

ИММУНОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИИ

ОЦЕНКА ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕЙКОЦИТОВ ПУПОВИННОЙ КРОВИ ДЕТЕЙ У МАТЕРЕЙ ГРУППЫ РИСКА

Авхачева Н.В., Матвеева Н.К.*, Мальцева В.Н.,
Бондарь О.Е.*, Сафронова В.Г., Ванько Л.В.*,
Пономарева Л.П.*, Сухих Г.Т.*

Институт биофизики клетки РАН, Пушкино,
Россия; *Научный центр акушерства, гинекологии
и перинатологии РАМН, Москва, Россия

Способность гранулоцитов генерировать активные формы кислорода (АФК) является важным компонентом врожденного иммунитета и обеспечивает защиту против бактериальной инфекции. Организм новорожденных более подвержен бактериальным инфекциям, чем организм взрослого человека [1]. Заболевания матери во время беременности могут влиять на формирование иммунитета ребенка. Целью данной работы было определить способность клеток крови у детей, рожденных от матерей группы риска, к продукции АФК и выявить возможные изменения внутриклеточной сигнализации, участвующей в этом процессе. Группу I составили здоровые новорожденные от матерей с физиологическим течением беременности. Группы II и III составили дети от матерей с осложненным течением беременности: с нормальным течением неонатального периода (II) и с угрозой инфекционного риска (III). Был определен фенотипический состав популяций клеток пуповинной крови и крови новорожденных (5-7 сутки жизни). Продукцию АФК определяли методом хемилюминесцентного анализа. Уровень спонтанной продукции АФК в I и II группах был практически одинаковым, тогда как в пуповинной крови детей III группы он был понижен. Амплитуда ответа клеток крови на опсонизированный зимозан, который характеризует их фагоцитарную активность, была снижена в группах с осложненным течением беременности, по сравнению с группой с нормальным течением беременности. У детей I группы к 5-7 суткам жизни этот показатель был значительно ниже в периферической крови, тогда как у детей группы II оставался без изменений. При рассмотрении изолированных гранулоцитов крови у детей из группы II и III наблюдалась тенденция к снижению спонтанной продукции АФК. Также в данных группах наблюдались изменения в продукции АФК изолированными гранулоцитами в ответ на хемотаксический пептид *N-formyl-Met-Leu-Phe* (fMLF). С помощью специфических ингибиторов была оценена роль тирозиновых протеинкиназ, тирозиновых фосфатаз, митоген-активируемой протеинкиназы p38 и фосфатидилинозитол 3-киназы в регуляции продукции АФК покоящимися и активированными fMLF гранулоцитами. Параллельное исследование иммунного статуса детей указанных групп показало, что в пуповинной крови детей всех групп содержание CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов ниже, чем в периферической крови, тогда как содержание CD16⁺ и CD19⁺ клеток выше в пуповинной крови. При динамическом наблюдении параметров иммунитета у детей всех групп выявлено увеличение содер-

жания CD3⁺ и CD4⁺-лимфоцитов. Наблюдался высокий уровень корреляции между изменениями иммунного статуса и активности фагоцитов крови. Полученные результаты свидетельствуют об отклонениях в процессах формирования иммунных реакций и их регуляции у новорожденных детей с риском развития инфекционно-воспалительной патологии.

Литература:

1. Komatsu H., Tsukimori K., Hata K., Satoh S., Nakano H. The characterization of superoxide production of human neonatal neutrophil. *Early Human Development*, 2001. 65:11–19.

ОСОБЕННОСТИ ВЫЯВЛЕНИЯ ТЕСТИКУЛЯРНОЙ ИЗОФОРМЫ АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА НА ПОВЕРХНОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ ЧЕЛОВЕКА

Алексинская М.А. *, Николаева М.А. **, Елистратов О. С. *, Сухих Г.Т. **, Данилов С.М. ***

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

**Научный Центр Акушерства, Гинекологии и
Перинатологии, Москва, Россия;

***Университет Иллинойса, Чикаго, США

Ангиотензин-превращающий фермент (АПФ) (АСЕ, CD143) – цинкзависимая пептидил-дипептидаза, регулирующая давление крови и гомеостаз электролитов. АПФ представлен двумя изоформами: тестикулярной (тАПФ) и соматической (сАПФ). Экспрессия сАПФ обнаружена на поверхности эндотелиальных клеток легких, эпителиальных клеток кишечника, проксимальных канальцев почек, нейроэпителиальных клеток мозга, а так же в клетках Лейдига. Тестикулярная изоформа АПФ экспрессируется только на сперматозоидах и незрелых клетках сперматогенеза.

До сих пор не существует единой точки зрения на роль АПФ в процессе репродукции. Известно, что у мышей нокаут гена, кодирующего АПФ, не влияет на число сперматозоидов, их подвижность и морфологию, но такие клетки не способны проникать через половые пути самок и оплодотворять яйцеклетку. При исследовании экспрессии АПФ на поверхности сперматозоидов человека были получены противоречивые данные.

Целью исследования являлась количественная оценка экспрессии тАПФ на поверхности сперматозоидов человека с использованием впервые полученных (Данилов, США) и охарактеризованных нами моноклональных антител (МАТ) к тАПФ: 1Е10. Уровень соматической изоформы, которая могла неспецифически сорбироваться из семенной жидкости, контролировали, используя специфические и широко применяемые для сАПФ МАТ: i2H5+9B9.

Анализировали связывание МАТ с поверхностью живых и фиксированных (метанол, -20°C, 24 часа) сперматозоидов нативной спермы и активно-подвижных клеток,

полученных методом флотации. Для сравнения уровня экспрессии тАПФ на нормальных и функционально-патологических сперматозоидах эякуляты были разделены на фракции в градиенте Percoll. С помощью проточной цитометрии определяли процент АПФ-позитивных (ПЦМ%) клеток и относительную интенсивность флуоресценции (ОИФ), отражающую количество МАТ, связавшихся с АПФ на каждой клетке. Проанализировано 20 эякулятов здоровых доноров.

Было показано, что МАТ 1Е10 специфичны к тАПФ, которая выявляется на поверхности 12–99% сперматозоидов, и не связываются с сАПФ. На живых клетках выявлен более высокий уровень тАПФ ($P=0,01$) во фракции содержащей, функционально-активные сперматозоиды (ПЦМ%=78,7%) по сравнению с фракцией содержащей сперматозоиды с нарушенной оплодотворяющей способностью (ПЦМ%=51,4%). При анализе живых клеток нативной спермы получены положительная корреляция между уровнем тАПФ и процентом клеток с нормальной морфологией головки ($r=0,62$, $P<0,05$ для ПЦМ%). В тоже время, при фиксации сперматозоидов более высокий уровень тАПФ ($P=0,01$) был обнаружен во фракции с нарушенной оплодотворяющей способностью (ПЦМ%=90,0%). При этом наблюдалась положительная корреляция между уровнем тАПФ и процентом клеток с патологической морфологией хвоста ($r=0,84$, $P<0,01$ для ОИФ). Эти данные говорят о высокой вероятности шеддинга тАПФ с поверхности сперматозоидов с нарушенной оплодотворяющей способностью, который происходит в результате экспериментальных манипуляций с живыми клетками.

При фиксации метанолом в обеих фракциях выявлялось значительное количество сАПФ-позитивных сперматозоидов (35,5–37,8%), в то время как на живых клетках сАПФ практически не обнаруживалась (0,7–1,2%). Присутствие значительного количества неспецифически адсорбированной сАПФ, которая также удаляется во время экспериментальных манипуляций с живыми клетками, делает необходимым постоянный контроль уровня сАПФ, при анализе взаимосвязи между уровнем тАПФ на поверхности сперматозоидов и их оплодотворяющей способностью.

Эти данные являются основой для проведения дальнейших исследований по оценке клинической значимости экспрессии тАПФ при диагностике некоторых форм мужского бесплодия.

Работа поддержана РФФИ (грант N 04-04-48862).

РОЛЬ ИММУННЫХ МЕХАНИЗМОВ В РАЗВИТИИ ЭНДОМЕТРИОИДНЫХ ОЧАГОВ РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

Анциферова Ю.С., Сотникова Н.Ю.,
Посисеева Л.В., Шор А.Л., Малышкина А.И.,
Посисеев Д.В.

ГУ «Ивановский НИИ материнства и детства
им. В.Н. Городкова МЗ РФ», Иваново, Россия

Генитальный эндометриоз встречается в среднем у 10–12% женщин репродуктивного возраста и является одним из наиболее распространенных гинекологических заболеваний, патогенез которого полностью до конца не установлен.

Целью нашей работы было уточнить иммунные механизмы, участвующие в развитии эндометриоидных очагов и определяющие их локализацию, а также выявить им-

мунные механизмы регуляции апоптоза стромальных клеток очагов эндометриоза. Нами было проведено иммунологическое обследование 180 женщин, объединенных в 3 клинические группы наблюдения: 1 – 54 женщины с наружным генитальным эндометриозом, 2 – 61 женщина с внутренним эндометриозом, 3 – 65 здоровых на момент обследования женщин (контрольная группа). Материалом для исследования служила периферическая кровь, биоптаты эндометрия из полости матки (эутопический эндометрий) и биоптаты эндометрия из эндометриоидных очагов (эктопический эндометрий). Фенотипирование клеток, оценку внутриклеточного синтеза цитокинов и апоптоза проводили методом проточной цитометрии, количественную оценку экспрессии мРНК цитокинов проводили методом *real-time RT-PCR*, продукцию цитокинов в культуре *in vitro* оценивали с помощью ИФА. Было установлено, что основные иммунологические изменения, приводящие к формированию эндометриоидных гетеротопий и обеспечивающие их рост, происходят непосредственно в ткани эндометрия. На уровне эутопического эндометрия происходит активация популяции Th1 регуляторных Т-хелперов и усиливается продукция ростовых факторов эндометриальными макрофагами, что может определять высокую инвазивность и имплантационный потенциал эндометриальных клеток. На уровне эктопического эндометрия повышенная жизнеспособность имплантировавшихся эндометриальных клеток обеспечивается другой популяцией регуляторных Т-хелперов – Th3 лимфоцитами, синтезирующими TGF β , который подавляет функцию ЦТЛ в эндометриоидной ткани. Особенности локализации эндометриоидных очагов в организме зависят от типа иммунного ответа, определяемого сдвигом дифференцировки Th1 и Th2 лимфоцитов. Развитие и рост очагов эндометриоза в перитонеальной полости происходят на фоне сдвига системной и локальной дифференцировки Т-хелперов в сторону Th2, которое проявляется усилением синтеза и продукции IL-4 и IL-6, снижением пула клеток памяти и уровня IFN γ в периферической крови, увеличением количества и уровня активации В-лимфоцитов в эутопическом эндометрии, усилением реакций, обусловленных В-1 и $\gamma\delta$ Т-клетками, и высокой продукцией IL-4 в эктопическом эндометрии. Развитие очагов эндометриоза в мышечной стенке матки при внутреннем эндометриозе связано с активацией системных и локальных воспалительных реакций, обусловленных Th1 типом иммунного ответа. Это проявляется усилением синтеза и продукции IFN γ , повышением уровня активированных лимфоцитов на системном уровне, снижением содержания и уровня активации В-лимфоцитов в эутопическом эндометрии, повышением количества различных популяций ЕК в эктопическом эндометрии и усилением продукции провоспалительных цитокинов эндометриальными макрофагами. Особое значение в патогенетических механизмах развития эндометриоза играет нарушение апоптоза и его регуляции. Развитие как наружного, так и внутреннего эндометриоза происходит на фоне угнетения апоптоза лимфоцитов на системном и локальном уровне. Кроме того, нами было установлено, что на поверхности стромальных клеток эутопического и эктопического эндометрия снижена экспрессия Fas молекул, что свидетельствует о нарушении готовности этих клеток к апоптозу. Отличительной особенностью стромальных клеток эндометриоидных очагов различной локализации было повышение экспрессии на их поверхности FasL молекул, что может быть одним из

механизмов, обуславливающих способность клеток очагов эндометриоза избегать атаки со стороны цитотоксических лимфоцитов. В серии экспериментов *in vitro* нами было установлено, что регуляция экспрессии Fas и FasL молекул эндометриальными стромальными клетками осуществляется цитокинами, продуцируемыми мононуклеарными клетками эндометриальных очагов, в частности – TGF β , который снижает готовность эндометриальных стромальных клеток к апоптозу, одновременно усиливая экспрессию FasL на поверхности стромальных клеток эндометрия здоровых женщин.

Работа поддержана грантом Президента РФ НШ-2245.2003.4.

ВЗАИМОСВЯЗЬ КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ В ДО- И ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДАХ У ЖЕНЩИН С АБДОМИНАЛЬНЫМ РОДОРАЗРЕШЕНИЕМ

Беловолова Р.А., Евдокимова И.А.,
Беловолова Е.В.

РостГМУ, городская больница № 20,
Ростов-на-Дону, Россия

Участие иммунологических механизмов в течении беременности, до- и послеродового периодов, динамики послеродовой инволюции матки показано с помощью проведенного корреляционно-регрессионного анализа.

Обследовано 46 женщин в 38-40 недель беременности и на 7-е сутки после абдоминального родоразрешения. Клиническое состояние беременных оценивали с помощью разработанной бальной системы; определяли факторы общего (содержание субпопуляций лимфоцитов с маркерами CD3 $^{+}$, CD4 $^{+}$, CD8 $^{+}$, CD16 $^{+}$, CD20 $^{+}$, CD25 $^{+}$, HLA-DR $^{+}$, сывороточных иммуноглобулинов основных классов М, G, А; ЦИК, лизоцимной активности сыворотки крови, уровня молекул средней массы) и местного (содержание иммуноглобулинов G, А и sIgA, лизоцима цервикальной слизи) иммунитета; послеродовую инволюцию матки определяли эхосонографией ее размеров. Наличие корреляционной зависимости изучалось с помощью статистического анализа с использованием коэффициента Спирмэна.

Выявлена прямая корреляционная зависимость между количеством баллов оценки клинического состояния беременных, и числом лейкоцитов периферической крови ($R_s=+0,306$), уровнем ЛИИ ($R_s=+0,318$), количеством CD20 $^{+}$ -лимфоцитов ($R_s=+0,298$), уровнем сывороточного IgM ($R_s=+0,372$) и обратная зависимость с количеством CD2 $^{+}$ -лимфоцитов ($R_s=-0,352$), CD16 $^{+}$ -лимфоцитов ($R_s=-0,330$), уровнем IgG цервикального секрета ($R_s=-0,317$), определяемом в родовом периоде. Закономерно выявлялась положительная корреляция между количеством лейкоцитов, лимфоцитов и абсолютным содержанием всех субпопуляций Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и НК; между относительным содержанием общих Т-лимфоцитов и их субпопуляций. Обнаружена прямая корреляционная зависимость уровня CD3 $^{+}$ -лимфоцитов и сывороточного IgM. Содержание CD4 $^{+}$ -лимфоцитов коррелирует с CD25 $^{+}$ -лимфоцитами. Уровень CD20 $^{+}$ -лимфоцитов коррелирует с содержанием CD25 $^{+}$ - и HLA-DR $^{+}$ -лимфоцитов. Прослежены корреляционные связи между показателями клеточного и гуморального звеньев иммунитета и размерами матки. Объем матки на 3-е и 5-е сутки после абдоминального родоразрешения имеет прямую корреляционную зависимость с содержанием моно-

цитов и количеством цитотоксических Т-лимфоцитов. На 7-е сутки после операции объем матки положительно коррелирует с ИРИ и отрицательно – с содержанием CD3 $^{+}$ - и CD8 $^{+}$ - лимфоцитов. Степень инволюции матки прямо коррелирует с уровнем CD3 $^{+}$ и CD4 $^{+}$ - лимфоцитов, т.е. высокое содержание CD4 $^{+}$ -лимфоцитов сочетается с большим объемом матки, что указывает на замедленную ее инволюцию и является неблагоприятным признаком течения послеоперационного периода. Более высокое содержание CD8 $^{+}$ -лимфоцитов коррелирует с более низкими размерами матки, что отражает более интенсивную ее инволюцию.

Таким образом, послеродовая инволюция матки сопровождается изменениями соотношения иммунорегуляторных Т-лимфоцитов: увеличение количества CD8 $^{+}$ -лимфоцитов коррелирует с выраженной инволюцией матки, замедленная инволюция матки коррелирует в увеличением количества CD4 $^{+}$ -лимфоцитов, которые вероятно являются иммунологическим признаком воспалительного процесса.

УРОВНИ ЦИТОКИНОВ КАК ФАКТОР ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЕЧЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Буйнова А.Н., Москалев А.В., Осипова О.Н.,
Потапова Л.А., Ляшенко О.В., Выборнова Н.Б.

Военно-медицинская академия,
Северо-Западный окружной медицинский центр,
Санкт-Петербург, Россия

Введение. Несмотря на изученные многочисленные факторы, осложняющие течение беременности у женщин фертильного возраста, остается много неясного. Так в большинстве работ показано, что герпетическая, цитомегаловирусная, урогенитальная, токсоплазменная инфекции (TORCH-инфекции) являются основой последующего развития неврологических, соматических и эндокринных осложнений со стороны плода и новорожденного. Однако, несмотря на достаточно высокий процент инфицированности беременных женщин вирусами семейства *Herpesviridae* (80-90%), токсоплазменной, хламидийной и микоплазменной инфекциями (до 40%) осложнения со стороны плода выявляются гораздо в меньшем проценте случаев.

Цель и задачи исследования. На основании изучения уровней цитокинов (IL-1 β , TNF α , IFN γ , IL-10), иммуноглобулинов класса G (IgG) выявить возможные осложнения течения беременности у женщин с TORCH-инфекцией.

Материалы и методы. Обследовано 17 беременных женщин с TORCH-инфекцией в возрасте от 22 до 29 лет в сроке гестации 16-18 недель. Уровни цитокинов IL-1 β , TNF α , IFN γ , IL-10 изучали с помощью диагностических тест-систем ООО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург), уровни IgG по Manchini.

Результаты. Аномалии со стороны развития плода были выявлены у 5 женщин (29,4%) - I группа. Без аномалий развития со стороны плода – 12 женщин (70,6%) – II группа. Уровни IL-1 β , IFN γ , IL-10 в I группе были достоверно выше, чем во II группе ($p<0,05$), уровни TNF α имели тенденцию к увеличению, но не были достоверными с показателями II группы. Уровни IgG также были достоверно выше в I группе ($p<0,01$).

Заключение. Выявленные особенности иммунного ответа у беременных женщин с TORCH-инфекцией позво-

ляют сделать предварительные выводы. В большинстве случаев, несмотря на наличие инфекционного фактора, отсутствуют осложнения со стороны плода, видимо, это зависит от состояния иммунного гомеостаза беременной, т.е. взаимоотношения инфек-иммунная система. Отсутствие значительных сдвигов в уровнях провоспалительных цитокинов во II группе способствует, на наш взгляд, оптимальному соотношению Th1/Th2, которое оптимально регулирует иммунный гомеостаз в условиях воздействия инфекта и не нарушает нормального хода беременности.

В I группе выявлено смещение развития иммунного ответа по Th2-типу, подтвержденное повышенными уровнями IL-10 и IgG. Способность специфических IgG матери преодолевать плацентарный барьер, видимо, приводит к негативному влиянию на внутриутробное развитие плода и способствует его аномалии.

Таким образом, стойкое изменение уровней IL-1 β , IFN γ , IL-10, IgG в сторону увеличения у беременных с TORCH-инфекцией в I триместре может рассматриваться как неблагоприятный фактор, позволяющий еще на доклинических стадиях выявить формирующуюся патологию плода.

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОК С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Велижинская Т.А., Тухбатуллин М.Г., Голованова С.Ю., Сабинова В.Л., Ситкина К.В., Крайнова Н.В.

Республиканская клиническая больница № 2 МЗ РТ, Центр планирования семьи и репродукции РКБ № 1 МЗ РТ, Казань, Россия

Проблемы, связанные с невынашиванием беременности, на фоне дефицита рождаемости в нашей стране стали особенно актуальными. Причины невынашивания беременности могут быть многочисленными и разными, в том числе иммунной природы. Реактивность материнской иммунной системы на антигены отца представляет собой угрозу успешного вынашивания беременности. Таким образом, существуют адаптивные механизмы, снижающие материнские анти-фетальные иммунные реакции. Эти процессы характеризуются изменением активности распределения различных субпопуляций лимфоцитов периферической крови.

Целью работы было исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у пациенток с привычным невынашиванием беременности (ПНБ). Иммунофенотипирование проводилось методом лазерной проточной цитофлуориметрии на приборе FACS Calibur фирмы Becton Dickinson (USA), оснащенном двумя лазерами, с применением двух и трех-параметрического анализа, позволяющего максимально корректно определять субпопуляции иммунокомпетентных клеток. Исследовались следующие дифференцировочные маркеры: CD45 $^{+}$ /CD14 $^{-}$, CD3 $^{+}$ /CD19 $^{+}$ /CD5 $^{+}$, CD3 $^{+}$ /CD4 $^{+}$ /HLA-DR $^{+}$, CD3 $^{+}$ /CD8 $^{+}$ /HLA-DR $^{+}$, CD3 $^{+}$ /CD16 $^{+}$ 56 $^{+}$, CD3 $^{+}$ /CD16 $^{+}$ 56 $^{+}$.

Исследование было проведено на 54 небеременных женщинах, имевших в анамнезе более 2 случаев самопроизвольного прерывания беременности. У 25 пациенток было выявлено повышенное содержание (15-30%) клеток с фенотипами CD3 $^{+}$ /CD16 $^{+}$ 56 $^{+}$, CD3 $^{+}$ /CD16 $^{+}$ 56 $^{+}$. Повышение содержания лимфоцитов данной популяции было

статистически достоверным. Уровень их выше 15% коррелировал с прерыванием беременности в 1 триместре беременности. У 16 пациенток наблюдалось сочетанное повышение субпопуляций CD3 $^{+}$ /CD16 $^{+}$ 56 $^{+}$, CD3 $^{+}$ /CD16 $^{+}$ 56 $^{+}$ и CD19 $^{+}$ /CD5 $^{+}$. Две пациентки имели изолированное повышение популяции CD19 $^{+}$ /CD5 $^{+}$. Изменения в популяциях CD3 $^{+}$, CD4 $^{+}$, CD8 $^{+}$, HLA-DR $^{+}$ имели разнонаправленный характер.

Таким образом, у пациенток с ПНБ наблюдается значительное увеличение NK и NKT клеток, что, возможно, объясняется способностью этих клеток, благодаря наличию на поверхности молекул адгезии, прилипать к клеткам плаценты и оказывать цитотоксическое действие с помощью продуцируемого фактора некроза опухоли. Увеличение содержания CD19 $^{+}$ /CD5 $^{+}$ также коррелировало с потерей беременности. Известно, что увеличение содержания этой субпопуляции сопровождается продукцией поликлональных антител к гормонам, рецепторам гормонов и нейротрансмиттерам, что, возможно, является причиной невынашивания беременности. Результаты данного исследования подтверждают, что в генезе ПНБ существенную роль играют процессы активирования иммунокомпетентных клеток, которые могут характеризовать репродуктивный фенотип. Следовательно, изучение иммунного статуса беременных может иметь важное значение в доклиническом прогнозировании неблагоприятного исхода беременности.

CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$ Т-КЛЕТКИ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОК С НАРУШЕННОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИЕЙ

Голованова С.Ю., Сабинова В.Л., Велижинская Т.А., Ситкина К.В., Крайнова Н.В.

Центр планирования семьи и репродукции Республиканской клинической больницы № 1 МЗ РТ, РКБ № 2 МЗ РТ, Казань, Россия

Беременность женщины представляет собой ситуацию семиллотрансплантата к организму матери из-за наличия продуктов наследуемых генов отца и выработки уникальных дифференцировочных антигенов. Поэтому, очевидно, что толерантность к фетальному аллотрансплантату представляет собой механизм сохранения беременности. В связи с этим, особый интерес вызывают CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$ Т-клетки, которым в последнее время приписывается важная роль в поддержании толерантности к плоду. Наблюдения, исследующие уровень лимфоцитов данного фенотипа, являются достаточно противоречивыми. Некоторые из них показывают, что нормальная беременность характеризуется снижением числа активированных фенотипов Т-клеток, включая хелперы/индукторы (CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$), активированных лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR (CD3 $^{+}$ HLA-DR $^{+}$).

Целью работы было исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у пациенток с репродуктивными потерями. Исследование проводили на двух-лазерном проточном цитофлуориметре FACS Calibur фирмы Becton Dickinson (USA), с использованием наборов для иммунофенотипирования «IMK Plus» Kit фирмы Becton Dickinson (USA). Дополнительно изучали спонтанную экспрессию молекул CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$ в клетках периферической крови. Для изучения использовали трехцветное окрашивание.

В представленном исследовании было обследовано 66 небеременных женщин с отягощенным акушерским анам-

незом. Из них 40 пациенток – с привычным невынашиванием беременности (имевших от двух до шести случаев потери беременности), 16 пациенток с бесплодием (первичным и вторичным) и 10 пациенток, имевших в анамнезе от одной до трех неудачных попыток экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона. В изучаемую группу не были включены пациентки, имевшие эндокринные, инфекционные, генетические и анатомические причины репродуктивных неудач. Группу контроля составили 10 небеременных женщин фертильного возраста, имевших в анамнезе как минимум одну благополучно завершившуюся беременность.

Согласно полученным результатам, спонтанное повышение популяции CD4⁺CD25⁺ наблюдалось у 22 (55%) пациенток из группы с привычным невынашиванием беременности, у 8 (50%) из группы с бесплодием и у 6 (60%) пациенток с неудачной попыткой экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона. Снижение спонтанной экспрессии CD4⁺CD25⁺ наблюдалось у 7 (17,5%), 4 (25%) и 2 (20%) пациенток соответственно перечисленным группам. В группе контроля повышение спонтанной экспрессии наблюдалось у 1 (10%) женщины, снижение – у 2 (20%).

Таким образом, следует полагать, что наблюдаемое повышение спонтанной экспрессии субпопуляции CD4⁺CD25⁺ у обследованных пациенток с привычным невынашиванием беременности, бесплодием и неудачными попытками экстракорпорального оплодотворения может быть прогностически неблагоприятным показателем. Полученные данные требуют дальнейшего изучения.

НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА ТЯЖЕСТИ ПЕРИНАТАЛЬНОГО ГИПОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ МОЗГА У НОВОРОЖДЕННЫХ

Голосная Г.С., Терентьев А.А.

ГОУ ВПО Российский Государственный
Медицинский Университет, Москва, Россия

Цель исследования: изучение сыровоточного уровня маркера апоптоза «рецептора смерти» DR5 и молекулы клеточной адгезии ALCAM и их роли в патогенезе гипоксического перинатального поражения ЦНС у новорожденных с перинатальными гипоксическими поражениями головного мозга.

Материалы и методы. Обследовано 75 детей с гестационным возрастом от 25 до 42 недель. Дети разделены 4 группы по результатам нейросонографии (НСГ): I группа: на НСГ не отмечалось изменений (30 детей); II группа: перивентрикулярная лейкомаляция (15 детей); III группа: внутрижелудочковые кровоизлияния (15 детей); IV группа: сочетание внутрижелудочкового кровоизлияния и перивентрикулярной лейкомаляции (15 детей). Контрольная группа (20 здоровых новорожденных). Все дети имели признаки тяжелого перинатального гипоксического поражения ЦНС. Основными клиническими проявлениями были: угнетение ЦНС (68), судороги (25), кома (4). Определение сыровоточного уровня DR5 проводилось твердофазным иммуноферментным методом с помощью тест-систем фирмы Biosource (Бельгия), однократно в возрасте 24-48 часов жизни, когда регистрируется максимальное количество апоптозных клеток. Определение сыровоточного уровня ALCAM проводилось с помощью тест-систем фирмы R&D systems (Англия), в возрасте 1-2; 5-7 и 12-14 суток жизни. Нормальные значения

для ALCAM 0,013-0,06 нг/мл. Нормальные значения DR5: 1,24-8,67 нг/мл.

Результаты. Концентрация DR5 была значительно повышена по сравнению с нормой во всех группах: в I группе уровень превышал верхнюю границу нормы в 1,2-2 раза, то во II и III группах – в 8,5 раз, а в группе у новорожденных с комбинированным поражением – в 11,5 раз и составляла соответственно: $10,35 \pm 9,98$; $74,4 \pm 38,99$ и $100,72 \pm 27,22$ нг/мл. Максимальное повышение проапоптотического фактора регистрировалось у умерших новорожденных с ПВЛ, уровень превышал верхнюю границу нормы в 18 раз. У выживших новорожденных только в I-й группе не было достоверных различий с нормативными показателями ($p > 0.01$), в группах с изменениями на НСГ – отмечалось повышение сыровоточного уровня DR5 в 7-10 раз ($p < 0.01$). Концентрация DR5 в сыровотке крови обратно коррелировала с оценкой по Апгар на 1-й минуте ($R = -0,64$ во II и III группах и $R = -0,92$ в IV группе), прямо – с неблагоприятным исходом (смертью) $R = 0,79$. Нами было выявлено, что максимальные значения ALCAM у всех обследованных детей были в первые 48 часов жизни, затем отмечалось снижение ко второй неделе. У новорожденных первой группы средние значения в при первой пробе составляли $1,2 \pm 0,4$ нг/мл. Ко второй неделе снижались до $0,7 \pm 0,35$ нг/мл. У детей со структурными изменениями на НСГ не было отмечено достоверной разницы в показателях (по методу Манна-Уитни): средние значения ALCAM при первой пробе составляли $3,76 \pm 1,3$ нг/мл; к 5-7 суткам жизни $2,3 \pm 0,8$ нг/мл, а к 14 суткам – $1,9 \pm 0,65$ нг/мл. Максимальные показатели сыровоточного уровня ALCAM были отмечены в первые 48 часов жизни у новорожденных с летальным исходом: от 3,8 до 4,88 нг/мл.

Заключение. Повышение сыровоточного уровня маркера апоптоза DR5 у новорожденных с постгипоксическими структурными изменениями головного мозга подтверждает, что при активном процессе апоптоза увеличивается количество погибших клеток. Механизмы апоптоза включаются позже быстрых реакций некротических каскадов и принимают участие в «доформировывании» очагов повреждения. Изменения тканей под влиянием острой гипоксии головного мозга на фоне хронической внутриутробной гипоксии у новорожденных приводит к усилению адгезивности лейкоцитов к эндотелию микрососудов. Повышается накопление лейкоцитов, что приводит к окклюзии сосудов, нарушается венозный отток, создавая условия для структурных изменений головного мозга у новорожденных. Повышение уровня ALCAM также подтверждает участие воспалительных механизмов в формировании внутрижелудочковых кровоизлияний и перивентрикулярной лейкомаляции.

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ 8 И 10 В РАЗВИТИИ СИНДРОМА ДЫХАТЕЛЬНЫХ РАССТРОЙСТВ У НОВОРОЖДЕННЫХ

Данилко К.В.¹, Богданова Р.З.², Фатыхова
А.З.², Викторова Т.В.^{1,2}, Викторов В.В.²

¹Институт биохимии и генетики Уфимского
Научного Центра РАН, Уфа, Россия; ²Башкирский
государственный медицинский университет,
Уфа, Россия

Введение. Непосредственной причиной развития синдрома дыхательных расстройств (СДР) является неадекватная функция альвеолярного сурфактанта. Это много-

компонентное вещество, выстилая внутреннюю поверхность альвеол, может контактировать со всеми иммунными клетками, выходящими в просвет альвеол и оказывать влияние на их пролиферативную активность и продуцирование цитокинов. В свою очередь, цитокины могут регулировать метаболизм сурфактанта. Так или иначе, наследование того или иного полиморфного варианта генов про- и противовоспалительных цитокинов: интерлейкина 8 и 10 (IL-8 и IL-10), например, – может вносить вклад в развитие СДР у новорожденных и изменять эффективность механизмов общей защиты в легких.

Целью исследования является выяснение роли полиморфизмов генов IL-8 и IL-10 в развитии СДР у новорожденных из Башкортостана. В наши задачи входил сбор образцов ДНК у больных СДР и здоровых новорожденных и проведение анализа ассоциаций частот аллелей и генотипов генов IL-8 и IL-10 с развитием СДР у младенцев.

Материалы и методы. Изучаемая группа состояла из 76 новорожденных с СДР, проходивших лечение в ГКБ № 17 г. Уфы. Контролем служили 35 ДНК образцов, полученных от неродственных младенцев, рожденных также в родильном доме № 8 г. Уфы.

Однонуклеотидные замены локусов IL-8-251A→T, IL-10-592A→C и IL-10-627C→A детектировали методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом длин рестрикционных фрагментов.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ MS Excel и Statistica 5.0.

Результаты. После сравнения частот аллелей и генотипов в группах больных СДР и здоровых новорожденных оказалось, что непалиморфный генотип IL-8-251 A/A несколько чаще встречался в группе больных – 18,4%, чем в контрольной группе – 11,4% ($\chi^2=0,43$, $p=0,51$). В группе больных также отмечено повышение частоты нормального генотипа IL-10-592A/A по сравнению с контролем (41,9% и 30,6%, соответственно; $\chi^2=0,88$, $p=0,35$). В распределении частот генотипов по локусу IL-10-627 отмечена тенденция увеличения частоты встречаемости генотипа CC среди младенцев с СДР (42,6% против 34,3% в контроле; $\chi^2=0,39$, $p=0,53$).

Проведенный анализ комбинаций генотипов по двум локусам IL-10 достоверных различий между группой больных СДР и здоровых новорожденных не выявил, но показал, что частота варианта IL-10-592A/A / IL-10-627C/C несколько выше в группе больных СДР – 38,9% за счет понижения частоты IL10-592A/C / IL10-627C/A – 45,8% по сравнению с контрольной группой (31,4% и 54,3%, соответственно; $\chi^2=0,29$, $p=0,59$).

Заключение. Полученные данные не позволяют выявить рисковые для развития СДР аллели или генотипы генов IL-8 и IL-10. Однако, вследствие немногочисленности выборки, представляется целесообразным ее увеличение и проведение более подробного анализа в дальнейшем.

СПЕЦИФИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА

Долгов Г.В., Абашин В.Г., Молчанов О.Л., Гайворонских Д.И.

Военно-медицинская академия,
Санкт-Петербург, Россия

Введение. Бактериальный вагиноз (БВ) является причиной обращения к гинекологу каждой 5-й женщины репродуктивного возраста. Имеется положительный опыт специфического лечения БВ СолкоТриховаком.

Цель исследования: выявление иммунологических механизмов эффективности лечения БВ СолкоТриховаком у пациенток репродуктивного возраста.

Результаты. Представлен анализ ведения 45 женщин страдающих БВ с неоднократно проводимым традиционным лечением и тем не менее рецидивами заболевания. Контрольную группу составили 10 здоровых женщин. При вакцинации женщин с БВ СолкоТриховаком с интервалом через 2 недели клинический эффект был получен в 88,0% случаев. У этих женщин в последующие 3 месяца рецидивов заболевания выявлено не было. Введение препарата вызывало достоверное увеличение не только В-лимфоцитов, но и Т-лимфоцитов. Уровень антител IgG, IgM и особенно IgA (секреторного и в сыворотке крови) стал достигать значений здоровых женщин и оставался таковым через 3 месяца. Уровни α и β интерферонов, IL 4, стали достоверно выше по сравнению с исходными значениями. Адаптационные реакции крови у 72,3% женщин сместились в сторону реакций активации, а у 8,5% в реакции повышенной активации. Показатели функции печени до и после лечения практически не изменялись. Качество жизни пациенток, пролеченных с положительным эффектом повысилось на 35% и в целом приближалось к 95,1%. Анализ неудовлетворительного лечения БВ у женщин показал, что нормализация иммунологических показателей происходила замедленно, что послужило основанием для назначения еще двух доз вакцины.

Выводы. СолкоТриховак обладает явно выраженным иммуностимулирующим действием на общий и местный иммунитет, что и определяет эффективность лечения и отсутствие рецидивов БВ.

РЕГУЛЯЦИЯ НЕЙТРОФИЛАМИ И ИХ СЕКРЕТОРНЫМИ ПРОДУКТАМИ МИКРОБИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И ЖЕНЩИН С БАКТЕРИАЛЬНЫМ ВАГИНОЗОМ

Долгушин И.И., Андреева Ю.С.

Челябинская государственная медицинская академия, НИИ иммунологии ЧелГМА,
Челябинск, Россия

Введение. Доказано, что в верхних отделах репродуктивного тракта женщин в основном встречаются жизнеспособные и функционально активные нейтрофилы, а в цервикальном секрете процент жизнеспособности клеток гораздо ниже. Можно предположить, что нейтрофилы, встречаясь с представителями нормофлоры репродуктивного тракта женщин, активируются и секретируют бактерицидные вещества, которые избирательно действуют на патогенные, условно-патогенные и непатогенные микроорганизмы.

Цель работы: изучение роли нейтрофилов и их секреторных продуктов, гепаринизированной крови и лейкоцитарной взвеси в регуляции микробиоценоза влагалища здоровых женщин и женщин с дисбиотическими процессами в нижних отделах репродуктивного тракта.

Материалы и методы. Для проведения исследований у женщины забирали вагинальное содержимое и кровь из локтевой вены в пробирку с антикоагулянтом. 0,9 мл гепаринизированной крови использовали в качестве тестируемого образца (образец №1), а оставшуюся часть отстаивали в термостате при температуре + 37°С 30 минут. 0,9 мл отстоявшейся плазмы, содержащей лейкоциты, использовали в качестве тестируемого образца (образец

№2), а оставшуюся плазму, содержащую лейкоциты на-слаивали на 2 слоя градиентных растворов фиколл-верографина плотностью 1,092 и 1,077. После 40 минут центрифугирования при $1,5 \times 10^3$ оборотах в минуту, производили забор кольца гранулоцитов. Клетки отмывали, доводили до концентрации 5×10^6 кл./мл. 0,9 мл взвеси нейтрофилов использовали для тестирования (образец № 3), а оставшуюся часть использовали для получения филтратов активированных (ФАН), неактивированных нейтрофилов (ФНН) и супернатанта неактивированных нейтрофилов (СНН). Взвесь клеток делили на три части. В первую часть взвеси вносили вагинальное содержимое, оставшиеся две части оставляли без индукторов секреции. Все пробирки помещали в термостат при температуре $+37^\circ\text{C}$ на 30 минут. По истечении срока инкубации содержимое пробирки с индуктором секреции и одной пробирки без индуктора фильтровали через мембранные фильтры «Millipore» (США), филтраты использовали для тестирования (ФНН – образец № 4, ФАН – образец № 5). Материал оставшейся пробирки центрифугировали при 3×10^3 об/мин в течение 20 мин, супернатант фильтровали через мембранные фильтры, филтраты использовали для тестирования (СНН – образец № 6). 0,9 мл каждого тестируемого образца и соединяли с 0,1 мл вагинального содержимого. Смесь инкубировали в течение 30 мин при температуре $+37^\circ\text{C}$. После инкубации производили высеивание на 5% кровяной агар, желточно-солевой агар, среду Сабуро, MRS и тиогликолевую среду. Через 48 часов изучали рост микроорганизмов, определяли степень обсеменения слизи, выделяли чистые культуры и проводили их идентификацию.

Результаты. У здоровых женщин филтраты активированных и неактивированных нейтрофилов подавляли рост лактобактерий. У женщин с дисбиотическими процессами в урогенитальном тракте этот эффект был менее выражен. При этом гепаринизированная кровь оказывала стимулирующее действие на рост лактобактерий вагинального содержимого всех женщин. При изучении влияния нейтрофилов, их секреторных продуктов, лейкоцитарной взвеси и гепаринизированной крови на условно-патогенные микроорганизмы, выделенные из влагалища здоровых женщин и женщин с дисбиозом генитального тракта, определили выраженный бактерицидный эффект всех тестируемых образцов. Достоверное снижение содержания коагулазонегативных стафилококков и *G. vaginalis* в пробе наблюдалось при действии нейтрофилов, филтратов неактивированных нейтрофилов, а так же гепаринизированной крови. При действии супернатанта неактивированных нейтрофилов на *E. coli* и бифидобактерии выявлен бактерицидный эффект, при действии на стафилококки – отмечено достоверное снижение содержания микроорганизмов в пробе, а количество *G. vaginalis* снижалось незначительно). В результате проведенных исследований выявлено разнонаправленное действие нейтрофилов, их секреторных продуктов, лейкоцитарной взвеси и гепаринизированной крови на представителей условно-патогенной и непатогенной флоры влагалища.

Таким образом, нейтрофилы участвуют в регуляции микробиоценоза влагалища и возможно других биотопов, контаминированных микрофлорой. В основе такого регулирующего действия могут лежать особые механизмы взаимодействия этих клеток с резидентной флорой.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 04 – 04 – 96087.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИРОВАНИЯ ЦИКЛООКСИГЕНАЗЫ *IN VITRO* НА ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ОТВЕТ ЛИМФОЦИТОВ И ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФАЗЫ МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛА

Зотин А.В.², Черникова И.А.³, Шилов Ю.И.^{1,2}

¹Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН;

²Пермский государственный университет;

³Пермская государственная медицинская академия МЗ РФ, Пермь, Россия

Известно, что иммунная система претерпевает глубокие изменения в течение менструального цикла [Старцева и др., 1980; Шилов, 1984; Кеворков и др., 1993; Konecna et. al., 2000; Darmochwal-Kolarz et. al., 2003 и др.], обусловленные двунаправленным взаимодействием нейроэндокринной и иммунной систем при обеспечении процессов репродукции. Часть из этих изменений может опосредоваться через простагландины, так как ранее выявлены фазные изменения экспрессии циклооксигеназы в эндометрии [Jones et. al., 1997], сопряженные с аккумуляцией в нем лейкоцитов. С другой стороны, показано, что при беременности ингибирование циклооксигеназы диклофенаком при его добавлении в культуры лимфоцитов беременных женщин приводит к ослаблению супрессивного действия ауто-сыворотки на пролиферативный ответ лимфоцитов в культурах с фитогемагглютинином [Шмагель, 2001].

Цель работы – изучение влияния ингибирования циклооксигеназы диклофенаком натрия *in vitro* на пролиферативный ответ лимфоцитов и фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови в зависимости от фазы менструального цикла.

Материалы и методы. В динамике менструального цикла обследованы здоровые женщины в возрасте от 21 до 27 лет. Пролиферативный ответ лимфоцитов оценивали по включению ³H-тимидина в 72-часовых культурах с фитогемагглютинином-П (ФГА, Serva, в концентрациях 0,2; 1; 5; 25 и 125 мкг/мл) и конканавалином А (Кон А, Calbiochem, в концентрациях 6,25; 12,5; 25; 50; 100 и 200 мкг/мл). Диклофенак натрия вносили в культуры в конечных концентрациях 15 и 1,5 мкг/мл. Для оценки влияния диклофенака натрия на фагоцитарную активность лейкоцитов в опытных пробах 25 мкл гепаринизированной крови преинкубировали с 12,5 мкл препарата (в концентрации 15 мкг/мл в среде 199 с добавлением 2 мМ L-глутамин и 10 мМ HEPES) в течение 1 ч при 37°C . В контрольные пробы вместо препарата вносили 12,5 мкл среды. Затем во все пробирки вносили по 12,5 мкл формализированных эритроцитов барана (200×10^6 /мл). Пробы дополнительно инкубировали в течение 20 мин при 37°C . На мазках, окрашенных по Романовскому, дифференцированно учитывали показатели нейтрофильного, моноцитарного и эозинофильного фагоцитоза. Дополнительным контролем служили пробы без преинкубации.

Основные результаты. Установлено, что в лютеиновую фазу менструального цикла (18-28-й дни) в сравнении с ранней фолликулиновой (6-11-й дни) происходило выраженное снижение пролиферативного ответа лимфоцитов в культурах с оптимальной (25 мкг/мл) и субоптимальными концентрациями ФГА, а также с оптимальной концентрацией Кон А (50 мкг/мл). Угнетение бласттрансформации лимфоцитов выявлено и в период овуляции (13-15-й дни) преимущественно при субоптимальных концентрациях митогена. Ингибирование циклооксигеназы диклофенаком натрия приводило к активации пролиферативного ответа

лимфоцитов на ФГА только в период овуляции, в то время как в другие фазы цикла отмечено снижение уровня бластотрансформации. В культурах с Кон А добавление диклофенака натрия приводило к усилению пролиферации в первую половину менструального цикла и к ее угнетению во вторую. Фагоцитарная активность нейтрофилов и моноцитов повышалась в период менструации в сравнении с ранней фолликулиновой фазой. Добавление диклофенака натрия повышало основные показатели нейтрофильного фагоцитоза, однако снижало фагоцитарную активность моноцитов, причем эффект был выражен сильнее во вторую половину цикла. Слабое стимулирующее влияние на эозинофильный фагоцитоз было зафиксировано только во второй половине цикла. Выявленные особенности регуляторных эффектов ингибирования циклооксигеназы, возможно, обусловлены различиями продукции простагландинов E_2 и $F_2\alpha$, что в настоящее время изучается.

Заключение. Полученные результаты указывают на важную роль образующихся при участии циклооксигеназы простагландинов в регуляции пролиферативного ответа лимфоцитов и фагоцитарной активности лейкоцитов в зависимости от фазы менструального цикла.

КОМПЛЕКСНОЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ БОЛЬНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПРИДАТКОВ МАТКИ ДО И ПОСЛЕ ТЕРАПИИ ВИФЕРОНОМ-3

Каграманова Ж.А., Малиновская В.В.,
Выжлова Е.Н., Гусева Т.С., Парфенов В.В.

ММА им. И.М. Сеченова,
НИИ ЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, Москва, Россия

Цель – определение иммунного и цитокинового статусов как маркеров воспалительного процесса у женщин с ВЗПМ до и после терапии вифероном –3. Оценка возможности использования определения уровня цитокинов в биологических жидкостях для прогноза течения ВЗПМ.

Материалы и методы исследования. Обследовано и пролечено 52 женщины с воспалительными заболеваниями придатков матки (ВЗПМ). Определение уровня цитокинов в аспирате из полости матки и сыворотке крови и оценка уровня продукции цитокинов *in vitro* проводили с помощью наборов ELISA. Фенотипирование лимфоцитов проводили методом проточной цитофлуориметрии с использованием МКАТ («МедБиоспектр» и «Цитокин», Москва). Определение интерферонового статуса проводили по методу С.С. Григорян (1991), определяя сывороточный IFN, уровень продукции лейкоцитами $TNF\alpha$ при индукции вирусом болезни Ньюкасла, и уровень продукции IFN γ при индукции фитогемагглютинином (ФГА). Препарат виферон-3 (1000000) МЕ интерферона вводили ректально по 1 свече через 12 часов в течение 1-3 месяцев.

Основные результаты. У всех больных в острую фазу воспаления отмечалось снижение относительного количества цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD8^+$) и их активированной фракции ($CD8^+DR^+$) и натуральных киллеров NK($CD16$), что свидетельствовало о персистенции вирусной инфекции. Высокий уровень клеток, экспрессирующих рецептор к IL-2 ($CD25^+$), при нормальных показателях активированных Т-лимфоцитов ($CD71$) и HLA DR^+ , свидетельствовал об активации Th1 и развитии иммунных реакций Th1-типа. Отмечено снижение абсолютных и относительных показателей зрелых В-лимфоцитов ($CD20$), сопряженное с увеличением апоптоза ($CD95$). Дисглобулинемия, связанная

с увеличением IgG, что характерно для хронического процесса. Низкий уровень молекул адгезии ($CD54$ и $CD11b$) указывал на нарушение формирования местного иммунитета и приводил к хронизации воспалительных процессов. При исследовании интерферонового статуса у 96% женщин отмечено стойкое снижение продукции клетками крови α - и γ -интерферонов в 2 раза и у 50% повышение содержания сывороточного IFN. При исследовании цитокинового статуса ИФА-методом в сыворотке крови, отмечено присутствие GCSF, IL-6, IL-8, IL-1- β , $TNF\alpha$, IFN γ и IP-10, что также свидетельствовало о наличии воспалительного процесса. Спонтанная и индуцированная продукция этих цитокинов в системе *in vitro* была снижена по сравнению с группой контроля ($n=10$), что характерно для ослабления противовирусной защиты организма. При исследовании цитокинов в аспирате из полости матки отмечено наличие IL-6, IL-8, $TNF\alpha$, GCSF, причем уровень GCSF и IL-8 не существенно отличался от уровня этих цитокинов в сыворотке крови. Комплексное иммунологическое обследование больных ВЗПМ позволило выявить нарушения в функционировании иммунной, цитокиновой и противовирусной защитных систем организма. Исследование цитокинового статуса в сыворотке крови и аспирате из полости матки показало, что уровни цитокинов GCSF, IL-6, IL-8 в аспирате сопоставимы с уровнями в сыворотке крови. Полученные данные возможно использовать для прогнозирования течения заболевания и степени развития воспалительного процесса. Для коррекции выявленных нарушений применяли препарат Виферон-3, обладающий как противовирусным, так и иммуномодулирующим действием. Через месяц после терапии препаратом Виферон-3 отмечалось отсутствие клинических симптомов заболевания. GCSF, IL-6, IL-8, IL-1- β , $TNF\alpha$, IFN α и IFN γ и IP-10 в сыворотке крови в значительных количествах не обнаружены, восстановлена индуцированная продукция этих цитокинов *in vitro*, что отражает нормализацию функционирования иммунной и противовирусной защиты организма.

Заключение. Таким образом, для больных ВЗПМ характерен Th1-тип иммунного ответа за счет увеличения относительного количества $CD4$ -лимфоцитов, угнетение функций местного иммунитета за счет снижения уровня экспрессии молекул адгезии. При исследовании цитокинового статуса патогномичными для больных ВЗПМ являются цитокины воспаления: GCSF, IL-6, IL-8, уровни которых как в сыворотке крови так и в биологических жидкостях сопоставимы. Показана высокая клиническая эффективность препарата Виферон-3, обладающего противовирусным, иммуномодулирующим и противовоспалительным действием при терапии ВЗПМ.

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ЖЕНЩИНЫ НА ЛИМФОЦИТЫ ПАРТНЕРА *IN VITRO* ПРИ ПРИВЫЧНОМ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

¹Кречетова Л.В., ²Елистратова О.С.,
¹Голубева Е.Л., ¹Тетраушвили Н.К.,
¹Шяхгюлян Я.Л., ¹Николаева М.А.,
²Алексинская М.А., ¹Ванько Л.В., ¹Сухих Г.Т.

¹Научный Центр Акушерства, Гинекологии и
Перинатологии, РАМН, Москва, Россия;
²Московский Государственный Университет
им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Реакция иммунной системы матери на отцовские антигены плода является одним из важных факторов, определяющих течение беременности. В последнее время на-

копилось большое количество данных, указывающих на то, что недостаточная аллогенная стимуляция со стороны плода может быть причиной самопроизвольного прерывания беременности на ранних сроках. Предполагается, что подобный исход беременности может быть обусловлен совместимостью супругов по HLA-антигеном, маркером которой является сниженная реакция лимфоцитов матери на лимфоциты отца *in vitro* (Алексеев, Болдырева, 2004).

Целью нашей работы было исследование реакции лимфоцитов женщины на лимфоциты партнера в культуре *in vitro* в парах с привычным невынашиванием беременности, влияния женской сыворотки на реакцию лимфоцитов, а также сравнение реакции лимфоцитов до и после проведения пациенткам процедуры иммуноцитотерапии (ИЦТ) клетками доноров.

Анализировалась пятидневная однонаправленная смешанная культура лимфоцитов (СКЛ) женщины и лимфоцитов мужчины, обработанных митомином. Интенсивность пролиферации оценивали колориметрическим методом с использованием бромистого метилтиазолил-тетразолия – МТТ-теста (Кравченко, Кравченко, Смирнов, 1992). Учитывая показатели спонтанной пролиферации лимфоцитов, рассчитывали относительную интенсивность пролиферации в СКЛ (СКЛ%). Значения теста считали позитивными при СКЛ% >20%.

Было показано, что позитивная реакция в СКЛ наблюдалась у 40 из 139 обследованных пар (29%), при этом женская сыворотка в 60% случаев ингибировала, в 28% случаев стимулировала, а в 12% случаев не влияла на характер СКЛ. У 20 супружеских пар интенсивность пролиферации лимфоцитов в СКЛ оценивали до и после ИЦТ. Процедура ИЦТ приводила к существенному усилению пролиферации лимфоцитов женщины ($P < 0,01$). У 16 из 20 пар (80%) наблюдали увеличение СКЛ% после ИЦТ по сравнению с исходным значением. У 6 из 11 (55%) пациентов с исходно отсутствующим эффектом СКЛ после ИЦТ выявлялась позитивная реакция лимфоцитов. Таким образом, у большинства обследованных пар с привычным невынашиванием беременности реакция женских лимфоцитов в СКЛ подавлена. Женская сыворотка способна как ингибировать, так и стимулировать пролиферацию женских лимфоцитов в СКЛ. Полученные результаты свидетельствуют о том, что ИЦТ клетками доноров может существенным образом влиять на механизмы регуляции ответа лимфоцитов матери на аллоантигены плода *in vitro*. Мы предполагаем, что метод СКЛ может быть использован для оценки эффективности ИЦТ при лечении привычного невынашивания.

ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ УРОГЕНИТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ

Левкович М.А.

НИИ акушерства и педиатрии, Ростов-на-Дону

В настоящее время невынашивание беременности остается одной из актуальных проблем современного акушерства. Несмотря на многообразие этиологических факторов, приводящих к невынашиванию беременности, особо значимым в этой проблеме является инфекционный фактор. В последние годы возросла роль персистирующих урогенитальных вирусно-бактериальных инфекций в развитии таких осложнений при беременности, как самопроизвольные аборт, преждевременные роды. При инфекционном процессе в репродуктивном тракте беременных женщин происходит активация клеток иммунной системы, что при-

водит к индукции клеточного иммунного ответа, следствием чего является продукция провоспалительных цитокинов, оказывающих прямое эмбриотоксическое действие. Несмотря на проводимые научные исследования, не разработаны четкие прогностические критерии невынашивания беременности при этой патологии.

Целью работы явилась разработка прогностических иммунологических критериев невынашивания беременности при урогенитальной инфекции.

Материалы и методы. В исследование были включены 150 беременных женщин 1 триместра беременности с верифицированной урогенитальной инфекцией. В состав обследования входили амплификация специфических фрагментов ДНК урогенитальных возбудителей, исследование сыворотки крови на специфические антитела, микроскопическое и бактериологическое исследование отделяемого влагалища и цервикального канала. Определение уровня неоптерина в сыворотке периферической крови и слизи цервикального канала проводилось методом иммуноферментного анализа с использованием диагностических тест-систем фирмы IBL (Германия). Возраст обследованных женщин составил от 22 до 36 лет; первородящих – 10%, повторнородящих – 90%, самоаборты, неразвивающаяся беременность в анамнезе встречались в 41,3% случаев, воспалительные заболевания половых органов (вульвит, эндоцервицит, эрозия шейки матки) в 60,8%, течение настоящей беременности осложнилось угрозой прерывания в 53,3% случаев.

Обследуемые женщины были разделены на две группы: 1 группа – беременные с выявленной урогенитальной инфекцией и клиническими признаками угрозы прерывания беременности, 2 группа – беременные с выявленной урогенитальной патологией без признаков угрожающего течения беременности. Контрольную группу составили 20 здоровых беременных женщин.

Результаты. Была выявлена зависимость между уровнем неоптерина в периферической крови и слизи цервикального канала и риском прерывания беременности. Уровень неоптерина в слизи цервикального канала и сыворотке крови у беременных первой группы был достоверно выше ($10,1 \pm 6,4$ нг/мл и $3,2 \pm 0,7$ нг/мл, соответственно), чем у беременных 2-группы ($3,6 \pm 0,1$ нг/мл и $1,4 \pm 0,3$ нг/мл соответственно). Следовательно, оценка уровня неоптерина, как раннего маркера клеточной активации, в пробах периферической крови и цервикальной слизи позволяет использовать этот метод в качестве прогностического доклинического теста угрозы прерывания беременности при урогенитальной инфекции, что позволит снизить перинатальные потери за счет своевременного формирования групп риска и выбора лечебной тактики.

ОСОБЕННОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНИТЕТА ПАЦИЕНТОК С РАЗЛИЧНЫМИ СТАДИЯМИ ЭНДОМЕТРИОЗА И ПАЦИЕНТОК, У КОТОРЫХ ЭНДОМЕТРИОЗ СОЧЕТАЛСЯ С АУТОИММУННЫМ ТИРЕОИДИТОМ

Михнина Е.А.*, Калинина Н.М.** , Эллинг В.Н.** ,
Давыдова Н.И.* , Калашникова А.А.** ,
Чиненова Л.В.** , Новикова Е.Н.

НИИАГ им. Д.Отта, Санкт-Петербург, Россия;

***Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины МЧС России, Санкт-Петербург, Россия*

Исследовали количественные характеристики основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови,

их эффекторную и синтетическую функции, а также показатели гуморального звена иммунитета с использованием метода проточной цитометрии и ИФА.

Всего было обследовано 85 пациенток, из них 55 с эндометриозом 1-2 стадии – 1 группа, 14 с эндометриозом 3-4 стадии и 16 пациенток с эндометриозом и аутоиммунным тиреоидитом, получавших заместительную терапию и на момент обследования характеризовавшихся эутиреоидным состоянием. Контрольная группа включала 18 здоровых женщин репродуктивного возраста.

В 1 и 2 группах выявлено достоверное снижение относительного количества специфических цитотоксических лимфоцитов (CD8⁺), сопровождавшееся увеличением иммунорегуляторного индекса (ИРИ) по сравнению с контрольной и 3 группами, эти группы также характеризовались тенденцией к увеличению в периферической крови В-лимфоцитов.

Выявлено достоверное снижение в периферической крови пациенток обследованных групп по сравнению с контрольной группой субпопуляции натуральных киллерных клеток (NK) с маркером CD56⁺, однако в 3 группе (эндометриоз и АИТ) количество этих клеток было достоверно выше, чем в группах 1 и 2. Количество NK с маркером CD16⁺ было сопоставимо во всех обследованных группах и не отличалось от значений группы контроля, однако цитотоксическая активность NK-клеток во всех обследованных группах была ниже, чем в группе контроля. Группа 3, в отличие от контрольной группы и группы пациенток с 1-2, 3-4 стадиями эндометриоза, характеризовалась повышенным уровнем спонтанной продукции IL-2, IL-6 и TNF, высоким уровнем в сыворотке IL-4, сниженной индуцированной продукцией интерферона-альфа, высокой спонтанной продукцией и повышенным содержанием в сыворотке интерферона-гамма. Результаты обследования группы пациенток с 1-2 стадией эндометриоза достоверно отличались от других обследованных групп высоким уровнем спонтанной продукции IL-4 и самым низким уровнем индуцированной продукции интерферона-гамма. Содержание в сыворотке низкомолекулярных ЦИК было повышено у пациенток 2 и 3 групп.

Результаты проведенных исследований выявили снижение цитотоксической функции NK-клеток у пациенток с эндометриозом при нормальном количестве в периферической крови клеток, осуществляющих эту функцию. У пациенток с 1-2 стадией эндометриоза имеет место превалирование Т-хелперного 2 типа, у пациенток с эндометриозом в сочетании с аутоиммунным тиреоидитом Т-хелперный 2 тип иммунного ответа сочетался с высоким уровнем продукции интерферона-гамма, ответственным за аутопрезентацию антигенов собственных тканей.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ СУБПОПУЛЯЦИОННЫМ СОСТАВОМ ЛИМФОЦИТОВ, ПОЛИМОРФИЗМОМ МАТРИКСНЫХ КОЛЛАГЕНАЗ И ТИПОМ РОСТА ПРИ МИОМЕ МАТКИ

Морозова Е.Б., Комарова Л.С., Зуева Е.Е., Кулагина Н.В., Чухловин А.Б., Тотолян Арег А.

Научно-методический центр по молекулярной медицине МЗ РФ на базе Санкт-Петербургского медицинского Университета им. И.П.Павлова; Санкт-Петербургская медицинская Академия последипломного образования, Санкт-Петербург, Россия

Известно, что матриксные металлопротеиназы (ММП) типа 1 и 3 являются ключевыми ферментами в про-

цессах перестройки межклеточного матрикса при воспалительных реакциях и диссеминации опухолевых клеток. В населении часто встречаются гиперактивные генные варианты ММП-1 (-1607 2G/2G) и ММП-3 (-5A/5A), наличие которых связано с усилением миграции иммунокомпетентных клеток и активной диссеминацией опухолевых клеток. В связи с этим, целью нашей работы был поиск взаимосвязи между наличием гиперактивных аллелей генов ММП и субпопуляционным составом лимфоцитов периферической крови у больных с лейомиомой матки – доброкачественным заболеванием с выраженной реакцией соединительной ткани.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находились 33 больных в возрасте от 26 до 66 лет (медиана – 47 лет). Максимальная длительность диспансерного наблюдения составила 30 лет. Обследование женщин включало оценку размеров опухоли, темпов ее роста, количества опухолевых узлов, анализ других клинических и анамнестических данных. Генотипирование промоторных аллелей генов ММП-1 (1G/2G) и ММП-3 (5A/6A) проводилось методом аллель-специфической ПЦР геномной ДНК. Результаты учитывали после электрофореза продуктов ПЦР в агарозном геле. Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови осуществляли методом проточной цитометрии.

Результаты. Относительное содержание основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови больных соответствовало популяционной норме. Обнаружена достоверная корреляция между количеством выявленных опухолевых узлов и относительным содержанием CD4⁺8⁺ клеток ($r=0,46$; $p=0,004$). Относительное содержание CD4⁺CD8⁺ лимфоцитов значительно повышено у пациенток, гомозиготных по гиперактивному аллелю гена ММП-3 (5A/5A) по сравнению с его менее экспрессируемыми генотипами ($p=0,01$), что может указывать на важную роль данного генного варианта в определении характера опухолевого роста у каждой конкретной больной. Количество лимфоцитов с фенотипом CD3⁺(CD16⁺CD56⁺) было минимально при многоузловой форме лейомиомы ($r=-0,392$; $p=0,02$), что можно предположительно рассматривать как снижение активности цитотоксических лимфоцитов периферической крови при распространенной форме миомы матки.

Заключение. Характер роста лейомиомы матки обусловлен индивидуальными генетическими факторами, связанными с полиморфизмом в системе генов матриксных металлопротеиназ. Изменение относительного содержания Т- лимфоцитов максимально выражено при многоузловой форме лейомиомы.

СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ, СТРАДАЮЩИХ ПЕРВИЧНОЙ ДИСМЕНОРЕЕЙ

Музафарова С.А., Мусаходжаева Д.А.*, Ходжаева С.А.

*Институт усовершенствования врачей МЗ РУз; *Институт иммунологии АН РУз*

В подростковом возрасте гинекологические проблемы связаны главным образом с менструацией – либо с отсутствием месячных, либо, чаще, с их тяжелым, болезненным течением. Эта группа нарушений занимает второе по частоте место (после вульвовагинита) среди обращений детей и подростков в специальные лечебные учреждения.

Среди девочек подростков, не достигших совершеннолетия, распространенность дисменореи составляет 0,02%. Внимание к этой проблеме определяется еще и тем, что на сегодняшний день в Узбекистане не определена частота дисменореи у девушек подростков, не уточнены особенности клинического течения на фоне низких показателей соматического здоровья. 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.

Целью нашего исследования явилось изучение состояния иммунной системы у девочек – подростков с дисменореей по фазам менструального цикла.

Нами были обследованы 23 девочки-подростки в возрасте от 14 до 17 лет. Было установлено, что у обследованных девочек наблюдались боли в первый день цикла, имеющие схваткообразный характер, локализирующиеся внизу живота. Помимо болей, дисменорея сопровождалась тошнотой, рвотой, жидким стулом, слабостью, мигреноподобной головной болью. Контрольную группу составили 20 здоровых девочек-подростков с нормальным двухфазным характером менструального цикла.

Основные параметры клеточного иммунитета определяли по идентификации на поверхности клеток кластеров дифференцировки CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD20⁺, CD25⁺, CD71⁺, HLA-DR⁺, CD95⁺ с использованием моноклональных антител LT.

При дисменорее отмечено резкое снижение содержания Т-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой ($P < 0,01$), что характеризует неадекватность реакции иммунной системы развивающемуся патологическому процессу. Следовательно, речь идет о сокращении резерва Т-клеток у девушек с дисменореей. Частота регистрации дефицита содержания Т-лимфоцитов в данной группе очень велика и составляет $82,4 \pm 3,6\%$. Различий в содержании CD20⁺-лимфоцитов в зависимости от фаз менструального цикла девушек контрольной группы не наблюдалось. В отличие от указанной группы при дисменорее наблюдалось достоверное снижение относительного содержания CD20⁺-лимфоцитов в лютеиновую фазу. Количество Т-хелперов/индукторов (CD4⁺) у девушек с дисменореей показало тенденцию к снижению в фолликулярной фазе.

Содержание CD8⁺-лимфоцитов было повышено в лютеиновой фазе ($P < 0,001$) у девушек с нормальным циклом. А у девушек с дисменореей различий в содержании CD8⁺-лимфоцитов как в фолликулярной, так и в лютеиновой фазах не наблюдалось.

Исследование экспрессии поверхностного антигена CD16⁺ показало значительное повышение в фолликулярной фазе в обеих обследованных группах девушек и достоверно сниженное содержание в лютеиновой фазе у девушек с дисменореей ($P < 0,05$). Изучение содержания активационных маркеров показало, что экспрессия антигенов ранней активации – CD25⁺ и HLA-DR⁺ у девушек с дисменореей достоверно снижена по сравнению с контрольной группой ($P < 0,05$). Число CD95⁺-клеток было достоверно повышено у девушек с дисменореей в лютеиновую фазу ($P < 0,05$). Циклический характер изменений в иммунной системе здоровых девушек соответствует представлению о менструальном цикле как месячном биоритме функционирования органов и систем организма. Ве-

роятно, выявленные закономерности иммунного гомеостаза обусловлены циклическостью функционирования системы гипоталамус – гипофиз – яичники. Снижение ряда показателей иммунитета в лютеиновую фазу цикла, очевидно, имеет определенный биологический смысл и способствует предупреждению иммунных реакций. Частичный иммунодефицит в лютеиновой фазе цикла, возможно, играет важную роль в патогенезе развития воспалительных заболеваний женских половых гормонов, которые в 70–80% случаев возникают в период менструального кровотечения. Острые и хронические инфекционные заболевания, сопровождающиеся интоксикацией, могут оказывать неблагоприятное воздействие как на гипоталамические функции, так и непосредственно на яичники и матку, что приводит к появлению вторичных иммунологических нарушений, которые в дальнейшем способствуют развитию аутоиммунных процессов. Достоверно низкая экспрессия антигена CD16 на лимфоцитах у девушек с дисменореей в лютеиновую фазу по сравнению с контролем может свидетельствовать о слабой резистентности организма. Иммунные нарушения при дисменорее отражают дефекты Т-клеточного звена иммунитета. Достоверно низкая экспрессия молекул CD4 в лютеиновой фазе свидетельствует, что пролиферативный ответ является достаточно слабым при снижении секреторной фазы развития эндометрия. Незначительное повышение экспрессии CD8⁺ Т-лимфоцитов в лютеиновую фазу у девушек с дисменореей по сравнению с контролем показывает, что ответ ЦТЛ недостаточен при отсутствии циркального ритма секреции гонадолиберина. Лимфоциты, усиленно экспрессирующие CD95 у девушек с дисменореей в лютеиновую фазу, возможно, в свою очередь, подвержены апоптозу, что может вести к развитию дефицита АПК и костимулирующих молекул, необходимых для активации CD8⁺-клеток. Допускается, что CD4⁺ клетки после стимуляции АПК синтезируют большое количество IL-2 (паракринный механизм), которым они обеспечивают умеренно стимулированные CD8⁺-клетки. Активация CD8⁺ Т-клеток по этому механизму недостаточна, что связано с низкой экспрессией CD4 и CD25 при лютеиновой фазе у девушек с дисменореей. В результате этого возрастает продукция интерлейкинов, принимающих непосредственное участие в осуществлении иммунного ответа. Интерлейкины воздействуют на гипоталамус, изменяя его активность. По механизмам обратных связей эти изменения приводят к нарушениям нормального ритма секреции гипоталамо-гипофизарных гормонов, что, в свою очередь, усугубляет нарушения гормонального гомеостаза репродуктивной системы. Наряду с этим, тропные гипофизарные и стероидные гормоны оказывают непосредственное влияние на иммунокомпетентные клетки и активность иммунной системы.

ЗНАЧЕНИЕ ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА В ДЕРМАТОКОСМЕТОЛОГИИ

Озерская О.С., * Самцов В.А., * Долгов Г.В., * Некрасов А.А., * Долгова М.Г. **

Военно-медицинской академия, СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова **, Санкт-Петербург, Россия*

Введение. Женщины репродуктивного возраста являются наиболее частыми пациентками дерматокосметологов. Одной из причин являются рубцовые изменения на

коже после различных хирургических вмешательств, чаще всего после акушерских и гинекологических операций.

Цель исследования: повышение эффективности хирургической коррекции послеоперационных патологических рубцов у пациенток репродуктивного возраста за счет предоперационной подготовки, направленной на повышение их иммунологической реактивности.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ результатов лечения 22 пациенток (контрольная группа). Перед хирургическим лечением был выполнен стандартный объем обследования для проведения операции под наркозом. В основной группе (12 женщин), кроме стандартного обследования проводили оценку показателей естественной резистентности с помощью автоматизированной системы компьютерного мониторинга по методике Г.В. Долгова (2001). Вид анестезии, проведение операций и ведение раннего послеоперационного периода были унифицированы. Пациенткам с низкими показателями естественной резистентности проводили предоперационную подготовку после индивидуального подбора иммуномодулятора (ликопид, тимоген, тималин, иммуномакс, вилон и др.).

Результаты: положительный клинический эффект был получен у 10 пациенток в основной группе и у 15 женщин контрольной группы.

Выводы. Восстановление иммунологической резистентности женского организма в значительной мере определяет эффективность хирургических дерматокосметологических операций у пациенток репродуктивного возраста.

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО РЕАГИРОВАНИЯ НОВОРОЖДЕННЫХ С ПЕРИНАТАЛЬНЫМИ ПОРАЖЕНИЯМИ ЦНС ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА ПРИ ОСЛОЖНЕННОМ ТЕЧЕНИИ БЕРЕМЕННОСТИ У МАТЕРИ

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

ГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова МЗ РФ», Иваново, Россия

Согласно современным представлениям, в основе гипоксически-ишемических повреждений ЦНС новорожденных лежат метаболические расстройства, приводящие к нарушениям фетоплацентарного кровообращения, а затем к изменениям церебрального кровотока плода. Целью нашего исследования было изучить особенности иммунного реагирования новорожденных с перинатальными поражениями центральной нервной системы (ЦНС) гипоксически-ишемического генеза, рожденных женщинами, течение беременности которых осложнилось гестозом. Проведено иммунологическое исследование пуповинной крови 30 детей с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС, рожденных от женщин с гестозом (основная группа) и 20 здоровых новорожденных от женщин с неосложненным течением беременности (контрольная группа). Поверхностный фенотип пуповинных лимфоцитов определяли методом одно- и двухцветной проточной цитофлюориметрии на проточном цитофлюориметре FACScan («Becton Dickinson», USA) с использованием моноклональных антител НПО «МедБиоСпектр» (Москва). При перинатальных поражениях ЦНС в пуповинной крови, по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы, достоверно повышалось содержание популяции общих Т-лимфоцитов (CD3⁺), Т-хел-

перов (CD4⁺) и цитотоксических лимфоцитов (CD8⁺) ($p < 0,05$ во всех случаях). Также у детей данной группы повышался уровень Т-регуляторных клеток (CD25⁺), преимущественно Т-хелперов (CD4⁺/CD25⁺) и поздней активации за счет Т-лимфоцитов (CD3⁺/HLA-DR⁺), что не характерно для контрольной группы. Установлено, что у новорожденных с перинатальной патологией ЦНС значительно снижался уровень естественных киллеров (CD16⁺) и В-лимфоцитов (CD72⁺) ($p < 0,05$ во всех случаях) в пуповинной крови по сравнению со здоровыми детьми. Таким образом, у детей с перинатальными поражениями ЦНС гипоксически-ишемического генеза, рожденных от матерей, перенесших гестоз преобладают иммунные реакции по типу Th1-иммунного ответа с развитием аутоиммунных и цитотоксических реакций на фоне угнетения врожденного и гуморального иммунного ответа, что возможно является одним из механизмов повреждения тканей мозга.

Работа поддержана грантом Президента РФ НШ-2245.2003.4.

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ДЛЯ РАННЕГО ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Сотникова Н.Ю., Пелевина М.И., Кудряшова А.В.

ГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова МЗ РФ», Иваново, Россия

В последнее время считается общепризнанным, что иммунологические нарушения являются основной причиной развития осложнений беременности. С другой стороны инфекция также считается одним из важнейших факторов развития патологии гестационного процесса. Однако работы, оценивающие вклад этих факторов в патогенез того или иного осложнения беременности немногочисленны. До сих пор остается неясным насколько информативным является использование ИФА для диагностики инфекции и можно ли использовать иммунологические показатели в клинической практике для раннего прогнозирования осложнений беременности. Целью работы было оценить прогностическую и диагностическую значимость указанных факторов на ранних сроках гестации.

Всего под наблюдением находилось 124 женщины, наблюдение за женщинами осуществлялось в сроке гестации от 5 до 40 недель. Всем пациенткам проводилось общеклиническое, ультразвуковое и иммунологическое обследование в 1 триместре беременности. Материалом для иммунологических исследований служила кровь из локтевой вены, забранная в I триместре беременности. Методы исследования включали: проточную цитофлюорометрию (FACScan, Becton Dickinson, USA) для определения поверхностного фенотипа лимфоцитов и твердофазный ИФА (Multiscan EX, Labsystems, Finland) – для оценки инфекционного фона и уровня сывороточного IFN γ .

Наличие АТ против возбудителей урогенитальных инфекций отмечалось с равной частотой при физиологическом и осложненном течении беременности, и не влияло на частоту развития гестоза, угрозы прерывания беременности в поздние сроки гестации, преждевременных родов, но ассоциировалось с повышением частоты развития плацентита и рождением детей с признаками внутриутробного инфицирования. Проведенный ретроспективный анализ данных показал, что иммунологические показатели

ли уже в ранние сроки беременности могут позволить прогнозировать развитие осложнений гестационного периода, причем для каждого осложнения беременности характерен свой иммунологический «портрет». Так, в 1 триместре в периферической крови женщин, беременность которых закончилась самопроизвольным прерыванием, отмечались активация клеток с цитотоксической активностью, но не NK с фенотипом CD16⁺CD56⁺ и повышение уровня IFN γ ; преждевременными родами – снижение CD16⁺ NK и уровня IFN γ ; гестозом – повышение уровня Т-хелперов, ЦТЛ и CD3⁺CD16⁺ NK-T; СЗРП – нарушение межклеточного взаимодействия, угнетение готовности клеток к апоптозу, уменьшение пула CD3⁺CD56⁺ NK-T; клинической реализацией риска ВУИ – неадекватная активация NK, накопление Т-регуляторных лимфоцитов, повышение уровня IFN γ .

Полученные результаты свидетельствуют о важной роли иммунных нарушений в обеспечении течения беременности и возможности практического использования иммунологических показателей.

Работа поддержана грантом Президента РФ НШ-2245.2003.4.

ГЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО АПОПТОЗА В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ СИНДРОМЕ ЗАДЕРЖКИ РАЗВИТИЯ ПЛОДА

**Сотникова Н.Ю., Веденеева М.В.,
Посисеева Л.В., Кудряшова А.В.**

*ГУ «Ивановский НИИ материнства и детства
им. В.Н. Городкова МЗ РФ», Иваново, Россия*

Ранее проведенные нами исследования особенностей иммунного апоптоза женщин, родивших детей с диагнозом синдром задержки внутриутробного развития плода (СЗРП) (Кудряшова А.В., Сотникова Н.Ю., 2002), позволило нам предположить наличие изменений в системе контроля гибели клеток центральными компонентами которой являются молекулы p53 и Bcl-2. Проводилось исследование методом проточной цитометрии ранних и поздних этапов апоптоза по данным аннексии теста, изучение содержания растворимых форм p53 и Bcl-2 в сыворотке периферической крови методом твердофазного ИФА, и экспрессии mRNA p53 и Bcl-2 в периферических лимфоцитах и моноцитах методом RT-PCR в реальном режиме времени. Исследование проводили в 36-38 недель беременности. Группу СЗРП составили 20 женщин родивших ребенка с СЗРП. В контрольную группу вошли 29 женщин с физиологически протекавшей беременностью (группа ФБ).

Результаты аннексии теста показали, что в группе СЗРП отмечались усиление как ранних, так и поздних этапов апоптоза лимфоцитов ($p < 0,001$ и $p < 0,05$ соответственно), достоверное увеличение содержания моноцитов, находящихся на ранних этапах апоптоза ($p < 0,001$) и тенденция к увеличению количества моноцитов ($p > 0,05$), находящихся на поздних этапах апоптоза, по сравнению с показателями группы ФБ. Сравнительный анализ данных ИФА показал, что при СЗРП в периферической крови содержание растворимой формы p53 достоверных не различалось в двух сравниваемых группах ($p > 0,05$), но отмечалось достоверное повышение уровня растворимой формы Bcl-2 ($p < 0,05$). Исследование синтеза mRNA p53 в лимфоцитах периферической крови выявило незначительное повышение уровня mRNA p53 при СЗРП. Наиболее инте-

ресные данные были получены при RT-PCR моноцитов периферической крови. Так полученные данные свидетельствовали, что синтез mRNA p53 моноцитами при СЗРП в десятки раз превышал таковой при физиологическом развитии плода. Результаты RT-PCR анализа mRNA Bcl-2 показали, что в обеих сравниваемых группах, как лимфоциты, так и моноциты периферической крови не экспрессировали этот ген. Таким образом, полученные нами данные об усилении ранних и поздних этапов иммунного апоптоза при СЗРП, вероятно, обусловлены внутриклеточным проапоптотическим сигналом со стороны гена p53. Исследование mRNA Bcl-2 в лимфоцитах и моноцитах периферической крови, позволяет нам предположить, что повышение уровня белка Bcl-2 в окружающей среде, выявленное при ИФА не влияет на параметры иммунного апоптоза при СЗРП. Учитывая тот факт, что беременность, осложненная СЗРП, является патологическим процессом, нам представляется вполне вероятным, что усиление процессов иммунного апоптоза в периферической крови матери отражает компенсаторные процессы, направленные на сдерживание реакций гиперреактивности и аутоиммунизации. Возможно, именно это обуславливает относительно благополучное состояние женщины при беременности, осложненной СЗРП, на фоне развития патологических процессов в фето-плацентарном комплексе.

Работа поддержана грантом Президента РФ НШ-2245.2003.4

ИЗМЕНЕНИЯ ФЕНОТИПИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ЖЕНЩИН С НАРУЖНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ У НИХ БЕСПЛОДИЯ

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

*ГУ «Ивановский НИИ материнства и детства
им. В.Н. Городкова» МЗ РФ, Иваново, Россия*

Эндометриоз, характеризующийся имплантацией и ростом эндометриальной ткани вне мест ее нормального расположения, относится к наиболее распространенным гинекологическим заболеваниям женщин репродуктивного возраста. По литературным данным, эндометриоз часто сочетается с бесплодием неясного генеза. Так, у 30-40% женщин с бесплодием диагностируется эндометриоз. Однако механизмы развития бесплодия у женщин с эндометриозом до конца не установлены. В последние годы широкое распространение получила теория об иммунных механизмах развития эндометриоза. В то же время остается невыясненным вопрос о том, одинаковые ли иммунные нарушения ведут к возникновению эндометриоза и развитию бесплодия у женщин с эндометриозом.

Целью нашего исследования было провести сравнительный анализ популяционного состава лимфоцитов перитонеальной жидкости у женщин с наружным эндометриозом, ассоциированным с бесплодием, и женщин с эндометриозом и ненарушенной фертильностью для уточнения роли иммунных механизмов развития наружного эндометриоза и бесплодия, ассоциированного с эндометриозом.

Материалом для исследования служила перитонеальная жидкость 33 женщин с наружным генитальным эндометриозом и ненарушенной фертильностью (1 группа), 14 женщин с эндометриозом, сочетающимся с бесплодием (2 группа) и 11 здоровых женщин с ненарушенной фертильностью (контрольная группа). Популяцию лимфоцитов пе-

ритонеальной жидкости получали стандартным методом центрифугирования в градиенте плотности фиколл-верографина ($\rho=1,078$). Экспрессию поверхностных CD-маркеров оценивали методом двухцветной проточной цитометрии. Анализ данных показал, что в перитонеальной жидкости женщин как 1, так и 2 клинических групп наблюдения было достоверно повышено относительно показателей контрольной группы содержание Т-лимфоцитов с TCR $\gamma\delta$ типа. Кроме того, у женщин с эндометриозом вне зависимости от наличия у них бесплодия отмечалось изменение уровня наивных и коммитированных цитотоксических Т-лимфоцитов: содержание пула перитонеальных лимфоцитов с фенотипом CD8 $^{+}$ CD45RA $^{+}$ было снижено, а количество CD8 $^{+}$ CD45RO $^{+}$ лимфоцитов – напротив, значительно повышено по сравнению с нормативными значениями. Следует отметить, что только в перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом и бесплодием было повышено содержание CD20 $^{+}$ CD5 $^{+}$ клеток, увеличен уровень CD56 $^{+}$ ЕК, а также усиливалась экспрессия CD11b молекул на поверхности CD16 $^{+}$ лимфоцитов. Таким образом, полученные нами результаты позволяют сделать вывод о том, что в целом развитие очагов эндометриоза происходит на фоне увеличения уровня функционально активной субпопуляции цитотоксических Т-лимфоцитов. Известно, что коммитированные ЦТЛ продуцируют целый ряд цитокинов, включая CSF и IFN γ , участвующих в развитии каскада воспалительных реакций. Ранее было показано, что воспаление является благоприятным фоном для развития эндометриозных гетеротопий. Вероятно, активация цитотоксических реакций, обусловленных ЦТЛ, может быть одной из причин, ведущих к развитию воспаления в перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом. В то же время, отличительной особенностью группы женщин с эндометриозом, ассоциированным с бесплодием, было повышение уровня перитонеальных В-1 лимфоцитов и активация различных популяций ЕК. Согласно имеющимся литературным данным, пул В-1 клеток продуцирует низкоаффинные антитела, обладающие перекрестной реактивностью, в том числе реагирующие с аутоантигенами, что обуславливает их роль в развитии аутоиммунитета. Ранее было показано, что развитие бесплодия связано с усилением продукции аутоантител. По-видимому, повышение уровня В-1 лимфоцитов в перитонеальной жидкости может быть одной из причин повышения титра аутоантител и развития бесплодия. Таким образом, в целом формирование очагов наружного эндометриоза происходит на фоне усиления активации цитотоксических реакций, обусловленных ЦТЛ. Развитие бесплодия при эндометриозе связано с развитием локальных аутоиммунных реакций и усилением активности В-1 лимфоцитов.

Работа поддержана грантом Президента РФ НШ-2245.2003.4.

ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VITRO* ВЛИЯНИЯ АССОЦИИРОВАННОГО С БЕРЕМЕННОСТЬЮ КОМПЛЕКСА RAPP-A/proMBP НА АКТИВАЦИЮ НЕЙТРОФИЛОВ ЖЕНЩИН ПРИ НОРМАЛЬНОЙ И ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

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

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

Введение. В последнее время при рассмотрении механизмов иммунологии беременности отводят важное место

активации естественного иммунитета (innate branch of immunity). В частности, придают большое значение активации фагоцитарных механизмов как в ходе нормальной, так и патологической беременности. С другой стороны, существуют данные об иммунной активности ряда ассоциированных с беременностью и специфичных для беременности белков, в частности, для гестозов характерно значительное повышение концентрации RAPP-A/proMBP в периферической крови больных. Наличие высокоочищенного препарата данного гликопротеина позволило провести исследование его воздействия на метаболическую активность нейтрофилов здоровых и больных женщин.

Материал и методы. Очищенный препарат RAPP-A/proMBP получали согласно описанной ранее оригинальной методике из ретроплацентарной крови (РПС) здоровых женщин. Из взятой с цитратом Na крови мужчин (контроль), небеременных женщин и женщин с нормальным и патологическим протеканием беременности на сроке 30–35 недель выделяли фракцию нейтрофилов согласно общепринятой методике по схеме: фиколл-верографин $\rightarrow$ поливиниловый спирт $\rightarrow$ NH $_4$ Cl $\rightarrow$ отмывка. Жизнеспособность нейтрофилов оценивали микроскопически в тесте с 0,5% раствором эозина. Суспензию нейтрофилов $\approx 10^6$ кл./мл инкубировали при 37 $^{\circ}$ C в течение часа с ЗФР или с добавлением RAPP-A/proMBP в интервале 20–500 мкг/мл в спонтанном и, кроме того, с добавлением зимозана в индуцированном НСТ-тесте. После инкубации суспензию клеток осаждали и фиксировали 96 $^{\circ}$ этанолом. Микропланшет высушивали, диформазан растворяли смесью КОН – DMSO и результаты реакции оценивали по поглощению при $\lambda=540$ нм. Активность миелопероксидазы (МПО) оценивали в лизатах нейтрофилов при добавлении ТМБ $^{+}$ H $_2$ O $_2$ с остановкой реакции кислотой и измерением при $\lambda=450$ нм.

Основные результаты. Предварительные результаты продемонстрировали активирующее воздействие любых доз RAPP-A/proMBP как в опыте, так и в контроле для спонтанного НСТ-теста. В случае индуцированного НСТ-теста отмечено «up-regulation» действие для низких концентраций в опыте и контроле, и «down-regulation» для беременных 35-ти недель в норме и при патологии. В случае патологической беременности достоверно возрастает активность МПО. Достоверного влияния RAPP-A/proMBP на активность МПО в опыте и контроле не выявлено.

Заключение. Согласно полученным предварительным данным, препарат RAPP-A/proMBP оказывает активирующее влияние на метаболизм нейтрофилов в низких дозах и ингибирующее, в более высоких дозах. В целом воздействие исследуемого белка следует расценить как модулирующее. В свою очередь, при более глубоком исследовании, оценка метаболической активности нейтрофилов при патологической беременности, весьма вероятно, может иметь ценность для мониторинга хода заболевания.

ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ В ДИНАМИКЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ ПРОТЕКАЮЩЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ

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

ГУ НИИ охраны материнства и младенчества МЗ РФ, Екатеринбург, Россия

Введение. Современные достижения в области внедрения инструментальных технологий оценки состояния иммунной системы делают доступным изучение феноти-

пических и функциональных характеристик иммунокомпетентных клеток, что позволяет составить целостное представление о сути иммунологических событий в ходе гестационного процесса.

Цель: изучение уровня экспрессии маркеров активации лимфоцитами периферической крови в динамике неосложненной беременности.

Материалы и методы. Проведено иммунологическое исследование периферической крови у 250 женщин в динамике физиологической беременности. Группу сравнения составили 44 небеременных женщины благоприятного репродуктивного возраста. Иммунофенотипирование лимфоцитов осуществляли методом лазерной цитофлуориметрии на анализаторе «FACS Calibur» (Becton Dickinson). Уровень экспрессии маркеров HLA-DR, CD25 и CD71 оценивали в общем пуле лимфоцитов и в популяции CD3⁺. Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием пакета прикладных программ «Statgraphics 2.1», достоверность различий между группами оценивали с использованием критерия χ^2 .

Основные результаты. В первом триместре неосложненной беременности процент лимфоцитов, экспрессирующих молекулы HLA-DR увеличивался в 1,2 раза в сравнении с данным показателем вне беременности ($p < 0,05$). К концу гестационного процесса данный показатель снижался до уровня, характерного для небеременных женщин, в связи с чем было выявлено снижение процента HLA-DR⁺-лимфоцитов в третьем триместре в сравнении с первым ($p < 0,05$). Относительное содержание CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов возрастало в первом триместре в 1,6 раза в сравнении со значением в группе небеременных женщин ($p < 0,01$).

Наиболее важным результатом активации является экспрессия генов факторов роста и их рецепторов. Для Т-клеток таким маркером служит молекула CD25. Относительное содержание лимфоцитов, несущих маркер CD25⁺, увеличивалось в первом триместре беременности в 1,5 раза по сравнению с аналогичным показателем в группе небеременных женщин ($p < 0,01$). Во втором триместре экспрессия рецептора для IL-2 несколько снижалась, что обусловило появление статистически значимых отличий этого показателя между первым и вторым триместром как на уровне относительных, так и на уровне абсолютных значе-

ний ($p < 0,01$ и $p < 0,05$ соответственно). Содержание CD3⁺CD25⁺-лимфоцитов также повышалось на ранних сроках беременности и к концу гестационного процесса в 1,4 раза в сравнении с небеременными женщинами ($p < 0,01$ и $p < 0,05$ соответственно). Во втором триместре гестации процентное содержание CD3⁺CD25⁺-лимфоцитов было в 1,3 раза ниже по сравнению с первым ($p < 0,05$).

Рецептор для трансферрина CD71 является поздним маркером активации лимфоцитов и экспрессируется в период пролиферации. Статистически значимые отличия обнаружены при оценке экспрессии этого маркера в пуле CD3⁺-лимфоцитов. Относительное содержание CD3⁺CD71⁺-лимфоцитов увеличивалось в первом триместре беременности в 2,1 раза, а к концу гестационного процесса – в 1,7 раза по сравнению с аналогичным показателем в группе небеременных женщин ($p < 0,001$ в обоих случаях). Во втором триместре беременности уровень экспрессии CD71 Т-лимфоцитами снижался до значений, характерных для доноров, что обусловило появление достоверных различий между первым и вторым ($p < 0,01$), а также вторым и третьим триместрами ($p < 0,05$). В абсолютных показателях количество CD3⁺CD71⁺-лимфоцитов снижалось во втором триместре гестации в 1,9 раза по сравнению с первым ($p < 0,01$).

Заключение. Повышение уровня экспрессии маркеров активации лимфоцитами крови уже с ранних сроков физиологически протекающей беременности указывает на то, что с момента имплантации формирование толерантности по отношению к генетически чужеродному плоду будет зависеть от формирования иммунологического равновесия в системе мать-плод. Решающую роль для дальнейшего развития беременности и роста и развития плода играют факторы, сдерживающие неадекватную активацию иммунной системы. Следует отметить, что в абсолютных показателях ни на одном этапе гестационного процесса не было зафиксировано достоверных отличий от показателей, характерных для небеременных женщин. На основании полученных результатов можно предположить включение компенсаторных механизмов перераспределения пула лимфоцитов, которые способствуют сохранению общего количества иммунокомпетентных клеток, экспрессирующих маркеры активации, на относительно стабильном уровне.