ИММУНОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИИ

НЕЙТРОФИЛЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ПРОГРЕССИРОВАНИИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Абакумова Т.В., Сидоренко Е.Г., Антонеева И.И., Генинг Т.П.

Ульяновский государственный университет,
г. Ульяновск, Россия

Нейтрофилы периферической крови (Нф), функциональная активность которых опосредована протеолитическими ферментами и активными формами кислорода, активно вовлекаются во взаимоотношения между организмом и развивающейся в нем неоплазмой (Prestwich R.I. et al., 2008). Показано изменение функций Нф при развитии неоплазмы (Yamashita S. et al., 2000), однако направленность этих изменений зависит от типа опухоли и стадии канцерогенеза (Мальцева В.Н. с соавт., 2009).

Целью исследования была оценка морфофункционального статуса Нф при раке шейки матки (РШМ) на различных клинических стадиях заболевания.

Объектом исследования явились Нф больных РШМ, находящихся на Ia-IV клинических стадиях заболевания (по FIGO). Контролем служили Нф практически здоровых женщин. Цитохимически определяли активность миелопероксидазы (МПО), уровень катионных белков (КБ). Результаты выражали в виде среднего цитохимического коэффициента (СЦК). Рассчитывали фагоцитарный индекс (ФИ, %), фагоцитарное число (ФЧ, ус.ед), индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) (Хайтов Р.М. с соавт., 1999). Ригидность мембраны Нф оценивали на сканирующем зондовом микроскопе (СЗМ) Solver Pro (NT-MDT,

Зеленоград) в полуконтактном режиме. При статистической обработке данных использовали критерий Манна–Уитни.

В результате проведенных исследований установлено (табл.) повышение абсолютного и относительно количества Нф при прогрессировании РШМ. При этом в Нф возрастала активность МПО при одновременном снижении фагоцитарной активности.

Ригидность мембраны Нф, определяемая методом СЗМ, была повышена у больных РШМ по сравнению с контролем ($397,2 \pm 26,04$ Па на Ib-IIa стадии; $384,2 \pm 16,58$ Па на IIb-IV стадии против $225,3 \pm 27,12$ Па в контроле).

Таким образом, в динамике опухолевой прогрессии при РШМ возрастает количество Нф с повышенной аэробной бактерицидностью и ригидностью, но со сниженной фагоцитарной активностью.

Работа поддержана грантом ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013 гг.»

УРОВНИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ЦЕРВИКАЛЬНОЙ СЛИЗИ У ПАЦИЕНТОК С ЦЕРВИКАЛЬНЫМИ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫМИ НЕОПЛАЗИЯМИ

Абрамовских О.С., Никушкина К.В., Зотова М.А.

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

Цервикальная интраэпителиальная неоплазия (ЦИН) любой степени тяжести считается предраковым заболеванием. Этиологическим агентом ЦИН и рака шейки мат-

ТАБЛИЦА. ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ НФ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ПРОГРЕССИРОВАНИИ РШМ (К ТЕЗИСАМ АБАКУМОВОЙ Т.В. И ДР.)

показатели стадия		количество Нф		КБ (СЦК)	МПО (СЦК)	ФИ, %	ФЧ, ус.ед.	ИЗФ
		$\times 10^9$	%					
Ia n = 9	p	$3,5 \pm 0,52$ > 0,5	$61,7 \pm 2,91$ > 0,5	$1,8 \pm 0,05$ > 0,5	$2,1 \pm 0,14$ < 0,05	$39,4 \pm 5,75$ > 0,5	$1,5 \pm 0,07$ < 0,05	0,63
Ib-IIa n = 11	p p ₁	$4,2 \pm 0,30$ < 0,05 < 0,05	$65,9 \pm 2,25$ < 0,05 > 0,5	$1,6 \pm 0,08$ > 0,5 < 0,05	$2,2 \pm 0,17$ < 0,05 > 0,5	$32,1 \pm 5,06$ < 0,05 > 0,5	$1,4 \pm 0,08$ < 0,05 > 0,5	0,91
IIb-IV n = 12	p p ₁	$7,1 \pm 1,47$ < 0,05 < 0,05	$72,4 \pm 1,88$ < 0,05 < 0,05	$2,0 \pm 0,07$ < 0,05 < 0,05	$2,2 \pm 0,17$ < 0,05 > 0,5	$33,2 \pm 6,77$ < 0,05 > 0,5	$1,3 \pm 0,08$ < 0,05 > 0,5	1,07
Контроль n = 12		$3,6 \pm 0,03$	$55,9 \pm 4,40$	$1,7 \pm 0,13$	$1,7 \pm 0,13$	$41,2 \pm 6,43$	$2,0 \pm 0,17$	1,07

Примечание. Достоверность отличий от аналогичных показателей: p – в контроле; p₁ – на предыдущей стадии заболевания.

ки признана папилломавирусная инфекция. Среди эндогенных модифицирующих факторов в генезе малигнизации эпителия шейки матки наиболее значимой представляется роль иммунной системы, и в первую очередь, локальной защиты репродуктивного тракта женщины. Состояние гуморального звена иммунитета при воздействии вирусиндуцированных опухолевых антигенов является предметом дискуссии, что и определило **цель** нашего исследования – изучение уровня иммуноглобулинов цервикальной слизи у больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями различной степени тяжести, ассоциированными с папилломавирусной инфекцией.

Материалы и методы. Проведено изучение уровня иммуноглобулинов цервикальной слизи у 116 больных (средний возраст $26,1 \pm 0,9$ лет) с ЦИН I-III степени, у которых предварительно методом ПЦР был обнаружен вирус папилломы человека высокого риска (ВПЧ ВР). Для реализации поставленной цели все больные были разделены на 3 группы: 1 группа – 40 больных с ЦИН I; 2 группа – 38 больных с ЦИН II; 3 группа – 38 больных с ЦИН III. Контрольную группу составили 40 женщин без клинико-морфологических изменений на шейке матки и иной гинекологической патологии с наличием ВПЧ ВР. Определение концентрации иммуноглобулинов А, М, G (IgA, M, G) и секреторного иммуноглобулина А (sIg A) в цервикальной слизи проводили методом твердофазного ИФА на приборе «Personal Lab» (Италия) с использованием тест-систем ООО «Хема» (г. Москва) и ООО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск), соответственно. Оценка достоверности различий между группами производилась с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни, различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. У больных с ЦИН II при сравнении с контрольными значениями отмечалось повышение концентрации IgA и IgG в цервикальной слизи (табл.). У пациенток с ЦИН III зарегистрировано снижение sIgA относительно контрольной группы. И только у больных с ЦИН I не установлено достоверных различий по отношению к контрольной группе. У больных с ЦИН II относительно изучаемых показателей больных с ЦИН I установлено повышение количества IgG в цервикальной слизи.

Повышение уровней IgA и IgG в группе больных с ЦИН II, по-видимому, является компенсаторным механизмом в ответ на активное поступление новых антигенов через эпителиальный пласт, утративший свою ба-

рьерную функцию в результате развивающихся цитопатологических изменений. Зарегистрированное снижение sIgA у больных с ЦИН III, по нашему мнению, связано как с угнетающим действием вирусов на его синтез или истощением его продукции при чрезвычайно высокой потребности в условиях вирусных инфекций, так и с повреждением эпителия слизистых оболочек, синтезирующего его секреторный компонент. При этом, уровни других определяемых иммуноглобулинов остаются неизменными. Полученные результаты требуют дальнейших исследований для оценки роли гуморальных факторов в развитии неопластической патологии.

ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ С ГОРМОНАЛЬНЫМ ФОНОМ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН ПРИ АРИАЛЬЯ, ИМЕЮЩИХ РАЗВИТИЕ ВНУТРИУТРОБНЫХ АНОМАЛИЙ ПЛОДА В АНАМНЕЗЕ

Атаниязова О.А., Каландарова А.Н., Арипова Т.У., Мусаходжаева Д.А.

Институт иммунологии АН РУз, Нукусский филиал ТАШПМИ, Нукус, г. Ташкент, Узбекистан

На частоту и особенности рождения младенцев с развитием внутриутробных аномалий оказывают влияние многие факторы, нередко в различных сочетаниях. Изменившиеся социально-экономические условия жизни, загрязнение окружающей среды, антропогенное воздействие неблагоприятных факторов, снижение иммунитета, обуславливающие мутационный прессинг увеличивают генетический груз, снижают индекс здоровья популяции и увеличивают частоту врожденных пороков развития. Целью исследования явилось, на основе комплексного обследования беременных женщин с развитием внутриутробных аномалий плода в анамнезе, изучить частоту выявления отклонений в содержании цитокинов. Были обследованы 28 беременных женщин, проживающих в г. Нукусе в сроках от 16 до 21 недели гестации, имеющих в анамнезе развитие внутриутробных аномалий плода (деформация тазобедренного сустава, полидактилия, заячья губа и волчья пасть). 18 беременных женщин, у которых не отмечались экстрагенитальные и акушерские патологии, составили группу сравнения. Возраст всех обследованных женщин был в пределах 18-35 лет. Изучали в сыворотке крови уровень цитокинов (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8 и TNF α) методом ИФА с использованием тест-систем

ТАБЛИЦА. УРОВНИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В ЦЕРВИКАЛЬНОЙ СЛИЗИ ($M \pm m$) (К ТЕЗИСАМ АБРАМОВСКИХ О.С. И ДР.)

Показатели	Группа контроля (n = 40)	Больные ЦИН I (n = 40)	Больные ЦИН II (n = 38)	Больные ЦИН III (n = 38)
sIgA, г/л	81,99 $\pm$ 11,21	77,67 $\pm$ 16,12 p2-3 = 0,02	58,90 $\pm$ 8,02	44,32 $\pm$ 12,10 p* = 0,03
IgA, г/л	0,14 $\pm$ 0,04	0,28 $\pm$ 0,07	0,27 $\pm$ 0,04 p* = 0,014	0,21 $\pm$ 0,05
IgM, г/л	0,04 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,03	0,07 $\pm$ 0,02
IgG, г/л	0,44 $\pm$ 0,06	0,47 $\pm$ 0,06	0,72 $\pm$ 0,03 p* = 0,002 p1-2 = 0,006	0,41 $\pm$ 0,09

Примечание. p* – статистическая достоверность различий показателей больных от группы контроля; p1-2 – статистическая достоверность различий показателей больных с ЦИН II от показателей больных с ЦИН I.

ООО «Цитокин» (СПб, Россия). Анамнестический анализ обследованных женщин показал, что из 28 женщин у 14 (46,4%) наблюдалось развитие внутриутробной аномалии плода в предыдущей беременности. У 6 (21,4%) женщин наблюдалось развитие внутриутробной аномалии плода 2 беременности подряд, у 5 женщин (17,8%) – 3 беременности подряд, у 4 (14,3%) женщин – более 3-х беременностей подряд. Анализ результатов исследования выявил изменения в содержании АФП и ХГЧ у беременных женщин, имевших в анамнезе развитие внутриутробных аномалий плода. Было выявлено, что уровень IL-1 β был выше в 1,3 раза ($P < 0,05$), а TNF α – 1,2 раза ($P < 0,05$), IL-8 – в 1,4 раза ($P < 0,05$) у женщин основной группы, что, возможно, связано с изменением уровня ХГЧ, что, в свою очередь, связано с неблагоприятными экологическими факторами данного региона.

Изучение уровня цитокинов показали, что они являются интегрирующим компонентом в сложной цепи функциональных регуляторно-коммуникационных взаимодействий, определяющих развитие фето-плацентарного комплекса при беременности.

РОЛЬ ФАКТОРОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА В ПАТОГЕНЕЗЕ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Барановская Ю.П., Панова И.А., Сотникова Н.Ю.

ФГУ «Ив НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздравсоцразвития России, г. Иваново, Россия

Ключевым компонентом развития врожденного иммунитета является распознавание макрофагами на поверхности различных патогенов определенные консервативные последовательности, такие как бактериальные липопroteины, липополисахариды (LPS) и dsRNA, при взаимодействии с Toll-подобными рецепторами (TLR). TLR, как основные рецепторы врожденного иммунитета, могут служить маркерами осложнений беременности в патогенезе которых важную роль играет инфекционный фактор. В связи с этим целью работы было оценить характер экспрессии моноцитами TLR2 и TLR4 и влияние стимуляции ЛПС на нее при различной степени плацентарной недостаточности (ПН). Всего обследовано 59 женщин в 28-36 недель гестации. Деление на группы проводилось в зависимости от результатов доплерометрии и УЗИ. Основная группа – 50 женщины с ПН, которые подразделялись на 5 подгрупп: с ПН по данным УЗИ, но без нарушения маточно-плацентарного кровотока, и женщины с различной степенью нарушения Допплера. В контрольную группу вошли 9 женщины без ПН. Методом проточной цитофлуориметрии в периферической крови женщин оценивали содержание TLR2+, TLR4+ моноцитов. Методом ИФА в сыворотке крови определяли маркеры активной урогенитальной инфекции (ВПГ, ЦМВ, хламидии трахоматис, уреаплазмы уреалитикум, микоплазмы хоминис). Для уточнения характера ответа моноцитов в эксперименте *in vitro* проводили стимуляцию клеток LPS в дозе 1 мкг/мл в течение 24-часов в среде RPMI-1640 при 37 °C и 5% CO $_2$. В качестве контроля использовали клетки, инкубированные в аналогичных условиях без LPS. В контрольную группу вошли 9 женщины без ПН. Группы женщин без ПН, с ПН по данным УЗИ, но без нарушения маточно-плацентарного кровотока, и женщины с различной степенью наруше-

ния Допплера были сопоставимы по частоте выявления маркеров активной урогенитальной инфекции. Исключение составила группа женщин с 3 степенью нарушений Допплера, в которой частота выявления антител к исследуемым инфектам была в 2 раза ниже, чем в контрольной группе. Повышение уровня моноцитов, экспрессирующих TLR2, отмечалось на уровне тенденции в общей группе женщин с ПН, в группе женщин с плацентарной недостаточностью, но без нарушения доплера и в группе с нарушением маточно-плацентарного кровотока 2 степени, и было достоверным в подгруппе с нарушения кровотока 3 степени по сравнению с показателями контрольной группы. В содержании TLR4+ моноцитов нами была отмечена тенденция к повышению в группах с плацентарной недостаточностью без изменения кровотока в системе мать-плацента-плод и с нарушением маточно-плацентарного кровотока 3 степени. В ответ на дополнительную стимуляцию LPS достоверных изменений в экспрессии моноцитами TLR2 во всех исследуемых группах не отмечалось. Однако в общей группе с ПН и в группе с нарушением маточно-плацентарного кровотока 2 степени в ответ на стимуляцию ЛПС отмечалась тенденция к повышению экспрессии TLR4. Известно, что TLR2 распознают различные поверхностные маркеры грамм-положительных бактерий, грибов и цитомегаловируса. TLR4 является рецептором взаимодействующих с антигенами грамм-отрицательных бактерий, хламидий. Вероятно, отмеченное нами в группе женщин с плацентарной недостаточностью усиление экспрессии TLR2 и отсутствие выраженных изменений в экспрессии TLR4, определялось особенностями их инфекционного фона. Это предположение косвенно подтверждается данными проведенного эксперимента. Отсутствие эффекта усиления экспрессии TLR2 в ответ на стимуляцию ЛПС могло быть вызвано нарушением чувствительности клеток в результате интернализации рецепторов после первичной стимуляции антигеном, так как чувствительность клеток восстанавливается только через 48-72 ч.

НАРУШЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ FAS И FASL МОЛЕКУЛ ЛИМФОЦИТАМИ И МАКРОФАГАМИ ЭНДОМЕТРИЯ ЖЕНЩИН С ТРУБНО-ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМ БЕСПЛОДИЕМ, УЧАСТВУЮЩИХ В ПРОГРАММЕ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

Бойцова А.В., Богатова И.К., Анциферова Ю.С., Кулида Л.В.

ФГУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздравсоцразвития России, г. Иваново, Россия

По данным разных авторов частота бесплодного брака в России составляет 12-15% и имеет выраженную тенденцию к росту. В связи с этим поиск эффективных методов лечения бесплодия приобретает особую актуальность в настоящее время. Известно, что трубно-перитонеальный фактор является причиной нарушения фертильности у 40-60% женщин. В последнее время при лечении этого вида бесплодия все шире применяется экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО). Однако эффективность ЭКО пока невысока и составляет в различных клиниках 30-40%. Известно, что успешная имплантация и развитие беременности во многом определяются функциональным состоянием эндометрия. Показано, что рецептивность эндометрия при имплантации бласто-

цисты зависит от характера экспрессии в эндометрии молекул муцина, галектинов, интегринов $\alpha v \beta 3$, матриксных металлопротеиназ, продукции различных факторов роста (EGF, IFG), цитокинов (LIF, IL-1 β , IL-11, IL-15), а также от уровня активации клеток иммунной системы, инфильтрирующей ткань эндометрия. Есть данные о том, что нарушение баланса клеточной пролиферации и апоптоза в эндометрии может приводить к таким негативным явлениям, препятствующим успешной имплантации эмбриона, как развитие гиперпластических процессов. Однако механизмы регуляции апоптоза клеток эндометрия у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием до настоящего времени остаются практически не изученным. В связи с этим целью нашей работы было установить особенности экспрессии Fas и FasL молекул на поверхности эндометриальных лимфоцитов и макрофагов у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием, планирующих проведение ЭКО, для уточнения характера регуляции Fas-зависимого апоптоза у данного контингента пациенток. Нами было обследовано 45 женщин репродуктивного возраста, из них 30 пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием (основная группа) и 15 здоровых фертильных женщин (контрольная группа). Материалом для исследования служили биоптаты эндометрия, полученные путем пайпель аспирации во 2-й фазе цикла. Всем пациенткам проводили обзорное гистологическое исследование эндометрия с детальным анализом циклической перестройки стромального и сосудистого компонентов. Из ткани эндометрия выделяли популяцию мононуклеарных клеток и оценивали уровень экспрессии Fas и FasL молекул лимфоцитами и макрофагами с помощью моноклональных антител методом проточной цитометрии. В ходе гистологического исследования эндометрия было выявлено 3 типа патоморфологических изменений: секреторная недостаточность в виде неполноценной прецидуальной трансформации клеток стромы, железисто-кистозная и локальная гиперплазия эндометрия, которые достоверно чаще встречались в основной группе. Анализ характера экспрессии Fas и FasL молекул эндометриальными лимфоцитами и макрофагами показал, что у женщин основной группы была снижена экспрессия Fas молекул на поверхности лимфоцитов. Данные изменения позволяют говорить об угнетении готовности эндометриальных лимфоцитов к апоптозу. При этом апоптоз-индуцирующая функция лимфоцитов, обусловленная экспрессией FasL молекул, у пациенток основной группы не менялась. В то же время нами было установлено, что экспрессия FasL молекул была достоверно снижена на поверхности эндометриальных макрофагов пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием. Эти изменения могут свидетельствовать о нарушении способности к индукции апоптоза у эндометриальных макрофагов обследованных женщин. Вероятно, угнетение индукции Fas-зависимого апоптоза в эндометрии при трубно-перитонеальном бесплодии может быть одной из причин, ведущих к нарушениям прецидуальной трансформации эндометрия и развитию гиперпластических процессов, которые препятствуют успешной имплантации эмбриона у этих пациенток при ЭКО. В пользу этого предположения свидетельствуют полученные нами данные о том, что наступление и пролонгирование беременности было отмечено у 9 из обследованных 30 женщин, которые характеризовались отсутствием выраженных пролиферативных изменений в структурных компонентах эндометрия.

ОЦЕНКА КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА В РАННЕМ ПЕРИОДЕ АДАПТАЦИИ ДЕТЕЙ, РОДИВШИХСЯ ПРИ ОПЕРАТИВНОМ РОДРАЗРЕШЕНИИ

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

ФГУ «НИИ ОММ» Минздравсоцразвития России, г. Екатеринбург, Россия

Ранняя адаптация новорожденных детей при оперативном родоразрешении имеет ряд своих особенностей. Процессы адаптации новорожденных, извлеченных путем кесарева сечения, протекают менее благоприятно, чем после родов через естественные родовые пути. Для прогноза течения раннего постнатального периода важными являются одновременно как диагностика патологических состояний, так и оценка адаптационного резерва основных систем гомеостаза ребенка.

Цель работы заключалась в оценке иммунологических показателей в раннем периоде адаптации у доношенных детей, рожденных путем операции кесарева сечения при различных видах анестезии.

Обследовано 60 доношенных новорожденных, матерям которых при абдоминальном родоразрешении давался общий наркоз (ЭТН, 1-я группа) и 20 детей, родившихся путем операции кесарева сечения с применением спинальной анестезии (СМА) (2-я группа). Группу сравнения составили 30 здоровых доношенных новорожденных от естественных родов. Оперативное родоразрешение было плановым и выполнялось по акушерским показаниям. Соматический анамнез женщин не был отягощен. Оценка состояния иммунной системы у новорожденных проводилась при рождении (пуповинная кровь) и на 3-5 сутки жизни (периферическая кровь). Иммунофенотипирование лимфоцитов CD3⁺, CD19⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16CD56⁺ популяций осуществляли методом проточной лазерной цитофлуориметрии на анализаторе "FACS Calibur" фирмы "Becton Dickinson" (США) с использованием наборов моноклональных антител того же производителя. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ "Statistica for Windows 6.0", достоверность различий между группами оценивали с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

При исследовании пуповинной крови наибольшие изменения в показателях иммунитета были обнаружены у детей, матери которых при абдоминальном родоразрешении, получали эндотрахеальный наркоз. У новорожденных этой группы отмечалось достоверное повышение относительного числа CD3⁺ клеток и снижение абсолютного количества лимфоцитов и CD16CD56⁺ популяции по сравнению с аналогичными показателями детей, родившихся естественным путем. Кроме того, у новорожденных 1-й группы на фоне вышеперечисленных изменений зарегистрировано снижение абсолютного количества лейкоцитов, Т- и В-лимфоцитов, CD4⁺ клеток и повышение процентного содержания CD8⁺ популяции относительно показателей группы сравнения. У новорожденных 2-й группы по сравнению с детьми, родившимися естественным путем, достоверных различий в содержании CD19⁺, CD4⁺, CD8⁺ популяций не было обнаружено. Как у детей 1-й группы, у новорожденных 2-й группы отмечалось повышение числа CD3⁺ клеток и снижение абсолютного и относительного количества лимфоцитов, а также натуральных киллеров. Однако, абсо-

лютное количество лимфоцитов, а также относительное число CD16CD56⁺ клеток было статистически значимо выше, чем у детей от женщин с ЭТН. К завершению раннего периода адаптации у всех детей, родившихся путем абдоминального родоразрешения, сохранялась супрессивная направленность клеточных реакций. В отличие от новорожденных группы сравнения, в периферической крови новорожденных 1-й и 2-й групп отмечалось достоверное уменьшение относительного числа лимфоцитов, абсолютного количества популяций с фенотипом CD3⁺, CD19⁺, CD16CD56⁺ и снижение в целом содержания CD4⁺ клеток. Относительное количество цитотоксических Т-лимфоцитов статистически значимо превышало значение аналогичного параметра детей, родившихся естественным путем, что обусловило снижение значений иммунорегуляторного индекса. При сопоставлении параметров клеточного звена иммунитета новорожденных в зависимости от вида наркоза, полученного женщинами при операции кесарева сечения, достоверных различий не было обнаружено, за исключением абсолютного количества цитотоксических Т-лимфоцитов, уровень которых у детей от женщин с применением спинальной анестезии был в 1,4 раза ниже, чем при использовании эндотрахеального наркоза.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что, независимо от вида использованной анестезии в родах, состояние системы иммунитета новорожденного к завершению раннего периода адаптации характеризуется снижением численности основных популяций Т- и В-лимфоцитов, что может обуславливать риск реализации инфекционных процессов.

ИЗМЕНЕНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА У ЖЕНЩИН С НЕПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ БЕРЕМЕННОСТЬЮ

Вавилова Т.В., Костючек Д.Ф., Гайковская Л.Б., Рустанович Ю.Г.

ГОУВПО СПб ГМА им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

В структуре репродуктивных потерь частота непрогрессирующей беременности составляет 10-20%. Существует мнение, что необъяснимые формы невынашивания беременности могут быть обусловлены нарушениями в клеточном и гуморальном звене иммунитета.

Цель исследования: анализ иммунологических показателей у пациенток с несостоявшимся выкидышем на сроках до 15 недель беременности.

Было обследовано 20 беременных с диагнозом несостоявшийся выкидыш. Средний возраст их составил 29,6 лет $\pm$ 1,0 год. По срокам беременности женщины распределялись следующим образом: 4-8 нед. – 13 пациенток, 9-15 нед. – 7 пациенток. Расхождение между гестационным сроком беременности и сроком прекращения жизнедеятельности плода по данным УЗИ составляло в среднем – при сроках от 4 до 8 нед. – 3,4 нед., от 9 до 15 нед. – 1,8 нед. У 6 (30%) пациенток данная беременность была первая, у 13 (65%) – в анамнезе срочные роды, у 3 (15%) – самопроизвольный выкидыш, у 2 (10%) – несостоявшийся выкидыш, у 9 (45%) – в анамнезе искусственное прерывание беременности. Из гинекологических заболеваний следует отметить миому матки у 1-й пациентки (5%), воспалительные заболевания у 5 (25%), эрозия шейки матки у 11 (55%). У 13 (65%) пациенток были различные инфекции, передающиеся половым путем. У 14 пациен-

ток (70%) имелись сопутствующие соматические заболевания.

Всем женщинам было проведено опорожнение полости матки кюретажем с предварительным и последующим проведением антибактериальной терапии. Осложнений в послеоперационном периоде не было. Средняя кровопотеря составила $150 \pm 50,7$ мл. Пациенткам до опорожнения полости матки брали кровь для определения содержания циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), иммуноглобулинов классов А (IgA), М (IgM), G (IgG), субпопуляций лимфоцитов и маркеров их активации (CD95, CD3, CD19, CD4, CD8, CD16, CD56) и функциональной активности нейтрофилов (НСТ-тест, фагоцитарное число (ФЧ), фагоцитарный индекс (ФИ)).

У 45% пациенток отмечалось повышение CD95 и только у 9% – снижение. При этом выявлено повышение клеток CD95 только у женщин с расхождением срока гестации и прекращением жизнедеятельности плода на 4 нед. и более. Также значение маркера CD95 повышалось у женщин с наличием в анамнезе инфекций передающихся половым путем. Снижение клеток CD95 наблюдалось при увеличении срока беременности, что может быть связано с усилением иммуносупрессии.

Определение концентрации основных классов IgM, IgA и IgG в сыворотке крови показало, что у женщин в группе с расхождением срока гестации от 1 до 4 нед. отмечается увеличение IgM в 23% случаев, в то время, как в группе с расхождением срока гестации более 4 нед. только у 14,2%, что может свидетельствовать о сниженной эффективности нейтрализации вирусных антигенов во внеклеточной среде, что в данном случае может указывать на ослабление активности иммунной защиты у женщин с длительным нахождением нежизнеспособной ткани в организме.

У 45% пациенток с несостоявшимся выкидышем было повышено содержание ЦИК, что может быть обусловлено предрасположенностью этих пациенток к развитию иммунопатологических реакций. Важно отметить, что не было тенденции к изменению ЦИК у женщин в зависимости от срока беременности. При этом в группе с расхождением срока гестации от 1 до 4 нед. ЦИК были повышены у 46,1% женщин, а при расхождении срока гестации более 4 нед. – в 72,8% случаев.

При определении активности нейтрофилов отмечалось снижение ФЧ и ФИ у всех пациенток, возможно связанное с наличием хронических воспалительных реакций в организме женщины, поддерживающих аутоиммунный процесс. У 25% пациенток отмечалось снижение показателя НСТ-теста, а у 65% – повышение данного показателя, что обусловлено наличием признаков воспаления в мазках на исследование микрофлоры влагалища и косвенно может свидетельствовать о наличии бактериального воспалительного агента в полости матки.

Снижение CD8⁺ клеток у 52% женщин свидетельствует о возможном наличии TORCH инфекции. У 17% женщин отмечается повышение содержания CD16⁺CD56⁺ клеток в периферической крови, что может оказывать отрицательное действие на связь трофобласта и децидуальной оболочки. Увеличение содержания CD16⁺CD56⁺ клеток может служить показателем привычного невынашивания беременности, что требует дальнейшего изучения.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕМЕННИКОВ И ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ КРЫС ВИСТАР ПРИ ГИПЕРАНДРОГЕНЕМИИ

Васильева С.Г., Косырева А.М.

НИИ морфологии человека РАМН, Москва, Россия

Введение. Андрогены играют ключевую роль в развитии и функционировании мужской репродуктивной системы. В литературе большое число работ посвящено изучению нарушений сперматогенеза на фоне снижения уровня тестостерона. Влияние повышенного содержания тестостерона в сыворотке крови на тестикулы изучено недостаточно. По данным литературы, половые стероиды и, в частности, тестостерон модулируют течение воспалительных реакций. Тестостерон и его метаболит дигидротестостерон оказывают супрессивный эффект на иммунную систему.

Целью работы было изучение морфофункциональных изменений семенников и цитокинового профиля крыс Вистар при гиперандрогенемии.

Материалы и методы. 15 половозрелых самцов крыс Вистар массой тела 220-240 г, были разделены на группы: контрольная, 2 опытные, которым однократно вводили препарат тестостерона пролонгированного действия омнадрен 250 (14-е и 21-е сут после введения). Морфофункциональное состояние семенников оценивали на гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, по морфологическим и морфометрическим критериями (диаметр извитых семенных канальцев, площадь ядер клеток Лейдига, индекс сперматогенеза). Определение содержания общего тестостерона в сыворотке крови проводили методом твердофазного ИФА с помощью тест-систем фирмы «Adaltis». Для изучения цитокинового профиля выделяли клетки селезенки и в количестве 5×10^6 /мл культивировали в течение 1 сут в 1мл полной ростовой среды с добавлением конканавалина А (в концентрации 5 мкг/мл). В культуральной жидкости определяли концентрацию цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, IFN γ) методом ИФА (тест-системы фирмы «Bio Source International», США, «Bender Medsystems», Австрия).

Результаты. На 14-е сут после введения омнадрена концентрация общего тестостерона в сыворотке крови была повышена в 7 раз по сравнению с контролем. Показатели диаметров извитых семенных канальцев увеличивались, а площади ядер клеток Лейдига уменьшались. На фоне увеличения уровня общего тестостерона в сыворотке крови наблюдалось угнетение синтетической активности тестостерон-продуцирующих клеток, по-видимому, по механизму отрицательной обратной связи. Показатели индекса сперматогенеза достоверно не отличались от показателей контрольной группы животных. На 21-е сут состояние гиперандрогенемии сохранялось, уровень тестостерона был выше контрольного в 4 раза. Показатели площадей ядер клеток Лейдига были меньше, чем в контрольной группе, величина диаметров семенных извитых канальцев возвращалась к норме.

На 14-е сут после введения препарата тестостерона отмечалось уменьшение уровня IL-12 в 15 раз, на 21-е сут этот показатель увеличивался, оставаясь ниже значений контрольной группы в 3 раза. Уровень IFN γ был снижен в оба срока эксперимента, по сравнению с контролем, а IL-2, IL-4, IL-6 достоверно не изменялся.

Заключение. По данным морфометрического исследования гиперандрогенемия у крыс Вистар вызывает уменьшение площади ядер клеток Лейдига, что свидетельствует об угнетении эндокринной функции семенников. На 14-21-е сут после введения препарата тестостерона отмечается снижение уровня IL-12, IFN γ , тогда как уровень IL-2, IL-4, IL-6 достоверно не изменяется, что отражает модулирующее действие тестостерона на иммунную систему.

ИЗМЕНЕНИЕ СИНТЕЗА ИНТЕРФЕРОНА-ГАММА И ГРАНЗИМА-B ДЕЦИДУАЛЬНЫМИ CD56⁺ ЕСТЕСТВЕННЫМИ КИЛЛЕРАМИ ПРИ ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С КЛЕТКАМИ АУТОЛОГИЧНОГО ТРОФОБЛАСТА У ЖЕНЩИН С НЕОСЛОЖНЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТЬЮ И СО СПОНТАННЫМ АБОРТОМ НА РАННИХ СРОКАХ

Воронин Д.Н., Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Букина Е.А.

ФГУ «Ив НИИ МиД им. В.Н.Городкова»
Минздравсоцразвития России, г. Иваново, Россия

По мнению многих авторов, в основе механизмов невынашивания беременности ранних сроков лежит неадекватная стимуляция иммунной системы матери. В рамках существующей гипотезы ключевая роль в регуляции материнского иммунного ответа принадлежит децидуальным естественным киллерам (ЕК) с фенотипом CD56⁺CD16⁻, составляющим около 80% лейкоцитарного инфильтрата децидуальной оболочки плаценты. Механизмы взаимодействия децидуальных ЕК с клетками инвазирующего трофобласта при неосложненной беременности и при спонтанном аборте пока еще полностью не установлены. Известно, что ЕК несут на своей мембране множество различных рецепторов, лиганды которых экспрессируются клетками трофобласта. Однако, на данный момент мало данных о том, как изменяется функциональное состояние самих ЕК при их взаимодействии с клетками экстравиллезного трофобласта при физиологической и патологической беременности. В связи с этим целью нашего исследования было оценить влияние клеток ворсинчатого трофобласта на экспрессию мРНК интерферона-гамма (IFN γ) и гранзима-B (GrB) децидуальными CD56⁺ лимфоцитами при неосложненной беременности и при самопроизвольном выкидыше на ранних сроках гестации. Материалом для исследования служили децидуальная оболочка и ворсинчатый трофобласт плацент 26 женщин в сроке гестации 6-10 недель, беременность которых закончилась медицинским абортом (контрольная группа) и 17 женщин с самопроизвольным прерыванием беременности на ранних сроках гестации. Лимфоциты из децидуальной оболочки выделяли механическим способом. Обогащенную популяцию лимфоцитов получали стандартным методом скоростного центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина. Клетки ворсинчатого трофобласта выделяли стандартным ферментативным методом. Децидуальные ЕК культивировали в течение 24 часов при 37 °С и 5% CO₂ с клетками трофобласта. В качестве контроля использовали показатели лимфоцитов, которые инкубировались в аналогичных условиях только в культуральной среде RPMI 1640 без стимуляции. После окончания срока инкубации из смеси клеток методом позитивной непрямой магнитной сепарации выделяли популяцию децидуальных CD56⁺ ЕК и оценивали уровень экспрессии в них мРНК IFN γ и GrB мето-

дом RT-PCR. Анализ данных показал, что в обеих клинических группах наблюдения в децидуальных CD56⁺ лимфоцитах после их 24-часовой инкубации с аутологичными клетками ворсинчатого трофобласта повышалась экспрессия мРНК IFN γ и GrB, по сравнению с аналогичными показателями в популяции децидуальных ЕК, инкубированных в тех же условиях без стимуляции клетками ворсинчатого трофобласта. Однако степень выраженности этих изменений зависела от характера течения беременности. Так, индивидуальный анализ данных показал, что в группе женщин с физиологической беременностью стимуляция децидуальных ЕК клетками трофобласта приводила к повышению уровня экспрессии мРНК IFN γ в пуле CD56⁺ лимфоцитов на 45% относительно контрольных значений. При этом в группе женщин с самопроизвольным выкидышем в этих же условиях нами отмечалось усиление экспрессии мРНК IFN γ децидуальными ЕК более чем на 150%. Экспрессия мРНК GrB в CD56⁺ децидуальных лимфоцитах при неосложненной беременности усиливалась под влиянием клеток трофобласта в среднем на 85%, а при самопроизвольном выкидыше этот показатель увеличивался практически десятикратно. Таким образом, как при физиологической беременности, так и при ее досрочном прерывании на ранних сроках контакт децидуальных CD56⁺ с клетками трофобласта, несущими антигены отцовского происхождения, приводил к усилению продукции ЕК цитолитических молекул и эффекторных цитокинов. Наши данные не подтверждают широко распространенное мнение о неспособности децидуальных ЕК активироваться в ответ на стимул со стороны клеток плодового происхождения. Однако при спонтанном аборте ответ CD56⁺ лимфоцитов на стимуляцию клетками трофобласта был значительно более выражен. По-видимому, только чрезмерно высокий ответ децидуальных ЕК на стимуляцию клетками трофобласта, приводящий к несбалансированному локальному усилению продукции цитолитических молекул и цитокинов Th1-типа, вызывает развитие цитотоксических реакций направленных против семиаллогенного плода и является причиной развития самопроизвольного выкидыша на ранних сроках гестации.

СОДЕРЖАНИЕ РАСТВОРИМЫХ МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ В РАННИЕ СРОКИ БЕРЕМЕННОСТИ, ОСЛОЖНЕННОЙ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Гагиева И.А.

*ФГУ «НИИ охраны материнства и младенчества»
Минздравсоцразвития РФ, г. Екатеринбург, Россия*

Реализация ряда патогенетических механизмов в ранние сроки беременности обуславливает развитие патологических состояний в дальнейшем. Изменение экспрессии или выработки отдельных факторов (цитокинов, молекул адгезии, факторов роста и других регуляторных субстанций) на этапе плацентации может являться причиной нарушения формирования гемодинамической системы, обеспечивающей потребности плода. В регуляции иммунологических механизмов на разных этапах реализации иммунного ответа принимают участие растворимые формы мембранных антигенов. Нарушение их равновесного содержания в биологических жидкостях организма приводит к модуляции межклеточных мембранных взаимодействий, в связи с чем растворимые формы мембранных антигенов рассматриваются в качестве эн-

догенных иммунорегуляторных молекул, интегрированных в общую иммунологическую сеть. Изменение уровня экспрессии как мембранных, так и растворимых антигенов в ранних сроках беременности может свидетельствовать о нарушении механизмов сигнальной трансдукции, играющих важную роль в патогенезе различных осложнений гестации. В связи с этим оценка уровня мембранных рецепторов и сигнальных молекул в циркуляции имеет большое значение для определения потенциальной возможности их использования в качестве дополнительных предикторных факторов риска развития плацентарной недостаточности (ПН).

Цель: определение предикторной значимости содержания растворимых молекул адгезии в ранних сроках беременности, осложненной впоследствии плацентарной недостаточностью.

Материал и методы. Проведено иммунологическое обследование 59 женщин в первом триместре беременности. Ретроспективно женщины были разделены на 2 группы: 29 женщин вошли в группу с диагностированной ПН во второй половине беременности и 30 женщин с неосложненным течением всего периода гестации составили группу сравнения. Концентрацию растворимых форм молекул адгезии sVCAM-1 и sICAM-1 в сыворотке крови оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем производства «Bender-MedSystems» (Австрия). Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0», проверку статистических гипотез осуществляли с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

Основные результаты. Концентрация sVCAM-1 у женщин основной группы была в 1,8 раза выше, чем аналогичный показатель в группе сравнения ($828,66 \pm 636,14$ нг/мл против $471,84 \pm 320,56$ нг/мл, $p = 0,032$), содержание sICAM также обнаруживало тенденцию к увеличению ($436,15 \pm 159,76$ нг/мл против $365,94 \pm 219,67$ нг/мл). Повышенный уровень экспрессии VCAM-1 свидетельствует об активации эндотелиоцитов, а повышенная продукция ICAM-1 характерна для активированных клеток иммунной системы. Растворимые формы молекул адгезии способны конкурировать с мембранными антигенами ICAM-1 и VCAM-1 на эндотелиальных клетках, увеличивая адгезивность внутренней выстилки сосудов. С другой стороны, оказывая влияние на эффекторные функции иммунокомпетентных клеток, sICAM-1 действует как провоспалительный медиатор-хемоаттрактант, активируя лейкоциты и усиливая их сродство с эндотелием. Избыточная продукция растворимых молекул адгезии может являться дополнительным фактором развития микроциркуляторных и гемодинамических нарушений посредством усиления прокоагуляционного потенциала крови, что обуславливает нарушение процессов плацентации. Увеличение содержания растворимых форм мембранных антигенов во внеклеточном пространстве свидетельствует об усилении процессов протеолитического шеддинга — отщепления внеклеточной части мембранных белков с поверхности клеток. Это может приводить к нарушению сигнальной трансдукции и недостаточной модуляции иммунного ответа материнского организма на антигены плода. Сбрасывание дифференцировочных антигенов в межклеточное пространство чаще всего является следствием активационных процессов и приводит к down-регуляции иммунного ответа, возникающей

вследствие снижения плотности экспрессии мембранных форм молекул адгезии.

Заключение. Растворимые формы поверхностных антигенов клеток иммунной системы принимают участие в реализации различных звеньев иммунного ответа, являясь одновременно результатом реализации иммунологических механизмов. Повышение концентрации молекул адгезии sVCAM-1 и sICAM-1 является показателем как активации клеток, так и степени нарушения передачи межклеточных сигналов. Таким образом, содержание растворимых форм поверхностных антигенов в ранние сроки беременности обладает высокой прогностической значимостью для оценки риска развития плацентарной недостаточности.

РОЛЬ МЕМБРАННОЙ МОЛЕКУЛЫ CD40 В ЭКСТРАТИМИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ ГЕНОВ Т-КЛЕТОЧНОГО РЕЦЕПТОРА ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

Глебездина Н.С., Куклина Е.М.

Учреждение Российской академии наук Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН, г. Пермь, Россия

Введение. В работе оценивали механизмы индукции процессов реаранжировки генов TCR в периферических Т-лимфоцитах при беременности. В частности, конкретной целью исследования было изучение роли мембранной молекулы CD40 в этом процессе. Были поставлены следующие задачи: 1) выявить экспрессию мембранных молекул $\alpha\beta$ TCR (антигенного рецептора) и CD40 на периферических $\alpha\beta$ Т-лимфоцитах, 2) оценить экспрессию рекомбиназы RAG-1 (Recombination Activating Gene 1) в периферических Т-клетках в ответ на CD40-зависимую активацию.

Материалы и методы. Работа проведена на беременных самках мышей Swiss, у которых исследовались лимфоциты периферической крови, селезенки и лимфатических узлов (отдельно дренирующих матку – парааортальных, и не дренирующих – паховых и подмышечных). Экспрессия $\alpha\beta$ Т-лимфоцитами CD40 и рекомбиназы RAG-1 оценивалась проточной цитометрией.

Основные результаты. Установлено, что у мышей Swiss на 10-11 день беременности в парааортальных лимфатических узлах, дренирующих матку, а также, в меньшей степени, в подмышечных лимфоузлах регистрируется нетипичная популяция $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов, экспрессирующая молекулу CD40. Данная популяция фактически отсутствует у небеременных мышей, а также у беременных в периферической крови, селезенке и паховых лимфоузлах, не дренирующих матку. Анализ экспрессии рекомбиназы RAG-1 в периферических Т-лимфоцитах парааортальных лимфоузлов в зависимости от наличия или отсутствия на мембране CD40 не выявил четких закономерностей: рекомбиназа выявлялась как в $\alpha\beta$ TCR⁺CD40⁺ клетках, так и в классической, CD40-негативной популяции Т-лимфоцитов. Наряду с этим, перекрестное связывание CD40 на мембране $\alpha\beta$ Т-клеток парааортальных лимфоузлов *in vitro* не изменяло уровня RAG-1-позитивных клеток в культуре.

Заключение. В целом, хотя и было показано наличие при беременности в периферических лимфоидных органах мышей необычной популяции CD40-позитивных Т-лимфоцитов, отсутствие взаимосвязи между экспрессией белка RAG-1 и присутствием на мембране CD40 при

их оценке на уровне одной клеточной системы свидетельствует о том, что CD40-зависимый сигнал, по-видимому, не играет роли в активации рекомбиназной активности.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИНФЕКЦИОННОЙ ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

Долгих Т.И., Шелев М.В., Минакова Е.Ю.
Проданчук Е.Г., Кадцына Т.В.

Омская государственная медицинская академия,
г. Омск, Россия

Введение. Проблема перинатальной патологии остается актуальной для г. Омска, где в течение последних десяти лет отмечается неблагоприятная ситуация по внутриутробным инфекциям и их последствиям. В данном регионе регистрируется рост частоты пороков развития у детей, родившимися живыми ($47,7 \pm 0,66\%$; $T_{пр} = +5,8\%$), мертвыми ($67,1 \pm 8,37\%$; $T_{пр} = +13\%$) с общей частотой патологии $50,5 \pm 0,68\%$ на 1000 родов ($T_{пр} = +5,8\%$; И.А. Антонова, 2010). Отмечено увеличение показателя несостоявшихся выкидышей (с 7,3 до 8,8 на 100 родов) и частоты повторных случаев внутриутробной гибели плода (Проданчук Е.Г., 2010). Вышеперечисленное обосновывает необходимость этиологической расшифровки внутриутробных инфекций и поиска активных факторов риска развития патологии и осложнений.

Цель и задачи. Целью работы явилась разработка клинико-лабораторного мониторинга перинатальных инфекций в г. Омске. Решались следующие задачи: 1) изучение структуры перинатальных потерь в ранние сроки беременности; 2) оценка цитокиновой регуляции и оптимизация лабораторной диагностики; 3) выделение факторов риска развития патологии и осложнений течения инфекции. Работа проводилась в рамках заказной темы Минздрава России «Изучение инфекционной перинатальной патологии» (Приказ от 20.05.2009 г. № 257).

Материалы и методы. С использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР), иммуноферментного анализа (ИФА), иммуноблота и микробиологических методов изучены 116 случаев внутриутробной гибели плода (несостоявшийся выкидыш), проведен клинико-лабораторный мониторинг 148 женщин с отягощенным акушерским анамнезом. Результаты обработаны статистически с применением непараметрических методов.

Основные результаты. При этиологической расшифровке 116 случаев внутриутробной гибели плода установлено инфицирование полости матки в 79,8% с преобладанием кокковой микрофлоры (*St. aureus*, *Enterococcus faecalis*) и уреоплазм ($p < 0,05$). Микстинфекция выявлена в 31,5%, монокультура – в 48,3%. При молекулярно-генетическом исследовании тканей погибших эмбрионов/плодов наиболее часто присутствовали *Ur. Urealyticum*, Epstein–Barr virus (EBV), *Listeria* и *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*). Следующие ранговые места занимали цитомегаловирус (CMV), вирус простого герпеса 2 типа (HSV-2), Rotavirus. В 38,0% имела место моноинфекция, в 25,9% – микст-инфекция. Показана возможность EBV, Parvovirus B19 (PV B19) и его ассоциации с CMV индуцировать гибель плода. Цитокины и лактоферрин могут выступать в качестве прогностических критериев развития системной воспалительной реакции (ССВР) независимо от срока гестации: отмечается увеличение уровня TNF α (в 3,8 раза) и рецепторного антаго-

ста IL-1 β (РАИЛ) – в 2,2 раза. У женщин без ССВР IL-10 был повышен в 4,7 раза по сравнению с данными при физиологически протекающей беременности ($n = 25$). Снижение уровня IL-10 до лечения опережало развитие других клинико-лабораторных признаков ССВР, а повышение уровня РАИЛ в первые сутки послеабортного периода свидетельствовало о развитии эндометрита, коррелировало с гнойно-воспалительным поражением плодного яйца и децидуальной ткани. Выделены основные факторы риска: наличие мертвого плода в полости матки 5 недель и более (ведущий фактор) и вирусно-бактериальная либо бактериальная инфекции. Разработана тактика ведения женщин с несостоявшимся выкидышем, что снизило количество органонезущих операций в 5 раз и предотвратило материнскую смертность. При обследовании женщин с отягощенным акушерским анамнезом подтверждена важная роль герпесвирусов с преимущественным негативным влиянием EBV. Установлены факторы риска: активность инфекционного процесса (наличие ДНК возбудителя, специфических IgA и IgM к отдельным белкам), низкий уровень интерферона- γ , наличие в анамнезе перенесенного инфекционного мононуклеоза, гепатит, гепатоспленомегалия, нарушения в системе гемостаза, вторичный иммунодефицит, рецидивирующие ангины, повторные респираторные инфекции во время беременности, многоводие, хроническая фетоплацентарная недостаточность, кальциноз. Последующая прегравидарная подготовка женщин с верифицированной герпесвирусной инфекцией позволила уменьшить частоту преждевременного прерывания беременности в 3,7 раза и антенатальной гибели плода – в 79 раз (до 0,8%).

Заключение. Установлена важная роль EBV и PV B19 в формировании патологии плода. Выделены основные клинико-лабораторные факторы риска. Персонализированная прегравидарная подготовка женщин позволяет улучшить исходы последующей беременности.

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА Т-ЛИМФОЦИТОВ В ДИНАМИКЕ НЕОСЛОЖНЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И ПРИ РАЗВИТИИ АКУШЕРСКОЙ ПАТОЛОГИИ

Кадырова Л.В., Сотникова Н.Ю., Кудряшова А.В.

ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, г. Иваново, Россия

Как показывают исследования последних лет, плацентарный барьер во время беременности не является абсолютно непроницаемым для антигенов плода. Поступление их в кровотоки беременной женщины, а также изменение гормонального фона, усиление выработки ростовых факторов могут определять изменение процесса дифференцировки Т-лимфоцитов и формирование особых пулов клеток-памяти. Целью нашей работы было выявить особенности дифференцировки Т-лимфоцитов в динамике гестационного процесса в I (5-11 недель) и II (16-20 недель) триместрах гестации в зависимости от характера течения беременности и наличия маркеров активной урогенитальной инфекции. Проводилось исследование периферической венозной крови 40 женщин. Из них 10 женщин обследовались вне беременности (здоровые доноры); 30 беременных женщин, обследованные двукратно в I (6-10 недель) и II (16-20 недель) триместрах гестации. Все женщины не имели тя-

желой экстрагенитальной патологии, а также у всех женщин I триместра беременности, на момент обследования, отсутствовали клинические признаки акушерской патологии. Впоследствии у 8 из 30 женщин отмечалась угроза невынашивания в I триместре беременности, у 6 – во втором триместре. Методом трехцветной проточной цитофлюориметрии исследовали содержание наивных T n (CD45RA $^+$ CD62L $^+$), центральных T cm (CD45RA $^-$ CD62L $^+$), претерминально-дифференцированных T em (CD45RA $^-$ CD62L $^-$) и терминально-дифференцированных T $emra$ (CD45RA $^+$ CD62L $^-$) клеток памяти в общей популяции периферических Т-лимфоцитов с помощью моноклональных антител (Caltag Laboratories, USA) на цитометре FACScan (“Becton Dickinson”, USA) с использованием программного обеспечения CellQuest Pro. Параллельно в сыворотке периферической крови исследовали содержание методом ИФА антител классов IgM к ВПГ, ЦМВ и хламидии трахоматис, IgG к хламидии трахоматис, уреоплазме уреалитикум, микоплазме, IgA к микоплазме и уреоплазме уреалитикум. Проведенные исследования показали, что в I триместре беременности в крови женщин достоверно снижалось относительное содержание T $emra$, и резко возрастал уровень T n лимфоцитов по сравнению с показателями небеременных доноров. Во II триместре беременности нами не было выявлено достоверных различий в содержании T n , T cm , T em , T $emra$ относительно показателей беременных женщин I триместра гестации. Однако индивидуальный анализ данных показал, что в динамике I и II триместров беременности изменения в содержании клеток, находящихся на различных этапах дифференцировки, были не однозначными, что позволило нам выделить 2 подгруппы. В I подгруппе (81% обследованных) отмечалось снижение содержания T n и повышение уровня T em клеток-памяти относительно показателей I триместра. Во 2 подгруппе (19% обследованных) наблюдались противоположные изменения – повышение уровня T n и снижение содержания T em . В I подгруппе женщин в 38% случаев беременность протекала без осложнений, у 62% женщин развилась угроза невынашивания. Во 2 подгруппе у 100% женщин беременность протекала без осложнений. При анализе данных в зависимости от характера течения гестационного процесса мы установили, что группа женщин с неосложненным течением беременности во II триместре гестации была более однородной по содержанию наивных Т-лимфоцитов и центральных клеток-памяти (лишь у 18% женщин уровень T n был менее 30%, уровень T cm был ниже 30% у 100% женщин). В группе женщин с угрозой невынашивания в I и II триместрах беременности уровень T n был менее 30% у 55% женщин, а у 27% женщин уровень T cm превышал 30%. Для уточнения возможного влияния инфекционного фактора на процесс дифференцировки Т-лимфоцитов мы провели сравнительный анализ дифференцировки клеточных пулов в I триместре беременности в зависимости от наличия маркеров инфицирования. Анализ данных показал, что в подгруппах женщин, не имевших маркеров инфицирования и имевших маркеры вирусного и бактериального инфицирования, эти изменения были однотипными. Также как и в общей группе беременных женщин при наличии активной инфекционной процесса в крови женщин повышался уровень T n и снижалось содержание T $emra$ по сравнению с показателями небеременных доноров. Таким образом, в ранние сроки беременности факторы, действующие в I триместре гестации (изменение гормонального фона, усиление выработ-

ки ростовых факторов и др.), оказывают большее влияние на дифференцировку Т-лимфоцитов, чем инфекционный процесс. В более поздние сроки гестации на дифференцировку Т-лимфоцитов оказывает влияние характер течения беременности.

ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА В ПЕРВЫЕ СУТКИ ЖИЗНИ У НОВОРОЖДЕННЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ГЕМОЛИТИЧЕСКУЮ БОЛЕЗНЬ

Касаткина Е.В., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И., Газиева И.А., Чарипова Б.Т.

ФГУ «НИИ ОММ» Минздрава России,
г. Екатеринбург, Россия

Гемолитическая болезнь (ГБ) плода и новорожденно-го является следствием иммунологических осложнений беременности, обусловленных резус-сенсibilизацией. С точки зрения патогенетических механизмов заболевания, ante- и постнатальной диагностики клинических проявлений проблема иммуноконфликта по эритроцитарным антигенам очень хорошо освещена. Однако недостаточно изученными остаются особенности иммунологической реактивности у детей с данной патологией, в 100% случаев имеющих проявления перинатального поражения ЦНС, попадающих в группу часто болеющих детей и угрожаемых по развитию аллергических заболеваний.

Цель: оценить иммунологические показатели периферической крови на первые сутки жизни у новорожденных, перенесших гемолитическую болезнь.

Проведено клинико-лабораторное обследование 42 детей с гемолитической болезнью новорожденных, из них: 33 детей с ГБ по резус-фактору (1 группа), подразделенных в зависимости от необходимости проведения в процессе лечения операции заменного переливания крови (ОЗПК) — 12 детей с ГБ по резус-фактору без ОЗПК (подгруппа 1А) и 21 новорожденный с ОЗПК (подгруппа 1Б); 2-ю группу составили 9 детей с ГБ по АВО-системе. В группу сравнения вошли 17 здоровых доношенных новорожденных. Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови осуществляли методом проточной цитометрии на анализаторе «FACSCalibur» фирмы «Becton Dickinson» на 1-е сутки жизни. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows 6.0», достоверность различий между группами оценивали с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни и точного критерия Фишера.

Гестационный возраст детей основных групп составлял: 37,85±0,35 недель в подгруппе 1А, 36,78±0,24 — в подгруппе 1Б, 38,75±0,32 — во 2-й группе, против 39,41±0,16 недель у детей группы сравнения. Наибольшее количество недоношенных детей регистрировалось в подгруппе 1Б — 66,7% (14) случаев, против: 25% (3) в подгруппе 1А, 22,2% (2) — во 2-й группе и 5,9% (1) — в группе сравнения ($p < 0,001$). По сравнению со здоровыми новорожденными патология тимуса (тимомегалия) регистрировалась достоверно чаще у детей от резус-конфликтной беременности: в 83,3% (10) случаев у детей подгруппы 1А и в 47,6% (10) случаев — подгруппы 1Б, против 13,3% (2) в группе сравнения ($p < 0,03$). Во 2-й группе данный показатель составил 11,1% (1) случаев. В периферической крови детей с ГБ по резус-фактору, лечившихся консервативно, отмечалось достоверное повышение абсолют-

ного количества CD8⁺, CD16,56⁺, CD3⁺CD54⁺, CD95⁺ и CD3⁺CD95⁺ клеток по сравнению со здоровыми новорожденными. У новорожденных, которым проводилась операция заменного переливания крови, количество цитотоксических лимфоцитов (CD8⁺, CD16,56⁺), не отличалось от показателей группы сравнения. Уровень экспрессии рецептора CD95 в общем пуле лимфоцитов и популяции CD3⁺ в этой группе детей, так же, как у новорожденных подгруппы 1А, превышал значения аналогичных параметров группы сравнения, однако численность активированных клеток была достоверно ниже, чем у детей без ОЗПК. Следует отметить, что в отличие от новорожденных, лечившихся консервативно, у детей с ОЗПК количество CD3⁺CD54⁺ клеток не превышало значения показателей группы сравнения, а общее количество клеток, несущих маркер CD54, было достоверно выше. У детей с гемолитической болезнью по системе АВО абсолютные показатели клеточного иммунитета не отличались от параметров здоровых детей.

Таким образом, у всех детей, родившихся от резус-конфликтной беременности, независимо от вида лечения (консервативное или операция заменного переливания крови), выявлена повышенная экспрессия маркера готовности к апоптозу CD95 в общем пуле клеток и CD3⁺ лимфоцитах, по сравнению с показателями здоровых новорожденных, что обусловлено длительной антигенной стимуляцией иммунной системы плода внутритрубно в результате текущего гемоконфликта и подтверждается наличием в этой группе детей, имеющих патологию тимуса (тимомегалию) уже к моменту рождения.

Статистически значимые различия в показателях клеточного иммунитета у детей, лечившихся консервативно и потребовавших операции заменного переливания крови, связаны, прежде всего, с различным гестационным возрастом детей (в подгруппе 1Б недоношенные дети составляли 66,7%). У детей с ГБ по системе АВО показатели иммунограммы на 1-е сутки жизни не отличаются от параметров группы сравнения, что связано с отсутствием гемоконфликта в антенатальном периоде.

ОБРАЗОВАНИЕ АНТИТЕЛ К КСЕНО- И ЭНДОБИОТИКАМ ПРИ ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКАХ РАЗВИТИЯ ПЛОДА

Красильникова К.С.¹, Поленок Е.Г.¹, Аносова Т.П.¹, Аносов М.П.¹, Костянко М.В.¹, Равинг Л.С.², Нерсесян С.Л.³, Оленникова Р.В.³, Гареева Ю.В.⁴, Сутулина И.М.⁴, Глушков А.Н.¹

¹ Учреждение Российской академии наук Институт экологии человека СО РАН, г. Кемерово, Россия

² Муниципальное учреждение здравоохранения «Городская больница № 1 им. М.Н. Горбуновой» женская консультация, г. Кемерово, Россия

³ Государственное учреждение здравоохранения Кемеровская областная клиническая больница «Медико-генетическая консультация», г. Кемерово, Россия

⁴ ГОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия МЗ РФ», г. Кемерово, Россия

Введение. В настоящее время в структуре детской заболеваемости, инвалидности и смертности увеличивается удельный вес врожденных пороков развития плода (ВПП) (Андреева Л.П., Кулишов Н.П. и др., 2007). В этиологии и патогенезе ВПП большую роль играют воздействие ксенобиотики, такие как бензо[а]пи-

рен (БП), и эндобиотики – стероидные гормоны, такие как эстрадиол (ЭС) и прогестерон (ПГ) (Fonseca E., 2007). Окисленные формы ксено- и эндобиотиков обладают тератогенной активностью в результате образования аддуктов с ДНК и другими макромолекулами организма. Наряду с этим происходит синтез специфических антител (АТ), функции которых до сих пор не раскрыты (Glushkov A.N., 2003).

Целью данной работы явилось изучение особенностей образования АТ к ксенобиотику – БП и эндобиотикам – ЭС и ПГ у беременных женщин с ВППП.

Материалы и методы. В исследовании принимали участие 82 беременные женщины, которым по результатам ультразвукового обследования был поставлен диагноз ВППП. Группу сравнения составили 123 беременные женщины с физиологическим течением беременности. Средний возраст в обеих группах составил $26,1 \pm 0,7$ лет. Все женщины находились на II триместре беременности. Состояние здоровья оценивалось на основе медицинских карт. АТ к БП, ЭС и ПГ определяли методом неконкурентного ИФА, разработанного в Институте экологии человека СО РАН (Глушков А.Н., 2011). Уровень АТ, специфичных к ксено- и эндобиотикам, определяли по формулам: $AT_{БП} = (OD_{(БП-БСА)} - OD_{(БСА)}) / OD_{(БСА)}$; $AT_X = (OD_{(X-БСА)} - OD_{(БСА)}) / OD_{(БСА)}$, где OD – значение оптической плотности в соответствующих лунках, X – эндобиотики ЭС и ПГ. Таким образом, уровень АТ к БП, ЭС и ПГ показывает, во сколько раз специфическое связывание АТ с ксенобиотиком и эндобиотиками превышает неспецифическое связывание с белком-носителем. Соотношение уровней АТ ксенобиотик/эндобиотик рассчитывали по формуле: $AT_{БП/X} = (OD_{(БП-БСА)} - OD_{(БСА)}) / (OD_{(X-БСА)} - OD_{(БСА)})$.

Статистическую обработку данных проводили при помощи ППП STATISTICA 6.0. Рассчитывали относительные риски (RR) с доверительным интервалом (CI) при 95% уровне значимости (Двойрин В.В., 1975).

Результаты и обсуждение. В результате исследования выяснилось, что у женщин с ВППП по сравнению с контрольной группой чаще встречались соотношения IgA БП/ЭС выше 2 (36,6% против 50%; $\chi^2 = 3,9$; RR = 1,7; CI 0,6-4,5); IgG БП/ЭС выше 2 (13,8% против 36,5%; $\chi^2 = 13,2$; RR = 3,5; CI 1,4-9,3); IgM БП/ЭС выше 5 (26% против 43,9%; $\chi^2 = 6,3$; RR = 2,2; CI 0,8-5,8); IgA БП/ПГ выше 2 (29,3% против 75,6%; $\chi^2 = 40,5$; RR = 7,3; CI 2,7-19,1); IgG БП/ПГ выше 3 (15,4% против 42,6%; $\chi^2 = 17,4$; RR = 4,0; CI 1,5-10,5) и IgM БП/ПГ выше 2 (45,5% против 82,9%; $\chi^2 = 27,2$; RR = 5,6; CI 2,1-14,7). Риск возникновения ВППП увеличивается в 4-7 раз при наличии высоких показателей соотношения БП/ПГ всех трех классов Ig. Так как указанные соотношения определяются двумя видами АТ – к ксенобиотику и к эндобиотикам, необходимо выяснить, какие именно АТ определяют повышенные значения данных соотношений. Для этого рассчитаны медианы уровней АТ к БП, ЭС и ПГ при низких и высоких значениях соотношений АТ БП/Х, которые показали понижение уровней АТ к стероидным гормонам в 1,7 – 4,5 раза и повышение уровней АТ к БП в 1,5 – 2 раза в обеих группах при высоких значениях соотношений АТ БП/Х.

Патогенетическое значение выявленных особенностей образования АТ к ксено- и эндобиотикам у женщин с ВППП требует дальнейших исследований. Вместе с тем,

анализ АТ к БП, ЭС и ПГ у беременных женщин можно рекомендовать для определения рисков возникновения ВППП.

ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ И РЕЦЕПЦИИ TGF- β 1 КЛЕТКАМИ МОНОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО РЯДА ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

Крошкина Н.В.

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

Известно, что фагоцитарные клетки играют важную роль в поддержании клеточного гомеостаза в организме, участвуя в регуляции процессов ангиогенеза, регенерации, дифференцировки и клеточной пролиферации. Во время беременности макрофаги представляют собой главный клеточный компонент на участке имплантации. В настоящее время считается доказанным участие этих клеток в специфических реакциях, связанных с беременностью. Показано, что цитокины, продуцируемые фагоцитами, играют важную роль в регуляции материнского иммунного ответа. Так, усиленная продукция фагоцитами цитокинов Th1-типа, по мнению многих авторов, может вести к развитию целого ряда осложнений беременности, таких как невынашивание беременности и гестоз. В то же время характер продукции клетками фагоцитарного ряда противовоспалительных цитокинов, в частности TGF- β 1, при неосложненной и патологической беременности изучены недостаточно.

Целью нашего исследования было установить особенности продукции и рецепции TGF- β 1 моноцитами/макрофагами на системном и локальном уровне при неосложненной беременности при самопроизвольном ее прерывании на ранних сроках. Было проведено обследование 18 женщин с физиологическим течением беременности в 8-12 недель гестации, 14 женщин со спонтанным прерыванием беременности на ранних сроках, 20 небеременных женщин фертильного возраста. Материалом для исследования служили периферическая венозная кровь, децидуальная оболочка плаценты и эндометрий. Популяцию мононуклеарных клеток из ткани эндометрия и децидуальной оболочки плаценты выделяли механическим способом. Внутриклеточную продукцию TGF- β 1 и мембранную экспрессию эндоглина (CD105 молекул) моноцитами и макрофагами определяли с помощью моноклональных антител методом проточной цитометрии. Было установлено, что с наступлением беременности как на системном, так и на локальном уровне заметно возрастало число TGF- β 1-позитивных моноцитов/макрофагов по сравнению с таковым у небеременных женщин. Одновременно в децидуальной оболочке плаценты и в периферической крови женщин с физиологическим течением беременности ранних сроков достоверно возрастало количество макрофагов/моноцитов, экспрессирующих на своей поверхности вспомогательный рецептор TGF- β 1 – эндоглин (CD105 молекулы). При развитии самопроизвольного выкидыша синтез и рецепция TGF- β 1 децидуальными макрофагами резко снижалась. В периферической крови женщин данной клинической группы нами было выявлено снижение уровня TGF- β 1⁺ моноцитов, но рецепция TGF- β 1 моноцитами при этом значительно не менялась. Известно, что

TGF- β играет важную роль в репродуктивных процессах, непосредственно участвуя в имплантации, эмбриогенезе и развитии плаценты. Ранее было показано, что его продукция в тканях ранней плаценты значительно усиливается. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что усиление системной и локальной продукции TGF- β 1 при беременности во многом может быть обусловлено клетками моноцитарно/макрофагального ряда. Высокий уровень экспрессии неспецифического рецептора TGF- β 1 – эндоглина как макрофагами плаценты, так и моноцитами периферической крови женщин с физиологической беременностью позволяет говорить о возможном аутокринном действии TGF- β 1 на фагоциты, что может препятствовать неадекватной активации этих клеток при беременности. Угнетение синтеза и рецепции TGF- β 1 на локальном уровне при самопроизвольном выкидыше, по-видимому, является одним из важных иммунных факторов, приводящих к нарушению цитокиновой регуляции материнского иммунного ответа и лежащих в основе механизмов досрочного прерывания беременности. Следует отметить, что в периферической крови при данной акушерской патологии изменение функционального состояния моноцитов, вероятно, не связано с рецепцией TGF- β 1 через эндоглин и может определяться другими факторами.

РОЛЬ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА β -2 В РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА ЛИМФОЦИТОВ И МАКРОФАГОВ ПЛАЦЕНТЫ ПРИ НЕОСЛОЖНЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И ГЕСТОЗЕ

Кудряшова А.В., Панова И.А., Мальгина Л.Ю.

ФГУ «ИвНИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздравсоцразвития России, г. Иваново, Россия

Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о том, что в регуляции апоптоза во время беременности важную роль играют ростовые факторы, одним из которых является трансформирующий фактор роста бета (TGF- β). TGF- β способен оказывать как апоптоз-стимулирующее, так и апоптоз-ингибирующее влияние на клетки различных плацентарных структур, но остается практически не исследованным его действие на клетки врожденного и адаптивного иммунитета. Содержание TGF- β в зрелой плаценте определяется его суммарной продукцией клетками иммунной системы, трофобласта и децидуальной ткани, при этом, доминирующей изоформой на локальном уровне является TGF- β 2. В связи с этим целью работы было установить влияние TGF- β 2 на параметры апоптоза лимфоцитов и макрофагальных клеток децидуальной оболочки плаценты и ворсинчатого хориона при неосложненной беременности и при одной из наиболее распространенных акушерских патологий – гестозе. Лимфоциты и макрофаги получали из тканей ворсинчатого хориона и децидуальной оболочки плаценты безферментативным методом, с последующим выделением в градиенте плотности фиколл-урографин (d-1,078). В экстрактах децидуальной ткани и ворсинчатого хориона методом ИФА оценивали уровень TGF- β 2. Методом проточной цитофлуориметрии определяли исходный уровень экспрессии клетками рецепторов к TGF- β II и III типов, параметров аннексинового теста лимфоцитов и ма-

крофагов. В эксперименте *in vitro* исследовали влияние TGF- β 2 на параметры раннего (AnnexinV⁺PI⁻) и позднего (AnnexinV⁺PI⁺) апоптоза клеток. Методом RT-PCR изучали спонтанную и стимулированную TGF- β 2 экспрессию клетками мРНК апоптоз-регулирующих белков APAF и XIAP. В эксперименте проводили 24-часовое инкубирование клеток в среде RPMI-1640, содержащей TGF- β 2 в дозе 1000 пг/мл при 37 °C и в 5% CO₂. Контрольные значения определялись при инкубации клеток в среде RPMI-1640 без препарата TGF- β 2. Проведенные исследования показали, что на уровне децидуальной оболочки плаценты при гестозе отмечалось снижение содержания лимфоцитов и макрофагов, находящихся на ранних этапах апоптоза. В ворсинчатом хорионе при гестозе возрастало лишь содержание AnnexinV⁺PI⁺ лимфоцитов. При неосложненной беременности и при гестозе содержание TGFRII⁺ и TGFRIII⁺ децидуальных макрофагов было значительно выше, чем децидуальных лимфоцитов. В ворсинчатом хорионе уровень TGFRII⁺ и TGFRIII⁺ лимфоцитов был сопоставим с таковым в популяции макрофагальных клеток. В то же время уровень TGFRII⁺ лимфоцитов в децидуальной оболочке и в ткани ворсинчатого хориона при гестозе был достоверно сниженным относительно показателей при неосложненной беременности. По данным ИФА в экстрактах децидуальной оболочки и ворсинчатого хориона плаценты при гестозе отмечалась выраженная тенденция к росту уровня TGF- β 2. При неосложненной беременности и при гестозе децидуальные лимфоциты и макрофаги в высокой степени экспрессировали мРНК проапоптотического белка APAF. Причем, при гестозе в децидуальной оболочке плаценты отмечалось многократное усиление синтеза проапоптотического белка APAF лимфоцитами и макрофагами по сравнению с показателями группы без гестоза. Характер экспрессии мРНК XIAP децидуальными лимфоцитами и макрофагами при гестозе не отличался от такового при неосложненной беременности. На уровне ворсинчатого хориона при гестозе отмечалось снижение лимфоцитами синтеза XIAP. Не зависимо от характера течения беременности инкубация с TGF- β 2 приводила к снижению уровня AnnexinV⁺PI⁻ децидуальных макрофагов, к усилению экспрессии мРНК XIAP децидуальными лимфоцитами и макрофагами. В группе с гестозом стимуляция клеток TGF- β 2 вызывала достоверное повышение уровня децидуальных AnnexinV⁺PI⁻ и AnnexinV⁺PI⁺ лимфоцитов, AnnexinV⁺PI⁺ лимфоцитов ворсинчатого хориона и усиливала экспрессию мРНК XIAP макрофагальными клетками ворсинчатого хориона. Только в группе с неосложненным течением беременности TGF- β 2 стимулировал ранний апоптоз лимфоцитов ворсинчатого хориона. Во всех случаях TGF- β 2 не оказывал влияние на экспрессию мРНК APAF. Таким образом, на уровне плаценты TGF- β 2 в основном проявлял апоптоз-регулирующее действие на лимфоциты и макрофаги децидуальной оболочки. Различия в регуляции параметров апоптоза при воздействии TGF- β 2 в норме и при гестозе могло определяться нарушением его рецепции лимфоцитами, а также исходным состоянием клеток.

ВЛИЯНИЕ *IN VITRO* IL-2 И МИКРОВОРСИН ХОРИОНА НА ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ КЛЕТОК ПАМЯТИ В ПОПУЛЯЦИИ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ Т-ЛИМФОЦИТОВ

Лазарева Ю.Ю., Сотникова Н.Ю., Кудряшова А.В.

ФГУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова»
Минздравсоцразвития России, г. Иваново, Россия

В литературе дискутируется вопрос о возможности изменения характера иммунного ответа при гестозе в результате стимуляции материнских лимфоцитов различными факторами. Имеются данные о стимулирующем влиянии на активацию лимфоцитов частиц синцитиотрофобласта, циркулирующих в кровотоке матери. Другие исследователи отмечали изменение дифференцировки и активации лимфоцитов при воздействии IL-2. Но данные об особенностях влияния IL-2 и микроворсин хориона на дифференцировку цитотоксических Т-лимфоцитов при неосложненной беременности и гестозе отсутствуют.

Целью нашей работы было выявить в эксперименте *in vitro* влияние IL-2 и микроворсин аутологичного хориона на дифференцировку цитотоксических Т-лимфоцитов при неосложненной беременности и гестозе. Материалом для исследования служили периферическая венозная кровь 16 женщин в III триместре гестации. Из них 11 – с гестозом и 5 женщин с физиологическим течением беременности. Обогащенную популяцию периферических CD8-позитивных лимфоцитов выделяли методом магнитной сепарации в соответствии с протоколом фирмы производителя и культивировали в течение 4 суток в среде RPMI-1640, содержащей IL-2 производителя Biosource в концентрации 10 нг/мл и микроворсины аутологичного хориона (20-50 мг) при 37 °C в 5% CO₂. В качестве контроля использовали клетки, инкубированные в аналогичных условиях без стимуляции. После окончания срока инкубации исследовали экспрессию молекул CD45RA и CD62L на CD8⁺ лимфоцитах методом проточной цитофлюориметрии. Микроворсины хориона для стимуляции ЦТЛ получали следующим образом: ткань аутологичного хориона вырезали небольшими фрагментами размером до 30мм и отмывали физиологическим раствором, перемешивая на магнитной мешалке в течение 15 минут. Кусочки хориона гомогенизировали до однородной массы, затем пропускали через 2 фильтра разного диаметра. Полученный гомогенат, который остался на фильтре меньшего диаметра, помещали в пробирку-эппендорф и добавляли 1 мл дистиллированной воды для лизиса клеток. Взвесь ультрацентрифугировали 3 мин при 12000 об/мин, надосадочную жидкость отбирали и добавляли 500 мкл среды RPMI-1640. Результаты эксперимента показали, что добавление в культуру клеток IL-2 приводит к повышению содержания наивных и центральных ЦТЛ и снижению уровня претерминально-дифференцированных и терминально-дифференцированных клеток памяти независимо от характера течения беременности. Стимуляция периферических CD8⁺ клеток микроворсинами хориона вызывает нарастание содержания наивных клеток и снижение уровня терминально-дифференцированных клеток памяти в группе с гестозом по сравнению с аналогичными показателями контроля. При этом в группе женщин с физиологической беременностью в таких же условиях нами отмечалось небольшое уменьшение содержания претерминально-дифференцированных клеток памяти и рост уровня терминально-дифференцированных

ЦТЛ по сравнению с аналогичными контрольными различиями. Таким образом, полученные нами данные позволяют предположить, что направленность дифференцировки материнских ЦТЛ при физиологической беременности и гестозе, по-видимому, зависит от характера стимулирующего сигнала и от исходного уровня дифференцировки клеток. При этом независимо от наличия или отсутствия акушерской патологии IL-2, как ростовой фактор лимфоцитов, способен стимулировать пролиферацию наивных лимфоцитов.

РОЛЬ TGF-β И АКТИВИНА-A В ФОРМИРОВАНИИ УГРОЗЫ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Левкович М.А., Нефедова Д.Д., Линде В.А.

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

В настоящее время установлено, что при физиологической беременности TGF-β участвует в развитии плаценты и плода. Обладая иммуносупрессивными свойствами, регулирует клеточный рост, адгезию и дифференцировку, снижает продукцию простагландинов в амнионе и децидуальных клетках, угнетает активированные лимфокинами NK-клетки, регулирует процессы апоптоза. Активин-А, член суперсемейства TGF, является плюрипотентным фактором роста и дифференцировки. Синтезируясь цитотрофобластом, ингибирует активность IL-1β и IL-6, являясь антагонистом их функций. Однако, значимость TGF-β и активина-А при угрозе прерывания беременности практически не изучена.

В этой связи целью исследования явилось изучение роли TGF-β и активина-А в формировании угрозы прерывания беременности.

Было обследовано 56 беременных с клиническими признаками угрозы прерывания в раннем сроке (I группа) и 32 женщины с физиологическим течением беременности. Определение маркера поздней активации и готовности к апоптозу CD95⁺ проводили с использованием реагентов фирмы Caltag (США), количество лимфоцитов, вступивших в апоптоз оценивали с использованием диагностического набора, включающего Аннексин-V⁺(FITC) и пропидиум йодид (PI⁺), (Caltag, США) методом лазерной проточной цитофлюориметрии (BECKMAN COULTER EPICS XL-II (США). Определение в сыворотке крови TGF-β проводилось с использованием тест-систем Biosource (США), активина-А с использованием тест-систем DSL (США).

Установлено, что развитие угрозы прерывания беременности сопряжено с достоверным повышением TGF-β по сравнению с группой с физиологическим течением беременности (1900±122,8 пг/мл и 1000±172,6 пг/мл, соответственно). Выявлена взаимосвязь между содержанием TGF-β в сыворотке крови и маркерами позднего апоптоза ($r_s = 0,67, p = 0,04$).

Анализ содержания активина-А приводит к следующему выводу: в I группе его уровень в сыворотке крови достоверно превышал показатели в группе с физиологическим течением беременности (17,2±1,4 пг/мл и 4,2±0,2 пг/мл, соответственно). При корреляционном анализе обнаружена взаимосвязь между содержанием активина-А и количеством лимфоцитов, экспрессирующих маркеры поздней активации и готовности к апоптозу CD95⁺ ($r_s = 0,83, p = 0,007$).

С учетом выявленных фактов можно полагать, что негативное влияние повышенного уровня TGF- β и активина-А при угрозе прерывания беременности может быть связано с их способностью индуцировать гибель клеток децидуальной оболочки и трофобласта по механизму апоптоза, что свидетельствует о вовлечении изучаемых показателей в патогенез угрозы прерывания беременности.

МОДИФИКАЦИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ТРУБОК СОСУДОВ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ ЛИНИИ EA.Hy926 СЕКРЕТОРНЫМИ ПРОДУКТАМИ ПЛАЦЕНТЫ

Львова Т.Ю., Степанова О.И., Фураева К.Н., Сельков С.А., Соколов Д.И.

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

Введение. Ключевую роль в развитии сосудистой сети плаценты играют процессы ангиогенеза. Ангиогенез регулируется плацентарными макрофагами и другими клетками плаценты, секретирующими множество различных ростовых факторов и цитокинов.

Целью настоящего исследования явилась оценка формирования трубок сосудов эндотелиальными клетками линии EA.Hy926 в присутствии надосадочных жидкостей, полученных после культивирования плацент женщин с физиологическим течением беременности и при гестозе.

Материалы и методы. Исследованы плаценты здоровых женщин на сроке 38-39 недель ($n = 20$) и плаценты женщин с гестозом на сроке 38-39 недель ($n = 20$), полученные после кесарева сечения. Экспланты плацентарной ткани культивировали без добавления эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) в течение 24 часов. Полученные кондиционированные среды собирали и хранили при температуре -20°C до исследования. В лунки 24-луночного планшета, содержащего трехмерный матрикс Matrigel, вносили эндотелиальные клетки линии EA.Hy926 в концентрации 150 000 клеток на лунку в 500 мкл культуральной среды. Далее к клеткам добавляли 500 мкл кондиционированных сред, 2,5% ЭТС и инкубировали в течение 24 часов при 37°C и 5% CO_2 . В качестве контроля использовали культуральную среду с добавлением 2,5% ЭТС. В качестве положительного контроля оценивали образование трубок сосудов эндотелиальными клетками линии EA.Hy926 в присутствии культуральной среды с добавлением 10% ЭТС или 20 нг/мл фактора роста фибробластов (FGF). Оценка образования капилляроподобных структур проводили на микроскопе AxioObserver.Z1 на увеличении $\times 100$. Для каждой лунки с образовавшимися капилляроподобными структурами фотографировали 4 поля зрения. Учет полученных данных проводили при помощи компьютерной системы анализа изображений. При анализе полученных изображений оценивали длину тяжа в пикселях и количество образованных клеточных агрегатов.

Результаты. При культивировании эндотелиальных клеток линии EA.Hy926 в присутствии культуральной среды с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки или 20 нг/мл FGF наблюдали достоверное усиление образования трубок сосудов клетками линии EA.Hy926 ($p < 0,001$). Длина тяжей, образованных клетками линии EA.Hy926 в присутствии кондиционированных сред, по-

лученных при культивировании плацент женщин с физиологическим течением беременности ($216,3 \pm 1,3$ пиксель) и плацент женщин с гестозом ($245,8 \pm 1,4$ пиксель) были достоверно выше значения спонтанного уровня их образования ($200,6 \pm 0,3$, $p < 0,001$). Длины тяжей, образованных эндотелиальными клетками линии EA.Hy926 в присутствии кондиционированных сред, полученных при культивировании плацент женщин с гестозом была достоверно выше, чем в присутствии кондиционированных сред, полученных при культивировании плацент женщин с физиологическим течением беременности ($p < 0,001$). Количество клеточных агрегатов, образованных клетками линии EA.Hy926 в присутствии кондиционированных сред, полученных при культивировании плацент женщин с физиологическим течением беременности ($45,7 \pm 1,6$) было достоверно выше значения спонтанного уровня их образования ($39,1 \pm 2,1$, $p < 0,001$). Количество клеточных агрегатов, образованных эндотелиальными клетками линии EA.Hy926 в присутствии кондиционированных сред, полученных при культивировании плацент женщин с гестозом ($39,9 \pm 2,1$) было достоверно ниже, чем в присутствии кондиционированных сред, полученных при культивировании плацент женщин с физиологическим течением беременности ($p < 0,05$).

Заключение. Обнаруженное нами увеличение длины клеточного тяжа и уменьшение количества клеточных агрегатов, образованных эндотелиальными клетками в присутствии надосадочных жидкостей, полученных после культивирования плацент женщин с гестозом, по сравнению с физиологически протекающей беременностью свидетельствует о возможности аналогичных нарушений ангиогенеза в плаценте *in vivo* при гестозе, сопровождающихся преобладанием механизмов неразветвляющегося ангиогенеза. Полученные данные можно объяснить изменением функциональной активности плацентарных макрофагов и других клеток плаценты при гестозе и смещением цитокинового баланса в ткани плаценты в сторону преобладания факторов, стимулирующих преимущественно неразветвляющийся ангиогенез.

ВЗАИМОСВЯЗЬ СИСТЕМНОЙ ПРОДУКЦИИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ С ТЕМПОМ РОСТА МИОМЫ МАТКИ

Мальшикина А.И.¹, Сотникова Н.Ю.¹, Исанбаева Л.М.², Асатова М.Ю.², Анциферова Ю.С.¹, Мусаходжаева Д.А.³

¹ ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздравсоцразвития России, г. Иваново, Россия

² ТашИУВ МЗ РУз, г. Ташкент, Узбекистан

³ Институт иммунологии АН РУз, г. Ташкент, Узбекистан

В последние годы фагоцитарным клеткам и продуцируемым ими цитокинам отводится важная роль в регулировании различных стадий опухолевого роста, от его инициации до прогрессии и метастазирования. Показано, что действие фагоцитов не всегда направлено на элиминацию трансформированных опухолевых клеток. При определенных условиях фагоциты способны выступать в качестве промоуторов опухолевого роста. Роль фагоцитов в развитии миомы матки, относящейся к доброка-

чественным опухолям, в настоящее время практически не изучена. В то же время имеющиеся литературные данные об усиленной инфильтрации макрофагами ткани миоматозных узлов позволяют предположить возможность участия этой клеточной популяции в механизмах роста миомы матки. В связи с этим, целью нашей работы было оценить особенности системного содержания и внутриклеточной продукции моноцитами периферической крови провоспалительных цитокинов у женщин с миомой матки различных темпов роста для уточнения роли реакций врожденного иммунитета в развитии быстрого роста миомы. Было проведено обследование 99 женщин с миомой матки в возрасте от 30 до 49 лет, которые были разделены на 2 основные клинические группы: 1-я группа – 41 женщина с миомой матки стабильно малых (менее 12 недель) размеров; 2-я группа – 58 женщин с быстрорастущей миомой с общими размерами матки 12 недель и более. Контрольную группу составили 37 практически здоровых женщин того же возраста. Была проведена оценка сывороточного содержания IL-1 β , IL-6, IL-8 и TNF α методом ИФА с помощью коммерческих тест-систем (ООО «Цитокин», Санкт-Петербург, Россия). Внутриклеточную продукцию IL-1 β , IL-12 и IL-8 моноцитами крови определяли с помощью моноклональных антител (Caltag Laboratories, USA) методом проточной цитометрии. Было установлено, что у женщин с миомой матки отмечались минимальные изменения сывороточного содержания провоспалительных цитокинов. Уровень IL-1 β , IL-6 и IL-8 в сыровотке крови женщин этой клинической группы был незначительно повышен относительно показателей контрольной группы. Только сывороточное содержание TNF α у женщин с миомой матки малых размеров было достоверно выше аналогичного показателя у здоровых женщин. Внутриклеточная продукция IL-1 β и IL-8 моноцитами периферической крови у женщин с миомой матки стабильно малых размеров была снижена по сравнению с аналогичными показателями женщин контрольной группы. Развитие быстрого роста миомы матки ассоциировалось со значительным повышением сывороточного содержания всех изученных цитокинов. Наиболее выраженные изменения были отмечены для TNF α , уровень которого в сыровотке крови женщин с быстрорастущей миомой матки значительно превышал аналогичный показатель как в группе женщин с миомой матки стабильно малых размеров, так и в контрольной группе. Внутриклеточная продукция цитокинов моноцитами крови также резко усиливалась у женщин с быстрым ростом миомы матки. Нами было установлено, что в периферической крови женщин данной клинической группы относительное содержание IL-1 β ⁺, IL-12⁺ и IL-8⁺ моноцитов было значительно повышено как по сравнению с показателями женщин со стабильно малой миомой матки, по и по сравнению с показателями здоровых фертильных женщин. Таким образом, направленность изменений системных реакций врожденного иммунитета при миоме матки непосредственно коррелирует с темпом роста опухоли. Отличительной характеристикой женщин со стабильно малой миомой матки являются незначительные изменения сывороточного содержания провоспалительных цитокинов и сниженная внутриклеточная продукция IL-1 β и IL-8 моноцитами периферической крови. Быстрое увеличение размеров опухоли связано со значи-

тельным усилением системной продукции воспалительных цитокинов, таких как TNF α и IL-8. Ранее было показано, что хроническое воспаление значительно усиливает опухолевую прогрессию. Выявленный нами факт усиления синтеза и продукции провоспалительных цитокинов при быстрорастущей миоме матки хорошо укладывается в рамки этой гипотезы. На основании оценки системной продукции цитокинов, участвующих в активации реакций врожденного иммунитета, возможно создание новых дополнительных критериев, позволяющих прогнозировать быстрое увеличение размеров опухоли у женщин с миомой матки.

РЕЦЕПЦИЯ IFN γ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫМИ КЛЕТКАМИ КРОВИ ЖЕНЩИН С ФОНОВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ШЕЙКИ МАТКИ И ГЕНИТАЛЬНОЙ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Мальшикина А.И., Сотникова Н.Ю., Андреева Т.С., Васильева И.А.

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

Фоновые заболевания шейки матки (ФЗШМ), в том числе эктопия и атипическая зона трансформации цервикального канала, относятся к первичному звену канцерогенеза. Частота встречаемости рака шейки матки на территории РФ составляет 38,6% и не имеет тенденции к снижению. Наиболее онкогенной ситуацией считается сочетание фоновых заболеваний шейки матки с генитальной папилломавирусной инфекцией, особенно при выявлении высокоонкогенных типов вируса папилломы человека – 16 и 18. Известно, что патогенез фоновых заболеваний шейки матки напрямую связан с иммунными нарушениями. Клеточный иммунитет является наиболее важным звеном иммунной системы, конституционально предназначенным для элиминации клеток-мишеней, несущих признаки генетической чужеродности, к которым можно отнести как вирус-инфицированные, так и опухолевые клетки. В защите от внутриклеточных патогенов важная роль отводится клеткам макрофагального ряда, активация которых приводит к повышению их бактерицидной активности, реализующейся посредством оксида азота и его производных. Одним из факторов, способствующих активации клеток макрофагального ряда является интерферон γ (IFN γ), реализующий свои эффекты при взаимодействии со специфическими рецепторами на поверхности эффекторных клеток. Интерферон γ занимает в системе интерферонов особое место благодаря сочетанию противовирусного действия с выраженной иммунорегуляторной и антипролиферативной активностью. Известно, что ряд инфекционных процессов сопровождается нарушением продукции и рецепции интерферонов, в том числе IFN γ .

Целью нашего исследования было выявить особенности содержания CD119-позитивных лимфоцитов, моноцитов и нейтрофилов в периферической крови у женщин с фоновыми заболеваниями шейки матки (ФЗШМ) и генитальной папилломавирусной инфекцией (ПВИ). Было обследовано 17 женщин с ФЗШМ и ПВИ (основная группа), 14 женщин с ФЗШМ без ПВИ (группа сравнения) и 15 практически здоровых женщин с интактной шейкой

матки (контрольная группа). Материалом для непосредственного исследования служила периферическая венозная кровь и соскоб из цервикального канала. Содержание CD119-позитивных лимфоцитов, моноцитов и нейтрофилов определяли с помощью моноклональных антител методом проточной цитофлюориметрии. Наличие ДНК вирусов папилломы человека 16 и 18 типов определяли в соскобах из цервикального канала методом RT-PCR. Анализ полученных данных показал, что содержание периферических CD119⁺ лимфоцитов у женщин с фоновыми заболеваниями шейки матки и генитальной папилломавирусной инфекцией (ПВИ) было сопоставимо по значению с аналогичным показателем у женщин с фоновыми заболеваниями шейки матки без генитальной папилломавирусной инфекции и у женщин группы контроля. При этом у женщин с ФЗШМ и ПВИ уровень CD119⁺ моноцитов и нейтрофилов в периферической крови был ниже аналогичных показателей у женщин контрольной группы. Следует отметить, что в периферической крови у женщин с ФЗШМ без ПВИ уровень CD119⁺ моноцитов и нейтрофилов был ниже, чем таковой в контрольной группе, но при этом не отличался аналогичного показателя у женщин с ФЗШМ и ПВИ. Таким образом, фоновые заболевания шейки матки, такие как эктопия и атипическая зона трансформации цервикального канала вне зависимости от наличия папилломавирусной инфекции сопровождаются угнетением рецепции IFN γ фагоцитами периферической крови. Как известно, IFN γ является одним из основных цитокинов, участвующих в активации клеток врожденного иммунитета. По-видимому, выявленное нами снижение рецепции IFN γ моноцитами и нейтрофилами периферической крови у женщин с ФЗШМ может приводить к нарушению стимулирующего влияния IFN γ на фагоциты и, как следствие, вызывать угнетение их функции при данной гинекологической патологии.

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА В РАННЕМ ПОСЛЕАБОРТНОМ ПЕРИОДЕ У ЖЕНЩИН

Мартенова А.А., Сотникова Н.Ю., Полобина Е.В.

ФГУ «Ив НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздравсоцразвития России, г. Иваново, Россия

Частота невынашивания беременности составляет по данным литературы от 5,3% до 20%. Сложность решения проблемы привычного невынашивания беременности обусловлена многочисленностью его причин, несовершенством методов диагностики, в том числе и иммунологических. Известно, что у женщин с невынашиванием беременности инфекционного генеза имеются существенные изменения функциональных и количественных параметров Т- и В- лимфоцитов, нарушение функций моноцитов и нейтрофилов, снижение факторов неспецифической резистентности.

Целью нашего исследования было оценить особенности популяционного состава и уровня активации иммунокомпетентных клеток периферической крови у женщин с невынашиванием беременности в раннем послеабортном периоде. Под нашим наблюдением находились 161 пациентка после самопроизвольного аборта в сроке гестации 6-12 недель беременности. В группу контроля вошли 20 здоровых небеременных женщин. Возраст об-

следуемых колебался от 20 до 35 лет. При изучении анамнеза женщин с невынашиванием беременности мы отмечали высокую частоту детских инфекций и соматических заболеваний, среди которых преобладали хронический тонзиллит, ОРВИ и заболевания почек. У большинства женщин было выявлено диффузное увеличение щитовидной железы, у трети женщин – хронический бронхит, несколько реже хронический тонзиллит и хронический пиелонефрит. При анализе патологии органов репродукции отмечалась высокая частота гинекологических заболеваний у женщин с невынашиванием беременности ранних сроков, среди которых преобладали воспалительные процессы женских половых органов. Материалом для исследования являлась периферическая венозная кровь. Иммунологическое обследование включало определение относительного содержания популяции лимфоцитов с использованием моноклональных антител меченных ФИТЦ: CD3, CD8, CD16, CD20, CD25, CD11b, CD71, CD95 и меченных фикоэритрином: CD4, HLA-DR методом проточной цитометрии на приборе FACScan («Becton Dickinson»); определение основных классов иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM) методом радиальной иммунодиффузии по Манчини, уровня циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови – по методу Гриневича Ю.С. и Алферова А.Н (1981) в модификации. Анализ полученных результатов показал, что в раннем послеабортном периоде у женщин с невынашиванием беременности отмечались выраженные изменения иммунологических показателей. Нами было выявлено достоверное снижение количества Т-лимфоцитов и ЦТЛ в периферической крови женщин основной клинической группы наблюдения. Повышенный уровень ЦИК, а также высокое сывороточное содержание IgM позволяет говорить о высоком уровне активации реакций гуморального звена иммунитета у обследованных пациенток. При оценке уровня активации периферических лимфоцитов у женщин с невынашиванием беременности в раннем послеабортном периоде отмечалось снижение содержания лимфоцитов с фенотипом CD38⁺ при увеличении уровня CD71⁺ и CD45RA⁺ лимфоцитов. Следует отметить, что для пациенток основной клинической группы наблюдения было характерно достоверное угнетение готовности периферических лимфоцитов к апоптозу, о чем свидетельствовало снижение экспрессии CD95-молекул на поверхности лимфоцитов. Анализ показателей фагоцитарного звена иммунитета выявил повышение уровня активации моноцитов и нейтрофилов у женщин с невынашиванием беременности. При ретроспективном анализе данных иммунологического обследования в зависимости от характера течения послеабортного периода у женщин с невынашиванием беременности нами было установлено, что развитию воспалительного процесса у большинства больных предшествовало более выраженное нарушение показателей клеточного звена иммунитета, а также угнетение функционального состояния моноцитов и отсутствие компенсаторной активации нейтрофилов. Таким образом, иммунологическое обследование женщин с невынашиванием беременности позволяет не только оценить степень иммунных нарушений у них, но и своевременно прогнозировать развитие осложнений в раннем послеабортном периоде.

АДГЕЗИОННЫЕ МОЛЕКУЛЫ И ХЕМОКИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ, ОСЛОЖНЕННОЙ ГЕСТОЗОМ

Михайлова В.А., Овчинникова О.М.,
Максимова И.М., Аржанова О.Н., Соколов Д.И.,
Сельков С.А.

НИИАГ им. Д.О. Отта СЗО РАМН, Санкт-Петербург,
Россия

Введение. Макрофаги, присутствующие в децидуальной ткани при физиологическом течении беременности, регулируют инвазию трофобласта, развитие сосудистой сети ткани плаценты и развитие самой ткани плаценты. Пополнение пула децидуальных макрофагов происходит за счет миграции моноцитов из периферической крови матери. Гестоз сопровождается повышением содержания макрофагов в децидуальной ткани и секрецией ими провоспалительных цитокинов и кислородных радикалов. Адгезия моноцитов периферической крови к эндотелиальным клеткам повышена при гестозе по сравнению с физиологической беременностью.

Целью настоящего исследования было определение экспрессии адгезионных молекул, активационных маркеров, хемокиновых рецепторов моноцитами при беременности.

Материалы и методы. Обследовано 73 женщины: 27 небеременных женщин без признаков воспалительных изменений на момент исследования, 22 беременных женщины с физиологическим течением беременности на сроке 38–39 недель, 24 беременных женщины с гестозом на сроке 38–39 недель. Материалом для исследования являлась периферическая кровь. Использовали антитела к CD3, CD45, CD14, CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD29, CD49d, CD31, CD44, CD47, CD36, CD54, CD58, CD62L, CD62P, integrin β 7, HLA-DR, CD192, CD134, CD196, CXCR5, CD197, CD119, CD184, CD114, CD116, CD140b, CD140a (BD, США). Анализ флуоресценции моноцитов проводили при помощи проточного цитофлуориметра FACS Santo II (BD, США).

Результаты. Установлено, что количество моноцитов, экспрессировавших исследуемые хемокиновые рецепторы, у женщин с физиологическим течением беременности и у здоровых небеременных женщин не различалось. При гестозе по сравнению с физиологическим течением беременности увеличено количество моноцитов, экспрессирующих рецептор к IFN γ – CD119. Количество моноцитов, экспрессирующих CD11b, CD47, integrin β 7, и коэкспрессирующих CD47 и integrin β 7, повышено у женщин с физиологическим течением беременности по сравнению со здоровыми небеременными женщинами. При этом количество моноцитов, экспрессирующих CD11a, CD62L, CD44, CD58, HLA-DR, снижено у женщин с физиологическим течением беременности по сравнению с небеременными женщинами. Количество моноцитов, экспрессирующих адгезионные молекулы CD62L, CD62P, CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD29, CD49d, CD31, CD44, CD54, CD58, CD47, integrin β 7, при физиологической беременности и при гестозе было одинаковым. Количество CD36⁺ моноцитов при гестозе было сниженным по сравнению с физиологическим течением беременности. У женщин с гестозом, как и у женщин с физиологическим течением беременности по сравнению со здоровыми небеременными женщинами снижено количество моноцитов, экспрессирующих CD11a,

CD62L, CD44. При гестозе как и при физиологическом течении беременности в сравнении со здоровыми небеременными женщинами повышено количество моноцитов, экспрессировавших integrin β 7, CD11b и коэкспрессировавших CD47 и integrin β 7.

Заключение. Установленные изменения фенотипа моноцитов периферической крови при физиологической беременности могут определять повышенную адгезию моноцитов к активированному эндотелию в зоне маточно-плацентарного кровообращения, и создавать условия для дальнейшей миграции моноцитов в децидуальную ткань. Моноциты как при физиологической беременности, так и при гестозе обладают сходным повышенным уровнем экспрессии адгезионных молекул. По-видимому, моноциты периферической крови при гестозе находятся в активированном состоянии, о чем свидетельствует повышенная экспрессия этими клетками рецептора для IFN γ . Установленная ранее повышенная функция адгезии моноцитов к активированному эндотелию при гестозе может быть опосредована не только характером экспрессии адгезионных молекул моноцитами, но и функциональным состоянием эндотелия. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ ГК № 02.740.11.0711 и гранта Президента РФ № НШ-3594.2010.7.

ОСОБЕННОСТИ ИММУНОФЕНОТИПА МОНОЦИТОВ ЗДОРОВЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ

Нестерова И.В., Клещенко Е.И., Чудилова Г.А.,
Ломтатидзе Л.В., Сапун О.И., Смерчинская Т.В.,
Сторожук С.В.

ГОУ ВПО КубГМУ Миздровсоцразвития России,
г. Краснодар, Россия

Эффективное функционирование мононуклеарного фагоцитарного барьера во многом обусловлено широким спектром рецепторов, обеспечивающих взаимодействие с межклеточным матриксом и другими клетками, исследованию которых посвящены многочисленные работы последних лет.

Целью исследования явилось изучение иммунофенотипа моноцитов (МОН) у здоровых доношенных новорожденных. В группу исследования вошли 10 здоровых новорожденных обоюбого пола (мальчиков-5, девочек-5, в возрасте 3–4 дней, весом от 2880 до 4120 г). Методом проточной цитометрии на CYTOMICS FC500 (Beckman Coulter, США) с панелью моноклональных антител (Beckman Coulter, США) исследованы маркеры поверхностной цитоплазматической мембраны МОН: CD14 (взаимодействует с комплексом бактериального ЛПС с ЛПС-связывающим белком, что облегчает взаимодействие ЛПС с TLR-4); HLA-DR (участвует в презентации антигенов), CD16 (низкоаффинный – Fc γ III к Fc-фрагменту иммуноглобулина) и CD11b (CR3- или с 3b1-рецептор компонента комплемента) – обеспечивают распознавание и облегчают фагоцитоз. Оценивался процент и абсолютные значения МОН, экспрессирующих CD14⁺, HLA-DR⁺, CD16⁺, CD11b⁺ и уровень плотности экспрессируемых молекул по показателю интенсивности флуоресценции (mfi). Фенотипический анализ МОН показал, что 99% (0,93±0,14 × 10⁹) клеток новорожденных экспрессировали CD14. Средняя плотность экспрессии CD14 на мембране МОН у новорожденных

по mfi составила $41,94 \pm 2,26$. Выявлены особенности экспрессии молекул HLA-DR на поверхности МОН у новорожденных. Так, у 80% новорожденных количество МОН, экспрессирующих HLA-DR, составило 93,26%, плотность экспрессии молекул по mfi составила $8,3 \pm 1,15$. При этом у 20% новорожденных только 54,15% МОН имели HLA-DR на поверхности МОН ($p < 0,001$), однако плотность экспрессируемых молекул HLA-DR на мембране МОН в данном случае была высокой по mfi, и составила $6,27 \pm 0,51$ и достоверно не отличалась от показателей выше описанной подгруппы ($p > 0,05$). В 70% случаев у новорожденных на поверхностной мембране МОН отсутствовала экспрессия CD16. В то же время у 30% здоровых новорожденных $10,67 \pm 3,28\%$ МОН экспрессировали CD16 ($0,15 \pm 0,04 \times 10^9$ CD16⁺МОН), а значение mfi CD16⁺МОН составило $11,33 \pm 3,51$. У новорожденных $94,93 \pm 2,51\%$ МОН экспрессировали на своей мембране молекулы CD11b⁺ ($0,88 \pm 0,14 \times 10^9$) Плотность экспрессии молекул CD11b⁺ по mfi на МОН у новорожденных составила $62,03 \pm 6,01$.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ АДГЕЗИОННЫХ МОЛЕКУЛ ХЕЛПЕРНЫМИ Т-ЛИМФОЦИТАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Онохина Я.С., Михайлова В.А., Соколов Д.И., Сельков С.А.

Учреждение Российской академии медицинских наук НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Физиологическое течение беременности сопровождается изменением функционального состояния лимфоцитов периферической крови. Адгезия Т-лимфоцитов периферической крови к эндотелиальным клеткам повышена у беременных женщин по сравнению с небеременными женщинами. Поэтому целью настоящего исследования был сравнительный анализ экспрессии адгезионных молекул хелперными Т-лимфоцитами периферической крови здоровых небеременных женщин и женщин с физиологическим течением беременности.

Материалы и методы. Анализ экспрессии адгезионных молекул CD4⁺Т-лимфоцитами периферической проводился у 49 женщин: 22 женщин с физиологическим течением беременности на сроке 34-39 недель и 27 небеременных женщин без признаков воспалительных процессов на момент исследования. Окраска лимфоцитов периферической крови антителами к CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD29, CD49d, Integrin $\beta 7$, CD54, CD106, CD62L, CD51/CD61, CD47 осуществлялась в соответствии с указаниями производителя (BD Biosciences, США). Анализ флуоресценции проводили при помощи проточного цитофлуориметра FACS Canto II (BD, США). Статистический анализ полученных данных выполняли с использованием компьютерной программы AtteStat 12.1.7.

Результаты. У женщин с физиологическим течением беременности количество хелперных Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD11b, достоверно превышало количество CD11b⁺ хелперных Т-лимфоцитов у здоровых небеременных женщин ($p < 0,001$). Наблюдалось достоверное превышение количества CD29⁺ хелперных Т-лимфоцитов у женщин с физиологическим течением беременности по сравнению с небеременными жен-

щинами ($p < 0,05$). Обнаружено повышенное количество CD49d⁺ хелперных Т-лимфоцитов у женщин с физиологическим течением беременности по сравнению с небеременными женщинами ($p < 0,001$). Количество хелперных Т-лимфоцитов, экспрессирующих Integrin $\beta 7$ также было достоверно выше у беременных женщин по сравнению с небеременными женщинами ($p < 0,001$). Достоверных различий количества CD3⁺/CD4⁺Т-лимфоцитов, экспрессирующих остальные исследованные молекулы между группой женщин с физиологическим течением беременности и группой здоровых небеременных женщин обнаружено не было. Интенсивность экспрессии адгезионных молекул CD29-, CD49d- и CD47-хелперными Т-лимфоцитами была достоверно выше у здоровых беременных женщин по сравнению с небеременными женщинами ($p < 0,05$). Также установлено, что интенсивность экспрессии Integrin $\beta 7$ хелперными Т-лимфоцитами периферической крови беременных женщин была достоверно выше интенсивности экспрессии Integrin $\beta 7$ этими клетками здоровых небеременных женщин ($p < 0,01$). Достоверных различий по интенсивности экспрессии остальных исследованных молекул между группами пациентов установлено не было.

Заключение. Обнаруженное нами при беременности в периферической крови повышенное количество хелперных Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD11b, CD29, CD49d, Integrin $\beta 7$ свидетельствуют о готовности к миграции как в децидуальную оболочку, так и в регионарные лимфатические узлы при физиологической беременности. Повышенная при беременности интенсивность экспрессии CD4⁺Т-лимфоцитами CD29, CD49d и Integrin $\beta 7$ свидетельствует о ключевой роли VLA-4 и интегрина $\alpha 4\beta 7$ в адгезии этих клеток к эндотелию сосудов. Повышенная при беременности интенсивность экспрессии CD47 хелперными Т-лимфоцитами указывает на ключевую роль этой молекулы во взаимодействиях CD4⁺Т-лимфоцитов с внеклеточным матриксом и другими клетками. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ ГК № 02.740.11.0711 и гранта Президента РФ № НШ-3594.2010.7.

ВЛИЯНИЕ РОНКОЛЕЙКИНА НА БОЛЕВОЙ СИНДРОМ У ПАЦИЕНТОК С НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

Павлов Р.В., Сельков С.А.

Астраханская государственная медицинская академия, г. Астрахань, Россия

Введение. Согласно современным данным, наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) диагностируется у 30% женщин репродуктивного возраста, что ставит его на третье место в структуре гинекологической патологии после воспалительных заболеваний и миомы матки. Особенностью НГЭ является выраженное негативное влияние на качество жизни больных, в первую очередь за счет наличия у них болевого синдрома, купирование которого является одной из задач комплексной терапии данной патологии.

Цель и задачи. Изучить влияние генно-инженерного препарата интерлейкина-2 «Ронколейкин» на динамику болевого синдрома у пациенток с наружным генитальным эндометриозом в раннем и позднем послеоперационных периодах.

Материалы и методы. После удаления очагов НГЭ все пациентки были разделены на две группы: в I основной группе (40 больных) после хирургического удаления очагов НГЭ в брюшную полость вводился «Ронколейкин» («Биотех», Санкт-Петербург) в количестве 500000 ЕД. В дальнейшем этим больным «Ронколейкин» вводился на 2-е, 4-е, 8-е, 12-е, 16-е, 20-е, 24-е, 28-е сутки после операции внутривенно капельно в количестве 500 000 ЕД на одно введение. Пациентки II контрольной группы (40 больных) после хирургического удаления очагов НГЭ получали «Бусерелин-Депо» («Фарм-Синтез», Россия) каждые 28 дней по 3,75 мг внутримышечно в течение 6 месяцев. Оценка эффективности терапии «Ронколейкин» проводилась по следующим критериям: иммунокорригирующий эффект, степень выраженности болевого синдрома в раннем послеоперационном периоде, клинический эффект в отношении болевого синдрома на протяжении 12 месяцев наблюдения после завершения противорецидивной терапии НГЭ.

Основные результаты. Согласно нашим результатам, в группе больных, получавших «Ронколейкин», интенсивность и продолжительность болевого синдрома в послеоперационном периоде была меньше, чем в группе больных, получавших «Бусерелин-депо». Так, если в группе, получавшей «Ронколейкин», в первые сутки после операции болевой синдром, требующий медикаментозного вмешательства, наблюдался у 17 больных, то во II группе — у всех пациенток. До начала терапии болевой синдром в виде дисменореи, тазовых болей, не связанных с менструацией, диспареунии и боли в крестце имел место у 38 (95,0%) больных, получавших «Ронколейкин» и у 39 (97,5%) больных, получавших «Бусерелин-депо». Через 1 месяц после операции болевой синдром отсутствовал у всех больных основной и контрольной групп. В течение 12 месяцев после завершения терапии количество рецидивов болевого синдрома в группе, получавшей «Ронколейкин», составило 17,5%, в группе, получавшей «Бусерелин-депо», — 32,5%. До начала лечения продукция цитокинов мононуклеарными клетками крови *in vitro* между группами больных достоверно не отличалась. По сравнению с нормой была выявлена повышенная продукция TNF α , IL-1 β , IL-6 и IL-8 и снижение продукции IFN γ . Через 1 месяц после операции у больных II группы не наблюдалось существенных изменений в цитокинпродуцирующей активности иммунокомпетентных клеток крови. После завершения иммунотерапии уровень продукции мононуклеарными клетками крови *in vitro* TNF α не отличался от нормальных значений, уровень IL-6 снижался на 27%, а IL-8 — в 3,1 раза. Кроме этого, через 1 месяц после лапароскопии отмечалось увеличение продукции IL-2 — в 4,1 раза, и IFN γ — в 3,5 раза. Через 6 месяцев после операции в группе больных, получавших «Бусерелин-депо», сохранялось достоверное увеличение, по сравнению с нормой, продукции IL-1 β на 20,9%, TNF α — на 40,3%, IL-6 — в 1,5 раза, IL-8 — в 4,2 раза, а уровень продукции IFN γ оставался пониженным на 28,4%. Мононуклеары крови больных, получавших «Ронколейкин», через 6 месяцев после лапароскопии продуцировали нормальное количество IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α и IFN γ .

Заключение. На фоне терапии «Ронколейкином» у больных НГЭ более благоприятно протекает послеопе-

рационный период за счет снижения интенсивности болевого синдрома более чем у 50% больных, а в отдаленном периоде частота возврата болевого синдрома в 2 раза ниже, чем у пациенток, не получавших иммунотерапию. Учитывая результаты иммунологического исследования, возможной причиной эффективности «Ронколейкина» в отношении купирования болевого синдрома может являться его антагонистическое действие в отношении продукции провоспалительных цитокинов, а именно IL-6 и TNF α .

МАКРОФАГИ КАК РЕГУЛЯТОРНЫЕ КЛЕТКИ ПЛАЦЕНТАРНЫХ ВОРСИН

Павлов О.В., Сельков С.А.

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

На протяжении долгих лет развития иммунологии тканевые макрофаги рассматриваются как важнейшие эффекторные клетки иммунной системы, основной задачей которых является элиминация патогена (фагоцитоз). При этом нередко обходятся вниманием другие значимые биологические функции этих клеток, не имеющие непосредственного отношения к реализации иммунного ответа. Тем не менее накапливаются данные о трофической роли макрофагов, их участии в поддержании тканевого гомеостаза, в том числе, в репродуктивных процессах.

Данное исследование представляет собой попытку охарактеризовать активационный статус популяции макрофагов плацентарных ворсин. С этой целью изучали особенности экспрессии некоторых цитокинов, их рецепторов и других маркеров в изолированных культурах плацентарных макрофагов методами проточной цитометрии, Cytometric Bead Array и иммуноферментного анализа.

Было показано, что значительная доля популяции плацентарных макрофагов (72%) экспрессирует на своей поверхности маннозный рецептор (CD206) — один из маркеров так называемой «альтернативной активации» макрофагов. Кроме того, была продемонстрирована способность этих клеток к продукции противовоспалительных цитокинов IL-10 и IL-11. Уровни секреции этих цитокинов составляли 8,2 и 4,3 пг/10⁵ клеток, соответственно. В отличие от IL-10, секреция которого при стимуляции липополисахаридом (ЛПС) увеличивалась более чем в 30 раз, секреторная активность стимулированных клеток в отношении IL-11 не претерпевала существенных изменений. Доля клеток, содержащих внутриклеточный IL-11, варьировала в пределах от 3% до 76% (медиана 30%), свидетельствуя о способности популяции к синтезу данного цитокина. В то же время продукция провоспалительных цитокинов была чрезвычайно низкой: доля клеток, содержащих IL-1 β , TNF α и IL-6, составляла не более 5%. Нами также показана возможность участия плацентарных макрофагов в VEGF-опосредованной сигнализации. Практически вся популяция плацентарных макрофагов (98%) продуцировала VEGF на ранних и поздних стадиях гестации, тогда как экспрессия мембраносвязанного рецептора VEGF-R1 на тех же клетках варьировала в значительных пределах: от 3,4% до 92%. Относительно низкое содержание VEGF во внеклеточной среде (1,1 пг/10⁵ клеток), может объясняться связыванием это-

го фактора растворимым рецептором sVEGF-R1, уровень секреции которого в культуре плацентарных макрофагов составлял $36,4 \text{ пг}/10^5$ клеток, многократно увеличиваясь при стимуляции ЛПС.

Полученные результаты являются свидетельством в пользу «альтернативной активации» плацентарных макрофагов и демонстрируют способность этих клеток осуществлять ауто- и паракринную регуляцию в ткани хориальных ворсин. Фенотипическая и функциональная характеристика макрофагов плаценты важна для понимания их физиологической и патогенетической роли в гестационных процессах.

ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ МРНК TLR9 НЕЙТРОФИЛАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ С ИСХОДОМ БЕРЕМЕННОСТИ У ЖЕНЩИН С УГРОЗОЙ НЕВЫНАШИВАНИЯ ПОЗДНИХ СРОКОВ

Павлов А.В., Сотникова Н.Ю., Крошкина Н.В., Панова И.А.

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

Невынашивание беременности рассматривается многими авторами как наиболее грозное осложнение гестационного процесса, которое является одной из ведущих причин материнской и перинатальной смертности. Среди патогенетических механизмов невынашивания беременности на сегодняшний день особую роль отводят иммунным нарушениям в организме женщины и инфекциям, передаваемым половым путем. Нейтрофилы являются клетками первой линии защиты от инфекций, мигрирующими в очаг воспаления. Важную роль в обеспечении ответа нейтрофилов на внешние сигналы различной природы, в том числе и на инфекционные стимулы, играют специфические рецепторы врожденного иммунитета – PRR молекулы или паттерн-распознающие рецепторы. Центральное место среди PRR молекул занимают TLR (Toll-подобные рецепторы), взаимодействие которых со специфическими лигандами приводит к запуску в фагоцитах синтеза провоспалительных цитокинов. Экспрессия TLR молекул фагоцитарными клетками при физиологической и патологической беременности к настоящему времени изучена недостаточно. В связи с этим **целью** нашей работы было выявить особенности экспрессии мРНК TLR9, а также оценить характер внутриклеточной продукции IL-1 β и IL-8 нейтрофилами при угрозе невынашивания беременности. Было проведено обследование 37 женщин в сроке 22-33 недели беременности с угрозой невынашивания беременности. Контрольную группу составили 18 женщин в те же сроки гестации с неосложненным течением беременности. Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь. Внутриклеточную продукцию IL-1 β и IL-8 в популяции нейтрофилов определяли с помощью моноклональных антител (Caltag Laboratories, USA) методом проточной цитометрии. Содержание дефензинов- α в периферической крови определяли методом ИФА с помощью коммерческих тест-систем. Уровень экспрессии мРНК TLR9 нейтрофилами оценивали методом PCR в режиме реального времени. Было установлено, что развитие угрозы невынашивания беременности сопровождалось значительным усилением внутриклеточной продукции нейтрофилами пе-

риферической крови IL-1 β и IL-8. Кроме того, при данной акушерской патологии также возрастала концентрация дефензинов- α в периферической крови. В популяции нейтрофилов периферической крови беременных с угрозой невынашивания уровень экспрессии мРНК TLR9 был заметно более высоким, чем при неосложненной беременности. Показатели активации нейтрофилов коррелировали с особенностями инфекционного статуса обследованных женщин. Так, у женщин основной клинической группы достоверно чаще, чем при неосложненной беременности, выявлялись маркеры острой вирусно-бактериальной инфекции. Причем при ретроспективном анализе нами было установлено, что в группе женщин с угрозой невынашивания беременности и развившимися преждевременными родами, маркеры урогенитальных инфекций обнаруживались чаще, чем у женщин, родивших в срок. Кроме того, у женщин этой подгруппы уровень экспрессии мРНК TLR9 нейтрофилами был значительно повышен по сравнению с таковым у женщин со своевременными родами. По-видимому, чрезмерно высокая инфекционная нагрузка стимулирует синтез TLR9, вызывая гиперактивацию нейтрофилов, следствием чего является усиление системной продукции провоспалительных цитокинов (IL-1 β и IL-8) и дефензинов- α . По данным ряда авторов, системная воспалительная реакция является одним из триггеров досрочного прерывания беременности. Таким образом, исход беременности при угрозе невынашивания поздних сроков во многом зависит от уровня активации нейтрофилов периферической крови, который определяется характером экспрессии сигнальных молекул, в том числе TLR9.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОПУЛЯЦИЙ ДЕЦИДУАЛЬНЫХ Т-ХЕЛПЕРОВ У ЖЕНЩИН С ГЕСТОЗОМ ПРИ СВОЕВРЕМЕННЫХ И ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДАХ

Панова И.А., Кудряшова А.В., Гасанова Д.Д.

ФГУ «ИвНИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздравсоцразвития России, г. Иваново, Россия

В последнее время повышается частота раннего развития тяжелых форм гестоза, при этом критические состояния плода и матери определяют необходимость досрочного прерывания беременности. Ранее нами было показано, что при гестозе на системном уровне и в децидуальной оболочке плаценты развиваются иммунные реакции, определяющиеся высоким уровнем продукции провоспалительных цитокинов, нарушением баланса Th1/Th2-клеток. Однако оценка цитокин-продуцирующей функции децидуальных Т-хелперов при досрочном прерывании беременности, осложнившейся гестозом, не проводилась.

Целью работы было провести сравнительный анализ содержания в децидуальной оболочке плаценты CD4⁺ лимфоцитов, спонтанно продуцирующих IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TGF- β 1 и IFN γ , при неосложненной беременности и при гестозе в 28-34, 35-36, 37-40 недель гестации. Всего было обследовано 18 плацент от женщин с неосложненным течением беременности, завершившейся в 38-40 недель гестации, и 24 плаценты от женщин со средними и тяжелыми формами гестоза. Из них 6 плацент были получены в 28-34 недель, 7 плацент – в 35-36 недель гестации после операции Кесарева сечения по поводу ухудшения

состояния матери и плода. 11 плацент от матерей с гестозом были получены в 37–40 недель беременности. Клетки лейкоцитарного инфильтрата из децидуальной оболочки плаценты выделяли безферментативным методом с последующим центрифугированием в градиенте плотности фиколл-урографин (d-1,078). Методом проточной цитофлюориметрии на приборе FACScan (Becton Dickinson, США) в общей популяции лимфоцитов определяли уровень CD4⁺IL-2⁺, CD4⁺IL-4⁺, CD4⁺IL-6⁺, CD4⁺IL-10⁺, CD4⁺TGF-β1⁺ и CD4⁺IFNγ⁺ клеток. Анализ данных показал, что в плацентах 37–40 недель гестации при гестозе отмечались достоверное повышение уровня CD4⁺IL-2⁺, CD4⁺IL-4⁺, CD4⁺IL-6⁺ клеток и выраженная тенденция к росту содержания CD4⁺IFNγ⁺Т-хелперов по сравнению с показателями при неосложненной беременности. В общей популяции децидуальных лимфоцитов плацент, полученных от женщин с гестозом в 35–36 недель гестации, отмечались лишь тенденции к росту уровня CD4⁺IL-4⁺, CD4⁺IL-6⁺ клеток. В плацентах 28–34 недель гестации при гестозе отсутствовали изменения в содержании Т-хелперов по сравнению с показателями при неосложненной беременности, характерные для гестоза в более поздние сроки гестации. При этом уровень CD4⁺IL-2⁺, CD4⁺IL-4⁺, CD4⁺IL-6⁺ лимфоцитов в децидуальной оболочке плацент от женщин с гестозом в 28–34 недель беременности был достоверно снижен по сравнению с аналогичными показателями при гестозе в 37–40 недель гестации. Кроме того, только в группе с гестозом в 28–34 недель беременности в общей популяции Т-хелперов отмечалось достоверное снижение уровня CD4⁺IFNγ⁺ клеток как по сравнению с показателями контрольной группы, так и группы с гестозом и своевременными родами. В популяции CD4⁺ лимфоцитов особая роль отводится клеточным пулам продуцирующим IL-10 и TGF-β1. Эти клетки представляют популяцию так называемых регуляторных Т-лимфоцитов (Treg), которые способны ограничивать развитие иммунного ответа. Результаты наших исследований показали, что для всех групп с гестозом была характерна лишь небольшая тенденция к повышению уровня CD4⁺IL-10⁺ и CD4⁺TGF-β1⁺ лимфоцитов в децидуальной оболочке плаценты. Таким образом, раннее прерывание беременности, осложнившейся гестозом, не сопровождалось активацией Th1 и Th2-лимфоцитов на уровне плаценты, а усиленная активация децидуальных Т-хелперов, сопровождающаяся повышением уровня продуцентов провоспалительных цитокинов, отмечалась только лишь в поздние сроки гестации. Вероятно, это определялось длительностью воздействия ряда неблагоприятных факторов (хроническая гипоксия, нарушение маточно-плацентарного кровообращения и т.д.), способствующих развитию воспалительных и цитотоксических реакций. Следовательно, досрочное прерывание беременности, осложнившейся гестозом по клиническим показаниям, может не только сохранить жизнь матери и плода, но и способствовать предотвращению развития патологических иммунных реакций в системе плацента-плод.

АССОЦИИИ СОЧЕТАНИЙ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ IL-1ra, IL-6 И CYP1A2*1F У ЖЕНЩИН С РЕПРОДУКТИВНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ

Попова О.С.¹, Шаталина И.В.¹, Гордеева Л.А.¹, Нерсисян С.Л.², Оленникова Р.М.², Равинг Л.С.³, Глушкова О.А.¹, Воронина Е.Н.⁴, Филиппенко М.Л.⁴

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

² ГУЗ КОКБ «Медико-генетическая консультация», г. Кемерово, Россия

³ МУЗ ГБ № 3 «Женская консультация № 1», г. Кемерово, Россия

⁴ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Россия

Введение. Известно, что выживаемость плода зависит от сложной цитокиновой регуляции иммунного ответа матери во время беременности. Кроме того, цитокины (особенно воспалительные – IL-1, IL-6) могут оказывать влияние на цитохром P450-зависимые монооксигеназы, активность которых детерминирована соответствующими генами CYP. Ген CYP1A2 контролирует фермент, участвующий в метаболизме лекарственных веществ, табачного дыма и полициклических ароматических углеводородов. В то же время связь полиморфизмов генов интерлейкинов (IL) и CYP1A2*1F с репродуктивными нарушениями у женщин изучена недостаточно. В связи с этим **целью исследования** стало изучение ассоциаций сочетаний полиморфизмов генов IL-1ra, IL6 и CYP1A2*1F с репродуктивными нарушениями у женщин.

Материалы и методы. Обследовано 513 женщин репродуктивного возраста. Группу сравнения (группа I) составили 274 женщины с физиологическим течением беременности, в сроки беременности 15–22 недели и отсутствием в анамнезе спонтанных аборт и ВПР плода. В исследуемые группы вошли женщины с идиопатическими потерями плода (ИПП, II группа) и женщины с бесплодием (III группа). У них были исключены анатомические, хромосомные и гормональные аномалии, а также нарушения в спермограмме супруга. Группа II включала 185 женщин с 1–3 ИПП, из них 78 женщин были не беременными, 107 – беременные (до 15 недель), причем настоящая беременность протекала на фоне угрозы прерывания. Группу III составили 54 женщины с бесплодием II типа (беременность не наступала более 1 года на фоне отсутствия контрацепции), на момент обследования они не были беременными. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с помощью метода фенол–хлороформной экстракции. Генотипирование IL-1ra, IL-6 и CYP1A2*1F проводили с помощью тест-систем, разработанных совместно с ИХБФМ СО РАН (г. Новосибирск). Полиморфизм гена IL-1ra (интрон 2, VNTR 86 н.п.) исследовали методом ПЦР. Полиморфизм генов IL-6 (-174 G > C) и CYP1A2*1F (-164 C > A) выявляли с использованием сайт-специфической рестрикции ферментами Taq I и Bst2U (BstNI) (ООО «СибЭнзим», г. Новосибирск). Статистическую обработку результатов проводили с помощью четырехпольной таблицы сопряженности с поправкой Йетса на непрерывность вариации (χ²). Нулевую гипотезу отвергали при p < 0,05. Силу ассоциации анализируемых признаков определяли с помощью величины относительного риска (RR).

Основные результаты. Анализ распределения частот генотипов IL-1ra, IL-6 и CYP1A2*1F у женщин изучае-

мых групп показал их соответствие ожидаемым частотам при равновесии Харди–Вайнберга ($p < 0,05$). Сначала изучали распределение частот отдельных генотипов IL-1ra, IL-6 и CYP1A2*1F у женщин 3-х групп. Выяснилось, что генотип 2R/2R IL-1ra значимо чаще встречался у женщин III группы, чем у женщин группы I (18,4% против 6,9%; $\chi^2 = 5,49$; $p = 0,019$; $RR = 3,7$). Распределение частот генотипов IL-6 у женщин изучаемых групп было равновероятным. Обнаружили, что генотип A/A CYP1A2*1F значимо чаще встречался у женщин группы I (62% против 45%; $\chi^2 = 7,91$; $p = 0,005$; $RR = 0,54$). Далее изучали ассоциации сочетаний генотипов IL-1ra, IL-6 и CYP1A2*1F у женщин 3-х групп. Сочетание генотипов 2R/2R IL-1ra и G/G IL-6 значимо чаще наблюдалось у женщин с бесплодием (III), чем у женщин группы I (46,2% против 10,6%, $\chi^2 = 10,8$, $p = 0,001$; $RR = 6,8$) и группы II (46,2% против 2,9%, $\chi^2 = 16,85$, $p = 0,0001$, $RR = 21,2$). Сопоставление сочетаний генотипов IL-1ra с CYP1A2*1F и IL-6 с CYP1A2*1F у женщин изучаемых групп не выявило значимых отличий между ними. Таким образом, установили, что бесплодие у женщин детерминировано генами интерлейкинов: 2R/2R IL-1ra и G/G IL-6. В связи с этим можно предположить, что у женщин при бесплодии имеет место дисбаланс в T-регуляторном звене иммунного ответа. Генотипирование IL-1ra, IL-6 значительно расширяет возможности прогнозирования индивидуального риска репродуктивных нарушений у женщин.

ЭНДОМЕТРИОЗ – БОЛЕЗНЬ НАРУШЕНИЯ НАДЗОРНЫХ ФУНКЦИЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Сельков С.А., Ярмолинская М.И.

НИИАГ им. Д.О. Отта СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Основное проявление наружного генитального эндометриоза (НГЭ) – пролиферация эктопических эндометриальных клеток с формированием эндометриодных гетеротопий. Основной гипотезой инициации НГЭ является попадание эндометриальных клеток в брюшную полость в результате ретроградного заброса менструальной крови. Однако, ретроградный заброс эндометриальных клеток через маточные трубы, скорее всего, весьма распространенное явление. Это говорит о том, что должны существовать механизмы, способствующие пролиферации эктопических клеток. В этом плане наибольшее значение могут иметь компоненты иммунной системы, контролируемые процессы дифференцировки и пролиферации клеток.

Целью наших исследований явилось изучение основных антипролиферативных компонентов иммунной системы – интерферонов, цитотоксических (в первую очередь NK) клеток периферической крови, а также продукции цитокинов, хемокинов и металлопротеиназ в перитонеальной жидкости.

Обследованию подвергались женщины с НГЭ, диагноз которых во всех случаях был подтвержден при лапароскопии. Полученные нами в ходе многочисленных исследований данные свидетельствуют о снижении цитотоксической активности NK-клеток и способности к продукции интерферонов у пациенток с НГЭ, коррелирующее с тяжестью заболевания. Эти изменения, вероятно, создают тот неблагоприятный иммунологический «фон», который реализуется на местном уровне – в перитонеальной полости. Это предположение подтвердилось

в наших последующих исследованиях. У женщин с НГЭ выявлены изменения баланса цитокинов – преобладание провоспалительных (IL-1, TNF α , IL-6), проангиогенных (VEGF, bFGF) над противовоспалительными и ограничивающими пролиферацию клеток молекул (TGF- β , IL-10). Выявлено также увеличение уровня хемокинов (IL-8, RANTES, MIG-1) и активность металлопротеиназ (MMP-2). Увеличивалась также продукция IL-4. В совокупности эти изменения на местном уровне приводят к пролиферации эктопических клеток, сопровождающейся развитием воспалительной реакции, которая при НГЭ носит неэффективный, не приводящий к элиминации патологического очага характер.

Существенный вклад в формирование гетеротопий вносит неконтролируемый ангиогенез. Проведенные исследования подтвердили предположение о важной роли компонентов иммунной системы, регулирующих процессы дифференцировки и пролиферации клеток в патогенезе НГЭ.

Полученные данные позволяют также разрабатывать подходы к патогенетически обоснованной иммуномодулирующей терапии.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ ПЛАЦЕНТЫ

Сельков С.А., Соколов Д.И.

НИИАГ им. Д.О. Отта СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Основные функции иммунной системы описываются обычно с позиций «конфронтационных» взаимодействий. Это касается и противоинфекционного и противовирусного иммунитета, иммунологической толерантности, трансплантационного иммунитета. В то же время, «созидательным» функциям иммунной системы уделяется значительно меньше внимания, за исключением процессов регенерации и репарации поврежденных тканей. В этом плане исключительный интерес представляет плацента, провизорный орган, формирование структуры которого происходит довольно быстро, а роль иммунологических механизмов в ее развитии изучена недостаточно.

Целью настоящего исследования явилось изучение роли различных компонентов иммунной системы в морфогенезе плаценты. Основное внимание при этом было уделено механизмам иммунорегуляции процессов ангиогенеза – основного физиологического механизма успешного развития и функционирования ткани плаценты.

Объектом исследования служили плаценты, полученные как после родоразрешения кесарским сечением женщин с физиологической беременностью и гестозом в срок 38–39 недель, так и ткань хориона после прерывания беременности на ранних (8–12 недель) сроках. Кроме того оценивали влияние различных секреторных продуктов, полученных при культивировании фрагментов плаценты на функциональные свойства эндотелиальных клеток линии EA. Hy 926. Эта модель позволила оценить влияние различных фармакологических средств на процессы ангиогенеза, что может быть перспективным для выбора патогенетически обоснованной терапии гестоза.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что успешный ангиогенез плаценты зависит от сбалансированной продукции проангиогенных и антиангиогенных факторов. Важное значение в формировании ткани

плаценты имеет оптимальное сочетание проапоптогенных и антиапоптогенных факторов. Нарушение баланса процессов ангиогенеза и апоптоза приводит к нарушению развития ткани плаценты, лежащему в основе развития тяжелых форм акушерской патологии, в частности гестоза.

В процессе исследования нам не удалось выявить усиления процесса апоптоза в плаценте к концу беременности, что позволяет ставить под сомнение такой термин как «старение плаценты». Вероятно, терминация беременности и развитие родового акта инициируется сигнальными механизмами, не связанными с апоптозом.

ЗАВИСИМОСТЬ АКТИВНОСТИ БЛОКИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ И СОДЕРЖАНИЯ НК-КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ОТ УРОВНЯ ГОРМОНОВ У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ

Селедцова Н.В.¹, Хонина Н.В.², Тихонова М.А.²,
Овсянникова Т.В.¹, Черных Е.Р.²

¹ ЦНМТ Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Россия

² НИИ Клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск, Россия

Введение. Одним из диагностических критериев иммунологического бесплодия принято считать отсутствие в сыворотке крови женщин блокирующих факторов (БФ), способных подавлять пролиферативный ответ Т-клеток на аллоантигены партнера. Кроме того, среди иммунных дисфункций, определяемых при бесплодии, часто выявляется повышение количества активированных НК-клеток. В то же время, уровень пролиферации в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ) и содержание НК-клеток может регулироваться с участием гормонов, концентрация которых существенно варьирует при эндокринопатиях.

Цель. Проанализировать активность БФ и относительное содержания НК-клеток в периферической крови в зависимости от уровня гормонов у женщин с бесплодием.

Методы исследования. В исследование были включены пациентки с эндокринной и иммунологической формами бесплодия ($n = 62$). Индекс влияния БФ (ИВскл-бф) в среднем составил $1,0 \pm 0,04$ у.е., относительное содержание $CD16^+CD56^+$ НК-клеток $7,0 \pm 0,5$, относительное содержание $CD16^+CD56^+$ НК-клеток $7,5 \pm 0,5$, средний возраст $31,2 \pm 0,5$ лет. Исследование уровня продукции БФ было основано на сравнении уровня пролиферации МНК в СКЛ, где в качестве стимуляторов использовали инaktivированные митомицином С лимфоциты партнера, в присутствии аутологичной и пулированной сывороток крови. ИВскл-бф ниже 0,75 свидетельствовал о наличии в сыворотке крови БФ, более 0,75 — об отсутствии БФ.

Результаты. Проведенное исследование не выявило корреляционной связи между уровнем общего тестостерона, лютеинизирующего гормона, эстрадиола, тиреотропного гормона в сыворотке крови женщин с бесплодием и изучаемыми иммунологическими показателями. В то же время регистрировалась достоверная обратная корреляционная связь уровня ФСГ с содержанием $CD16^+CD56^+$ НК-клеток ($r_s = -0,32$, $p < 0,01$), и прямая корреляционная связь уровня дегидроэпиандросте-

рона сульфата с ИВскл-бф ($r_s = -0,35$, $p < 0,05$). Кроме того, регистрировалась тенденция к наличию корреляционной связи уровня пролактина с ИВскл-бф, 17-ОН с количеством $CD16^+CD56^+$ НК-клеток и $CD16^+CD56^+$ НК-клеток.

Заключение. Полученные результаты позволяют заключить, что гиперандрогения надпочечникового генеза, характеризующаяся повышением уровня дегидроэпиандростерона сульфата в крови, может оказывать негативное влияние на наличие БФ в сыворотке крови у женщин с бесплодием. В свою очередь, гипогонадотропная недостаточность функции яичников у женщин с бесплодием может являться одним из факторов повышения активированных $CD16^+CD56^+$ НК-клеток в крови.

НАРУШЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГОВ ПРИ НАРУЖНОМ ГЕНИТАЛЬНОМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ

Сотникова Н.Ю., Филиппова Е.С.,
Анциферова Ю.С., Красильникова А.К.

ФГУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова»
Минздравсоцразвития России, г. Иваново, Россия

Согласно мнению большинства исследователей, развитие и рост эндометриоидных очагов происходит на фоне значительных изменений локального иммунного ответа в перитонеальной полости. Показано, что при эндометриозе нарушается функция перитонеальных макрофагов, что ведет к ослаблению иммунного надзора в перитонеальной полости и создает условия, благоприятные для формирования эктопического эндометрия. Однако механизмы, определяющие отсутствие адекватного ответа со стороны перитонеальных макрофагов на эндометриальные клетки, до конца полностью не установлены. Важную роль в регуляции иммунного ответа в перитонеальной полости отводят цитокинам перитонеальной жидкости, большинство из которых продуцируется макрофагами. Целью нашего исследования было оценить характер экспрессии функциональных молекул и внутриклеточной продукции провоспалительных цитокинов перитонеальными макрофагами, а также определить особенности содержания IL-8, MCP-1 и кальпротектина в перитонеальной жидкости пациенток с наружным генитальными эндометриозом различной степени тяжести для уточнения локальных иммунных механизмов, участвующих в развитии наружного генитального эндометриоза. В условиях гинекологической клиники ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздравсоцразвития России было проведено обследование 63 женщин с наружным генитальным эндометриозом, из них у 36 женщин при лапароскопическом обследовании был выявлен эндометриоз 1-2 степень эндометриоза, а у 27 женщин был диагностирован эндометриоз 3-4 степени. 13 женщин, поступивших для проведения плановой хирургической стерилизации, составили контрольную группу. Материалом для исследования служила перитонеальная жидкость. Обогащенную популяцию макрофагов выделяли из перитонеальной жидкости методом скоростного центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина. Экспрессию функциональных рецепторов (HLA-DR, CD11b, CD49e, CD95L) и внутриклеточную продукцию цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, TNF α) перитонеальными макрофагами оценива-

ли с помощью моноклональных антител методом проточной цитометрии. Содержание в перитонеальной жидкости IL-8, MCP-1 и кальпротектина определяли с помощью коммерческих тест-систем методом ИФА. Нами было установлено, что в общей группе женщин с эндометриозом в перитонеальной жидкости было снижено содержание макрофагов, экспрессирующих на своей поверхности CD11b, CD49e, HLA-DR и FasL молекулы, при одновременном повышении уровня макрофагов, продуцирующих внутриклеточно IL-1 β , IL-8 и TNF α , и увеличении концентрации в перитонеальной жидкости IL-8, MCP-1 и кальпротектина. Дифференцированный анализ данных в зависимости от степени распространенности патологического процесса показал, что сниженная экспрессия CD11b, HLA-DR и FasL молекул отмечалась при эндометриозе как 1-2 степени, так и 3-4 степени. Только при малых формах эндометриоза мы выявили угнетение экспрессии на поверхности макрофагов интегринальных молекул CD49e. Другая закономерность отмечалась при анализе локальной продукции провоспалительных цитокинов у женщин с эндометриозом. При 1-2 степени распространенности патологического процесса мы выявили лишь достоверное повышение внутриклеточной продукции перитонеальными макрофагами TNF α , тогда как при эндометриозе 3-4 степени в перитонеальной жидкости резко повышалось количество IL-1 β ⁺, IL-6⁺, TNF α ⁺ и IL-8⁺ макрофагов, а также увеличивалось содержание IL-8, MCP-1 и кальпротектина. Таким образом, при эндометриозе вне зависимости от стадии патологического процесса нарушена функция макрофагов как клеток первой линии защиты, осуществляющих распознавание и элиминацию эктопически перемещенной ткани из перитонеальной полости, о чем свидетельствует снижение экспрессии на поверхности макрофагов женщин с эндометриозом интегринальных молекул, а также угнетение антиген-презентирующей и апоптоз-индуцирующей функции макрофагов. Повышение локального уровня провоспалительных цитокинов, по-видимому, за счет усиленной их продукции перитонеальными макрофагами, коррелирующее со степенью распространения патологического процесса может создавать условия, благоприятные для усиления эктопического роста эндометриальной ткани в перитонеальной полости.

ВЛИЯНИЕ СЕКРЕТОРНЫХ ПРОДУКТОВ ТКАНИ ПЛАЦЕНТЫ НА ТРАНСЭНДОТЕЛИАЛЬНУЮ МИГРАЦИЮ МОНОЦИТОПОДОБНЫХ КЛЕТОК ЛИНИИ ТНР-1

**Степанова О.И., Львова Т.Ю., Сафронова Н.Ю.,
Фураева К.Н., Сельков С.А., Соколов Д.И.**

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

Введение. Моноциты, инфильтрующие ткань плаценты, оказывают значительное влияние на развитие ткани плаценты и могут участвовать в развитии патологии гестоза. Механизм привлечения моноцитов в норму и при гестозе в ткань плаценты практически не изучен. **Целью исследования** явилось сравнительное изучение влияния факторов, секретируемых тканью плаценты на разных сроках физиологической беременности и при гестозе на трансэндотелиальную миграцию моноцитоподобных клеток линии ТНР-1.

Материалы и методы. Ткань плаценты получали при искусственном аборте у женщин с физиологическим те-

чением беременности на сроке 9-11 недель (n = 19), а также после кесарева сечения у женщин с физиологической беременностью на сроке 38-39 недель (n = 28) и с гестозом на сроке 38-39 (n = 29). Ткань плаценты культивировали 24 часа в среде DMEM/F12 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) (Sigma, США), затем надосадочные жидкости собирали и замораживали при температуре -20 °С. Эндотелиальные клетки линии EA.Hy926 вносили во вставки для 24-луночных планшетов с поликарбонатным фильтром (размер пор 8 мкм, BD Falcon, США) в количестве 40000 клеток на лунку в среде DMEM/F12 с добавлением 10% ЭТС и инкубировали до образования конфлюэнтного монослоя. Затем в верхнюю камеру (вставка с эндотелиальными клетками на фильтре) вносили по 1 × 10⁶ клеток линии ТНР-1 в 200 мкл среды DMEM/F12 с добавлением 10% ЭТС, в нижнюю камеру (лунка 24-луночного планшета) вносили 700 мкл надосадочных жидкостей, полученных после культивирования ткани плаценты, разведенных культуральной средой в соотношении 1:1. В течение 24 часов клетки инкубировали, после чего оценивали количество мигрировавших в нижнюю камеру клеток ТНР-1 и их фенотип. Количество мигрировавших клеток оценивали в пробирках для подсчета абсолютного количества клеток True count (BD, США). Клетки линии ТНР-1 окрашивали антителами против CD18, CD11a, CD11b и CD11c (BD, США).

Результаты. Спонтанный уровень трансмиграции клеток линии ТНР-1 в нижнюю камеру составил 26213±473 клеток. Количество клеток в нижней камере увеличивалось после инкубации в присутствии секреторных продуктов плаценты 9-11 недель (49555±3403, p < 0,01) по сравнению со спонтанным уровнем. Количество клеток, мигрировавших в нижнюю камеру клеток после инкубации в присутствии секреторных продуктов плацент 38-39 недель физиологической беременности (15042±1350, p < 0,001) и при гестозе (17712±996, p < 0,01) было ниже по сравнению со спонтанным уровнем. Интенсивность трансмиграции в присутствии секреторных продуктов ткани плацент ранних сроков беременности была выше, чем в присутствии секреторных продуктов ткани плацент поздних сроков физиологической беременности (p < 0,001); но интенсивность трансмиграции клеток линии ТНР-1 была выше при гестозе по сравнению с терминальными сроками физиологической беременности (p < 0,05). На клетках линии ТНР-1 из верхней камеры экспрессия CD18 и CD11b была выше (p < 0,001) по сравнению с клетками линии ТНР-1, находящимися в верхней камере во всех исследуемых группах. Экспрессия CD11b была выше на клетках линии ТНР-1, мигрировавших в нижнюю камеру под влиянием секреторных продуктов плацент с гестозом (p < 0,05), по сравнению с клетками, мигрировавшими в нижнюю камеру под влиянием плацент третьего триместра физиологической беременности.

Заключение. На модельной системе нами показано, что секреторные продукты ткани плаценты активируют трансэндотелиальную миграцию моноцитов на начальных этапах развития беременности и снижают ее на терминальных сроках. Обнаружено усиление трансмиграции клеток линии ТНР-1 под влиянием секреторных продуктов плацент, полученных от беременных женщин с гестозом, по сравнению с физиологической беременностью, что согласуется с данными литературы о повышении содержания моноцитов в ткани плаценты при

гестозе. Повышенная экспрессия CD18- и CD11b- клетками линии ТНР-1 в верхней камере до их трансмиграции указывает на участие этих молекул в трансмиграции моноцитов в ткань плаценты. Повышенная экспрессия CD11b-клетками линии ТНР-1, мигрировавших в нижнюю камеру в присутствии секреторных продуктов плацент с гестозом по сравнению с плацентами с физиологической беременностью свидетельствует об участии этой молекулы в повышенной инфильтрации ткани плаценты мононуклеарами при гестозе. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ ГК № 02.740.11.0711. и гранта Президента РФ № НШ-3594.2010.7.

ОСОБЕННОСТИ МИГРАЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ «ЗРЕЛОСТИ» ШЕЙКИ МАТКИ

Сытова Л.А., Кулида Л.В., Сотникова Н.Ю., Посисеева Л.В., Мартенова А.А.

ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, г. Иваново, Россия

Диагностика воспалительных заболеваний шейки матки во время беременности невозможна без четкого представления о гестационных изменениях в ней. Известно, что развивающаяся перед родами лейкоцитарная инфильтрация в шейке матки способствует ее «созреванию». Миграция нейтрофильных лейкоцитов из кровеносного русла обеспечивается специфическими рецепторами хемокинов, экспрессирующимися на их поверхности. До настоящего времени остается мало изученной взаимосвязь между характером экспрессии хемокиновых рецепторов нейтрофильными лейкоцитами и структурными изменениями при «созревании» шейки матки. В связи с этим целью исследования явился сравнительный анализ характера экспрессии мембранных CXCR2 рецепторов нейтрофилов на системном уровне и цитологических особенностей родовых путей при различной степени «зрелости» шейки матки. Обследовано 94 первобеременных первородящих женщины с доношенной беременностью и различной степенью «зрелости» шейки матки, которая определялась по шкале Бишопа. Все женщины были сопоставимы по среднему возрасту и экстрагенитальной патологии. В периферической крови оценивали экспрессию CXCR2 молекул нейтрофилами с помощью моноклональных антител методом проточной цитометрии. С целью определения инфицированности родовых путей проводилась обзорная цитология мазков из цервикального канала, окрашенных гематоксилином и эозином. Бактериоскопическая диагностика осуществлялась с использованием дополнительной окраски по Граму. Непосредственное выявление антигенов HSV-2 типа, CMV, *Chlamidia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* осуществлялось методом прямой и непрямой иммунофлюоресценции. Содержание CXCR2⁺ нейтрофилов в группе женщин с «незрелой» шейкой матки составило 63,95±0,86%. Этот показатель был несколько ниже в группе с «созревающей» шейкой матки (62,38±0,91%), а в группе беременных со «зрелой» шейкой матки отмечено его минимальное значение — 43,73±1,84% (p < 0,001). В ходе обзорного цитологического исследований мазков из цервикального канала достоверных различий по клеточному составу в срав-

ниваемых группах выявлено не было. Максимальное количество лейкоцитов (17-20) определялось у женщин со «зрелой» шейкой матки. Следует подчеркнуть, что фагоцитирующие лейкоциты выявлены в единичных случаях исследуемых групп. Из бактериальной флоры в мазках с различной степенью зрелости шейки матки преобладала палочковая, а кокковая и пневмококковая флора в большем проценте (31%) случаев обнаружена в мазках с «незрелой» шейкой матки. Результаты иммунофлюоресцентной микроскопии мазков из цервикального канала показали, что наиболее часто встречающимися возбудителями инфекции были: ВПГ — у 32% женщин со «зрелой» шейкой, 9% — с «созревающей» и у 19% — с «незрелой»; уреаплазма — соответственно у 28% женщин со «зрелой», 5% — с «созревающей» и в 23% — с «незрелой» шейкой матки. Причем, признаки инфицирования вирусом простого герпеса в виде полиморфизма ядер и наличия внутриядерных включений достоверно чаще диагностировались в группе со «зрелой» шейкой матки, по сравнению с «созревающей» шейкой (p < 0,05). Носительство уреаплазмы достоверно чаще выявлено в группе со «зрелой» и «незрелой» шейкой по сравнению с «созревающей». Хламидийное инфицирование определялось в исследуемых группах в 16%, 9% и 15% случаев соответственно. Цитомегаловирусная инфекция была обнаружена в единичных случаях лишь в мазках с «незрелой» шейки матки. Кольпит диагностирован во всех группах женщин с примерно одинаковой частотой — у 8,6%, 15% и 8% соответственно, дисбиоз влагалища у 27%, 43%, 32%, промежуточный вариант биоценоза влагалища — у 38%, 21%, 16% и эндоцервикоз — у 8%, 9% и 12% женщин соответственно исследуемым группам. Таким образом, увеличение количества лейкоцитов в мазках из цервикального канала при отсутствии клинических и цитологических признаков активной инфекции в группе женщин со «зрелой» шейкой матки является отражением гестационной перестройки. Низкое содержание CXCR2⁺ нейтрофилов в крови женщин со «зрелой» шейкой матки мы связываем с усилением процессов миграции из кровеносного русла в ткань активированных нейтрофилов, количественное увеличение которых подтверждается данными цитологического исследования мазков.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МОНОЦИТОВ НОВОРОЖДЕННЫХ С НИЗКОЙ И ЭКСТРЕМАЛЬНО-НИЗКОЙ МАССОЙ ТЕЛА

Турова А.В., Кудряшова А.В., Чаша Т.В.

ФГУ «ИвНИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздравсоцразвития России, г. Иваново, Россия

Состояние иммунной системы во многом определяет особенности клинических проявлений и длительности течения инфекционно-воспалительных заболеваний. В силу своей функционально незрелости новорожденные дети с низкой и экстремально-низкой массой тела не способны в полной мере к реализации противоинфекционной защиты. Однако в большинстве случаев их лечение осуществляется по стандартному протоколу, без учета особенностей исходного уровня активации клеток врожденного иммунитета. Это вызывает необходимость выявления наиболее значимых параметров иммунного статуса новорожденных с инфекционно-воспалительными заболеваниями для оценки состояния иммунной системы.

Среди всего многообразия клеточных типов, участвующих в реализации иммунных реакций, особый интерес вызывают клетки макрофагального ряда, представляющие первую линию защиты организма от различных патогенов и способные немедленно осуществлять противомикробную защиту без длительного этапа презентации антигена. Целью исследования было выявить особенности экспрессии активационных молекул, паттерн-распознающих рецепторов и внутриклеточной продукции цитокинов моноцитами доношенных и недоношенных новорожденных с инфекционно-воспалительными заболеваниями. Проводили клинико-лабораторное обследование новорожденных с различными проявлениями инфекционно-воспалительной патологии на 1-2 сутки жизни. Из них 14 детей с очень- и экстремально-низкой массой тела 27-30 недель гестации и 30 детей 38-40 недель гестации с массой тела 3300-3820 г. Контрольную группу составили 25 здоровых доношенных новорожденных с массой тела 3200-3750 г. Методом проточной цитофлуориметрии в периферической крови определяли относительное содержание HLA-DR⁺, CD16⁺, CD11b⁺, TLR2⁺, TLR4⁺, IL-1β⁺, IL-6⁺, IL-8⁺, IFNγ⁺, GrB⁺ моноцитов. Гейтирование области моноцитов (CD14⁺CD45⁺) проводили с использованием анти-CD14 и анти-CD45 моноклональных антител. Анализ данных не выявил достоверных различий в содержании TLR2⁺ и TLR4⁺ моноцитов в общих группах доношенных и недоношенных новорожденных. В равной степени во всех исследуемых группах встречались как низкие (менее 70%), так и высокие (более 70%) значения данных показателей. В обеих группах новорожденных с инфекционно-воспалительной патологией и в контрольной группе отсутствовали достоверные различия между средними значениями содержания HLA-DR⁺ и CD16⁺ моноцитов. Однако уровень CD11b⁺ моноцитов достоверно повышался при наличии инфекционного процесса, особенно в группе детей с низкой и экстремально-низкой массой тела. Основные изменения в содержании цитокин-продуцирующих клеток в обеих группах детей с инфекционно-воспалительной патологией проявлялись в повышении уровня моноцитов, продуцирующих IL-8 и IFNγ. Отличительной чертой группы детей с низкой и экстремально-низкой массой тела от группы доношенных детей при наличии инфекционно-воспалительной патологии было более высокое содержание моноцитов, продуцирующих IL-6, но менее высокое содержание IL-8⁺ моноцитов. Таким образом, большинство изменений параметров активации моноцитов новорожденных с инфекционно-воспалительными заболеваниями отражали адекватную реакцию иммунной системы на патоген. Однако в значительном ряде случаев инфекция не оказывала стимулирующего влияния на экспрессию паттерн-распознающих рецепторов, что могло определять нарушение распознавания антигена, и, как следствие, недостаточный уровень активации фагоцитарных реакций. Следует отметить, что в группе доношенных новорожденных активация противомикробной защиты была более выраженной, чем в группе недоношенных, а высокий уровень продукции IL-8 мог способствовать вовлечению в этот процесс нейтрофилов. Повышение содержания IL-6 в группе детей с низкой и экстремально-низкой массой тела могло определяться более длительным влиянием инфекционных агентов на иммунную систему плода и отражать развитие хронического воспалительного процесса. Все обследованные дети с инфекционно-воспалительными забо-

леваниями адекватно отвечали на проводимую терапию, и были выписаны по окончании лечения домой с выздоровлением от этой патологии. Однако только в группе доношенных новорожденных изменения показателей активации моноцитов сочетались с меньшей тяжестью заболеваний и более коротким периодом их течения.

ИММУНОЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ ПУТЕМ ЭКО

Ходунова Т.В., Семикина Е.Л., Копыльцова Е.А., Сметанина О.Ю.

Научный центр здоровья детей РАМН, Москва, Россия

Введение. Дети, рожденные путем ЭКО, в последние годы находятся в центре внимания врачей различных специальностей. Особенности развития иммунной системы у детей этой группы мало изучены, высказываются различные мнения об особенностях их реактивности.

Цель и задачи. Изучение субпопуляционного состава лимфоцитов (лф) крови у детей, рожденных с применением ЭКО и сравнение его с референтными показателями.

Материалы и методы. Проведено обследование 31 ребенка (в том числе 26 недоношенных гестационного возраста 28-35 недель), рожденных путем ЭКО. 19 детей обследованы в возрасте 14-15 дней, а 12 – в 1,5-3 месяца. Определен субпопуляционный состав лф крови. В качестве референтных показателей использованы данные литературы о составе субпопуляций лф детей возраста 1-6 месяцев, а также данные, полученные в НЦЗД РАМН для доношенных и недоношенных детей неонатального периода (Зиновьева Т.Е., 2008). Исследование проведено методом проточной цитофлуориметрии в реакции 2-3 цветного окрашивания (прибор и реагенты BD Biosciences, США).

Основные результаты. Состав Т-лф у обследованных детей в среднем был в пределах возрастных норм, однако отмечен значительный разброс индивидуальных показателей. Признаки изменений процентного и/или абсолютного состава Т-лф и их субпопуляций выявлены у 13 из 31 обследованного ребенка (42%), чаще всего за счет умеренного снижения процентного и абсолютного уровня Т-хелперов CD3⁺CD4⁺. При средних показателях, укладывающихся в известные референтные уровни 16±2%, у значительной части детей (42-45%) в течение первого месяца выявляется снижение процентного и абсолютного уровня В-лф (4-10%, абс. число 130-500). У детей возраста 1,5-3 месяцев отмечается достоверное повышение их процентного (25,6±4%) и абсолютного количества, характеризующее нормализацию состава циркулирующих В-лф. Отмечено повышение уровня клеток с «молодым» В-линейным фенотипом CD19⁺CD10⁺, оно пропорционально росту уровня В-лф. Процентные показатели уровня В1-лф CD19⁺CD5⁺ и их молодой субпопуляции детей повышаются к возрасту 1,5-3 месяца – пропорционально увеличению уровня В-лф. Значимое снижение уровня NK на первом месяце жизни отмечено у 1/3 обследованных (менее 4%, абс. 88-200). У детей в возрасте 1,5-3 месяцев картина состава этой субпопуляции лф более стабильная, с отчетливой тенденцией к нормализации (8,7±1,3%, абс. число 225-840).

Заключение. Выявленные изменения клеточного иммунитета у детей, рожденных путем ЭКО, наиболее зна-

чительны в неонатальном периоде, что может быть связано с высокой частотой различной патологии как у детей, так и у матерей. Целесообразно наблюдение и обследование детей в катамнезе.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЛЛОИММУНИЗАЦИИ ЛИМФОЦИТАМИ ПАРТНЕРА У СУПРУЖЕСКИХ ПАР С ВЫСОКОЙ СТЕПЕНЬЮ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ ПО HLA-ЛОКУСАМ

Хонина Н.А., Пасман Н.М., Прокофьев В.Ф., Черных Е.Р.

*Учреждение РАМН Институт клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск, Россия
Новосибирский Государственный Университет, г. Новосибирск, Россия*

Учреждение РАМН Институт клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, г. Новосибирск, Россия

Одним из наиболее сложных вопросов в практике акушеров-гинекологов является невынашивание беременности, обусловленное высокой степенью гистосовместимости партнеров по HLA-антигенам II класса. Сходство партнеров по HLA-антигенам сопровождается слабым иммунным ответом и недостаточной продукцией протективных блокирующих факторов, которые обеспечивают успешную имплантацию эмбриона. С целью усиления иммунного ответа используют метод аллоиммунизации лимфоцитами партнера (АИЛ), который позволяет индуцировать пролиферативный ответ клеток за счет увеличения дозы аллоантигена. Остается неясным является ли высокая степень гистосовместимости партнеров критическим фактором для невынашивания беременности и возможно ли усилить иммунный ответ методом АИЛ.

С этой целью в исследование было включено 78 супружеских пар с различной степенью сходства по HLA-антигенам, которые в зависимости от степени совпадений были разделены на 3 группы. В группу 1 (n = 8) вошли пары, не имеющие совпадений по HLA-системе, в группу 2 (n = 23) пары с минимальным совпадением (1-2 антигена), группу 3 (n = 27) составили пары, совпадающие по 3-4 антигенам и в группу 4 (n = 20) были включены пары с высокой степенью гистосовместимости (5-6 антигенов). На момент обследования у женщин не было выявлено гинекологических заболеваний, эндокринной патологии, исключен мужской фактор. Средний возраст женщин составил $31,1 \pm 0,5$. У 62% женщин ранее регистрировалось от 1 до 8 случаев спонтанного прерывания беременности на ранних сроках, у 36% женщин в анамнезе были от 1 до 6 неудачных попыток ЭКО. Иммунологическое обследование проводилось 2-хкратно (до и после АИЛ) и включало определение уровня пролиферации мононуклеарных клеток (МНК) женщины в одноплазменной смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ), где в качестве антигена использовали клетки партнера, обработанные митомицином С. Клиническая эффективность оценивалась по наступлению и прогрессированию беременности (срок > 20 недель) через 1 год после завершения АИЛ. Иммуногенетическое обследование у супружеских пар проводили по локусам HLA-DRB1, -DQA1, -DQB1. Аллоиммунизацию лимфоцитами партнера проводили 3-хкратно через равные промежутки времени в 1 фазу менструального цикла (Разрешение ФС № 2009/179 от 2.07.2009 г.).

Полученные данные показали, что при отсутствии совместимости по HLA-антигенам уровень пролиферативного ответа клеток в СКЛ регистрировался в пределах нормативного диапазона (10832 ± 2845 имп/мин) и был сопоставим с аналогичным показателем в группе 2 (9010 ± 1332 имп/мин). В группе 3 уровень пролиферации в СКЛ был снижен на 20% и составил 8144 ± 903 имп/мин. Наиболее выраженное двукратное снижение пролиферативной активности МНК по сравнению с группой 1 регистрировалось при высокой степени гистосовместимости партнеров (4836 ± 726 имп/мин; $P < 0,01$). Анализ взаимосвязи между уровнем пролиферативного ответа МНК и степенью сходства по HLA-антигенам выявил обратную зависимость между исследуемыми параметрами ($r = -0,34$; $P = 0,003$). После проведения АИЛ максимальное усиление пролиферативного ответа регистрировалось в группах 1 и 2. В группе 3 уровень пролиферации МНК превысил нижнюю границу нормативного диапазона, в группе 4 увеличился в 1,5 раза, но оставался достоверно ниже, чем в группе 1. Клиническая эффективность была оценена у 52 пар, у которых прошел 1 год после завершения АИЛ. В 1 и 2 группах беременность регистрировалась в 40% случаях (6/15), в группе 3 в 21% случаев (4/19) и в группе 4 в 33% случаев (6/18). В 4 из 16 случаев беременность наступила после повторной попытки ЭКО. Таким образом, проведение АИЛ у пар с высокой степенью гистосовместимости позволяет сохранить беременность на ранних сроках гестации.

ОЦЕНКА НЕКОТОРЫХ ПАРАМЕТРОВ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У ДЕТЕЙ С ЭКСТРЕМАЛЬНО НИЗКОЙ МАССОЙ ТЕЛА

Чарипова Б.Т., Чистякова Г.Н., Тарасова М.Н.
ФГУ «НИИ ОММ» Минздравсоцразвития России, г. Екатеринбург, Россия

Исследование маркеров иммунологической адаптации новорожденных в период массивной антигенной нагрузки при переходе из внутриутробного состояния во внеутробное представляет большой теоретический и практический интерес, особенно у детей с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ). В связи с этим целью исследования явилась оценка параметров клеточного иммунитета и содержания неоптерина у недоношенных детей с экстремально низкой массой тела.

Материалы и методы. Были обследованы 40 детей (основная группа) с ЭНМТ. Масса тела при рождении составляла $810,5 \pm 153,9$ г, средний гестационный возраст – $27,5 \pm 1,7$ недель. Все дети родились в асфиксии тяжелой степени и требовали проведения искусственной вентиляции легких с рождения. Оценка по шкале Апгар составила $3,7 \pm 1,3$ балла в конце первой минуты жизни и $5,4 \pm 0,7$ балла в конце пятой минуты жизни. У всех новорожденных в 1-е сутки жизни было диагностировано гипоксически-ишемическое поражение ЦНС тяжелой степени: церебральная ишемия 3 степени. Респираторный дистресс-синдром подтвержден рентгенологически у 100% детей. Группу сравнения составили 13 доношенных новорожденных, родившихся в сроке гестации 38-40 недель с оценкой по шкале Апгар 7/8 баллов, массой тела $3638 \pm 439,53$ г.

Иммунологическое исследование крови включало определение субпопуляционного состава лимфоцитов CD3⁺, CD4⁺, CD19⁺ методом проточной цитометрии

на анализаторе «FACSCalibur» фирмы «Becton Dickinson» (США) с использованием моноклональных антител того же производителя и неоптерина методом ИФА с помощью набора реагентов IBL (Германия). Иммунологические показатели у детей основной группы изучали в 1 сутки (пуповинная кровь), 28-30 сутки жизни и в 38-40 недель постконцептуального возраста (ПКВ), у новорожденных группы сравнения — в возрасте 4-5 суток жизни. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0», для оценки достоверности различий между группами применяли критерий Манна-Уитни.

Результаты исследования. При анализе полученных данных выявлено, что содержание лейкоцитов на момент рождения у детей с ЭНМТ составило $5,95 \pm 2,6 \cdot 10^9/\text{л}$, к месяцу жизни увеличилось в 1,4 раза. По достижении срока доношенной беременности количество лейкоцитов снижалось до уровня в пуповинной крови, при этом снижение относительно группы сравнения составило 1,8 раза.

У детей основной группы в возрасте 38-40 недель ПКВ отмечено снижение уровня Т-лимфоцитов в 1,2 раза в 1-е сутки жизни, в 1,3 раза в возрасте одного месяца и в 1,4 раза относительно уровня клеток у детей группы сравнения. Содержание В-лимфоцитов у детей основной группы в 38-40 недель ПКВ превышало количество этих клеток в момент рождения, в 1 месяц и у доношенных детей в 1,5; 1,8 и 2,6 раза соответственно.

При анализе динамики изменения содержания Т-хелперов у детей с ЭНМТ, выявлено, что количество клеток в 1-е сутки жизни и в 1 месяц не изменялось ($41,45 \pm 11,87\%$ против $41,5 \pm 10,5\%$). К 38-40 неделям ПКВ отмечено снижение уровня Т-хелперов в 1,4 и 1,9 раза относительно более раннего возраста и группы сравнения.

В сыворотке крови у детей с ЭНМТ в возрасте 1 месяца отмечалось повышение неоптерина в 1,8 раза по сравнению с уровнем в пуповинной крови ($23,25 \pm 6,25$ нмоль/л). По достижении 38-40 недель ПКВ содержание неоптерина в сыворотке новорожденных с ЭНМТ снижалось до уровня при рождении, при этом отмечено достоверно значимое снижение в 1,6 раза относительно группы сравнения.

Таким образом, было выявлено, что у детей с ЭНМТ в возрасте 1 месяца уровни лейкоцитов, Т-лимфоцитов, Т-хелперов, В-лимфоцитов приближаются к значениям у доношенных детей на 4-5 сутки жизни, для которых в этом возрасте характерен перекрест в формуле крови. По достижению возраста доношенной беременности у детей основной группы субпопуляционный состав клеток меняется, достигая значений пуповинной крови. Динамика изменения субпопуляционного состава клеток крови детей с ЭНМТ и в сравнении с доношенными детьми коррелирует с динамикой изменения маркера активации клеточного иммунитета — неоптерина, что указывает на повышенную антигенную нагрузку на иммунную систему недоношенного ребенка.

СПЕКТР АУТОИММУННЫХ АНТИТЕЛ У ЖЕНЩИН С РАЗЛИЧНОЙ АКУШЕРСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Чепанов С.В., Сельков С.А.

НИИАГ им. Д.О. Отта СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Одной из причин репродуктивных потерь являются нарушения иммунных механизмов, обеспечивающих

нормальное оплодотворение яйцеклетки, имплантацию, плацентацию, инвазию трофобласта и дальнейшее прогрессирование беременности. Установлено, что синтез аутоиммунных антител связан с рядом патологических состояний при беременности: невынашиванием, антенатальной гибелью плода, венозными тромбозами, тромбоцитопенией, гестозами (в том числе тяжелыми и прогностически неблагоприятными), развитием хронической плацентарной недостаточности.

Целью исследования было провести анализ выявленных аутоиммунных антител у женщин с различной акушерской патологией, поступивших на лечение по квоте в институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта за 2010 год. Всего обследовано 568 женщин на аутоиммунные антитела. Анализ антител проводился с помощью иммуноферментного анализа, использовались наборы фирм Euroimmun (Германия), Bioserv Diagnostics (Германия), DRG (Германия), Orgentec (Германия). И иммунофлуоресцентного анализа, использовались наборы фирмы Euroimmun (Германия). Полученные данные представлены в таблице.

Таким образом, показано, что выявление аутоиммунных антител, таких как антитела к аннексину V, антитела к бета-2 гликопротеину-1, антитела к протромбину, антифосфолипидные антитела, антиовариальные антитела, антитела к стероидпродуцирующим клеткам яичника имеют наибольшее клиническое значение при привычном невынашивании беременности. А выявление антител к эндотелиальным клеткам, имеет наибольшее клиническое значение при хронической плацентарной недостаточности.

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ У БЕРЕМЕННЫХ С АНТИФОСФОЛИПИДНЫМ СИНДРОМОМ

Чугунова А.А.², Селютин А.В.¹, Сельков С.А.¹

¹ *ГУНИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия*

² *Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия*

Введение. В свете современных представлений о роли нарушений функции иммунной системы в развитии антифосфолипидного синдрома (АФС) и обусловленного им невынашивания беременности обсуждается возможность пассивной иммунотерапии путем внутривенного введения Ig (ВВИГ) беременным.

Цель исследования: клинико-лабораторная оценка влияния препаратов ВВИГ на иммунологические показатели у беременных с невынашиванием и АФС.

Материалы и методы исследования. 73 беременных с невынашиванием и АФС разделили на 2 группы, в основной группе (n = 48) помимо стандартной терапии получали препарат из группы ВВИГ — Интратек («Биотест фарма», Германия) в дозе 600 мл (100 мл внутривенно капельно 1 раз в неделю, 3 недели подряд в I и II триместре). Пациентки группы сравнения (n = 25) получали только традиционную противотромботическую терапию. Изучали содержание основных субпопуляций иммунокомпетентных клеток (ИКК) с помощью проточной цитофлуориметрии, в частности количество регуляторных Т-клеток (Treg), подавляющих специфическую пролиферацию и эффекторные функции лимфоцитов. Treg-

клетки определяли по фенотипу CD3⁺CD4⁺CD25^{high}, CD127^{low}.

Результаты. Установлено, что если до лечения уровень Treg у беременных с АФС был снижен по сравнению с нормативным значением, то после курса терапии ВВИГ значение существенно возросло, составив $6,27 \pm 1,32\%$, в то время как у беременных группы сравнения значение было достоверно ($p < 0,05$) меньше $3,42 \pm 0,28\%$. Лечение препаратами ВВИГ способствовало нормализации баланса других субпопуляций ИКК – CD3⁺CD8⁺ (цитотоксических Т-лимфоцитов), CD19⁺ (В-лимфоцитов), CD16⁺/CD56⁺ (NK-клеток).

Наряду с изменением иммунологических показателей у женщин с АФС основной группы снизилась частота развития осложнений беременности (угрозы выкидыша, раннего токсикоза, анемии беременных, плацентарной недостаточности), лучше по сравнению с группой сравнения были показатели перинатальных исходов.

Заключение. Терапия ВВИГ существенно влияет на течение беременности и родов у женщин с АФС, снижая частоту осложнений, что, очевидно, опосредовано иммуномодулирующим и противовоспалительным действием ВВИГ. Установлено, что применение препаратов ВВИГ способствовало нормализации баланса иммунокомпетентных клеток в периферической крови обследованных беременных, в частности продемонстрировано увеличение уровня Treg. Полученные результаты свидетельствуют, что одним из вероятных механизмов нормализующего действия ВВИГ является нормализация уровня Т-регуляторных лимфоцитов у беременных с невынашиванием и АФС.

дованных беременных, в частности продемонстрировано увеличение уровня Treg. Полученные результаты свидетельствуют, что одним из вероятных механизмов нормализующего действия ВВИГ является нормализация уровня Т-регуляторных лимфоцитов у беременных с невынашиванием и АФС.

СУБПОПУЛЯЦИЯ МОНОЦИТОВ CD64⁺CD32⁺CD11b⁺ НОВОРОЖДЕННЫХ

Чудилова Г.А., Нестерова И.В., Ломтатидзе Л.В., Клещенко Е.И., Сторожук С.В. Сапун О.И., Смерчинская Т.В.

ГОУ ВПО КубГМУ Минздравоохранения России, г. Краснодар, Россия

Развитие ответа организма на проникновение инфекции или другие воздействия сопровождается изменениями субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток и/или появлению определенных функциональных молекул на их мембранах. Моноцитам (МОН) с фенотипом CD14⁺CD16⁺ свойственна высокая фагоцитарная и бактерицидная активность. Они секретируют полный спектр провоспалительных цитокинов, экспрессируют в большом количестве FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), ре-

ТАБЛИЦА (К ТЕЗИСАМ ЧЕПАНОВА С.В., СЕЛЬКОВА С.А., см. стр. 443)

Показатель	Количество обследованных	Количество превышающих референтные значения		Количество пациентов с диагнозом привычное невынашивание		Количество пациентов с диагнозом бесплодие 1 ст.		Количество пациентов с диагнозом хроническая плацентарная недостаточность	
		абсолютное	процентное	абсолютное	процентное	абсолютное	процентное	абсолютное	процентное
антитела к бета-2 гликопротеину-1	350	58	16,5%	45	77,6%	3	5,3%	1	1,7%
антитела к протромбину	237	4	1,68%	2	50%	0	0	0	0
антифосфолипидные антитела	419	7	1,7%	4	57%	1	14,3%	0	0
антитела к аннексину v	321	26	8,1%	23	88,5%	0	0	0	0
антиовариальные антитела	286	2	0,7%	2	100%	0	0	0	0
антитела к <i>zona pellucida</i>	229	9	3,9%	5	55%	1	11,1%	0	0
антитела к эндотелиальным клеткам	149	22	14,8%	6	27%	0	0	7	31,8%
антитела к стероидпродуцирующим клеткам яичника	264	26	9,8%	12	46%	2	7,7%	0	0

цепторы для хемотаксических факторов и $\beta 2$ -интегрины (Mac1 – CD11b/CD18). МОН – единственный тип клеток, спонтанно экспрессирующих Fc γ RI (CD64), обладающих наиболее высоким сродством к молекуле IgG и способный связывать его даже в свободном состоянии. Определение фенотипа клеток с применением 3-х и более флуоресцентных меток и комбинации моноклональных антител, позволяют более точно интерпретировать результаты обследования пациентов и судить о течении процессов, происходящих в организме.

Целью исследования явилось изучение иммунофенотипа моноцитов у здоровых доношенных новорожденных. В группы исследования вошли: 10 здоровых новорожденных обоего пола (мальчиков-5, девочек-5, в возрасте 3-4 дней, весом от 2880 до 4120 грамм). Методом проточной цитометрии на CYTOMICS FC500 (Beckman Coulter, США) исследованы маркеры поверхностной цитоплазматической мембраны МОН с использованием комбинации моноклональных антител: CD64⁺FITC/CD32⁺PE/CD11b⁺PC5. Оценивался процент и абсолютные значения МОН, экспрессирующих CD64⁺CD32⁺CD11b⁺ и уровень плотности экспрессируемых молекул по показателю интенсивности флуоресценции (mean fluorescence intensity-mfi). Выявлена субпопуляция CD64⁺CD32⁺CD11b⁺ МОН у 94,2 $\pm$ 2,38% новорожденных, что в абсолютных показателях составило 0,83 $\pm$ 0,12 $\times$ 10⁹. Плотность экспрессии CD64⁺ по mfi в данной субпопуляции МОН у новорожденных (10,65 $\pm$ 0,82). Плотность экспрессии CD32⁺ на МОН в субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD11b⁺ по mfi у новорожденных составила 19,73 $\pm$ 2,68. Плотность экспрессии молекул CD11b⁺ по mfi на МОН у новорожденных составила 62,03 $\pm$ 6,01. Таким образом, МОН здоровых новорожденных имеют необходимые маркеры для миграции клеток в очаги воспаления и осуществления фагоцитарной и цитотоксической функций.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКИХ РЕЦИДИВИРУЮЩИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ МАЛОГО ТАЗА У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ПЕРИОДА

Шибина Л.В., Краснопрошина Л.И., Ордынец И.М., Ганковская О.А.

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

Введение. В структуре гинекологических заболеваний воспалительные процессы женских половых органов (ВЗОМТ) занимают первое место, составляя 60-65% всей гинекологической патологии. Причиной ВЗОМТ в большинстве случаев являются возбудители инфекций, передаваемых половым путем. В большом проценте случаев воспалительные заболевания вызываются хламидиями (*Chlamidia trachomatis* – 30%), гонококками (*N. Gonorrhoea* 40-50%) и микоплазмой (около 40%), уреоплазмой (40-60%) (ВОЗ, 2000). Вызывать ВЗОМТ также способны *Trichomonas vaginalis* (Савельева Г.М., 2006) Мало изученным остается вопрос о роли мукозального иммунитета у женщин, болеющих хроническими рецидивирующими ВЗОМТ.

Цель и задачи. Определить особенности иммунной системы у женщин репродуктивного периода больных ВЗОМТ на системном и локальном уровне для уточнения

роли показателей иммунной системы в патогенетических механизмах ВЗОМТ и для обоснования применения иммунотропной терапии.

Материалы и методы. Определение IgA, IgG, IgM в сыворотке крови методом радиальной иммунодиффузии в геле по С.А. Mancini. Изучение показателей фагоцитарной активности в НСТ-тесте. Оценка субпопуляции лимфоцитов крови CD3, CD4, CD8, CD16, CD72 – с помощью проточной цитофлуориметрии. Определение показателей IgA, IgG, sIgA в вагинальном секрете и слюне проводилось методом радиальной иммунодиффузии в геле по С.А. Mancini. Изучение уровней экспрессии генов TLR2, TLR9 в эпителиальных клетках слизистой цервикального канала с использованием обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Обследованы 105 женщин. Пациенты наблюдались на базе женской консультации ГП № 157, САО Москва. Возраст пациенток варьировал от 19 до 45 лет. Всем пациенткам проводились общеклиническое, клинико – лабораторные, гинекологические исследования, ПЦР-диагностика хламидии, ВПЧ 16, 18, ВПГ II, бак посевы отделяемого влагалища с целью выделения вида условно-патогенных микроорганизмов, определения их количества и чувствительности к антибиотикам. Пациентки были распределены по клиническим группам. Группа 1а – женщины репродуктивного периода больных ВЗОМТ в стадии обострения (56); Группа 1б – женщины репродуктивного периода больных ВЗОМТ в стадии ремиссии (22); Группа 2 – группа контроля (27).

Результаты. Показатели IgG, IgA, IgM слюны были идентичны во всех группах и находились в пределах нормальных показателей. В то время как уровень иммуноглобулинов IgG, IgA, sIgA в вагинальном секрете пациенток с ВЗОМТ показал, что есть прямая взаимосвязь между степенью выраженности воспалительного процесса и повышением данных показателей. Также выявлена взаимосвязь степени повышения показателей TLR9 и степени выраженности воспалительного процесса. Экспрессия TLR9 в клетках слизистой цервикального канала индуцировалась при действии микроорганизмов. В группе женщин с обострением инфекционного процесса экспрессия гена TLR9 была увеличена в 13,7 раз по сравнению с группой женщин без ВЗОМТ. В результате проведенных исследований было показано, что уровень экспрессии гена TLR2 в исследуемых группах статистически значимо не отличались от показателей в группе сравнения. Следует отметить, что данный показатель у женщин с ВЗОМТ в стадии обострения был несколько выше, чем в группе сравнения. Уровень субпопуляций лимфоцитов крови CD3, CD4, CD8, CD16, CD72 во всех исследуемых группах существенно не отличались от показателей нормы, иммуноглобулины крови, фагоцитарная активность лейкоцитов крови во всех группах были в пределах нормы.

Заключение. Исходя из полученных данных можно сделать выводы, что имеется повышение уровня иммуноглобулинов IgG, IgA, sIgA в вагинальном секрете и повышение уровня TLR2, TLR9 у женщин с хронически протекающими ВЗОМТ, более резкое повышение данных показателей при обострении ВЗОМТ по сравнению с женщинами группы контроля, что дает нам основание рекомендовать данные анализы в качестве диагностических тестов и использовать иммунотерапию в составе комплексной терапии ВЗОМТ.