооцитов, в прогнозе частоты развития беременности при проведении вспомогательных репродуктивных технологий, по-прежнему, остается предметом для дискуссий. С помощью мультиплексного анализа оценили уровень 17 цитокинов в фолликулярной жидкости (ФЖ) 52 женщин, которым проводилось лечение бесплодия с помощью ЭКО, а также в семенной плазме (СП) 30 мужчин, состоящих в бесплод-

ном браке. В группе женщин показано, что на пике суперовуляции в цикле ЭКО в ФЖ выявляется широкий спектр цитокинов, включая Th1/провоспалительные (IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-12, IL-17) и Th2/противовоспалительные (IL-4, IL-5, IL-10, IL-6, IL-13) цитокины, хемокины (IL-8, MIP-1 $\beta$ , MCP-1) и факторы гемоиммунопоэза (G-CSF, GM-CSF, IL-7). У пациенток с неэффективным фолликулогенезом, концентрация IL-2, IL-4, IL-7 и G-CSF была достоверно ниже, чем в подгруппе женщин, где среднее количество полученных ооцитов было в 3 раза выше (13 vs 4). 2-кратное уменьшение выхода яйцеклеток с высокой оценкой качества (50 vs 100%) происходит на фоне глубокого многокомпонентного цитокинового дефицита (IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-17, IL-6, IL-4, IL-10, IL-7, G-CSF, MIP-1 $\beta$ ). При этом снижается эффективность последующего оплодотворения полученных яйцеклеток в культуре *in vitro* (39 vs 91%,  $p_u < 0,01$ ). При сравнении подгрупп женщин, у которых в цикле ЭКО наступила беременность (n=24) и у которых лечение оказалось неэффективным (n=28), было установлено, что отсутствие беременности сопряжено с более низким уровнем IL-2, IL-4, IL-7, G-CSF и MIP-1 $\beta$ , в сочетании с повышенным уровнем IL-8 и IL-13.

В группе мужчин, из 30 обследованных пациентов у 15 мужчин показатели спермограммы находились в границах нормативных стандартов (подгруппа 1, «нормоспермия»). Во второй подгруппе («патоспермия», n=15) были выявлены нарушения сперматогенеза (астено- и/или тератозооспермия). Кроме того, при патоспермии отмечалось увеличение количества лейкоцитов в эякуляте ( $0,94 \pm 0,2$  vs  $0,4 \pm 0,06 \times 10^6$ /мл,  $p_u < 0,01$ ), при этом лейкоцитоспермия была выявлена у 7 пациентов (47% vs 0% в группе «нормоспермия»,  $p_{\text{ТМФ}} = 0,003$ ). В экстракорпоральном режиме все исследуемые образцы спермы были способны к оплодотворению. Тем не менее, у мужчин с патоспермией фертилизационная активность сперматозоидов была достоверно ниже (Инд\_Опл  $60 \pm 4,6$  vs  $87 \pm 4,6\%$ ,  $p_u < 0,01$ ). При нормоспермии в СП выявлялись Th1/про- и Th2/противовоспалительные цитокины, хотя их медианные значения не превышали 20 пкг/мл. В то же время хемокины IL-8 (48 пкг/мл), MIP-1 $\beta$  (40 пкг/мл), MCP-1 (308 пкг/мл), а также G-CSF (170 пкг/мл), GM-CSF (42 пкг/мл) и IL-7 (413 пкг/мл) обнаруживались в СП в достаточно высоких концентрациях. При патоспермии регистрировалось значимое увеличение уровня провоспалительных медиаторов (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-12) и хемокинов (IL-8, MCP-1, MIP-1 $\beta$ ) в сочетании с дефицитом IL-7. Увеличение уровня G-CSF было сопряжено со снижением количества морфологически нормальных сперматозоидов ( $r_s = -0,43$ ). Уровень IL-7 находился в обратной корреляционной связи с IL-1 $\beta$  ( $r_s = -0,41$ ), TNF- $\alpha$  ( $r_s = -0,35$ ), IL-6 ( $r_s = -0,44$ ) и MIP-1 $\beta$  ( $r_s = -0,36$ ), а также с количеством акинетических сперматозоидов и содержанием лейкоцитов в эякуляте (соответственно  $r_s = -0,4$  и  $r_s = -0,49$ ). Сравнительный анализ мужчин с нормо- и патоспермией (+/- лейкоцитоспермия) показал, что выявленные изменения цитокинового профиля СП во многом обусловлены наличием лейкоцитоспермии и в меньшей степени связаны с нарушением сперматогенеза (астено- и/или тератозооспермией). Тем не менее, нарушение локальной продукции цитокинов может негативно сказываться на подвижности и морфологии сперматозоидов, и, как следствие, приводить к снижению их фертилизационного потенциала в условиях латентного воспалительного процесса в мужском репродуктивном тракте. Полученные результаты свидетельствуют о важной роли цитокинов в реализации репродуктивной функции человека, а также о диагностической и прогностической значимости методов оценки уров-



ня локальной продукции цитокинов в фолликулярной и семенной жидкости при проведении вспомогательных репродуктивных технологий.

### **ОЦЕНКА ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ ПЛАЦЕНТАРНЫХ МАКРОФАГОВ *IN VITRO***

**Павлов О.В., Зяблицкая М.Г., Сельков С.А.**

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

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

Макрофаги, являясь наиболее многочисленной популяцией иммунокомпетентных клеток плодовой части плаценты, остаются одними из наименее изученных клеток этого органа. Постулируется участие плацентарных макрофагов в важнейших биологических процессах: защита от инфекции, презентация антигена, участие в процессах апоптоза и ремоделирования ткани, иммуорегуляция и регуляция функций других клеток и др. Однако, многие из этих постулатов базируются на изучении свойств аналогичных клеток других тканей организма. Широкий спектр регуляторных молекул, экспрессируемых этими клетками, позволяет предположить участие плацентарных макрофагов в регуляции многих репродуктивных процессов, но исследования, посвященные изучению этой проблемы, немногочисленны и нерегулярны, а результаты их зачастую противоречивы. Среди продуктов макрофагов особый интерес представляют цитокины, которые являются посредниками в осуществлении их функций.

**Целью** настоящей работы было изучение особенностей продукции ряда цитокинов (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ ) в культурах изолированных макрофагов (>95% чистоты), выделенных из плодовой части срочных плацент, полученных при спонтанном или искусственном родоразрешении. Оценивалась спонтанная и LPS-индуцированная продукция цитокинов. Внутриклеточную детекцию цитокинов проводили методами проточной цитометрии и иммуноцитохимии. Секреторную активность исследовали методом проточной цитометрии (cytometric bead array).

Продукция IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$  наблюдалась в 30-35% CD68-положительных клеток (макрофагов). В присутствии эндотоксина количество клеток, продуцирующих IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$  возрастало в 1,5-2 раза. Доля макрофагов, в которых обнаруживали IL-6 и TNF $\alpha$  в отсутствие спонтанной родовой деятельности составляла не более 5%, а в ряде случаев продукция этих цитокинов отсутствовала. Выработка IL-6 и TNF $\alpha$  макрофагами возрастала при спонтанных родах (примерно, в 2 раза) и особенно при стимуляции LPS (примерно в 10 и 25 раз, соответственно).

Полученные данные характеризуют цитокинпродуцирующую активность плацентарных макрофагов и демонстрируют способность этих клеток вносить существенный вклад в повышение уровня IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 и особенно TNF $\alpha$  при внутриутробной инфекции. Обсуждаются возможности макрофагов плаценты обеспечивать увеличение уровня некоторых провоспалительных цитокинов при спонтанных родах и роль активированных макрофагов как основного источника TNF $\alpha$  в плаценте. Культуры плацентарных макрофагов могут служить удобной моделью для изучения их взаимодействия с другими клетками плаценты и особенностей цитокиновой продукции при воздействии различных экзогенных и эндогенных факторов.

### **ОЦЕНКА ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ БЕРЕМЕННОЙ ЖЕНЩИНЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ НОВОРОЖДЕННЫХ**

**Падруль М.М., Гейн С.В., Челидзе Т.Т.**

*Пермская Государственная Медицинская академия;*

*Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН;*

*Пермский государственный университет, Пермь, Россия*

Гемолитическая болезнь плода (ГБН) - патологическое состояние, которое сопровождается гемолизом эритроцитов плода под влиянием изоантител матери, проникающих через плацентарный барьер. Исследование титров антител, ультразвуковое исследование, амниоцентез не всегда позволяют прогнозировать развитие ГБН у новорожденного. В настоящее время патогенез заболевания трактуется как агрессия антител матери против эритроцитов плода, но при этом не учитывается функциональная активность лимфоцитов матери и возможная их сенсibilизация к антигенам отца будущего ребёнка.

**Цель работы** - изучение пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови беременных женщин с резус-отрицательной кровью в присутствии Т-клеточных митогенов и лимфоцитарных антигенов мужа.

Объектом исследования служили лейкоциты периферической крови резус-отрицательных беременных женщин на 32-34 неделях беременности. Лейкоциты беременных женщин культивировали с лимфоидными клетками отца будущего ребёнка в 96-луночных круглодонных планшетах. Лейкоциты культивировали в 0,2 мл полной питательной среде, которую готовили на основе среды 199 с добавлением 10 mM HEPES, 2 mM L-глутамин, 100 мкг/мл гентамицина и 10% аутоплазмы. Культивирование осуществляли во влажной атмосфере с 5% CO<sub>2</sub> при 37°C в течение 72 ч. За 18 ч до окончания культивирования в каждую лунку вносили по 2 мкКи <sup>3</sup>H-метилтимидина.

Установлено, что индекс стимуляции в присутствии клеток мужа был выше в группе женщин, родивших детей с ГБН по сравнению с беременными, родившими здоровых детей, что свидетельствует о повышенной сенсibilизации лимфоцитов женщины к антигенам мужа. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о перспективности оценки пролиферативного ответа лимфоцитов беременной женщины на антигены отца будущего ребёнка с целью своевременной диагностики развития ГБН.

### **ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПА И ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО СИНТЕЗА ЦИТОКИНОВ ФАГОЦИТАМИ ПРИ НАРУЖНОМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ**

**Полумисков Д.М., Посисеева Л.В., Сотникова Н.Ю., Шишков Д.Н., Анциферова Ю.С.**

*ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н.Городкова федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Иваново, Россия*

К настоящему времени накоплен обширный фактический материал, свидетельствующий об изменении

функционального состояния клеток фагоцитарного ряда у женщин с наружным генитальным эндометриозом. Широкое распространение получила гипотеза о том, что усиление активации перитонеальных макрофагов приводит к повышению уровня провоспалительных цитокинов и факторов роста в перитонеальной полости, что, в свою очередь, создает благоприятные условия для развития очагов эндометриоза. Однако не все полученные данные укладываются в рамки этой гипотезы. Остается мало изученным вопрос о роли периферических фагоцитов в иммунных механизмах развития эндометриоза.

**Целью** работы - оценить уровень мембранной экспрессии молекул межклеточного взаимодействия и определить особенности внутриклеточного синтеза цитокинов фагоцитарными клетками периферической крови и перитонеальной жидкости при наружном генитальном эндометриозе для уточнения роли фагоцитов в регуляции иммунного ответа.

**Материалом для исследования** служила периферическая кровь и перитонеальная жидкость 18 женщин с наружным генитальным эндометриозом, ассоциированным с бесплодием, 11 женщин с эндометриозом и ненарушенной фертильностью. Данные иммунологического обследования 15 женщин без признаков эндометриоза и с подтвержденной фертильностью использовались в качестве контроля. Популяцию мононуклеарных клеток периферической крови и перитонеальной жидкости получали стандартным методом скоростного центрифугирования в градиенте плотности фиколл-верографина. Оценка поверхностной экспрессии молекул межклеточного взаимодействия на поверхности моноцитов/макрофагов проводили с помощью моноклональных антител (Сорбент, Москва) методом проточной цитометрии на приборе FACScan (Becton Dickinson, USA). При определении внутриклеточного синтеза цитокинов перед процедурой окрашивания дополнительно проводили пермеабиллизацию клеточной мембраны с помощью набора FIX & PERM (CALTAG Laboratories, USA). Уровень активации фагоцитов крови и перитонеальной жидкости также оценивали в спонтанном и стимулированном зимозаном НСТ-тесте. Было установлено, что у женщин с наружным эндометриозом независимо от наличия или отсутствия бесплодия происходило угнетение по сравнению с показателями контрольной группы экспрессии HLA-DR, CD16 и CD11b молекул на поверхности периферических моноцитов и снижение уровня CD16<sup>+</sup> перитонеальных макрофагов. Одновременно в обеих группах женщин с эндометриозом нами отмечалось увеличение пула периферических моноцитов, экспрессирующих на своей поверхности активационный маркер CD25, и усиление внутриклеточного синтеза IFN $\gamma$  как в популяции моноцитов крови, так и в популяции макрофагов перитонеальной жидкости. Анализ результатов в зависимости от наличия у женщин бесплодия показал, что в тех случаях, когда развитие эндометриоза не сопровождалось нарушением фертильности, происходило угнетение синтеза IL-12 моноцитами и макрофагами, а в перитонеальной жидкости снижались показатели стимулированного НСТ-теста и функциональных резервов перитонеальных макрофагов. Отличительной чертой фагоцитарных клеток в группе женщин с эндометриозом, ассоциированным с бесплодием, было значительное повышение уровня спонтанной НСТ-активности периферических нейтрофилов и перитонеальных макрофагов при резком повышении внутриклеточного синтеза IL-1 $\beta$  перитонеальными макрофа-

гами. Таким образом, направленность изменений функционального состояния клеток фагоцитарного ряда у женщин с наружным генитальным эндометриозом определяется не только наличием очагов эндометриоза, но и нарушением фертильности. Снижение экспрессии на поверхности фагоцитов крови и перитонеальной жидкости молекул, обеспечивающих распознавание антигенов и процессы межклеточного взаимодействия, может вести к нарушению развития адекватного ответа фагоцитов на антигенные стимулы различной природы, в том числе и на измененные аутологичные эндометриальные клетки, создавая условия, благоприятные для формирования очагов эндометриоза. Развитие бесплодия при эндометриозе сопровождается дополнительной активацией фагоцитов как на системном, так и на локальном уровнях, что, по-видимому, обуславливает создание воспалительного фона, ассоциированного с нарушением фертильности у женщин с эндометриозом.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ИНВАЗИВНОСТИ ЭНДОМЕТРИЯ ПРИ НАРУЖНОМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ

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

*ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени В.Н.Городкова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Иваново, Россия*

Исследованиями последних лет было показано, что в основе формирования эндометриодных очагов при наружном эндометриозе лежат изменения на уровне эндометрия. Установлено, что у женщин с эндометриозом повышена способность эндометриальных клеток к пролиферации и инвазии, что, по мнению многих авторов, является одним из важных факторов патогенеза эндометриоза. Однако молекулярные основы усиления инвазивности эндометриальной ткани при эндометриозе остаются пока еще до конца не установленными. Известно, что инвазивные свойства клеток определяются уровнем экспрессии на их поверхности специфических интегринных рецепторов и регулируются различными цитокинами. В связи с этим, целью данного исследования было оценить уровень экспрессии интегринных молекул CD49e и особенности внутриклеточного синтеза IL-6 мононуклеарными клетками эутопического и эктопического эндометрия у женщин с наружным эндометриозом.

**Материалом для исследования** служили биоптаты эутопического эндометрия и очагов эндометриоза женщин с наружным генитальным эндометриозом. Показатели эутопического эндометрия здоровых женщин использовались в качестве контроля. Обогащенную популяцию мононуклеарных клеток получали из эндометриальной ткани безферментативным механическим способом с последующим центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографина. Поверхностную экспрессию CD49e молекул и внутриклеточный синтез IL-6 эндометриальными мононуклеарными клетками оценивали с помощью моноклональных антител (Becton Dickinson) методом проточной цитометрии в лимфоцитарном и макрофагальном гейте. Кроме того, проводили ферментативное выделение стромальных эндометриальных клеток из ткани эутопического и эктопического эндометрия с определением уровня экспрессии на их поверхности CD49e молекул. В качестве популяционного маркера стромальных клеток

при построении гейта использовали окрашивание на виментин. Было установлено, что в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом по сравнению с аналогичными показателями эндометрия здоровых женщин значительно усиливался внутриклеточный синтез IL-6 эндометриальными лимфоцитами. Достоверных изменений в экспрессии интегриновых молекул CD49e на поверхности лимфоцитов и макрофагов эутопического эндометрия женщин с наружным эндометриозом выявлено не было. В очаге наружного эндометриоза также отмечалось повышение уровня IL-6<sup>+</sup> лимфоцитов, однако это повышение было более выражено, чем в эутопическом эндометрии пациенток с эндометриозом. Только в очаге наружного эндометриоза было выявлено снижение внутриклеточного синтеза IL-6 в популяции макрофагов. Как для лимфоцитов, так и для макрофагов эктопического эндометрия было характерным достоверное снижение экспрессии интегриновых молекул CD49e на поверхности клеточной мембраны. Исследование особенностей экспрессии CD49e молекул на поверхности стромальных эндометриальных клеток показало, что в эутопическом эндометрии женщин с эндометриозом количество CD49e<sup>+</sup> клеток не отличалось от такового у женщин контрольной группы, тогда как в очаге наружного эндометриоза экспрессия CD49e молекул на поверхности стромальных клеток была резко повышена. Известно, что CD49e относится к группе VLA-интегринов и представляет собой рецептор к фибронектину, который является одним из важнейших компонентов внеклеточного матрикса. Выявленное нами значительное повышение уровня экспрессии CD49e молекул на поверхности стромальных клеток очага эндометриоза, по-видимому, непосредственно связано с механизмами усиленной инвазивности клеток эктопического эндометрия, которые лежат в основе процессов развития эктопического эндометрия. В то же время, экспрессия CD49e молекул на поверхности лейкоцитарных клеток, инфильтрирующих ткань очага эндометриоза, напротив, была снижена. Этот факт, вероятно, можно расценивать как показатель дедифференцировки мононуклеарных клеток эктопического эндометрия. По-видимому, в основе нарушений ответа иммунной системы на развитие гетеротопической ткани в перитонеальной полости лежат изменения цитокинового каскада, сочетающиеся с нарушением взаимодействия иммунокомпетентных клеток с межклеточным матриксом.

**ОСОБЕННОСТИ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К АНТИГЕНАМ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ У ЖЕНЩИН В РЕЗУЛЬТАТЕ БЕРЕМЕННОСТЕЙ**

**Реутова Н.В.**

*Российский НИИ гематологии и трансфузиологии, Санкт-Петербург, Россия*

Выработка антител к антигенам главного комплекса гистосовместимости происходит при поступлении в организм чужеродных HLA-антигенов во время переливания крови, трансплантации аллогенных органов и тканей, а также при беременности. Именно беременность является наиболее частой причиной возникновения HLA-антител. Однако сведения о влиянии беременностей и родов на сроки возникновения HLA-антител и их специфическую направленность разноречивы. Поэтому целью нашей работы явилось изучение выработки HLA-антител у женщин в результате беременностей, закончившихся как срочными родами, так и искусственно прерванными на ранних сроках.

Объектом исследования стали 5680 роженицы, поступившие в родильные дома г. Санкт-Петербурга для срочного родоразрешения. Все женщины были соматически здоровы, не имели осложнений во время беременностей и родов. Ни одна из обследованных не получала ранее трансфузий крови или ее компонентов. Роженицы имели в анамнезе от 1 до 12 беременностей и, соответственно, от 1 до 6 родов. Материалом для изучения антител к антигенам главного комплекса гистосовместимости послужили сыворотки, полученные из ретроплацентарной крови рожениц. Исследование антител проводили в стандартном лимфоцитотоксическом тесте, используя панель донорских лимфоцитов с установленным HLA-фенотипом, в которой были максимально широко представлены все известные HLA-антигены.

Среди обследованных сывороток было обнаружено 954 образца с наличием HLA-антител. При сопоставлении наличия HLA-сенсibilизации с числом беременностей в анамнезе получены следующие данные:

Количество берем.	Частота HLA-сенсibil.
1	9,9%
2	13,3%
3	19,9%
4	24,4%
5	25,0%
6	25,7%
7	35,4%
8	34,1%
9	33,7%
10	34,3%
11	34,5%
12	34,1%

Как видно из таблицы, частота образования HLA-антител возрастала с 9,9% при первой беременности до 35,4% с увеличением числа беременностей до 7 и более.

Для выяснения вопроса о сроках появления HLA-антител во время беременности мы изучили наличие антител у женщин с одинаковым количеством родов, но различным числом искусственно прерванных на сроках 9-11 недель беременностей. При этом было показано, что у женщин, имевших единственную беременность, закончившуюся родами, сенсibilизация составила 9,9%. В группе женщин с 2 прерванными беременностями и 1 родами в анамнезе, число HLA-сенсibilизированных было выше - 18,1%. Среди рожениц с 1 родами и 5 прерванными беременностями в анамнезе число сенсibilизированных возросло до 25,0%. А в группе женщин, имевших 7 беременностей, из которых только 1 закончилась родами, частота HLA-сенсibilизации была самой высокой - 33,3%. Следовательно, антитела к антигенам главного комплекса гистосовместимости формируются уже в первом триместре беременности, и даже прерванная на этом сроке беременность является не менее сенсibilизирующим фактором, чем закончившаяся родами.

Для изучения влияния числа беременностей на широту специфической направленности антител, мы проанализировали число образцов с моноспецифическими и полиспецифическими антителами и установили, что с увеличением числа беременностей возрастает содержание сывороток с наличием полиспецифических антител.

Таким образом, HLA-сенсibilизация у женщин варьирует в широких пределах в зависимости от числа бере-



менностей в анамнезе – от 10% у первобеременных женщин до 33-35% – у женщин с семью и более беременностями. Установлено, что антитела к антигенам главного комплекса гистосовместимости формируются уже в первом триместре беременности, а частота образования этих антител прямо пропорционально зависит от количества беременностей в анамнезе, в том числе и от прерванных на ранних сроках. Это необходимо учитывать при проведении трансфузионных мероприятий женщинам, имевшим в анамнезе беременности (в том числе, искусственно прерванные), поскольку наличие HLA-антител может привести к посттрансфузионным осложнениям, обусловленным несовместимостью донора и реципиента по HLA-антигенам, и к развитию у реципиента рефрактерности к трансфузиям тромбоцитов.

### СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ ГРУДНОГО МОЛОКА МАТЕРЕЙ, РОДИВШИХ ДЕТЕЙ С ВНУТРИУТРОБНОЙ ГИПОТРОФИЕЙ

Саидкариев Б.К., Рассадина М.В., Умарова А.А., Петрова Т.А., Нуриева И.Э., Ризопулу А.П.<sup>1</sup>

Медицинская академия, Институт иммунологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан;

<sup>1</sup>НМЦ МЗ РФ по молекулярной медицине СПб ГМУ им.акад.И.П.Павлова, Россия

Общеизвестно значение материнского молока для роста и развития новорожденного. Грудное молоко обладает способностью изменять свой состав в зависимости от функциональной зрелости ребенка и его возраста, удовлетворяя, таким образом, все специфические нутритивные потребности растущего организма. Особый интерес вызывает период ранней постнатальной адаптации новорожденного и формирование адаптационных процессов как в норме, так и при патологическом течении беременности. Одним из наиболее часто встречающихся факторов, определяющих формирование адаптационных процессов у ребенка является ante- и интранатальная гипоксия.

В настоящее время остаются мало изученными особенности лактации и иммунологические свойства молока матерей, родивших детей с внутриутробной гипотрофией.

**Целью работы** явилось изучение особенностей лактации и иммунобиологических свойств молока матерей, родивших детей с внутриутробной гипотрофией.

**Материалы и методы.** Исследование грудного молока проводили с 1-го по 10-ый день лактации у 15 матерей, родивших детей с внутриутробной гипотрофией (основная группа) и у 10 матерей, родивших здоровых детей (контрольная группа).

В грудном молоке определяли основные субпопуляции лимфоцитов с фенотипом CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>. Исследования проводились в тесте с использованием моноклональных антител к соответствующим кластерам дифференцировки (производство Института иммунологии, Москва, Россия).

Проведенными исследованиями установлено, что в период с 1 по 5 день с начала лактации в молоке у матерей основной группы в среднем содержится 52,4±2% CD3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, что достоверно выше (p<0,001), чем в контрольной группе, где этот показатель составил в среднем 42,1±1,2%. Дальнейший анализ полученных данных показал, что на 9-10-ые сутки после начала лактации количество лимфоцитов с фенотипом CD3 снижалось до 44,3±2%

и приближалось к контрольным величинам (p>0,05). Надо отметить, что достоверного колебания Т-лимфоцитов в течение исследуемого периода не наблюдалось.

Следующий этап исследования включал в себя определение субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток в грудном молоке. Полученные данные свидетельствуют о том, что в молоке женщин контрольной группы содержится 22,6±1,5% Т-клеток/хелперов индукторов. В 1,3 раза этот показатель выше у женщин основной группы и составляет 29,3±1,85%, что достоверно отличается от значений в группе контроля (p<0,001). Необходимо подчеркнуть, что данные параметры на протяжении всего периода исследования (в течение 10 дней) не менялись. На фоне активации лимфоцитов хелперов/индукторов, относительное содержание CD8<sup>+</sup> Т- лимфоцитов в молоке женщин, родивших детей с внутриутробной гипотрофией, оставалось в пределах нормативных значений и составило 19,4±1,5% и 22,6±1,5%, соответственно.

В первые 5 суток от начала лактации в основной группе содержание В-лимфоцитов в молоке родильниц составило 25,4±1,6%, что в 1,3 раза превышало контрольные величины (p<0,001). Начиная с 6-го дня лактации количество В-клеток снижалось и приближалось к показателям группы женщин, родивших здоровых детей (19,2±2,4% и 17,1±1,3%, соответственно).

Исходя из вышеизложенного следует, что на начальном периоде лактации (в течение первых 5 дней) отмечается активация хелперно/индукторного и гуморального звена иммунной системы, видимо приводящее к усилению иммунного ответа, что приводит к более полноценной защите новорожденного с внутриутробной гипотрофией.

### ПАРАМЕТРЫ Т-КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У БЕРЕМЕННЫХ С НОРМАЛЬНЫМ И ПОВЫШЕННЫМ УРОВНЕМ СЫВОРОТОЧНОГО ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОНА СУЛЬФАТА

Селедцова Н.В., Хонина Н.А., Тихонова М.А., Пасман Н.М., Останин А.А., Черных Е.Р.

ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск, Россия

В последние годы появились сообщения о важной роли естественных регуляторных CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Т-клеток (Trn) в поддержании гестационной иммуносупрессии. Известно также, что у человека наибольшей супрессорной активностью обладают CD4 клетки с высокой экспрессией CD25 (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>bright</sup>). Супрессорное действие Trn *in vitro* реализуется контакт-зависимым путем и проявляется подавлением пролиферации Т-лимфоцитов. Снижение количества CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> клеток в периферической крови регистрируется у женщин с угрозой спонтанных выкидышей, причиной которых может являться гиперандрогения (ГА) надпочечникового генеза. Вместе с тем отсутствуют данные о содержании Trn и пролиферативной активности Т-лимфоцитов у беременных с ГА. Учитывая вышесказанное, была сформулирована цель работы: провести сравнительный анализ содержания CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Т-клеток, в том числе CD4<sup>+</sup>CD25<sup>bright</sup> Т-лимфоцитов и пролиферативной активности Т-лимфоцитов у беременных с нормальным и повышенным уровнем дегидроэпиандростерона сульфата (ДГЭАС). В исследование были включены 64 здоровые небеременные и 84 беременные в конце I или начале II триместра гестации. Из них, у 39 беременных регистрировался нормальный (1 группа) и у 45 беременных - повы-



шенный уровень ДГЭАС (>1,2 мкг/мл) в сыворотке крови (2 группа). Определение относительного содержания CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>CD25<sup>bright</sup> Т-лимфоцитов проводилось методом проточной цитофлюориметрии, исследование пролиферативной активности Т-клеток по включению Н<sup>3</sup>-тимидина, уровня ДГЭАС в сыворотке - методом ИФА. Оценка содержания CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Т-клеток показала, что у беременных из 1-ой группы количество CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Т-лимфоцитов достоверно выше по сравнению с небеременными (12,9 ± 0,7 vs 4,4 ± 0,4%; p<sub>u</sub> < 0,05). В то же время у беременных с ГА отмечается значимо более низкое содержание Тгп по сравнению с женщинами из 1-ой группы (7,6 ± 0,7 vs 12,9 ± 1,4%; p < 0,05). Сходные данные получены при изучении содержания CD4<sup>+</sup>CD25<sup>bright</sup> клеток в анализируемых группах. Так, у беременных с физиологическим течением гестации количество CD4<sup>+</sup>CD25<sup>bright</sup> клеток было значимо выше, чем у небеременных (2,4 ± 0,32 vs 0,9 ± 0,1%; p < 0,05), в то время как у женщин с ГА их содержание не увеличивалось. При проведении корреляционного анализа в целом по группе обследованных беременных женщин (n=84) была обнаружена обратная взаимосвязь между уровнем ДГЭАС и содержанием CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> лимфоцитов (r<sub>s</sub> = -0,57, p<sub>u</sub> = 0,002), а также CD4<sup>+</sup>CD25<sup>bright</sup> клеток (r<sub>s</sub> = -0,79, p<sub>u</sub> = 0,005). Сравнительный анализ пролиферативного ответа Т-клеток в анти-CD3-стимулированных культурах выявил достоверно более низкий уровень пролиферации в 1-ой группе по сравнению с небеременными (17395 ± 2050 vs 34710 ± 6420 имп/мин). При ГА пролиферативный ответ Т-клеток в анти-CD3-стимулированных культурах был сопоставим с уровнем ответа у небеременных, и составлял в среднем по группе 29811 ± 3090 имп/мин. Корреляционный анализ выявил прямую взаимосвязь между концентрацией ДГЭАС в сыворотке крови и интенсивностью пролиферации Т-клеток (r<sub>s</sub> = 0,47, p<sub>u</sub> = 0,02). Полученные данные свидетельствуют о том, что у беременных с повышенным уровнем ДГЭАС выявляется высокая пролиферативная активность циркулирующих Т-лимфоцитов и дефицит относительного количества регуляторных Т-клеток с супрессорной активностью (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>CD25<sup>bright</sup>), что указывает на нарушение Т-клеточно-опосредованных регуляторных механизмов формирования и поддержания гестационной иммуносупрессии.

**ПОКАЗАТЕЛИ FAS-ЗАВИСИМОГО АПОПТОЗА ЛИМФОЦИТОВ ДЕЦИДУАЛЬНОЙ ОБОЛОЧКИ ПЛАЦЕНТ У ЖЕНЩИН С ГЕСТОЗОМ, РОДИВШИХ ДЕТЕЙ С ПЕРИНАТАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ЦНС ГИПОКСИЧЕСКО-ИШЕМИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА**

**Серкина Е.В., Сотникова Н.Ю., Панова И.А., Крошкина Н.В., Садуни И.Р.**

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

Изучение роли нарушений иммунного апоптоза при различных патологических процессах является актуальной проблемой. Особо интересным представляется изучение влияния нарушений локального иммунитета на уровне плаценты у женщин с отягощенным течением беременности, в частности с гестозом, на формирование перинатальной патологии плода. Известно, что хроническая гипоксия инициирует запуск целого каскада патологических процессов, развитие которых в течение определенного промежутка времени приводит к гибели клеток. Механизмы апоптоза нервной ткани включаются позже быстрых не-

кротических каскадов и принимают участие в «доформировывании» очагов повреждения. Однако роль проапоптотических и апоптотических факторов в формировании перинатальных гипоксических поражений ЦНС не изучена. Целью нашей работы было изучить особенности Fas-зависимого апоптоза лимфоцитов децидуальной оболочки (ДО) плаценты у женщин с гестозом, родивших детей с перинатальными поражениями ЦНС (ПП ЦНС) гипоксически-ишемического генеза. Методом проточной цитометрии на цитометре FACScan (“Becton Dickinson”, USA) с использованием моноклональных антител фирмы “CALTEG” (USA) определяли содержание Fas+, FasL+, AnnexinV+, AnnexinV+PI-, AnnexinV+PI+ лимфоцитов в ДО плацент женщин с гестозом, родивших детей с ПП ЦНС и женщин с физиологической беременностью (ФБ), родивших здоровых новорожденных. В результате проведенного исследования выявлены изменения в параметрах ранних и поздних этапов апоптоза лимфоцитов ДО плацент женщин с гестозом, родивших детей с перинатальными поражениями ЦНС гипоксического генеза, по отношению к параметрами группы сравнения. При гестозе в ДО плаценты женщин, родивших детей с ПП ЦНС, по сравнению с показателями женщин с физиологическим течением беременности, родивших детей без данной патологии, достоверно повышалось количество лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности Fas-АГ. Однако уровень FasL-позитивных лимфоцитов в ДО плацент у данной группы женщин был более низким, чем в группе сравнения (p < 0,05 в обоих случаях). На основании выявленных изменений мы предполагаем, что в интерфазе мать-плод у женщин с гестозом, родивших детей с ПП ЦНС, происходит накопление лимфоцитов, готовых вступить в апоптоз через Fas молекулы, при одновременном снижении их способности инициировать апоптоз других клеток. Кроме того, в ДО плаценты женщин с гестозом, родивших детей с ПП ЦНС гипоксически-ишемического генеза, было снижено количество лимфоцитов, находящихся на ранних/обратимых этапах (AnnexinV+PI-) и на поздних/необратимых этапах (AnnexinV+PI+) апоптоза, по сравнению с показателями женщин с ФБ (p < 0,05 во всех случаях), что позволяет говорить о нарушении иммунного апоптоза на различных этапах. На основании полученных результатов, мы предполагаем, что нарушение процессов апоптоза лимфоцитов на локальном уровне у женщин с гестозом могут не только играть роль в развитии осложнений беременности, в частности гестоза, но и способствовать формированию перинатальной патологии ЦНС у плода. Вероятно, в условиях хронической внутриутробной гипоксии нарушается Fas-FasL зависимый путь апоптоза лимфоцитов в децидуальной оболочке плацент, что может приводить к накоплению аутоагрессивных клонов клеток и способствовать повреждению фето-плацентарного барьера.

**ЭКСПРЕССИЯ VEGF-R3 ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ ПЛАЦЕНТЫ В НОРМЕ И ПРИ ГЕСТОЗЕ**

**Соколов Д.И., Колобов А.В., Печерина Л.В., Крамарева Н.Л., Мозговая Е.В., Кветной И.М., Сельков С.А.**

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

Целью настоящего исследования был сравнительный анализ изменений экспрессии VEGF-R3 эндотелиальными клетками плаценты в норме и при гестозе,

а также сравнительный анализ изменений экспрессии VEGF-R3 человеческими эндотелиальными клетками линии EA.Hy926 при их культивировании в присутствии надосадочных жидкостей, полученных при культивировании эксплантов плацент беременных с нормальным течением беременности или с гестозом. Всего обследовано 10 плацент беременных с нормальным течением беременности (контроль) и 10 плацент беременных с гестозом. Родоразрешение проводилось путем кесарева сечения. Экспланты плацент фиксировали в формалине для последующего иммуногистохимического анализа экспрессии VEGF-R3. Другие экспланты этих же плацент культивировали в питательной среде DMEM с добавлением 10% сыворотки в течение 24 часов, после чего собирали надосадочные жидкости. Затем человеческие эндотелиальные клетки линии EA.Hy926 культивировали в присутствии полученных надосадочных жидкостей в течение 24 часов, после чего клетки фиксировали формалином и проводили иммуногистохимический анализ экспрессии VEGF-R3. Для проведения иммуногистохимической реакции с антителами к VEGF-R3 (1:50, Novocastra) использовали стандартный одноэтапный протокол. Анализ полученных данных проводили при помощи компьютерной системы анализа микроскопических изображений и программы Морфология 4.0. При иммуногистохимическом исследовании гистологических препаратов плаценты отмечено, что экспрессия VEGF-R3 клетками синцитиотрофобласта и децидуальными клетками базальной пластинки была достоверно ниже при гестозе, чем при нормальной беременности. При цитологическом и иммуногистохимическом исследовании установлено, что количество клеток линии EA.Hy926, проинкубированных в присутствии надосадков, полученных при культивировании эксплантов плацент беременных с гестозом, уменьшалось в поле зрения, клетки увеличивались в размерах и деформировались, их ядра становились вытянутыми и гиперхромными, экспрессия VEGF-R3 достоверно снижалась по сравнению с контролем. При этом надосадочные жидкости, полученные при культивировании эксплантов плацент здоровых беременных, не изменяли нормальной морфологии клеток линии EA.Hy926 и базовый уровень экспрессии VEGF-R3. Таким образом, снижение экспрессии VEGF-R3 эндотелиальными клетками плаценты при гестозе может быть обусловлено как функциональным дефектом эндотелиальных клеток, так и гибелью эндотелиальных клеток.

### **ОПТИМИЗАЦИЯ ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ ЭКТОПИИ ШЕЙКИ МАТКИ У ПОДРОСТКОВ**

**Соколова Е.А., Богатова И.К., Сотникова Н.Ю., Кудряшова А.В., Семененко С.С.**

*ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени В.Н.Городкова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Иванов, Россия*

В структуре фоновых процессов шейки матки ведущее место занимает эктопия, частота которых у нерожавших женщин до 25 лет составляет 52,2-90% (С.В. Вишнякова и др., 2003 г.). Эктопия шейки матки не является предраковым процессом, но настораживает тот факт, что в процессе эпидермизации эктопий у молодых нерожав-

ших женщин часто возникает дисплазия покровного эпителия, которая входит в группу предраковых заболеваний (И.В. Черная и др., 1998 г.). Следовательно, реальной профилактикой дисплазии и рака шейки матки является своевременное лечение фоновых заболеваний (Г.Н. Минкина и др., 2001 г.) В настоящее время в терапии фоновых заболеваний шейки матки у нерожавших женщин используются радикальные методы лечения (лазеро-, криохирургический), но они нередко дают осложнения, такие как синдром «коагулированной шейки», обострение хронических процессов половых органов и др.

**Цель исследования:** оптимизировать тактику лечения эктопии шейки матки у подростков.

Для лечения эктопии шейки матки нами использовался лекарственный препарат «Суперлимф», который является лекарственной формой, состоящей из комплекса природных цитокинов, включающих факторы роста, про- и противовоспалительные цитокины (IL-1, IL-6, TNF, ТФР, МГФ) и обладает иммуномодулирующим, противовирусным, противобактериальным эффектом, а также регулирует пролиферативную активность фибробластов и стимулирует регенерацию. В первой группе раствор «Суперлимф» назначали в виде орошения и тампонов к шейке матки, которые вводили ежедневно на 4-5 часов в течение 5 дней. Во второй группе применяли сочетание методов: вначале использовали «Суперлимф» в виде тампонов в течение 5 дней ежедневно, а на 10 день от начала терапии проводили криодеструкцию оставшегося патологического очага.

**Материалы и методы.** Проведены исследования: проведено обследование 50 практически здоровых девушек-подростков и 66 девушек-подростков с эктопией шейки матки до лечения, 20 подростков после лечения препаратом «Суперлимф», 10 девушек после лечения сочетанным методом. Для верификации диагноза эктопии шейки матки использовали результаты клинического обследования, кольпоскопической и цитогистологической диагностики. Иммунологическое обследование заключалось в определении уровня сывороточных цитокинов (интерферон (INF)  $\alpha$ ,  $\gamma$ , интерлейкин (IL) 6, 8) методом ИФА.

**Результаты.** В группе подростков с эктопией шейки матки после лечения препаратом «Суперлимф» наблюдалась эпителизация эктопии у 18(90%) пациенток, 2(10%) девушки пролечены без эффекта. После сочетанного метода лечения отмечалась полная эпителизация эктопии шейки матки у всех пациенток. При анализе иммунного статуса выявлено, что в периферической крови подростков с эктопией шейки матки до лечения в сравнении с показателями здоровых девушек отмечалось снижение уровня INF  $\gamma$ , на фоне повышения содержания IL-8 и тенденции к снижению показателей INF  $\alpha$ , IL-6. Группа девушек с эктопией шейки матки после лечения препаратом «Суперлимф» характеризовалась повышенным уровнем INF  $\gamma$  на фоне тенденции к снижению содержания IL-8 в отличие от показателей девушек-подростков с эктопией шейки матки до лечения. Уровень цитокинов в сыворотке крови у подростков с эктопией шейки матки после сочетанного метода лечения отличался тенденцией к снижению IL-8 по сравнению с показателями девушек с эктопией шейки матки до лечения.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что предложенный способ лечения эктопии шейки матки препаратом «Суперлимф» является патогенетически оправданным и эффективным.

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИВЫЧНОГО НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ ИНФЕКЦИОННОГО ГЕНЕЗА В СОЧЕТАНИИ С АНТИФОСФОЛИПИДНЫМ СИНДРОМОМ**

**Соловьёва А.Е., Сотникова Н.Ю., Вторушина В.В., Кривенцова Т.А.**

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

Привычное невынашивание беременности представляет собой патологию, сочетающую инфекционный и аутоиммунный компоненты, которые на ранних стадиях могут стать ведущим фактором, определяющим исход беременности.

**Целью** данного исследования явилось определение соотношения различных популяций естественных киллеров (ЕК) у женщин с привычным невынашиванием беременности инфекционного генеза и антифосфолипидным синдромом (АФС).

Обследованы небеременные женщины с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) ранних сроков (до 12 недель) в возрасте от 20 до 39 лет. На основании клинико-лабораторных данных все обследованные женщины разделены на 2 группы: в 1-ую группу отнесены 22 пациентки с ПНБ инфекционного генеза, во 2-ую группу – 24 пациентки с ПНБ инфекционного генеза и АФС. Контрольную группу составили 15 соматически здоровых женщин с ненарушенной фертильной функцией. Методом проточной цитометрии определяли количество и соотношение субпопуляций ЕК (CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>) и экспрессию активационных маркеров (CD69<sup>+</sup>, CD119<sup>+</sup>, CD120a<sup>+</sup>, CD120b<sup>+</sup>) на поверхности ЕК периферической крови женщин. При анализе данных по сравнению с контрольной группой, имело место увеличение уровня лимфоцитов с фенотипом CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>, CD120a<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> (p<0,05 в 1-ой группе, p<0,001 во 2-ой группе), CD16<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup> (p<0,05 в 2-ой группе), CD119<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup>, CD119<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup>, CD120a<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup>, CD120a<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup>, CD120b<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup> (p<0,001 во 2-ой группе).

Таким образом, иммунологические нарушения, обусловленные инфекционным агентом, усугубляются при наличии аутоиммунного компонента, что играет важную роль в патогенезе невынашивания на ранних сроках гестации.

**РОЛЬ ЛОКАЛЬНЫХ ИММУННЫХ МЕХАНИЗМОВ В РЕГУЛЯЦИИ ТЕМПА РОСТА МИОМЫ МАТКИ**

**Сотникова Н.Ю., Посисеева Л.В., Колганова И.А., Мальшкина А.И., Перетятко Л.П., Анциферова Ю.С.**

ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени В.Н.Городкова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Иваново, Россия

Исследованиями последних лет показано, что развитие миомы матки сопровождается иммунными нарушениями, проявляющимися изменением параметров активации лимфоцитов периферической крови и усилением синтеза факторов роста в ткани миоматозного узла. Однако до сих пор остается неизученным вопрос о роли иммунных событий, происходящих на уровне эндометрия, в процессах, определяющих темп и тип роста миомы матки.

**Целью** данной работы было установить особенности функционального состояния лимфоцитов и макрофагов эндометрия и продукции ими цитокинов у женщин с миомой матки различных темпов роста. Материалом для исследования служили биоптаты эндометрия, полученные при диагностическом выскабливании 26 женщин с быстрорастущей миомой (общие размеры матки 12 недель и более) и 12 женщин с миомой матки стабильно малых размеров (менее 12 недель). 26 здоровых женщин фертильного возраста составили контрольную группу. Популяцию эндометриальных мононуклеарных клеток (МНК) выделяли из ткани эндометрия механическим безферментативным методом с центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографина. Экспрессию поверхностных CD-маркеров определяли с помощью моноклональных антител методом проточной цитометрии. Уровень активации эндометриальных макрофагов определяли по показателям спонтанного и стимулированного зимозаном НСТ-теста. Для оценки продукции цитокинов клетками эндометрия *in vitro* получали супернатанты (СН) 24-часовых нестимулированных культур эндометриальных МНК. Содержание в СН IL-2 и bFGF определяли методом твердофазного ИФА. Анализ полученных данных показал, что в эндометрии женщин с миомой матки независимо от темпов роста опухоли было повышено по сравнению с показателями здоровых женщин содержание CD20<sup>+</sup> лимфоцитов, содержание CD25-позитивных клеток в общей популяции лимфоцитов и в пуле Т-хелперов. Отличительной чертой иммунологических процессов, происходящих на уровне эндометрия женщин с миомой матки стабильно малых размеров, являлось снижение по сравнению с контрольными значениями показателей спонтанного и стимулированного НСТ-теста. Только в группе женщин с быстрорастущей миомой матки было выявлено увеличение как по сравнению с параметрами контроля, так и по сравнению с показателями женщин с малой миомой содержания CD16<sup>+</sup> лимфоцитов, усиление экспрессии на поверхности лимфоцитов маркеров поздних стадий активации клеток, таких как CD71, HLA-DR, CD38, и повышение количества активированных Т-лимфоцитов с фенотипом CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>. Характер продукции цитокинов эндометриальными МНК также зависел от темпа роста миомы матки. При миоме матки стабильно малых размеров в СН культур МНК было достоверно снижено содержание ростового фактора bFGF и EGF, а в группе женщин с быстрорастущей миомой матки значительно повышалась продукция *in vitro* IL-2 и EGF. Хотелось бы особо подчеркнуть, что при быстрорастущей миоме матки направленность иммунологических изменений зависела также и от типа роста опухоли. Нами был проведен дифференцированный анализ иммунологических показателей эндометрия в подгруппе женщин с быстрорастущей миомой матки, у которых увеличение миомы происходило преимущественно за счет пролиферации («истинный» тип роста миомы) или за счет отека («ложный» тип роста). Было установлено, что «истинный» тип роста опухоли у женщин с быстрорастущей миомой отличался от «ложного» роста высоким содержанием в эндометрии CD16<sup>+</sup> ЕК, активированных CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, увеличением продукции IL-2 и, особенно EGF, эндометриальными МНК. Увеличение размеров опухоли за счет отека происходило на фоне усиления спонтанной НСТ-активности эндометриальных макрофагов при снижении их функционального резерва и резком падении продукции bFGF. Таким образом, темп роста миомы матки, по-видимому, определяется особенностями



активации лимфоцитов эндометрия, а тип роста – характером функциональной активности ЕК и эндометриальных макрофагов.

### СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ЛЕЙОМИОМЕ МАТКИ

**Сысоев К.А.,** Кулагина Н.В.<sup>1</sup>, Тотолян Арег А.

*СПб Государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова, Санкт-Петербург, Россия;*

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

**Введение.** Лейомиома матки (ЛМ) - гормонозависимая доброкачественная опухоль репродуктивной системы. Заболевание возникает и прогрессирует в течение фертильного периода, а после менопаузы наблюдается регресс опухоли. В литературе имеются данные о роли ростовых факторов (TGF- $\beta$ , IGF-1 и некоторых других) в прогрессировании ЛМ и связи их экспрессии с нарушениями гормонального фона, предшествующими развитию опухолевого процесса. Парадигма Th1/Th2 является одним из ключевых вопросов современной иммунологии. Преобладание экспрессии цитокинов, ответственных за клеточный (Th1) или гуморальный (Th2) тип иммунного ответа связывается с особенностями течения различных заболеваний, в том числе опухолевой природы.

**Материалы и методы.** При выполнении настоящей работы проведено клиническое обследование 27 пациенток: 20 женщин, имевших ЛМ (основная группа) и семи женщин, не имевших миомы матки (группа сравнения), которым проводилась диагностическая лапароскопия в связи с трубной формой бесплодия на фоне хронического воспалительного процесса в анамнезе. Пациентки группы сравнения на момент обследования находились в состоянии ремиссии. Возраст обследованных женщин в двух группах колебался от 20 до 54 лет (средний возраст составил  $43,5 \pm 0,6$  лет). Длительность течения заболевания (ЛМ) в основной группе варьировала от 0 (впервые выявленный случай) до 18 лет. В результате проведенных исследований были выявлены достоверно повышенные уровни IL-10, GM-CSF, IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  у пациенток с длительностью течения заболевания более 5 лет по сравнению с пациентками, у которых ЛМ существовала менее 5 лет. Показатели остальных цитокинов достоверно не различались. Нами обнаружено, что содержание IFN- $\gamma$  в перитонеальной жидкости пациенток с ЛМ обратно коррелирует с размером матки.  $R^2$  (равный 0,716) – коэффициент детерминации – отражает процент дисперсии, укладывающийся в выбранную модель (кубическая кривая), что подтверждает ведущее значение фактора объема (размер матки) на содержание IFN- $\gamma$ . Помимо этого у пациенток с размером матки менее 8 недель беременности уровень IFN- $\gamma$  был достоверно выше, чем в группе больных с размером выше 8 недель. При изучении содержания IL-10 был обнаружен его повышенный уровень у пациенток с аденомиозом, быстрым и медленным ростом лейомиомы, а также с простым и пролиферирующим типом опухоли. В нашем исследовании уровень IL-5 был повышен у пациенток с единичными миоматозными узлами в сопоставлении с группой с множественными узлами и группой сравнения. Кроме того интрамуральная и субсерозная локализация узлов также характеризовалась повышенным содержанием IL-5 в перитонеальной жидкости.

Помимо этого, у пациенток с отсутствием аденомиоза уровень IL-5 был достоверно выше, чем в группе сравнения. В содержании IL-2, IL-4, IL-12 и IL-13 у пациенток с ЛМ достоверных изменений не выявлено.

### КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ У ДЕТЕЙ С ПОСЛЕДСТВИЯМИ ПЕРИНАТАЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ЦНС И СОДЕРЖАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ

**Федоров В.Г.,** Федоров Г.Н., Григорьева В.Н.

*ГОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия Росздрава», г. Смоленск, Россия*

Состояние иммунной системы (ИС) при повреждениях головного мозга в результате перинатального поражения ЦНС (ППП ЦНС) остается мало исследованным, что определяет актуальность исследования. Изучали иммунологические особенности у детей при ППП ЦНС. Под наблюдением находилось 48 детей в возрасте 3-7 лет с ППП ЦНС – основная группа. 50 детей без неврологической патологии составили группу сравнения. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови оценивали методом непрямой иммунофлюоресценции. Уровень цитокинов определяли методом ИФА (реактивы «R&D» США). У детей с ППП ЦНС клинически выявлялись жалобы на: головные боли (98%), нарушение сна (29%), поведенческие реакции (40%) и внимания (15%), непереносимость поездок в транспорте (50%). В неврологическом статусе выявлялась очаговая микросимптоматика. У данных детей установлено существенное повышение концентрации провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$  и IL-1 при снижении содержания IL-10, обладающего противовоспалительной активностью ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, дети с ППП ЦНС имеют высокий уровень провоспалительных цитокинов, что позволяет выделить их в группу риска по формированию трофических нарушений головного мозга, т.к. известно, что высокий уровень IL-1 способствует стимуляции выработки АКТИ и, соответственно, кортизола, подавляющего многие пластические процессы в организме.

### ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ HLA II КЛАССА В СЕМЬЯХ С ПРИВЫЧНОЙ ПОТЕРЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ

**Фетисова И.Н.,** Добрынина М.Л., Дюжев Ж.А.

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

Под привычной потерей беременности (ППБ) подразумевают два и более самопроизвольных прерывания беременности. Среди возможных причин ППБ выделяют иммунологический фактор.

**Целью** настоящего исследования явилось изучение особенностей полиморфизма генов трех локусов системы HLA II класса (DRB1, DQA1 и DQB1) в здоровых семьях и семьях с ППБ. **Задачами** работы были выявление доли супружеских пар, имеющих общие аллели в одном, двух или трех локусах HLA, а также оценка влияния конкретных аллелей и гаплотипов на развитие данного вида нарушения репродукции.

HLA-типирование проведено методом мультиплексной ПЦР у 22 репродуктивно здоровых пар и 38 пар, стра-



дающих ППБ ранних сроков (до 12 недель), при отсутствии в анамнезе указаний на медицинские аборт, роды, внематочную беременность.

Анализ количества совпадений аллелей в локусах DRB1, DQA1, DQB1 в семьях с нормальной и нарушенной репродукцией показал отсутствие статистически значимых отличий: совпадение супругов по двум и трем локусам в обеих группах наблюдалось приблизительно в одинаковом проценте случаев. Так, совпадение по 1 локусу наблюдалось в 31,6% пар с ППБ и 40,9% пар с нормальной репродукцией, совпадение по 2 локусам – в 15,8% и 18,2% соответственно, по 3 локусам – в 23,7% и 22,7%.

Выявлено близкое к достоверному увеличение частот аллелей 0401 по локусам DQA1 и DQB1 (7,9%,  $p=0,056$ ,  $OR=8,21$  (CI-95%: 0,95-70,97)) и аллеля 08 по локусу DRB1 (6,6%,  $p=0,082$ ,  $OR=6,85$  (0,78-59,93)) у женщин с ППБ по сравнению со здоровыми женщинами, у которых данные аллели по указанным локусам отсутствовали. Характерно, что наличие аллеля DQA1\*0401 во всех случаях сочеталось с наличием аллеля DQB1\*0401, и за единичным исключением – с аллелем DRB1\*08. Гаплотипы DRB1-DQA1-DQB1 08-0401-0401 и DQA1-DQB1 0401-0401 были отмечены только у пациенток с ППБ, при этом для второго гаплотипа разница была статистически значимой (15,8%,  $p=0,049$ ,  $OR=9,00$  (1,01-80,58)). Анамнез этой подгруппы больных содержал указания на наличие погибших беременностей и анэмбрионии. У женщин, имеющих гаплотип DRB1-DQA1-DQB1 08-0401-0401, благополучного исхода беременностей не было, несмотря на своевременную госпитализацию и проведение сохраняющей терапии. Срочные роды доношенным плодом были зарегистрированы в одном случае – у женщины с гаплотипом DQA1-DQB1 0401-0401 и генотипом 16/01 в локусе DRB1.

Таким образом, выявленные в нашем исследовании значительные различия у женщин с привычной потерей беременности и нормальной репродукцией в частотах некоторых аллелей и гаплотипов, свидетельствуют об их негативном влиянии на развитие беременности. Возможно, это неблагоприятное воздействие реализуется в нарушении процесса гаметогенеза, что приводит к ухудшению качественных характеристик половых клеток, а также в снижении жизнеспособности самих эмбрионов. Аллель DRB1\*08 и гаплотип DQA1-DQB1 0401-0401 у женщин можно считать генетическими маркерами предрасположенности к развитию привычной потери беременности ранних сроков и использовать их в качестве прогностических критериев при выявлении группы лиц с повышенным риском нарушения репродукции.

#### **ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ПАТОЛОГИИ К ПРЕПАРАТУ ГЕСТАЦИОННОГО БЕЛКА РАРР-А/ПРОМВР**

**Хохлов П.П., Болотских В.М., Печерина Л.В., Мозговая Е.В., Сельков С.А.**

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

**Введение.** Состояние иммунной системы беременной женщины характеризуют как физиологическую иммуносупрессию. К важным факторам индукции иммуносупрессии относят прогестерон. Прогестерон представляет собой индуктор высокомолекулярных гестационных гликопро-

теинов, в частности РАРР-А/проМВР. Последний, в свою очередь, характеризуют как важный маркер распространенных осложнений беременности: гестоза, задержки внутриутробного развития плода, и др.

**Целью работы** было проведение сравнительной оценки активности нейтрофилов (Нф) при некоторых наиболее распространенных осложнениях беременности параллельно с исследованием воздействия стандартного препарата гестационного гликопротеина на активность Нф при нормальной и патологической беременности.

**Материалы и методы.** Материалом послужили образцы периферической крови 159-ти беременных, госпитализированных в отделении патологии беременности НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О.Отта. Были выделены группы беременных с наиболее распространенными и важными диагнозами: хроническая плацентарная недостаточность (24), гестоз в сочетании с нефропатией (18), угроза преждевременных родов (28), сахарный диабет беременных (35), сахарный диабет I типа (16), сочетанные патологии (38). В группы сравнения входили женщины с нормально протекающей беременностью (15) и небеременные. Нейтрофилы выделяли центрифугированием в градиенте фикола-верографина с последующим разделением в растворе поливинилового спирта. Определяли активность кислород-зависимого метаболизма в спонтанном и индуцированном НСТ-тесте, активность МПО и индуцированную продукцию NO, а также изменение активности в присутствии РАРР-А/проМВР. Препарат РАРР-А/проМВР был выделен из ретроплацентарной сыворотки (РПС) при срочных физиологических родах согласно схеме: дробное осаждение → анионообменник → металл-хелатная хроматография. В контрольных опытах использовали фракции РПС без РАРР-А/проМВР.

**Результаты.** У небеременных женщин и при нормальной беременности от 30 нед. концентрации РАРР-А/проМВР 0-80 мкг/мл оказывают стимулирующее воздействие на активность Нф. При концентрации выше 125 мкг/мл ингибируют активность МПО и реакцию в индуцированном НСТ-тесте и не оказывают влияния на продукцию NO. Достоверное повышение активности Нф по активности МПО и в спонтанном и индуцированном НСТ тесте отмечено в 87 % случаев ( $p<0,05$ ) при отягощенной гестозом и нефропатией беременности. Достоверное снижение активности в присутствии РАРР-А/проМВР отмечено в 76 %, но достоверно различалось по сравнению с нормальной беременностью и небеременными. При СДБ повышение активности Нф отмечено в 36%, снижение в 29%.

**Заключение.** Сопровождающие распространенные осложнения беременности изменения активности Нф сильнее всего выражены при гестозах и сопровождаются снижением чувствительности Нф к РАРР-А/проМВР.

#### **СООТНОШЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ПОЗИТИВНОЙ И НЕГАТИВНОЙ АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ В ДИНАМИКЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ ПРОТЕКАЮЩЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ**

**Чистякова Г.Н., Гагиева И.А., Ремизова И.И., Тарасова М.Н.**

*ФГУ “УНИИ ОММ Росдрава”, Екатеринбург, Россия*

**Введение.** Изучение процессов иммуорегуляции при беременности способствует накоплению знаний о механизмах фетопротекции и их нарушении. Одной из закономер-

ностей иммунологической перестройки организма при физиологически протекающей беременности является повышение соотношения активированных и покоящихся клеток. Под воздействием различных факторов активированная клетка вступает либо в фазу пролиферации, либо запрограммированной гибели. Оценка субпопуляционных сдвигов, отражающих интенсивность процессов пролиферации и апоптоза лимфоцитов при беременности, представляет особый интерес, поскольку ранние проявления иммунного аллостаза, в том числе отклонений в соотношении клеток, несущих маркеры позитивной или негативной активации, могут играть роль предикторов развития осложнений гестации. Увеличение количества лимфоцитов, экспрессирующих мембранные рецепторы к IL-2 (CD25) и трансферрину (CD71) свидетельствует об усилении готовности иммунокомпетентных клеток отвечать пролиферацией на эндогенные иммунорегуляторные стимулы, в то же время усиленная экспрессия Fas-рецептора (CD95) является маркером негативной активации лимфоцитов.

**Цель.** Оценить соотношение маркеров позитивной и негативной активации лимфоцитов при физиологически протекающей беременности.

**Материалы и методы.** Проведено иммунологическое исследование периферической крови 220 женщин в динамике физиологически протекающей беременности. Группу сравнения составили 70 небеременных женщин благоприятного репродуктивного возраста. Иммунофенотипирование лимфоцитов крови осуществляли методом проточной лазерной цитофлюориметрии на анализаторе "FACS Calibur" фирмы "Becton Dickinson" (США) с использованием наборов МКАТ того же производителя. Уровень экспрессии маркеров активации оценивали в популяции Т-клеток. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ "Statistica for Windows 5.5", достоверность различий между группами оценивали с использованием критерия Манна-Уитни.

**Основные результаты.** В первом триместре неосложненной беременности относительное содержание Т-лимфоцитов, экспрессирующих активационные маркеры CD25, CD71, CD95 статистически значимо повышалось в сравнении с небеременными женщинами (в 1,4 раза, 2,1 и 1,2 раза соответственно), во втором триместре для всех трех маркеров не выявлено достоверных различий с группой сравнения, а к концу гестационного процесса относительное содержание CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>- и CD3<sup>+</sup>CD71<sup>+</sup>- клеток вновь повышалось (в 1,4 и 1,7 раза соответственно), в то время как процент Т-клеток, несущих Fas-антиген, приближался к аналогичному показателю небеременных женщин. Анализ абсолютного содержания лимфоцитов, экспрессирующих вышеуказанные молекулы, показал, что общая численность этих клеток не изменялась на протяжении всей беременности, за исключением CD3<sup>+</sup>CD71<sup>+</sup>-лимфоцитов, количество которых повышалось в ранних сроках беременности в 1,8 раза в сравнении с показателем вне беременности.

**Заключение.** Соотношение клеток, несущих маркеры готовности к пролиферации или активационной гибели, позволяет оценить, по какому пути будет формироваться иммунный ответ беременной женщины на растущую антигенную нагрузку со стороны плода. В ранние сроки неосложненной беременности происходит увеличение количества активированных клеток, причем повышается экспрессия маркеров как позитивной, так и негативной акти-

вации. Увеличение процента клеток, обнаруживающих готовность к апоптозу при наступлении беременности, свидетельствует о возросшей степени подверженности Т-лимфоцитов негативной селекции. В то же время усиление экспрессии Fas-антигена может быть расценено не только как процесс негативной активации клеток, но и как один из важнейших механизмов фетопротекции, который способствует элиминации активированных клонов лимфоцитов. Оценка абсолютного содержания лимфоцитов позволяет сделать вывод, что при физиологически протекающей беременности с ранних сроков преобладают процессы позитивной активации иммунокомпетентных клеток. Изменение соотношения клеток, обнаруживающих готовность к пролиферации или апоптозу может служить проявлением нарушения адаптации женского организма к беременности и критерием риска развития гестационных осложнений.

### **АССОЦИАЦИИ HLA-DRB1\*, IL-1Ra и IL-4 С ГЕРПЕТИЧЕСКИМИ ИНФЕКЦИЯМИ И ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ РАЗВИТИЯ ЦНС У ПЛОДА**

**Шабалдин А.В., Глушкова О.А., Симонова Т.А.**

*Институт экологии человека СО РАН, Кемерово, Россия*

Одной из причин формирования врожденных пороков развития ЦНС у плода (ВПП) могут быть герпетические инфекции: цитомегалия и простой герпес (Шабалов Н.П., 1988). Эти инфекции входят в группу TORCH (токсоплазма, краснуха, цитомегалия и герпес), серодиагностика которой должна проводиться беременным женщинам с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом. В то же время остается открытым вопрос о генетически детерминированной чувствительности индивидуума к этим инфекциям и, как следствие, к индуцированию ВПП. Ответ на этот вопрос улучшит качество ранней диагностики и даст возможность прогнозировать тяжелую патологию раннего онтогенеза. Исходя из этого, целью настоящей работы был поиск ассоциаций HLA-DRB1\*, IL-1Ra, IL-4 с герпетическими инфекциями и ВПП. Обследовано 68 беременных женщин, у которых по данным УЗИ выявлялись ВПП. Контрольную группу составили 132 женщины с физиологической беременностью. В обеих группах проводили молекулярно-генетическое типирование генов HLA-DRB1\*, IL-1Ra и IL-4 с помощью полимеразно-цепной реакции (ПЦР) с аллель-специфическими праймерами и праймерами фланкирующими второй интрон генов интерлейкинов (ООО «СибДНК»). Простой, генитальный герпес (HSV) и цитомегалию (CMV) детектировали с помощью ПЦР (НПФ «ДНК-технологии»), а антитела (АТ) к соответствующим инфекционным антигенам (АГ) классов М и G обнаруживали с помощью иммуноферментного анализа (ЗАО «Вектор-Бест»). С CMV были положительно ассоциированы следующие аллели и генотипы: HLA-DRB1\*11 (18,12% в опыте против 9,91% в контроле,  $p < 0,05$ , RR=2,08; PF = -0,57), HLA-DRB1\*12 (10,87% в опыте против 5,41% в контроле,  $p < 0,05$ , RR=2,48; PF = -0,67) и HLA-DRB1\*11,12 (5,08% в опыте против 0% в контроле,  $p < 0,05$ , RR=30,58; PF = -1,02). Выраженный эффект резистентности к цитомегалии был у лиц гетерозиготных по 2R/4R IL-1Ra (42,79% в опыте против 26,09% в контроле,  $p < 0,05$ , RR=0,47; PF=0,89). Обнаружено, что у женщин с генетическими маркерами CMV, но с отсутствием АТ классов М и G к соответствующим АГ, аллель

HLA-DRB1\*12 встречался достоверно чаще, чем у инфицированных и серопозитивных женщин (40% в опыте против 2,78% в контроле,  $p < 0,05$ ;  $RR = 20,37$ ;  $PF = -1,53$ ). Тем самым, предполагается, что аллель HLA-DRB1\*12 определяет низкий иммунный ответ к АГ CMV, и тем самым способствует инфицированию. Анализ полиморфизма HLA-DRB1\*, IL-1Ra и IL-4 у женщин с ВППП и в контроле показал, что аллель HLA-DRB1\*12 определяет чувствительность к ВППП (11,76% в опыте против 2,18% в контроле,  $p < 0,05$ ;  $RR = 2,36$ ;  $PF = -0,62$ ), а генотип 2R,4R IL-1Ra – резистентность (35,06% в опыте против 54,04% в контроле,  $p < 0,05$ ;  $RR = 0,47$ ;  $PF = 0,81$ ). Ассоциаций женских аллелей и генотипов IL-4 с герпетическими инфекциями и ВППП не обнаружено. Представленные результаты говорят о генетическом детерминировании вирус-индуцированных ВППП через HLA-DRB1\*.

### ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ СУПРУЖЕСКИХ ПАР ПО HLA-DRB1\* ПРИ ПРИВЫЧНОМ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

**Шабалдин А.В., Макаренченко О.С., Симонова Т.А.**

*Институт экологии человека СО РАН,  
Кемерово, Россия*

Исследования последних лет показали неслучайность (ассортативность) в образовании супружеских пар у человека по HLA (Ф. Фогель, 1990; С. Ober, L.R. Weitkamp, N. Cox, 1997). Именно в этом локусе находятся гены, ответственные за иммунные взаимодействия в системе мать-плод (В.И. Говалло, 1987). Этот генетический локус определяет иммунный ответ на все антигены эндогенного и экзогенного происхождения, в том числе и к трансплацентарным инфекциям (В. Venacerraff, 1967; А. McMichael, 1978; M.S. Kruskall, 1992; M.S. Hayney, 1997; В.Ю. Абрамов, 1999). Поэтому на этом этапе могут формироваться супружеские пары, гомологичные по HLA и с чувствительностью к трансплацентарным инфекциям, что может способствовать формированию иммунорепродуктивной патологии (В.И. Говалло, 1987). Исходя из этого, оценили характер образования супружеских пар по HLA-DRB1\* при привычном невынашивании беременности (ПНБ). Для этого провели молекулярно-генетическое типирование HLA-DRB1\* (наборы НПФ «ДНК-диагностика») у 91 семейной пары, где женщины страдали ПНБ (в анамнезе более 2х спонтанных выкидышей в ранние сроки беременности) и у 132 семейных пар - с физиологическими беременностями (контрольная группа). Выявлено, что для контрольной группы получено достоверное отклонение распределения наблюдаемых частот от ожидаемой матрицы встречаемости аллелей HLA-DRB1\* в семейных парах ( $\chi^2 = 183,2276$ ,  $df = 155$ ,  $p < 0,050334$ ), что говорит о наличии в этой группе ассортативности по локусу HLA-DRB1\*. Для отдельных аллелей показано, что в контрольной группе образовывались преимущественно гетерологичные по HLA-DRB1\*04, HLA-DRB1\*11 и HLA-DRB1\*15 семейные пары, и тем самым исключались аллогенные причины невынашивания беременности. В группе с ПНБ частоты наблюдаемых сочетаний аллелей HLA-DRB1\* в семейной паре совпадали с расчетной матрицей ( $\chi^2 = 147,2157$ ,  $df = 142$ ,  $p < 0,364994$ ), что говорит об отсутствии ассортативности по HLA-DRB1\* в этой группе. Образование супружеских пар носило случайный характер. При попарном сравнении отдельных аллелей показано, что в группе с ПНБ преимущественно образо-

вывались семейные пары с общим HLA-DRB1\*11. Тем самым в этой группе создавался прецедент для гомологичности матери и эмбриона по этим аллелям, а также гомозиготности самого плода, и, как следствие, низкого репродуктивного иммунного ответа, приводящего к потере беременности.

### ОСОБЕННОСТИ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ ПРИ НАРУЖНОМ ГЕНИТАЛЬНОМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ

**Шишков Д.Н., Посисеева Л.В.,  
Сотникова Н.Ю., Полумисков Д.М.,  
Добрынина М.Л., Анциферова Ю.С.**

*ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства  
им. В.Н.Городкова Федерального агентства  
по здравоохранению и социальному развитию»,  
Иваново, Россия*

К настоящему времени накоплен огромный фактический материал, свидетельствующий о многочисленных иммунологических изменениях при эндометриозе. Однако имеющиеся данные носят зачастую противоречивый характер, что препятствует обобщению полученных результатов и созданию единой иммунной теории развития эндометриоза. Неоднозначность результатов, по-видимому, может быть связана с тем, что различная степень выраженности и проявления клинических симптомов эндометриоза сопровождается неодинаковой реакцией иммунной системы. Известно, что эндометриоз достаточно часто сочетается с бесплодием. По литературным данным бесплодие встречается у 20-40% женщин, страдающих эндометриозом, но пока еще не ясно, какие механизмы лежат в основе развития эндометриоза, а какие – бесплодия.

**Целью** нашего исследования было провести сравнительный анализ фенотипического и цитокинового профиля лимфоцитов периферической крови и перитонеальной жидкости женщин с наружным эндометриозом в зависимости от наличия у них бесплодия для уточнения роли иммунных факторов в нарушении фертильности при эндометриозе. Материалом для исследования служила периферическая кровь и перитонеальная жидкость: 63 женщин, у которых эндометриоз сочетался с бесплодием, 24 женщин с эндометриозом и ненарушенной фертильностью и 17 практически здоровых женщин, составивших контрольную группу. Обогащенную популяцию лимфоцитов крови и перитонеальной жидкости получали стандартным методом скоростного центрифугирования в градиенте плотности фиколл-верографина. Оценку фенотипа и внутриклеточного синтеза цитокинов лимфоцитами проводили с помощью моноклональных антител (CALTAG Laboratories, USA) методом проточной цитометрии на приборе FACScan (Becton Dickinson, USA). Процедура внутриклеточного окрашивания цитокинов включала также пермеабиллизацию клеточной мембраны, которую проводили с помощью коммерческого набора FIX & PERM (CALTAG Laboratories, USA). Анализ полученных данных показал, что независимо от наличия бесплодия, у женщин с эндометриозом в периферической крови была угнетена по сравнению с показателями контрольной группы экспрессия адгезионных молекул на поверхности ЕК, резко снижалось содержание коммитированных CD45RO<sup>+</sup> лимфоцитов в популяции Т-хелперов и повышалось количество Т-лимфоцитов с TCR рецептором  $\gamma\delta$  типа. В перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом отмечалось



увеличение количества  $TCR\gamma\delta^+$  лимфоцитов и уровня коммитированных ЦТЛ, а также повышение содержания лимфоцитов, экспрессирующих внутриклеточно  $IFN\gamma$ . Ряд изменений системного и локального иммунного ответа отмечался лишь у женщин с эндометриозом, ассоциированным с бесплодием. Так, только в этой клинической группе в периферической крови был резко повышен уровень В-1 лимфоцитов и Th2 клеток с фенотипом  $CD4^+IL-4^+$ . В перитонеальной жидкости женщин с бесплодием при эндометриозе было увеличено содержание Th1 клеток с фенотипом  $CD4^+IFN\gamma^+$  и повышено содержания  $CD11b^+$  ЕК. Таким образом, в основе процессов, обуславливающих формирование эндометриальных гетеротопий и ведущих к нарушению фертильности при эндометриозе, по-видимому, лежат разные иммунные механизмы. Развитие эндометриозных очагов происходит на фоне снижения уровня коммитированных Т-хелперов и угнетения функциональной активности ЕК на системном уровне при усилении цитотоксических реакций, обусловленных ЦТЛ, в перитонеальной жидкости. При нарушениях фертильности у женщин с эндометриозом усиливается дифференцировка периферических Т-хелперов в сторону Th2 типа, а перитонеальных лимфоцитов – в сторону Th1 типа. Вероятно, усиление активности системных иммунных реакций гуморального типа у женщин с эндометриозом может приводить к продукции аутоантител, в том числе, антиэндометриальных и антиспермальных, которые, по мнению многих исследователей, являются непосредственной причиной нарушений фертильности. Локальная стимуляция реакций клеточного иммунитета может обуславливать развитие воспалительного процесса в перитонеальной полости, что также является одним из важных факторов развития бесплодия.

### ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПАЦИЕНТОК С БЕСПЛОДИЕМ, ГОТОВЯЩИМСЯ К ВСПОМОГАТЕЛЬНЫМ РЕПРОДУКТИВНЫМ ТЕХНОЛОГИЯМ

**Ярыгина Т.В., Башмакова Н.В., Чистякова Г.Н.**

*ФГУ «ГУ Уральский НИИ охраны материнства и младенчества» Россия, Екатеринбург*

Проблема лечения бесплодия в настоящее время приобретает не только медицинское, социально-демографическое, но и экономическое значение. Среди супружеских пар детородного возраста частота бесплодия во многих странах, в том числе и в России, достигает 15-17%.

Иммунологические аспекты репродуктивного здоровья – сложная загадка. Однако, роль иммунных факторов неоспорима. В успехе программы экстракорпорального опло-

дотворения особое значение имеет иммунологическая реактивность организма женщины, от состояния которой зависит имплантация перенесенных в полость матки эмбрионов и нормальное развитие беременности.

**Целью** данного исследования было изучение иммунологических особенностей у пациенток, готовящихся к процедуре ЭКО и ПЭ.

**Материалы и методы.** Было обследовано 87 супружеских пар с бесплодием, готовящихся к применению вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Все супружеские пары были разделены на две клинические группы: 1-ю (основную) группу составили 40 супружеских пар с выявленными аутоиммунными заболеваниями.

Во 2-ю группу (группа сравнения) были включены 47 супружеских пар без выявленных в процессе обследования каких-либо аутоиммунных нарушений. Причиной бесплодия в этой группе чаще всего являлось отсутствие или полная непроходимость маточных труб.

Контрольную группу составили 20 здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста.

У всех пациенток определялись: концентрация иммуноглобулинов А, М и G в сыворотке крови, факторы клеточного иммунитета ( $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD4^+/CD8^+$ ,  $CD16/56$ ), циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК).

Также у обследуемых пациенток определялись следующие маркеры аутоиммунных заболеваний: антикардиолипиновые антитела (АКЛА) класса IgG и IgM, антитела к b-2 гликопротеину1 (АТ b2-ГП1), антитела к ДНК (АТ ДНК), антитела к экстрагируемому ядерному комплексу (АТ ЭЯК), антиовариальные антитела, антинуклеарные антитела (АНА), антитела к тиреопироксидазе (АТ ТПО).

Количественное определение иммуноглобулинов в сыворотке крови проводили стандартным методом радиальной иммунодиффузии в агаровом геле, насыщенном диагностической сывороткой против иммуноглобулинов определенного класса по методу Mancini.

Идентификацию лимфоцитов проводили в реакции прямой иммунофлюоресценции на проточном цитофлуориметре фирмы «Vecton Dickinson» (Германия) с использованием диагностических наборов «Simultest IMK Lymphocyte» с помощью моноклональных антител (МкАТ), меченых ФИТЦ и фикоэритрином (ФЭ), против  $CD3^+$ ,  $CD4^+$  и  $CD8^+$ -Т-клеточных маркеров, МкАТ против  $CD16/56$  для идентификации популяции NK-лимфоцитов.

Количество циркулирующих иммунных комплексов определяли методом В.Гашковой и соавт. (1979) в модификации Ю.Гриневич путем осаждения полиэтиленгликолем (ММ 6000) с последующим измерением светорассеивания исследуемых образцов сыворотки спектрофото-

ТАБЛИЦА

Показатели	Основная группа n=40	Группа сравнения n=47	Контрольная группа n=20
$CD4^+$ - лимфоциты, $10^9$	0,95±0,3	1,14±0,4	1,02±0,36
$CD4^+$ - лимфоциты, %	45,08±6,01	47,29±6,88	43,59±7,27
$CD8^+$ - лимфоциты, $10^9$	0,62±0,28	0,66±0,27	0,63±0,23
$CD8^+$ - лимфоциты, %	28,42± 6,92	25,32±5,17	26,94±6,15
$CD16/56$ -лимфоциты, $10^9$	0,3±0,11	0,36±0,17	0,35±0,2
$CD16/56$ - лимфоциты,%	14,13±4,09	15,29±7,0	14,4±7,0
$CD4/CD8$	1,65±0,57	1,98±0,61	1,72±0,55
IgG	14,02±4,4	14,99±5,34	14,18±4,52
IgM	2,27±0,74	2,08±0,98	2,37±0,91
IgA	1,81±0,6	2,01±0,75	2,02±0,75
ЦИК	73,11±28,25	67,24±27,8	51,73±23,4

метрий на СФ-46. Результаты оценивали в единицах экстинции.

Исследования маркеров аутоиммунных заболеваний проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа, основанного на иммуноферментной реакции антиген-антитело с последующим окрашиванием конечного продукта и оценкой результатов на фотометре. Методика постановки реакции и оценка результатов проводилась в соответствии с рекомендациями фирм-изготовителей.

Средний возраст женщин в основной группе составил  $32,1 \pm 4,3$  года, в группе сравнения  $31,2 \pm 4,7$  года.

Длительность бесплодия в основной группе составила  $6,5 \pm 3,3$  лет, в группе сравнения  $7,2 \pm 4,2$  лет.

Количество предыдущих попыток ЭКО и ПЭ составило: в основной группе от 0 до 9, в среднем –  $2,0 \pm 1,2$ ; в группе сравнения от 0 до 3, в среднем –  $0,4 \pm 0,8$  попытки.

Показатели циркуляции аутоиммунных антител в крови пациенток исследуемых групп были следующие: АКЛА

(IgM) составили  $2,66 \pm 3,33$  Е/мл в основной группе,  $1,85 \pm 1,49$  Е/мл в группе сравнения; АКЛА (IgG) –  $4,15 \pm 3,97$  Е/мл и  $3,34 \pm 2,12$  Е/мл, соответственно; b2-гликопротеин1 –  $3,47 \pm 4,0$  Е/мл и  $3,39 \pm 2,12$  Е/мл; АТ ДНК  $9,1 \pm 21,93$  Е/мл и  $7,34 \pm 4,22$  Е/мл; АТ ЭЯК  $2,74 \pm 8,69$  Е/мл и  $2,0 \pm 4,68$  Е/мл; антиовариальные АТ  $5,44 \pm 2,58$  Е/мл и  $7,37 \pm 3,08$  Е/мл; антинуклеарные АТ  $0,05 \pm 0,08$  Е/мл и  $0,04 \pm 0,07$  Е/мл, соответственно.

Показатели факторов клеточного и гуморального иммунитета у пациенток исследуемых групп представлены в таблице.

Показатели клеточного иммунитета и концентрация иммуноглобулинов не имели существенных различий между группами, однако, количество ЦИК было выше в основной группе по сравнению с группой сравнения и контрольной, что подтверждает аутоиммунный компонент патогенеза бесплодия в данной группе пациенток.