

ИММУНОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИИ

ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПА В-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ И ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ЭНДОМЕТРИОЗЕ

Абдуллаева Л.Х., Анциферова Ю.С.,
Мальшикина А.И., Красильникова А.К.

ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им.
В.Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия

Эндометриоз, являющийся одним из наиболее распространенных гинекологических заболеваний, имеет, по мнению многих авторов, аутоиммунную природу. При эндометриозе, как при любом классическом аутоиммунном заболевании, изменяются функции Т- и В-лимфоцитов, имеются признаки тканевого повреждения, выявлена семейная предрасположенность к развитию заболевания и высокая частота сочетаемости с другими аутоиммунными заболеваниями. Ранее было показано, что у пациенток с эндометриозом в сыворотке крови и перитонеальной жидкости повышено содержание аутоантител различной специфичности, что может лежать в основе механизмов формирования очагов эндометриоза, а также приводить к развитию бесплодия у пациенток с эндометриозом. В то же время клеточные основы формирования аутоиммунных нарушений при этой патологии остаются практически не изученными.

Целью нашей работы было выявить особенности содержания различных популяций В-лимфоцитов (наивных В-лимфоцитов, В-клеток памяти, регуляторных В-лимфоцитов и плазматических клеток) в периферической крови и перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом различной степени тяжести для уточнения характера регуляции реакций гуморального звена иммунитета при данном заболевании. Было проведено обследование 43 пациенток, поступивших на оперативное лечение по поводу бесплодия в гинекологическую клинику (основная группа). У 28 женщин при проведении лапароскопии был диагностирован эндометриоз I-II стадии, у 15 женщин - эндометриоз III-IV стадии. 9 здоровых фертильных женщин, поступивших на хирургическую стерилизацию, составили контрольную группу. Материалом для исследования служила периферическая кровь и перитонеальная жидкость. Иммунологическое исследование проводилось до оперативного лечения. Выделение обогащенной популяции мононуклеарных клеток крови и перитонеальной жидкости осуществляли стандартным методом скоростного центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина. Методом проточной цитометрии оценивали общее содержание CD20+ и CD19+ лимфоцитов, в популяции CD19+ лимфоцитов определяли относительное содержание CD38+CD20-

(плазматические клетки), CD27+ (В-клетки памяти), CD27- (наивные В-лимфоциты) IL-10+ (регуляторные В-лимфоциты) клеток. Достоверных изменений в содержании общего пула В-лимфоцитов как в периферической крови, так и в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом по сравнению с контрольной группой нами выявлено не было. В то же время у пациенток с эндометриозом вне зависимости от стадии заболевания в периферической крови и перитонеальной жидкости было выявлено повышенное содержание плазматических клеток и сниженный уровень регуляторных В-лимфоцитов. Следует отметить, что увеличение циркулирующего пула плазматических клеток в максимальной степени было выражено в группе женщин с эндометриозом I-II стадии. В перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом отмечалось достоверное снижение количества В-клеток памяти и увеличение уровня наивных В-лимфоцитов, причем выраженность этих изменений прямо коррелировала со степенью тяжести эндометриоза. Таким образом, для всех пациенток с эндометриозом было характерно высокое содержание в крови и перитонеальной жидкости плазматических клеток и низкий уровень регуляторных В-лимфоцитов или В10 клеток. Как известно, В10 клетки участвуют в негативной регуляции иммунного ответа за счет продукции противовоспалительного цитокина IL-10. Показано, что снижение их активности ассоциировано с развитием целого ряда аутоиммунных заболеваний, таких как ревматоидный артрит, СКВ и др. По-видимому, выявленное нами угнетение активности В10 лимфоцитов может приводить к несбалансированной активации реакций гуморального звена иммунитета, повышению уровня плазматических клеток и усиленной выработке антител, в том числе и аутоантител у пациенток с эндометриозом. Существует гипотеза, что усиленная продукция аутоантител является одним из основных механизмов развития бесплодия при эндометриозе, особенно при «малых» формах эндометриоза. Наши данные о повышении содержания плазматических клеток в крови и перитонеальной жидкости, которое максимально выражено у пациенток с эндометриозом I-II стадии, хорошо согласуется с этим предположением. Выявленное нами снижение уровня В-клеток памяти в перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом, свидетельствует о нарушении процессов дифференцировки В-лимфоцитов на локальном уровне. Все эти изменения могут приводить к усилению аутоиммунных реакций как на системном, так и на локальном уровне при эндометриозе.

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ПОВЕРХНОСТНЫХ МАРКЕРОВ НК-КЛЕТОК ПРИ ИХ ТРАНСМИГРАЦИИ ЧЕРЕЗ КЛЕТКИ ТРОФОБЛАСТА ЛИНИИ JEG-3 В ПРИСУТСТВИИ ЦИТОКИНОВ И ФАКТОРОВ РОСТА

Баженков Д.О., Вязьмина Л.П., Огорокова Л.С.,
Соколов Д.И., Сельков С.А.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», лаборатория иммунологии, Санкт-Петербург, Россия

Актуальность проблемы: Развитие плаценты во многом определяется взаимодействием клеток трофобласта и натуральных киллеров (НК-клетки). Так трофобласт секретирует хемокины и экспрессирует лиганды (CD54, CD106) к адгезионным рецепторам НК-клеток (CD18, CD11a, CD11b, CD29, CD49d). При наступлении беременности НК-клетки аккумулируются вокруг клеток трофобласта, принимая участие в регуляции пролиферации, миграции и инвазии трофобласта за счет секреции цитокинов и ростовых факторов. При физиологической беременности трофобласт выполняет барьерную функцию, предотвращая миграцию лейкоцитов матери в плаценту. При таких патологиях беременности, как преэклампсия реализуется воспалительная реакция, которая сопровождается мононуклеарной инфильтрацией ворсин хориона. В настоящее время недостаточно данных о механизмах, лежащих в основе нарушения барьерных функций трофобласта и трансмиграции НК-клеток через трофобласт в плаценту и роли цитокинов и ростовых факторов в этих процессах.

Цель работы: Изучить трансмиграционную активность НК-клеток через монослой клеток трофобласта линии JEG-3. Сравнить экспрессию поверхностных молекул НК-клеток (CD11a, CD11b, CD11c, CD18) до и после трансмиграции через монослой клеток трофобласта в присутствии цитокинов (TNF α , IFN γ , TGF β) и факторов роста (GM-CSF, PLGF, bFGF).

Материалы и методы: Клетки трофобласта линии JEG-3 вносили в верхнюю камеру вставки с поликарбонатным фильтром (размер пор 8 мкм) для 24-луночных планшетов, инкубировали 24 часа. Затем в верхнюю камеру вносили НК-клетки линии NK-92mi. В нижнюю камеру вносили цитокины: GM-CSF (100 Е/мл), bFGF (10 Е/мл), PLGF (5 Е/мл), TNF α (400 Е/мл), IFN γ (400 Е/мл), TGF β (5 Е/мл). Инкубировали 24 часа. Затем НК-клетки из нижней и верхней камеры обрабатывали антителами против CD45, CD11a, CD11b, CD11c, CD18. Подсчет мигрировавших в нижнюю камеру НК-клеток измеряли на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (BD, США).

Результаты: После спонтанной трансмиграции через клетки трофобласта, экспрессия CD11a, CD11c, CD11b, CD18 НК-клетками снижалась. Установлено, что IFN γ увеличивал число мигрировавших НК-клеток через монослой клеток трофобласта в 1,2 раза по сравнению со спонтанным уровнем их миграции. В этом случае НК-клетки обладали повышенной экспрессией CD11a, CD11b, CD18 в верхней камере, а также повышенной экспрессией CD11b, CD18 и пониженной экспрессией CD11a в нижней камере по сравнению со спонтанным уровнем. При этом экспрессия НК-клетками CD11a, CD11b, CD18 в нижней камере была ниже, чем в верхней. TNF α увеличивал количество мигрировавших НК-клеток через монослой клеток трофобласта в 2,9 раза по сравнению со спонтанным уровнем их миграции.

В этом случае НК-клетки обладали повышенной экспрессией CD11a и CD18 в верхней камере по сравнению со спонтанным уровнем. TGF β увеличивал количество мигрировавших НК-клеток через монослой клеток трофобласта в 3,4 раза по сравнению со спонтанным уровнем их миграции. В этом случае экспрессия НК-клетками CD11b в верхней камере была ниже, а в нижней камере экспрессия CD11b была выше по сравнению со спонтанным уровнем. При этом экспрессия НК-клетками CD11b в нижней камере была ниже, чем в верхней. Установлено, что FGF увеличивал количество мигрировавших НК-клеток через монослой клеток трофобласта в 1,6 раза по сравнению со спонтанным уровнем их миграции. В присутствии bFGF экспрессия НК-клетками CD11a, CD11b, CD11c в верхней камере была ниже по сравнению со спонтанным уровнем. GM-CSF увеличивал количество мигрировавших клеток в 2 раза. В этом случае экспрессия НК-клетками CD11b, CD11c, CD18 в верхней камере была ниже по сравнению со спонтанным уровнем. PLGF увеличивал количество мигрировавших клеток через монослой клеток трофобласта в 1,2 раза. При этом экспрессия НК-клетками CD11a и CD18 в нижней камере была ниже, чем в верхней. В присутствии PLGF экспрессия CD11a, CD11b в верхней камере была ниже по сравнению со спонтанным уровнем.

Выводы: Цитокины и ростовые факторы стимулируют трансмиграционную активность НК-клеток через монослой трофобласта. При этом изменяется экспрессия их поверхностных рецепторов. Поэтому в условиях воспаления при преэклампсии проанализированные цитокины могут выступать в качестве дополнительных хемоаттрактантов, опосредующих миграцию НК-клеток в плаценту.

ИНФЕКЦИОННЫЙ ФАКТОР ПРИВЫЧНОГО НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Батрак Н.В., Малышкина А.И., Сотникова Н.Ю.

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» МЗ РФ, Иваново, Россия

Введение. Среди причин самопроизвольного прерывания беременности лидирующее место занимают инфекционные заболевания. Гормональные и иммунологические изменения в организме женщины во время гестации способствуют проникновению патогена в ткань плаценты, персистенции урогенитальной инфекции, что неблагоприятно влияет на течение и исход беременности.

Цель исследования – оценка инфекционного статуса беременных женщин с угрожающим выкидышем в первом триместре гестации и привычным невынашиванием в анамнезе. **Материалы и методы.** Основную группу составили 88 женщин с угрожающим выкидышем в первом триместре и привычным невынашиванием беременности ранних сроков. Контрольную группу составили 36 беременных женщин без признаков угрозы прерывания беременности на момент обследования и привычного невынашивания в анамнезе. Определение уровня иммуноглобулинов классов IgA, IgM, IgG к Herpes simplex virus, Cytomegalovirus, Toxoplasma gondii, Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum, Chlamydia trachomatis в периферической крови производилось методом твердофазного иммуноферментного анализа. **Результаты.** Нами выявлено, что у женщин основной группы по сравнению с контрольной достоверно чаще определялись маркеры острого инфицирования (64,8% и 44,4%; ОР 1,29; 95% ДИ 1,0-

ТАБЛИЦА 1 (К ТЕЗИСАМ БАТРАК Н.В. И ДР.) «ИНФЕКЦИОННЫЙ ФАКТОР...»

Параметр характеристики	Основная группа	Контрольная группа	p
Маркеры острого инфицирования	57 (64,8%)	16 (44,4%)	0,039
Маркеры острого бактериального инфицирования	31 (35,2%)	8 (22,2%)	>0,05
Chlamydia trachomatis IgM	10 (11%)	5 (13,9%)	>0,05
Ureaplasma urealyticum IgA	11 (12,5%)	2 (5,6%)	>0,05
Mycoplasma hominis IgA	13 (14,8%)	1 (2,8%)	0,023
Toxoplasma gondii IgM	4 (4,8%)	0 (0%)	0,028
Маркеры острого вирусного инфицирования	35 (39,8%)	12 (33,3%)	>0,05
Herpes simplex virus 1,2 IgM	24 (27,3%)	11 (30,6%)	>0,05
Cytomegalovirus IgM	18 (20,5%)	6 (16,7%)	>0,05
Маркеры острой бактериальной микст-инфекции	6 (6,8%)	0 (0%)	0,009

1,65, $p=0,039$), IgA к *Mycoplasma hominis* (14,8% и 2,8%; ОР 1,36; 95% ДИ 1,12-1,65, $p=0,023$) и *Toxoplasma gondii* (4,8% и 0%; ОР 1,43; 95% ДИ 1,27-1,61, $p=0,028$). При этом у женщин с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием достоверно чаще по сравнению с контрольной группой выявлялись маркеры острой бактериальной микст-инфекции (6,8% и 0%; ОР 1,44; 95% ДИ 1,28-1,62, $p=0,009$). Результаты исследования представлены в таблице 1.

Иммуноглобулины класса G к изучаемым возбудителям достоверно чаще определялись у женщин основной группы (97,7% и 77,8%; ОР 3,77; 95% ДИ 1,09-13,1, $p<0,001$). Маркеры перенесенной бактериальной (76,1% и 66,7%), микоплазменной (28,7% и 17,1%), герпетической (94,9% и 83,3%) инфекции в основной группе женщин определялись чаще по сравнению с контрольной, однако, достоверных отличий изучаемых показателей выявлено не было. Нами выявлено, что у женщин основной группы по сравнению с контрольной достоверно чаще наблюдались маркеры перенесенной бактериальной микст-инфекции (47,7% и 27,8%; ОР 1,26; 95% ДИ 1,02-1,58, $p<0,05$). При этом достоверных отличий частоты встречаемости перенесенной бактериальной моноинфекции, вирусной моно- и микстинфекции, вирусно-бактериальной инфекции в изучаемых группах выявлено не было. **Заключение.** Таким образом, при обследовании в первом триместре гестации у женщин с привычным невынашиванием достоверно чаще определялись маркеры острого инфицирования, в частности, острой бактериальной микст-инфекции, IgA к *Mycoplasma hominis*, IgM к *Toxoplasma gondii*. Также в основной группе достоверно чаще выявлялись маркеры перенесенной инфекции, в частности, бактериальной микст-инфекции. Полученные результаты свидетельствуют об урогенитальной инфекции при беременности как об основной причине угрожающего выкидыша у женщин с привычным невынашиванием в анамнезе.

ХАРАКТЕРИСТИКА ФАКТОРОВ АПОПТОЗА У ЖЕНЩИН С УГРОЖАЮЩИМ ВЫКИДЫШЕМ И ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Батрак Н.В., Малышкина А.И., Сотникова Н.Ю.

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» МЗ РФ, Иваново, Россия

Одной из важнейших проблем привычного невынашивания беременности является изучение механизмов

иммунологической регуляции фетоплацентарного взаимодействия. При этом центральное место в обеспечении процессов имплантации, инвазии трофобласта, трансформации спиральных артерий, неспецифической защиты от патогенных факторов занимает апоптоз. **Цель работы** – изучение особенностей факторов апоптоза у женщин с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием в анамнезе. Материалы и методы. Основную группу составили 50 женщин с клиникой угрозы прерывания беременности в ранние сроки и привычным невынашиванием. Контрольную группу составили 30 женщин без признаков угрозы прерывания беременности и привычного невынашивания. Мембранную экспрессию CD178 моноцитами определяли с помощью моноклональных антител методом проточной цитофлюориметрии на приборе FACScanto (Becton Dickinson, USA). Содержание LIGHT, DcR3 в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа на микропланшетном ридере MultiscanEXLabsystems (Finland). **Результаты.** При иммунологическом обследовании беременных исследуемых групп в сроке 5-12 недель гестации была проведена оценка мембранной экспрессии молекулы CD178 моноцитами периферической венозной крови. Нами выявлено, что медиана мембранной экспрессии CD178 моноцитами у женщин с угрожающим выкидышем ранних сроков и привычным невынашиванием в анамнезе была достоверно ниже, чем в группе контроля (33,1% (27,7-38%) и 61,25% (51,5-66,25%), $p<0,001$). При оценке содержания DcR3 в сыворотке крови, учитывая предел чувствительности тест-системы 0,3 пг/мл, была установлена достоверно большая частота встречаемости положительных результатов данного показателя в контрольной группе женщин (16,9% и 41,4%, $p=0,018$), при этом медиана изучаемого показателя имела тенденцию к повышению в контрольной группе женщин по сравнению с данным параметром основной группы (1,518 пг/мл (0,579-9,829 пг/мл) и 3,837 пг/мл (0,703-6,886 пг/мл), $p>0,05$). При оценке содержания LIGHT в сыворотке крови, учитывая предел чувствительности тест-системы 15 пг/мл, установлена тенденция к увеличению частоты встречаемости положительных результатов изучаемого показателя в контрольной группе женщин (6,8% и 17,2%, $p>0,05$), при этом наблюдалась также тенденция к увеличению медианы данного показателя в контрольной группе по сравнению с основной группой (106,335 пг/мл (40,4-288,9 пг/мл) и 123,8 пг/мл (103,3-185,7 пг/мл), $p>0,05$). Результаты

ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА МЕМБРАННОЙ ЭКСПРЕССИИ CD178 МОНОЦИТАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ, DCR3 И LIGHT В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ЖЕНЩИН С УГРОЗОЙ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ РАННИХ СРОКОВ И ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ В АНАМНЕЗЕ (К ТЕЗИСАМ БАТРАК Н.В. И ДР.) «ХАРАКТЕРИСТИКА ФАКТОРОВ...»

Параметр характеристики $\Sigma = 80$	Контрольная группа (n=30)	Основная группа (n=50)	p
CD178+ моноцитов, %	61,25 (51,5-66,25)	33,1 (27,7-38)	<0,001
DcR3 $\geq$ 0,3 пг/мл	12 (41,4%)	10 (16,9%)	0,018
DcR3, пг/мл	3,837 (0,703-6,886)	1,518 (0,579-9,829)	>0,05
LIGHT $\geq$ 15 пг/мл	5 (17,2%)	4 (6,8%)	>0,05
LIGHT, пг/мл	123,8 (103,3-185,7)	106,335 (40,4-288,9)	>0,05

иммунологического исследования представлены в таблице 1.

Снижение экспрессии CD178 моноцитами при угрозе прерывания ранних сроков может являться одним из факторов, приводящим к нарушению механизмов апоптоза при беременности, что может обуславливать развитие угрожающего позднего выкидыша у женщин с привычным невынашиванием в анамнезе. Учитывая роль DcR3 и LIGHT в процессах ангиогенеза и апоптоза, снижение данных показателей в основной группе может свидетельствовать о нарушении фетоплацентарного кровотока и приводить к развитию угрозы прерывания при привычном невынашивании беременности. **Заключение.** Дисбаланс факторов апоптоза в основной группе женщин может явиться механизмом, приводящим к нарушению запрограммированной клеточной гибели, фетоплацентарного кровотока, персистенции бактериальной инфекции, что может обуславливать развитие угрожающего выкидыша у женщин с привычным невынашиванием в анамнезе.

ИЗМЕНЕНИЕ МЕМБРАННОЙ ЭКСПРЕССИИ CD16 МОЛЕКУЛ ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫМИ МАКРОФАГАМИ, ЛОКАЛИЗОВАННЫМИ В НЕПОСРЕДСТВЕННОЙ БЛИЗОСТИ ОТ МИОМАТОЗНОГО УЗЛА, У ПАЦИЕНТОК С БЫСТРОРАСТУЩЕЙ ЛЕЙОМИОМОЙ МАТКИ

Воронин Д.Н., Кирсанов А.Н., Малышкина А.И., Анциферова Ю.С.,

ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия

Исследования последних лет свидетельствуют о важной роли иммунных нарушений в механизмах развития и роста лейомиомы, доброкачественной гормонально-опосредованной опухоли, которая встречается у 30% всех женщин репродуктивного возраста. Лейомиома развивается в мышечной стенке матки в результате трансформации гладкомышечных клеток миометрия. Несмотря на частое присутствие нескольких миоматозных узлов в одной матке, их развитие происходит не за счет метастазирования, и эта опухоль очень редко подвергается злокачественному перерождению. Механизмы доброкачественного роста лейомиомы до конца не установлены. Существует предположение о том, что патогенез миомы матки связан с хроническим иммунным воспалением. Было показано, что эндометрий, расположенный в непосредственной близости от миоматозного узла, характери-

зуется усиленной инфильтрацией макрофагами. Однако характер функционирования эндометриальных макрофагов при лейомиоме остается практически не изученным. Известно, что направленность участия моноцитов/макрофагов в регуляции воспалительных реакций во многом определяется особенностями мембранной экспрессии CD16 молекул. Так, усиление экспрессии CD16 молекул в пуле моноцитов отмечается при целом ряде патологических состояний, характеризующихся развитием острого или хронического воспаления. Целью нашего исследования было провести сравнительную оценку содержания макрофагов с различной экспрессией CD16 молекул в эндометрии, локализованном в непосредственной близости от миоматозного узла и вне узла, для уточнения роли макрофагов в механизмах быстрого роста лейомиомы. Было проведено обследование биоптатов эндометриальной ткани 19 пациенток с быстрорастущей лейомиомой матки и 10 здоровых фертильных женщин (контрольная группа). Выделение популяции мононуклеарных клеток (МНК) из эндометрия проводили стандартным безферментативным методом с последующим центрифугированием в градиенте плотности фиколл-урографина. Относительное содержание CD14++CD16-, CD14++CD16+ и CD14+CD16++ клеток в макрофагальном гейте оценивали методом проточной цитометрии на приборе FACSCanto II (Becton Dickinson, USA). Было установлено, что в ткани эндометрия, локализованного вне опухолевого узла, уровень «классических» CD14++CD16- макрофагов практически не отличается от аналогичного показателя у здоровых фертильных женщин. В то же время в эндометрии, расположенном в непосредственной близости от миоматозного узла, содержание CD14++CD16- макрофагов было снижено по сравнению с эндометрием здоровых женщин, а количество макрофагов, экспрессирующих на своей мембране CD16 молекулы - напротив, повышено. При этом максимально выраженное увеличение количества CD16-позитивных макрофагов наблюдалось нами в популяции так называемых «промежуточных» макрофагов, имеющих фенотип CD14++CD16+, тогда как повышение пула «неклассических» CD14+CD16++ макрофагов было выражено в меньшей степени. Индивидуальный анализ изменения содержания различных популяций макрофагов, локализованных в непосредственной близости от опухолевого узла и вне его, показал, что в ткани эндометрия, находящегося в непосредственной близости от миоматозного узла, в 74% случаев отмечалось

более высокое содержание CD14++CD16+ макрофагов по сравнению с эндометрием, локализованным вне узла. Таким образом, отличительной чертой пула макрофагов, инфильтрирующих ткань эндометрия, расположенного в непосредственной близости от миоматозного узла, являлось высокое содержание CD14++CD16+ клеток. Известно, что эта популяция макрофагов играет важную роль в развитии воспаления за счет усиленной продукции провоспалительных цитокинов (IL-1 β и TNF α). Эти клетки также обладают высокой способностью к антигенной презентации и активации Т-клеток. По-видимому, увеличение содержания этого пула макрофагов в эндометрии, находящемся в непосредственной близости от миоматозного узла, может вести к формированию локального воспалительного микроокружения, что способствует развитию и росту опухоли.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-05042.

ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК В СИСТЕМЕ ТРОФОБЛАСТ – ЕСТЕСТВЕННЫЙ КИЛЛЕР

**Вязьмина Л.П., Баженов Д.О., Окорокова Л.С.,
Белякова К.Л., Сельков С.А., Соколов Д.И.**

*ФГБНУ НИИ акушерства, гинекологии
и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия*

При физиологической беременности в зоне маточно-плацентарного контакта преобладает продукция цитокинов, характерных для Th2-зависимого иммунного ответа (IL-4, IL-10). В этих условиях естественные киллеры (NK-клетки) регулируют функции трофобласта, ограничивая его инвазию за счет цитотоксической активности. Первичным этапом взаимодействия естественных киллеров и трофобласта является формирование иммунных синапсов с участием поверхностных молекул этих клеток. При патологических беременности нарушается инвазия трофобласта в эндометрий; в плаценте и децидуальной оболочке развивается воспалительная реакция, усиливается продукция цитокинов, характерных для Th1-иммунного ответа (TNF α , IL-1 β), в хорионе отмечают мононуклеарную инфильтрацию и отложение фибриноида. Изменение фенотипа естественных киллеров а также изменение способности трофобласта привлекать NK-клетки в присутствии различных цитокинов недостаточно изучены.

Целью исследования явилось изучение влияния цитокинов на фенотип NK-клеток линии NK-92MI и адгезивность клеток трофобласта линии JEG-3.

Для изучения адгезивности трофобласта клетки линии JEG-3 инкубировали 24 часа в присутствии цитокинов: TNF α (10 ЕД/мл, 50 ЕД/мл, 400 ЕД/мл), IL-1 β (10 ЕД/мл, 100 ЕД/мл, 1000 ЕД/мл), IL-4 (1 ЕД/мл, 10 ЕД/мл, 50 ЕД/мл), IL-6 (1 ЕД/мл, 2,5 ЕД/мл, 4 ЕД/мл), IL-10 (50 ЕД/мл, 100 ЕД/мл, 200 ЕД/мл). Затем монослой трофобласта отмывали раствором Хенкса, вносили интактные NK-клетки линии NK-92MI и инкубировали в течение 1 часа. После инкубации монослой трофобласта отмывали 4 раза раствором Хенкса от неадгезировавших NK-клеток. Затем клетки дезинтегрировали раствором версена и полученную суспензию обрабатывали моноклональными антителами против CD45. Для изучения влияния цитокинов на фенотип естественных киллеров клетки линии NK-92MI активировали цитокинами 24 часа. Затем клетки отмывали раствором Хенкса и обрабатывали

моноклональными антителами против CD11a, CD11b, CD18, CD58, CD54 (BD, USA). Анализ флуоресценции проводили на проточном цитофлюориметре FACS Canto II (BD, USA). Статистический анализ проводили с применением t-критерия Стьюдента.

Обработка клеток трофобласта TNF α в концентрациях 50 ЕД/мл и 400 ЕД/мл увеличивала количество адгезировавших интактных NK-клеток по сравнению с количеством клеток, адгезировавших к интактному трофобласту. Цитокин IL-1 β в концентрации 100 ЕД/мл и цитокин IL-4 в концентрациях 10 ЕД/мл, 50 ЕД/мл обладали аналогичным действием. Обработка клеток трофобласта IL-6 и IL-10 не изменяла степень адгезии интактных NK-клеток.

Цитокин TNF α повышал экспрессию CD11b, CD58, CD54 клетками линии NK-92MI по сравнению со спонтанным уровнем экспрессии этих молекул. Цитокин IL-1 β снижал экспрессию клетками линии NK-92MI молекул CD11a, CD58, но повышал экспрессию ими CD54 по сравнению со спонтанным уровнем.

Таким образом, повышенная адгезивность трофобласта в отношении NK-клеток на фоне повышенной продукции клетками микроокружения IL-4 при физиологической беременности может лежать в основе механизмов, ограничивающих инвазию трофобласта. В условиях повышенной продукции TNF α и IL-1 β при воспалении в зоне маточно-плацентарного контакта клетки трофобласта могут определять повышенную адгезию интактных NK-клеток. С другой стороны, в случае повышенной продукции TNF α и IL-1 β в зоне маточно-плацентарного контакта интенсификация воспалительного процесса может быть связана с повышенной экспрессией адгезионных молекул естественными киллерами, определяющей их адгезию и миграцию в зону воспаления как через сосуды децидуальной оболочки, так и благодаря взаимодействию NK-клеток с активированными клетками трофобласта.

КОРРЕКЦИЯ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИТЕ С ПОМОЩЬЮ МАГНИТОИНФРАКРАСНОЙ ЛАЗЕРНОЙ ТЕРАПИИ

Гавриш С.А., Конопля А.А., Конопля А.И., Рыбников В.Н.

*Курский государственный медицинский университет,
Курск, Россия*

В настоящее время хронический эндометрит рассматривается как сложный волнообразный воспалительный процесс, при котором происходит активация широкого спектра факторов, индуцирующих каскадные повреждения с вовлечением различных структур. Особенности течения данного заболевания зависят не только от патогенности микроорганизмов, но и от исходного состояния иммунитета больного, так как срыв эффективной защиты способствует длительной персистенции микробного агента.

Целью исследования явилось установление при хроническом эндометрите характера иммунных нарушений и изучение возможностей их коррекции с применением в стандартном лечении магнитоинфракрасной лазерной терапии.

Под постоянным наблюдением в гинекологическом отделении Курского городского родильного дома находились 30 пациенток репродуктивного возраста (18-35 лет), страдающие хроническим эндометритом в стадии не-

полной ремиссии. Женщины были разделены на две равные группы. Пациентки первой получали традиционное лечение (антибактериальные с учетом чувствительности возбудителя, антимикотические, противовирусные, нестероидные противовоспалительные препараты, пробиотики, средства направленные на восстановление микрофлоры влагалища). Вторая часть больных дополнительно получала курс физиолечения длительностью 10 дней аппаратом магнитоинфракрасной лазерной терапии Рикта 4/04. Воздействие на область проекции матки, придатков, бедренных сосудов, центр промежности поочередно по схеме лечения воспалительных заболеваний органов малого таза. В первый и второй день использовалась частота излучения 5 Гц и 50 Гц с чередованием в последующие дни. Интравагинальная насадка из комплекта «КОН-Г» использовалась с третьего по десятый день лечения с частотой излучения 1000 Гц. Контрольную группу составили 10 здоровых доноров добровольцев. Содержание C3, C5, C5a, C4-компонентов комплемента, C1-ингибитора, Ig M, Ig G, Ig A, s IgA, TNF, IL-1 β , IL-8, IL-18, G-CSF, IFN γ , IL-4, IL-10 определяли в плазме крови и в вагинально-цервикальном секрете женщин с помощью набора реагентов ProCon (ООО «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург) на начало и окончание лечения. Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью непараметрических методов; статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

У пациенток с хроническим эндометритом, по сравнению со здоровыми донорами, в плазме крови установлено повышение концентрации IFN γ , G-CSF, провоспалительных (TNF, IL-1 β , IL-8, IL-18) и противовоспалительных (IL-4, IL-10) цитокинов, Ig M, при снижении содержания Ig классов A и G. Кроме этого, выявлена активация системы комплемента (повышение C3, C4, C5 и C5a — компонентов и компенсаторно C1-ингибитора). На местном уровне оказались повышенными концентрации TNF, IL-8, C3, C4 — компоненты комплемента и снижен уровень IL-4, IL-10, C1-ингибитора и s IgA.

После проведенного стандартного лечения выявлено снижение на системном уровне, но не до показателей здоровых доноров, концентрации TNF, IL-1 β , IL-8, IL-18, IFN γ , Ig M, компонентов системы комплемента, повышение IL-4, IL-10, C1 — ингибитора, Ig G. В вагинально-цервикальном секрете пациенток установлено, аналогично тенденции по показателям плазмы крови, снижение концентрации провоспалительных цитокинов, C3, C4 — компонентов и регуляторного ингибитора комплемента, увеличение IL-4, IL-10 и s IgA.

Включение в стандартную фармакотерапию курса магнитоинфракрасного лазерного излучения позволило намного повысить ее эффективность, т.к. привело к нормализации 70% измененных лабораторных показателей, как на системном, так и на локальном уровнях.

Полученные результаты, свидетельствуют о том, что проводимая фармакотерапия у пациенток с хроническим эндометритом не оказывает адекватного корригирующего влияния на нарушенные параметры иммунного статуса и не уменьшает число рецидивов заболевания. Использование в стандартном лечении курса магнитоинфракрасной лазерной терапии позволяет повысить эффективность лечения и улучшить качество жизни таких пациенток.

УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ МЕМБРАННЫХ АНТИГЕНОВ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ В ПЕРВОМ ТРИМЕСТРЕ БЕРЕМЕННОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЕЕ ИСХОДА

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

ФГБУ «Уральский НИИ охраны материнства и младенчества» МЗ РФ, Екатеринбург, Россия

Оценка уровня экспрессии мембранных рецепторов с использованием технологии иммунофенотипирования имеет большое значение для определения дополнительных предикторов реализации гестационных осложнений и невынашивания беременности.

Цель: определение особенностей экспрессии мембранных антигенов лимфоцитов периферической крови в первом триместре беременности в зависимости от ее исхода.

Материал и методы. Проведено иммунологическое обследование 210 женщин в первом триместре прогрессирующей беременности, а также исходов гестации. В ходе ретроспективного исследования в зависимости от характера течения беременности сформированы следующие группы: 1-я основная группа — 60 женщин, беременность которых осложнилась субкомпенсированной плацентарной недостаточностью (ПН) и закончилась рождением живых детей; 2-я основная группа — 38 женщин, беременность которых закончилась прерыванием в первом триместре по типу неразвивающейся беременности или раннего выкидыша. Группу сравнения (3-ю) составили 112 женщин, беременность которых протекала без признаков плацентарной недостаточности и закончилась рождением живых доношенных детей. Иммунофенотипирование лимфоцитов 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 6.0», проверку статистических гипотез осуществляли с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Уровень значимости различий (p) с учетом поправки Бонферрони принимали равным 0,025; при $0,05 < p < 0,025$ констатировали тенденцию к изменению параметров.

Основные результаты. Установлено, что у женщин основных групп уже в ранние сроки беременности, до манифестации патологических состояний имеет место нарушение клеточно-опосредованных механизмов иммунологической регуляции гестационного процесса. В группе женщин с ранними репродуктивными потерями зарегистрировано уменьшение относительного содержания Т-хелперов ($p2-3=0,015$). При оценке уровня экспрессии мембранных активационных антигенов в ранние сроки беременности, осложнившейся впоследствии субкомпенсированной ПН, выявлено уменьшение относительного, и абсолютного содержания CD3+-лимфоцитов, экспрессирующих рецептор трансферрина CD71 ($p1-3=0,007$ и $p1-3<0,001$ соответственно), снижение количества Т-лимфоцитов, экспрессирующих маркер готовности к апоптозу CD95 ($p1-3=0,017$), снижение доли и общей численности CD25+-лимфоцитов ($p1-3=0,02$ и $p1-3=0,022$), тенденция к уменьшению как относительного, так и абсолютного содержания регуляторных Т-клеток ($CD4+CD25^{high}Foxp3+$, $p1-3=0,034$ в обоих случаях). Выявленное в результате проведенных исследований снижение количества CD25- и CD71-позитивных лимфоцитов, сопровождающееся уменьшением содержа-

ния Т-клеток, потенциально способных вступить в апоптоз, в ранние сроки беременности, осложненной впоследствии среднетяжелой формой ПН, свидетельствует о нарушении основных механизмов поддержания гомеостаза: процессов активации иммунокомпетентных клеток и элиминации потенциально опасных эффекторных клонов лимфоцитов. Определение уровня экспрессии мембраносвязанных маркеров межклеточного взаимодействия показало, что, несмотря на то, что при беременности, прервавшейся в I триместре, процент CD54⁺-лимфоцитов не отличался от аналогичного показателя в группе сравнения, общая численность этой популяции клеток была практически в 1,5 раза выше ($p_{2-3}=0,014$). Выявленная в этой группе избыточная экспрессия мембранной молекулы адгезии ICAM-1 свидетельствует об усилении сродства лейкоцитов с эндотелием и является индикатором нарушения информационного обмена на уровне межклеточной коммуникации.

Заключение. Таким образом, ранние сроки беременности, осложненной впоследствии среднетяжелой формой ПН, характеризуются нарушением процессов активации иммунокомпетентных клеток: угнетением экспрессии маркеров, ассоциированных с позитивной активацией, иммунным распознаванием антигенов плодового происхождения, процессами элиминации эффекторных лимфоцитов и формированием иммунологической толерантности. Прерывание беременности в первом триместре за несколько недель до манифестации ассоциируется с избыточной активацией клеток адаптивного иммунитета, что может повышать риск реализации неблагоприятных клеточно-опосредованных реакций. Работа поддержана Грантом РФФИ и РФФИ-Урал № 13-04-96080.

ГЛИКОДЕЛИН S В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ЭЯКУЛЯТЕ ПРИ ИДИОПАТИЧЕСКОМ БЕСПЛОДИИ

Галимова Э.Ф., Ахмадуллина Г.Х., Булыгин К.В.,
Мочалов К.С., Галимов Ш.Н.

Башкирский государственный медицинский
университет, Уфа, Россия

Перспективным направлением современной репродуктивной медицины является изучение роли и места в возникновении бесплодия неизвестной этиологии различных мультифункциональных белков — регуляторов большинства процессов, сопряженных с зачатием (интенсивности сперматогенеза, иммуногенности сперматозоидов и их пенетрации в яйцеклетку). Речь идет прежде всего о гликоделине S ($\alpha 2$ -микроглобулине фертильности), непосредственно вовлеченном в акт оплодотворения. Гликоделин S обладает выраженной иммуносупрессорной активностью, обеспечивая низкую иммуногенность спермы и локальное подавление иммунного ответа материнского организма на развивающийся эмбрион, а также предотвращает преждевременную капацитацию сперматозоидов. В норме семенная жидкость индуцирует снижение реактивности женской иммунной системы к спермальным аллоантигенам, причем фертильный секрет отличается более сильным ингибиторным потенциалом, нежели спермоплазма бесплодных мужчин.

Обследовано 68 пациентов клиник врт в возрасте 22-41 года, состоящих в бесплодном браке от 1 до 8 лет. Группу сравнения составили 39 фертильных мужчин, имеющих от 1 до 3 здоровых детей. Исследование спермы проводили согласно протоколу ВОЗ (2010). Содержание

гликоделина в сыворотке крови и эякуляте определяли с использованием наборов Glycodelin-ELISA фирмы «Bioserv» (Германия).

Как и для большинства других анализов, у фертильных индивидов обнаружен выраженный градиент гликоделина между изученными биологическими средами. В семенной жидкости уровень этого протеина, необходимого для имплантации и плацентации, более чем в 10000 раз превышал его содержание в сыворотке крови. У бесплодных пациентов содержание гликоделина статистически значимо изменялось только в спермоплазме, где оно составило 40% от контрольных величин. Оптимальным для процесса нормального оплодотворения считается содержание гликоделина в спермоплазме в пределах 50-150 мкг/мл. При более детальном анализе корреляций гликоделина с другими метаболитами семенной жидкости у инфертильных пациентов были установлены сильные отрицательные взаимосвязи с холестерином и альбумином. В то же время гликоделин не был связан с концентрацией гамет и другими качественными и количественными параметрами спермограммы, за исключением объема.

Гликоделин S реализует свои эффекты благодаря контролю агрегатного состояния мембран сперматозоидов, подавляя выход из них холестерина. Удаление холестерина приводит к росту отношения фосфолипиды/холестерин, увеличению подвижности интегральных белков и активности функциональных рецепторов, модификации микрорельефа сперматозоидов и, в конечном счете, повышению текучести и проницаемости мембран, запускающая капацитацию. Акцептором стерина является альбумин, который присутствует в высокой концентрации в матке и фолликулярной жидкости, но находится на низком уровне в семенной жидкости. Поэтому взаимоотношения в треугольнике гликоделин — холестерин — альбумин имеют решающее значение для исхода описываемых событий, так как ослабление гликоделинового надзора в цепочке «альбумин — холестерин — вязкость мембран — капацитация» может выступать одним из атрибутов незрелых или «старых» сперматозоидов.

Поскольку одной из канонических функций гликоделина является предотвращение преждевременной капацитации путем контроля скорости альбумин-опосредованного оттока холестерина из мембраны головки сперматозоидов, найденные ассоциации могут отражать один из молекулярных механизмов снижения оплодотворяющей способности эякулята.

Недостаточность гликоделина означает не только псевдокапацитацию, но и проблемы с проникновением в яйцеклетку. Даже если оно происходит на этом фоне, то в большинстве случаев возникают осложнения беременности: формирование функционально неполноценного плодного яйца с первичной плацентарной недостаточностью, ранние спонтанные аборт, рождение детей с грубыми пороками развития и др. Очевидно, развивающийся при инфертильности неясного генеза дефицит гликоделина указывает на сбой системы «свой — чужой», в результате чего сперматозоид может восприниматься яйцеклеткой как чужеродная клетка.

Таким образом, гликоделин семенной плазмы является чувствительным маркером фертильности и его определение может быть использовано в качестве дополнительного теста для раннего выявления патологии эякулята при идиопатическом бесплодии еще до изменения рутинных параметров спермограммы.

РОЛЬ АНТИСПЕРМАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ В НАРУШЕНИИ ФУНКЦИЙ СПЕРМАТОЗОИДОВ

Даниелян Т.Ю., Годовалов А.П., Быкова Л.П., Смирнов М.В.

ГБОУ ВПО Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера Минздрава России, Пермь, Россия

За последние десятилетия отмечается уменьшение концентрации и подвижности сперматозоидов (Сагг, 2013). Одним из факторов, влияющих на сперматозоиды, могут быть эффекторные молекулы иммунной системы, например антитела. К сожалению, не удалось выявить ведущий антиген, к которому формируются антиспермальные антитела, а в эксперименте на животных показана роль комплекса антигенов в стимуляции антителообразования (Cui et al., 2015). Причины появления этих антител, а также механизмы их негативного влияния на сперматозоиды изучены недостаточно.

Цель исследования — изучить характеристики сперматозоидов при обнаружении в сперме антиспермальных антител.

Материалы и методы. Проведено исследование образцов спермы от 71 мужчины ($37,7 \pm 0,7$ лет). Взятие материала и исследование спермы проводили согласно стандартизованным методикам, предложенным экспертами ВОЗ (2010). Определение концентрации антиспермальных антител в сперме проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа, согласно инструкции производителя. Все мужчины были разделены на две группы, 1-ю — составили мужчины с наличием антиспермальных антител в сперме, 2-ю (группа сравнения) — мужчины, у которых не были обнаружены антиспермальные антитела в сперме. Статистическую обработку результатов проводили с помощью t-критерия Стьюдента.

Основные результаты. В ходе проведенных исследований было установлено, что у мужчин 1-й группы снижено количество сперматозоидов. Так, число клеток у мужчин 2-й группы составило $91,41 \pm 12,53$ млн/мл, а в 1-й — $47,93 \pm 9,17$ млн/мл ($p < 0,05$). Кроме этого отмечено снижение числа жизнеспособных сперматозоидов до $43,89 \pm 8,60$ млн/мл в 2-й группе — $75,76 \pm 9,43$ млн/мл; $p = 0,05$). При изучении характеристик движения сперматозоидов установлено, что в 1-й группе было статистически значимо меньше клеток с быстрой поступательной двигательной активностью — $9,91 \pm 5,67$ млн/мл (в 2-й группе — $30,15 \pm 4,08$ млн/мл; $p < 0,05$). В 1-й группе была снижена средняя линейная скорость движения сперматозоидов до $10,67 \pm 1,20$ мкм/сек (в 2-й группе $13,57 \pm 0,53$ мкм/сек; $p < 0,05$). Наличие антиспермальных антител в сперме существенно не влияет на морфологию сперматозоидов. У мужчин 1-й группы было больше клеток сперматогенеза — $(0,75 \pm 0,06)\%$, в группе сравнения — $(0,47 \pm 0,07)\%$ ($p < 0,05$).

Одним из факторов репродуктивных неудач является обсемененность спермы микроорганизмами (Weng et al., 2014). Так общее микробное число спермы в 1-й группе мужчин составило $5,33 \pm 0,32 \log_{10}$ числа КОЕ/мл, а во 2-й — $3,96 \pm 0,36 \log_{10}$ числа КОЕ/мл ($p < 0,05$). В 1-й группе были выделены преимущественно представители семейства Enterobacteriaceae (69,3% проб), а в группе сравнения — грамположительные кокки (88,8% проб). Известно, что микроорганизмы имеют уникальные способности к адгезии, в том числе к сперматозоидам, что способствует их проникновению в яйцеклетку, что ведет к нарушению процесса оплодотворения и деления зиготы (Prabha et al.,

2010). При расположении микроорганизмов на клетках человека формируются антитела как к антигенам бактерий, так и к антигенам клеток человека. Таким образом, массивное инфицирование спермы условно-патогенными бактериями, вероятно, способствует увеличению количества антиспермальных антител.

Заключение. Проведенные исследования показали, что антиспермальные антитела нарушают некоторые количественные характеристики сперматозоидов, их двигательную активность. Одной из возможных причин формирования большого количества антиспермальных антител, вероятно, является массивное инфицирование спермы условно-патогенными микроорганизмами.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАТЕПСИНА Д, ПРО- И АНТИВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ (ПВЦ, АВЦ) В ВАГИНАЛЬНЫХ СМЫВАХ ЗДОРОВЫХ И ВПГ-2 ИНФИЦИРОВАННЫХ ЖЕНЩИН

Зайцева Л.Г., Бехало В.А., Киреева И.В., Шапошникова Г.М., Нагурская Е.В.

ФГБУ «ФНИЦЭМ им Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Развитие иммунного ответа на слизистых репродуктивного тракта находится под строгим гормональным контролем. Низкие дозы эстрогена способствуют усилению Th-1 и стимулируют ПВЦ, тогда как высокие дозы гормона приводят к росту Th-2 ответа и увеличению АВЦ. Известна ключевая роль лизосомальных протеаз в иммунном ответе. Показано, что катепсины могут напрямую активировать или подавлять некоторые цитокины. С другой стороны, контроль протеазной активности осуществляют ПВЦ и АВЦ. Многие медиаторы воспаления способствуют паракринной и эндокринной сигнализации и поддержание тканевого гомеостаза в репродуктивном тракте женщин. Следовательно, немаловажное значение имеет выявление степени корреляции вышеуказанных показателей у здоровых и инфицированных ВПГ-2 женщин.

Цели и задачи. Проведение мониторинга активности катепсина Д, ПВЦ и АВЦ в вагинальных смывах здоровых и ВПГ-2 инфицированных женщин в течение менструального цикла.

Материалы и методы. В работе использовались вагинальные смывы от 120 здоровых и 78 ВПГ-2 инфицированных женщин, имеющих 28-30-и дневный менструальный цикл. В вагинальных клетках проводили биохимическое определение активности катепсина Д, а в вагинальном секрете — содержание ИЛ-10, ИЛ-4, ИЛ-1 β , ИЛ-8 методом твердофазного ИФА.

Основные результаты. Нами было показано, что в первой фазе менструального цикла (эстрогеновая) нарастают показатели АВЦ и катепсина Д в вагинальных смывах здоровых женщин. Во второй фазе цикла (прогестероновая) активность катепсина Д и уровень АВЦ были резко снижены. Концентрация ПВЦ у здоровых женщин была на одном и том же уровне, кроме фазы овуляции, где показатели ПВЦ резко снижались. У ВПГ-2 инфицированных женщин данные по катепсину Д и АВЦ были высокими в течение всего цикла. Концентрация ПВЦ была резко повышена в фазе овуляции. Сравнительный анализ показателей катепсина Д, АВЦ и ПВЦ в вагинальных смывах здоровых женщин позволяет сделать вывод о схожей динамике только катепсина Д и АВЦ, но не катепсина Д и ПВЦ, на протяжении всего менструального цикла

с пиком в эстрогеновой и минимумом в прогестероновой фазе. Проведенный ежедневный мониторинг параметров ранней защиты слизистой вагины позволил выявить критические точки их функционирования, имеющие важное значение для выяснения особенностей мукозного иммунного ответа в разных фазах менструального цикла.

Заключение. Нарушение баланса катепсина D и цитокинов у ВПГ-2 инфицированных женщин свидетельствует о преобладании у них Th-2 ответа в течение всего цикла. Th-1 ответ, реализуемый во время прогестероновой фазы, у них ослаблен. Это приводит к нарушению долгосрочного контроля внутриклеточных патогенов, в т.ч. и ВПГ-2. Таким образом, предлагаемый нами комплексный подход в выяснении взаимодействия врожденного иммунитета, воспаления и репродуктивной функции, становится важным для контроля последствий ИППП и понимания механизмов, такой интеграции.

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ Т-ХЕЛПЕРОВ И ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ Т-ЛИМФОЦИТОВ У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСХОДА БЕРЕМЕННОСТИ

Иваненкова Н.И., Борзова Н.Ю., Сотникова Н.Ю.

ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В.Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия

Нарушение дифференцировки лимфоцитов может вести к изменению процессов иммунорегуляции, определяя неадекватный иммунный ответ матери на антигены плода, способствуя формированию патологии беременности. **Цель исследования:** оценить характер дифференцировки наивных клеток и Т-клеток памяти в популяции Т-хелперов (CD4+) и цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+) у женщин с привычным невынашиванием в зависимости от исхода беременности. Нами было обследовано 87 женщин в первом триместре гестации. В группу контроля включено 34 беременных с неосложненной беременностью, в основную — 53 пациентки с угрожающим привычным выкидышем, которая была подразделена на 3 подгруппы: в I вошли 32 женщины, у которых беременность завершилась своевременными родами; во II — 10 женщин, у которых беременность завершилась преждевременными родами; в III — 11 пациенток, у которых произошло самопроизвольное прерывание беременности до 12 недель. **Результаты.** Анализируя данные дифференцировки CD4+ лимфоцитов, установлено, что во всех подгруппах основной группы отмечалось достоверное снижение Tm по сравнению с таковым в контрольной группе, без достоверных различий между подгруппами. Уровень Tn, Tem, Temg в популяции Т-хелперов во всех подгруппах был сопоставим со значениями в контрольной группе и не различался между подгруппами. При оценке уровня наивных клеток и клеток памяти в популяции CD8+ лимфоцитов во всех подгруппах основной группы было выявлено достоверное повышение содержания Temg по сравнению с аналогичным показателем в группе контроля, но без достоверных различий между подгруппами. Однако, только в подгруппах, где беременность завершилась родами (своевременными или преждевременными) было отмечено достоверное снижение содержания CD8+Tem по сравнению с таковым в контрольной группе. В подгруппе женщин, беременность которых прервалась самопроизвольно до 12 недель, уровень CD8+Tem достоверно не отличался от средних значений контрольной группы. В популяции CD8+ лимфоцитов во всех подгруппах жен-

щин с угрозой невынашивания отмечалось достоверное повышение уровня Temg, продуцирующих Granzyme B и Perforin, а при самопроизвольном прерывании беременности до 12 недель дополнительно возрастал уровень Granzyme B+ Tem. Таким образом, независимо от исхода беременности, у женщин с привычным невынашиванием на системном уровне в популяциях Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов формируются пулы эффекторных клеток памяти, способных к быстрой реализации цитотоксических реакций. Эти процессы в максимальной степени были выражены при беременности, завершившейся самопроизвольным прерыванием ранее 12 недель гестации. Изменения в характере дифференцировки Т-клеток памяти у женщин с привычным невынашиванием при неполноценном формировании фето-плацентарного комплекса в ранние сроки гестации могли быть обусловлены с одной стороны стимуляцией ранее образовавшихся клеток памяти при предыдущих беременностях, завершившихся самопроизвольным прерыванием, с другой стороны, формированием пулов клеток памяти de novo при усиленном поступлении антигенов плода в кровотоки матери.

ОЦЕНКА ПРОДУКЦИИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ И СЫВОРОТОЧНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ, НАСТУПИВШЕЙ В РЕЗУЛЬТАТЕ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЕЕ ИСХОДА

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

ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

Введение. Одной из концепций, описывающих изменения регуляторных механизмов иммунной системы во время беременности, является гипотеза о переключении иммунного ответа, опосредованного Т-хелперами 1-го типа, на иммунный ответ, опосредованный Т-хелперами 2-го типа. Провоспалительные цитокины, продуцируемые Th1, обладают не только прямым эмбриотоксическим эффектом, но и ограничивают инвазию трофобласта, нарушая его нормальное формирование. Их избыточное количество ведет к активации протромбиназы, что обуславливает тромбозы, инфаркты трофобласта и его отслойку, и в конечном итоге — выкидыш в ранние сроки гестации. **Цель исследования:** оценить уровень внутриклеточных и сывороточных цитокинов у женщин с беременностью раннего срока, индуцированной экстракорпоральным оплодотворением (ЭКО) в зависимости от ее исхода. **Материалы и методы:** В 1-ю группу были включены пациентки, программа ЭКО которых завершилась наступлением беременности, ее нормальным развитием и закончилась срочными родами (n=48). Вторую группу составили женщины после успешной процедуры ЭКО, беременность которых прервалась в сроке до 12 недель (n=12). В качестве группы сравнения (3-я группа) было отобрано 28 женщин со спонтанно наступившей беременностью, завершившейся рождением живого здорового ребенка. Иммунологические исследования проводили в сроке 5-6 недель беременности. Оценку спонтанной и индуцированной продукции внутриклеточных цитокинов (IFN γ и IL4) Т-лимфоцитами проводили методом проточной лазерной цитофлуориметрии на анализаторе «FACS Calibur» фирмы «Becton Dickinson» (США) с использованием наборов моноклональных антител того

же производителя. Содержание сывороточных IFN- γ и IL-4 определяли методом ИФА с помощью реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Уровень значимости межгрупповых различий с учетом поправки Бонферрони принимали $p \leq 0,017$. **Результаты исследования.** При определении внутриклеточной продукции IFN- γ и IL-4 в спонтанном тесте статистически значимых различий при беременности, наступившей спонтанно и с помощью программы ЭКО не выявлено. Относительное количество стимулированных Т-лимфоцитов, экспрессирующих IFN- γ у пациенток 1-й группы не отличалось от аналогичных параметров женщин со спонтанной беременностью (5,96 (4,21-8,63)% против 6,13 (4,24-8,51)%), а уровень экспрессии IL-4 был статистически значимо выше (6,09 (4,31-9,04)% против 5,25 (3,10-6,33)%, $p_{1-3}=0,002$). У пациенток 2-й группы с неблагоприятным исходом беременности содержание стимулированных CD3+IFN- γ + и CD3+IL-4+-клеток в 1,7 и 1,2 раза превышало параметры группы сравнения (10,62 (4,93-17,77) и 6,51 (5,29-9,77)%, $p_{2-3}=0,01$ и $p_{2-3}=0,006$ соответственно), что указывало на значимый функциональный резерв иммунной системы в отношении синтеза как провоспалительных, так и регуляторных цитокинов. Необходимо отметить, что, несмотря на отсутствие снижения количества клеток, экспрессирующих IL-4, соотношение популяций Т-клеток продуцирующих провоспалительные и регуляторные цитокины в этой группе женщин было статистически значимо выше аналогичных значений пациенток 1-й и 3-й групп (1,58 (1,14-2,01) усл.ед. против 0,91 (0,67-1,20) усл.ед. и 1,06 (0,87-1,32) усл.ед., p_{1-2} , $p_{2-3} \leq 0,017$). При оценке уровня сывороточных цитокинов у беременных женщин основных групп и группы сравнения статистически значимых различий в содержании ИФН- γ не выявлено вследствие высокой вариабельности показателей. Вместе с тем, уровень регуляторного IL-4 в сыворотке крови у пациенток 1-й и 2-й групп был существенно ниже этого показателя женщин со спонтанной беременностью (0,65 (0,21-1,13) пг/мл и 0,13 (0,12-0,86) пг/мл против 1,90 (1,42-2,83) пг/мл, $p_{1-3}=0,01$, $p_{2-3}=0,017$).

Заключение. Таким образом, особенностью цитокинового баланса беременных женщин после экстракорпорального оплодотворения является увеличение содержания стимулированных Т-клеток, экспрессирующих IL-4, и снижение уровня сывороточного IL-4. При этом прерывание беременности у женщин ассоциирована с увеличением процентного содержания индуцированных CD3+IFN- γ + -клеток и выраженным сдвигом индекса поляризации (CD3+IFN- γ + / CD3+IL-4+) в сторону клеточно-опосредованного иммунного ответа, что позволяет рекомендовать оценку продукции внутриклеточных цитокинов крови в качестве дополнительного критерия прогнозирования возможных осложнений и исхода беременности, наступившей в результате ЭКО.

ИЗМЕНЕНИЯ МЕМБРАННОЙ ЭКСПРЕССИИ МОЛЕКУЛ CD163 МОНОЦИТАМИ И СЫВОРОТОЧНОГО СОДЕРЖАНИЯ sCD163 ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

Крошкина Н.В., Батрак Н.В.

ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия

По литературным данным, ключевая роль в иммунологических процессах при беременности принадлежит клеткам фагоцитарного ряда. В зависимости от стимулирующего сигнала моноциты могут формировать две раз-

личные популяции — классически (M1) и альтернативно (M2) активированные клетки, которые отличаются между собой по функциям и экспрессии некоторых молекул. Было показано, что экспрессия скэвенджер-рецепторов CD163 характерна для M2 популяции. Однако имеются данные о том, что участие CD163 позитивных клеток в регуляции иммунного ответа неоднозначно. Кроме того, известно, что молекулы CD163 способны под воздействием различных сигналов сдвигаться с поверхности моноцитов и переходить в растворимую форму. Целью работы было установить характер экспрессии рецептора CD163 на поверхности моноцитов и особенности сывороточного содержания его растворимой формы (sCD163) при невынашивании беременности ранних сроков. Было обследовано 47 женщин с привычным невынашиванием в анамнезе в 7-12 недель беременности с клиническими признаками угрозы прерывания беременности (основная группа), 29 женщин в те же сроки гестации, беременность которых протекала без осложнений (контрольная группа), 14 здоровых небеременных женщин. Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь. Методом проточной цитофлюориметрии оценивали уровень CD163+ моноцитов. Концентрацию sCD163 в сыворотке периферической крови определяли методом твердофазного ИФА с использованием тест-системы производства R&D Systems (USA). Нами было установлено, что при наступлении беременности уровень CD163+ моноцитов в периферической крови снижался по сравнению с таковыми у небеременных доноров. При развитии угрозы прерывания беременности ранних сроков содержание CD163+ моноцитов достоверно возрастало по сравнению с показателями при неосложненной беременности. Анализ данных сывороточного содержания растворимой формы CD163 показал, что при наступлении беременности его концентрация возрастала по сравнению с показателями небеременных женщин. Кроме того, при невынашивании беременности концентрация sCD163 в периферической крови была более высокой, чем при неосложненной беременности, что указывает на усиление шеддинга CD163 с поверхности моноцитов при данной патологии. Известно, что sCD163 принимает непосредственное участие в клиренсе гемоглобина и регуляции продукции цитокинов моноцитами. Показано, что молекулы CD163 функционируют как мембранный рецептор фагоцитов, реагирующий с G+ и G- бактериями. Кроме того, установлено, что активация моноцитов через CD163 может индуцировать синтез ряда провоспалительных цитокинов. Повышение уровня CD163+ моноцитов при невынашивании беременности свидетельствует об активации этого пула клеток и связано с наличием бактериального инфицирования пациенток, которое отмечается многими авторами. Вероятно, обнаруженное нами усиление экспрессии различных форм CD163 может играть важную роль в патогенезе невынашивания беременности ранних сроков.

ИЗМЕНЕНИЕ АДГЕЗИВНЫХ СВОЙСТВ МОНОЦИТОВ И НЕЙТРОФИЛОВ ПОСЛЕ РОДОВ У ЖЕНЩИН С ГИПЕРТЕНЗИВНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

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

ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия

Гипертензивные расстройства во время беременности представлены двумя группами патологических состоя-

ний — артериальной гипертензией (АГ), существовавшей до беременности, и гипертензией, развившейся непосредственно в связи с гестационным процессом. Как показали наши исследования, развитие преэклампсии независимо от ранее существовавшей АГ сопровождается усилением адгезивных свойств гранулоцитов, определяющих их диapedез. Процесс адгезии и последующей экстравазации сопровождается высвобождением свободных радикалов и протеаз, способствующих деструктивным изменениям коллагенового каркаса сосудистой стенки и нарушению вазодилатации сосудов. Целью проведенного исследования было выявить особенности изменения адгезивных свойств нейтрофилов и моноцитов у женщин с преэклампсией (ПЭ) в послеродовом периоде, в зависимости от формы гестационной АГ. Всего были обследованы: 21 женщина с преэклампсией (ПЭ) и 18 женщин с преэклампсией развившейся на фоне хронической АГ (ХАГ+ПЭ). Первичное обследование проводилось в 22-36 недель гестации, повторное — в послеродовом периоде (на 5-7 сутки). В контрольную группу вошли 25 женщин без гипертензивных расстройств при беременности, обследованных однократно в 22-36 недель гестации. Методом проточной цитофлюориметрии на проточном цитофлюориметре FACSCantoII в программе FACSDiva (Becton Dickinson, США) в периферической крови определялось относительное содержание нейтрофилов и моноцитов, экспрессирующих молекулы CD11b, CD11c, CD31, CD49b, CD51 и CD99, участвующие на различных этапах процесса трансмиграции клеток. Результаты исследования показали, что развитие ПЭ в обеих группах не сопровождалось значительными изменениями адгезивных свойств моноцитов по сравнению с показателями контрольной группы, а в популяции нейтрофилов сочеталось с повышением уровня клеток, экспрессирующих молекулы поздних этапов трансмиграции (CD31, CD49b, CD99). В послеродовом периоде в группе женщин ХАГ+ПЭ достоверно повышался уровень CD62L+ нейтрофилов, но снижалось содержание CD31+ нейтрофилов по сравнению с показателями до родов. В группе женщин ПЭ отмечалось достоверное снижение уровня CD11c+ нейтрофилов по сравнению с таковым во время беременности. В обеих группах с АГ достоверных различий до и после родов в содержании моноцитов, экспрессирующих изучавшиеся молекулы адгезии, мы не выявили. Наряду с этим нами было установлено, что в послеродовом периоде группа женщин ХАГ+ПЭ отличалась от группы ПЭ достоверно более высокими значениями содержания CD11b+ нейтрофилов. Таким образом, после родов для женщин с впервые развившейся во время беременности АГ было характерным снижение адгезивных свойств клеток на этапе имобилизации на эндотелии, что могло блокировать патологические эффекты активированных нейтрофилов и способствовать быстрому (в течение 7-10 дней после родов) восстановлению вазодилатационных свойств сосудов и нормализации артериального давления. В группе женщин с хронической АГ и ПЭ наоборот, усиливалась способность нейтрофилов к перекатыванию и плотной адгезии к эндотелию сосудов. Вероятно, данный уровень активации нейтрофилов приводит к повреждению белков клеточных мембран, способствует развитию эндотелиальной дисфункции и асептического воспаления в субэндотелиальном слое и периваскулярном пространстве. Артериальное давление у всех женщин с преэклампсией на фоне хронической АГ не имело тенденции к снижению в послеродовом периоде.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ИММУННЫМИ НАРУШЕНИЯМИ ПРИ ПАТОЛОГИИ БЕРЕМЕННОСТИ И ИЗМЕНЕНИЯМИ В ТИМУСЕ НОВОРОЖДЕННОГО

Левкова Е.А., Гребеняк О.А., Савин С.З.

ВЦ ДВО РАН ООО «Иммунореабилитационный центр»,
Хабаровск, Россия

Цель. Изучение формирования иммуно-цитокиновых профилей в плаценте и тимусе новорожденного в различных условиях различного течения гестационного процесса. **Материалы и методы исследования.** Формирование групп исследования проведено исходя из особенностей гестационного процесса: 1-я группа — 70 беременных женщин с физиологическим течением беременности; 2-я группа — 70 беременных женщин с угрозой прерывания беременности; 3-я группа — 70 беременных женщин с гестозами. **Материал для исследования:** венозная гепаринизированная кровь беременных женщин в третьем триместре беременности; плацента — материнская и детская части; тимус новорожденных детей (случаи летальных исходов). В крови, плаценте оценку клеточных параметров проводили с использованием отечественных моноклональных антител (МКА) серии ИКО в соответствии с номенклатурой антигенов CD. Цитокиновый профиль включал в себя определение провоспалительных цитокинов — ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-8, ФНО-альфа, ИНФ альфа, ИНФ гамма, ИЛ-10 и воспалительного цитокина — ИЛ-4 методом ИФА в крови, плаценте и тимусе. Морфогистологические исследования плаценты и тимуса проводились по унифицированным методикам. **Результаты исследования.** Сравнительные характеристики клеточных параметров периферической крови беременных женщин выявили нарастание цитолитического компонента — CD25+ и CD16+ клеток, при этом максимальное их количество определялось у женщин с угрозой прерывания беременности. Достоверные различия в группах сравнения были получены по ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-альфа и ИНФ гамма. Значительное увеличение ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО-альфа в 3-й группе указывает на наличие воспалительных изменений в организме, инфекционно-индуцированного характера. Полученные данные свидетельствуют о нарушении иммунологической толерантности на уровне иммунопривелигированного органа — плаценты. Закономерным продолжением клеточного дисбаланса является увеличение потенциально агрессивных клонов клеток — Т-активированных лимфоцитов и натуральных киллеров — CD25+ и CD16+ клеток. Достоверные отличия получены во 2-й и 3-й группах в «материнской» и «детской» частях ($p < 0,05$). Резко отличающиеся значения в сторону увеличения были получены по цитокиновым профилям в плаценте у женщин с различными типами гестации, в сравнении с периферической кровью. При патологическом течении беременности резко измененными в «материнской» и «детской» частях плаценты были уровни таких цитокинов, как ИЛ-2, ФНО-альфа, ИЛ-8, альфа и гамма интерфероны, ИЛ-10 и ИЛ-4. Объединяет два данных патологических синдрома (угроза прерывания и гестоз) нарушение иммунологической толерантности, ассоциированное с существенным снижением уровней ИЛ-10, ИЛ-4. Для подтверждения типов иммунопатологических реакций были выполнены реакции с плацентарными антигенами (РТМЛ) и с ФГА. В 1-й группе значения РТМЛ с плацентарными антигенами составили $77,63 \pm 2,08\%$, во 2-й — $23,1 \pm 2,27$, в 3-й — $91,77 \pm 3,86\%$. В проведенных исследованиях продемонстрированы опосредованные

механизмы нарушения иммунологической толерантности в тимусе новорожденного ребенка. Резкие изменения клеточного состава — количества и качества, были характерны для патологического течения беременности, помимо снижения общего количества Т-лимфоцитов, произошла инверсия на субпопуляционном уровне — соотношение CD4+ и CD8+ клеток. ИРС во 2-й и 3-й группах составило $1,03 \pm 0,11$ и $1,32 \pm 0,06$ соответственно по сравнению с 1-й группой — $0,92 \pm 0,04$. В тимусе у новорожденных детей 1-й группы клетки цитолитической направленности — CD25+ и CD16+ практически не определялись и составили $0,197 \pm 0,07\%$ и $0,10 \pm 0,02\%$ соответственно. Во 2-й и 3-й группах уровень обозначенных клеточных маркеров составил $1,17 \pm 0,31$, $0,46 \pm 0,12\%$ и $2,26 \pm 0,14$, $3,20 \pm 0,21\%$ соответственно, что достоверно отличалось в сторону увеличения от 1-й группы ($p < 0,05$). Цитокиновый профиль в группах исследования отражал клеточное распределение в тимусе. Такие цитокины как ИЛ-1, ИЛ-2, ФНО-альфа, ИЛ-8, интерфероны альфа и гамма были резко повышены ($p < 0,05$) во 2-й и 3-й группах по сравнению с 1-й группой. На отмену супрессорной доминанты указывали значения ИЛ-10 и ИЛ-4, которые составили в группах сравнения $0,13 \pm 0,05$, $47,43 \pm 2,9$ пг/мл и $0,09 \pm 0,009$, $25,65 \pm 2,41$ пг/мл соответственно по сравнению с 1-й группой — $0,82 \pm 0,28$ и $49,14 \pm 5,49$ пг/мл. Патоморфологическим подтверждением повреждения центрального органа иммунной системы была реакция акцидентальной трансформации тимуса, которая достигала своей необратимой степени IV во 2-й группе, в 3-й — III степени, в 1-й группе — III и IV степени акцидентальной трансформации не фиксировались. Заключение. Проведенные исследования носят фундаментальный характер и раскрывают иммунные механизмы формирования и течения гестационных процессов в норме и при патологии. Исходом нарушений в системе иммуногенеза беременной женщины являются однотипные изменения в плаценте с накоплением цитолитического пула клеток и повреждением тимуса новорожденного.

РОЛЬ РЕЦЕПТОРОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА В РАЗВИТИИ НАРУШЕНИЙ МЕНСТРУАЛЬНОЙ ФУНКЦИИ У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ С ОЖИРЕНИЕМ

Левкович М.А., Андреева В.О., Линде В.А., Билим М.В., Хошаби К.Э.

Ростовский научно-исследовательский институт
акушерства и педиатрии МЗ РФ, Ростов-на-Дону,
Россия

Введение. Частота нарушений менструальной функции у женщин с избыточной массой тела достигает 70%. Основой для их формирования служат хроническая ановуляция, яичниковая гиперандрогения, часто приводящая к формированию синдрома поликистозных яичников, а развивающаяся на этом фоне гиперэстрогения — к гиперпластическим процессам эндометрия. Экспериментальные и клинические исследования последних лет выявили новый феномен: ожирение приводит к воспалению жировой ткани, что сказывается на ее метаболической и секреторной функции и играет ведущую роль в развитии сопровождающих ожирение патологических процессов. Способность клеток моноцитарно-макрофагального ряда высвобождать провоспалительные молекулы (цитокины и хемокины) является одним из патогенетических факторов в развитии локального и системного

воспалительного ответа при этой патологии. Значительная роль в развитии метаболического синдрома принадлежит системе врожденного иммунитета.

Цель и задачи. Изучение экспрессии TLR-2 и TLR-4 на моноцитах периферической крови, содержания IL-1 β и TNF- α в сыворотке крови у девочек-подростков с ожирением и нарушением менструального цикла. Материалы и методы. Было обследовано 29 пациенток с ожирением и нарушениями менструального цикла (1-я группа) и 25 здоровых девушек-подростков с нормальным индексом массы тела (ИМТ) и регулярным менструальным циклом (контрольная группа). Проведен ретроспективный анализ расстройств пищевого поведения, которые предшествовали проявлению клинической картины, изучены клинические особенности течения заболевания — динамика индекса массы тела, проведены гинекологические консультации для подтверждения диагноза аменорея и олигоменорея. Определение экспрессии TLR-2 (CD14+CD282+) и TLR-4 (CD14+CD284+) на моноцитах периферической крови проводили методом двухцветной проточной цитофлюориметрии с использованием диагностических наборов Caltag, HyCultbiotechnology. Содержание IL-1 β и TNF- α в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (Bender Medsystems). **Результаты.** Было выявлено, что у больных с ожирением и нарушениями менструального цикла по сравнению с контрольной группой имелись выраженные изменения показателей врожденного иммунитета в виде статистически значимого увеличения экспрессии TLR-4 (CD14+CD284+) на моноцитах ($84,1 \pm 6,4\%$ по сравнению с $51,7 \pm 8,3\%$), ($p < 0,05$). Кроме того, в 1 группе по сравнению с контрольной было зарегистрировано увеличение продукции IL-1 β ($80 \pm 8,1$ пг/мл против $25,6 \pm 9,1$ пг/мл), ($p < 0,05$) и TNF- α ($77,1 \pm 8,9$ пг/мл против $31 \pm 7,3$ пг/мл), ($p < 0,05$).

Заключение. Активация рецепторов врожденного иммунитета приводит к увеличению синтеза провоспалительных цитокинов, что в свою очередь может способствовать формированию инсулин резистентности и дисфункции яичников.

Выявленные особенности иммунного ответа у девочек-подростков с ожирением дают основание для профилактики формирования ранней репродуктивной патологии в пубертате и предупреждению возможных отдаленных осложнений, что улучшит качество жизни больных и снизит риск сопутствующих ожирению заболеваний.

CD95 КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ПОЗДНЕЙ АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ПУПОВИННОЙ И ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Ляпунов В.А., Чистякова Г.Н., Газиева И.А.,
Устьянцева Л.С., Ремизова И.И.

ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ, Екатеринбург, Россия

Введение. Трансмембранный белок CD95 (Fas) известен как рецептор, играющий важную роль в физиологии апоптоза, так как он необходим для трансдукции цитотоксического сигнала к активированным зрелым лимфоцитам под действием индукторного фактора на завершающей стадии иммунного ответа клетки. Увеличение доли клеток, несущих на своей поверхности CD95, свидетельствует об их готовности к вступлению в апоптотический процесс, однако для запуска программированной клеточной гибели необходимо действие индукторов. Известна

группа физиологических активаторов и ингибиторов апоптоза. Активирующим действием помимо Fas-лиганда обладают молекулы TNF- α , белки теплового шока, супрессор опухолей p53 и другие. Ингибируют апоптоз sTNF-R, sFas-L, Bcl-2, а также ингибиторы капсаз. CD95 и CD95L вовлечены в опосредованную Т-лимфоцитами цитотоксичность. CD95L в основном экспрессируется активированными CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетками, в то время как покоящиеся Т-лимфоциты не экспрессируют Fas-лиганд. Th1 лимфоциты способны лизировать клетки-мишени путем Fas-опосредованного механизма более активно, чем Th2 типа. Установление характера экспрессии CD95 в образцах пуповинной и периферической крови позволяет судить не только об активации лимфоцитов связанных с запуском программируемой клеточной гибели, но и о наличии индукторов апоптоза.

Цель. Оценить уровень экспрессии рецептора готовности клеток к апоптозу CD95⁺ в пуповинной и периферической крови детей различного гестационного возраста.

Материалы и методы. Проведено обследование образцов пуповинной и периферической (в возрасте 1-го месяца и в 38-40 недель постконцептуального возраста) крови 25 недоношенных детей (22-27 недель гестационного возраста) — 1-я группа и 26 детей (28-31 неделя гестационного возраста) — 2-я группа. Группу сравнения составили 18 доношенных новорожденных с неосложненным течением раннего периода адаптации. Содержание CD95⁺ и CD95⁺CD3⁺ лимфоцитов определяли методом проточной цитометрии. Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Excel 2010 и Statistica 6. Данные представляли в виде медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (25-го и 75-го перцентилей, P25 и P75). Сравнение количественных признаков проводили с использованием U-критерия Манна-Уитни. Уровень значимости межгрупповых различий с учетом поправки Бофферони принимали равным 0,017.

Результаты. Содержание клеток пуповинной крови, экспрессирующих Fas-рецептор в 1-й и 2-й группах детей статистически значимо превышало показатели группы сравнения как по относительному (9,5 (5,75-13,25)% и 8 (6-10,5)% против 3,5 (3-4)% соответственно), так и по абсолютному (0,38 (0,27-0,6)×10⁹/л и 0,51 (0,2-0,66)×10⁹/л против 0,18 (0,11-0,2)×10⁹/л) значениям ($p < 0,05$). В количестве активированных Т-лимфоцитов прослеживалась та же закономерность. Относительное значение CD3⁺CD95⁺-клеток в 1-й и 2-й группах превышало показатели группы сравнения (7 (4,75-11,25)% и (5 (5-7)%) против 1 (1-2)% ($p < 0,05$). Абсолютное содержание Т-клеток экспрессирующих рецептор CD95 в основных группах более чем в 3 раза превышали показатели группы сравнения — 0,12 (0,1-0,19)×10⁹/л и 0,18 (0,12-0,2)×10⁹/л в 1-й и 2-й группах против 0,03 (0,02-0,05)×10⁹/л в группе сравнения ($p < 0,05$). Полученные результаты согласуются с данными литературы, где также было установлено повышенное содержание CD3⁺CD95⁺ клеток в пуповинной крови у недоношенных новорожденных в сравнении с доношенными детьми. В возрасте 1-го месяца и в 38-40 недель постконцептуального возраста значения вышеуказанных показателей были сопоставимы с параметрами доношенных детей. Статистически значимых различий между 1-й и 2-й группами детей не выявлено.

Заключение. В пуповинной крови детей с гестационным возрастом 22- 27 и 28-31 недели установлено повы-

шение числа клеток экспрессирующих маркер CD95, свидетельствующее об активизации процессов клональной селекции Т- и В лимфоцитов, опосредованной индуцирующими апоптоз факторами, в качестве которых могут выступать провоспалительные цитокины (TNF- α , IFN- γ). В возрасте одного месяца после рождения и по достижению постконцептуального возраста 38-40 недель в периферической крови детей основных групп наблюдается снижение содержания CD95⁺-лимфоцитов, как по относительному, так и по абсолютному показателям, до значений группы сравнения, из чего следует, что в периферической крови на фоне уменьшения интенсивности апоптоза также снижается элиминация аутореактивных клеток.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ИММУННЫХ И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЭНДОМЕТРИОЗЕ

Мальцева А.Н., Конопля А.А., Ярош А.А.

Курский государственный медицинский университет,
Курск, Россия

Введение. Состояние процессов перекисидации липидов и антиоксидантной защиты в значительной степени определяет устойчивость организма к неблагоприятным воздействиям. В последние годы отмечается повышение интереса исследователей к изучению некоторых параметров перекисного окисления липидов и антиокислительной системы при генитальном эндометриозе (ГЭ), однако комплексной оценки основных звеньев системы свободно-радикального окисления при этом почти не проводилось и проблема определения значимости изменения активности неспецифических процессов перекисидации липидов и антиоксидантной недостаточности в развитии аденомиоза далека от разрешения. Свободные радикалы активируют реакции перекисного окисления липидов и секрецию цитокинов, включая ФНО, интерлейкин-6 и интерлейкин-8, что запускает и поддерживает иммунное воспаление как на местном, так и на системном уровне.

Цель и задачи. Установление нарушений показателей иммунного и оксидантного статусов на системном и местном уровнях у пациенток с генитальным эндометриозом..

Материалы и методы. Под постоянным наблюдением в ОГУЗ «Областной перинатальный центр» г. Курска находилось 27 пациенток с верифицированным диагнозом генитальный эндометриоз (ГЭ) 2 стадии в возрасте 25-40 лет. Контрольная группа состояла из 14 девочек того же возраста. Количественная оценка уровней ФНО, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-4, ИЛ-2, ИЛ-10, рецепторного антагониста ИЛ-1 (РАИЛ), интерферона- γ (ИНФ γ), С3, С3а, С5, С5а, С4-компонентов комплемента, фактора Н и С1-ингибитора (С1-инг.) в плазме крови и цервикально-влагалищном смыве проводилась с помощью тест-систем методом твердофазного иммуноферментного анализа. Оценивали интенсивность процессов перекисного окисления липидов по содержанию в сыворотке крови и цервикально-влагалищном смыве ацилгидроперексидей (АГП) и малонового диальдегида (МДА). Кроме этого, определяли активность каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), уровень стабильных метаболитов оксида азота (СМОН) и общую антиокислительную активность сыворотки крови (ОАА).

Основные результаты. У больных ГЭ при поступлении в стационар в плазме крови выявлено повышение уровня провоспалительных (ФНО, ИЛ-6, ИЛ-8), ИНФ γ и снижение уровня противовоспалительных (ИЛ-4, РАИЛ) цитокинов и ИЛ-2. Кроме этого, у данной категории пациенток при поступлении в плазме крови активируется система комплемента, о чем свидетельствует повышение уровня С3, С4, С5, С3а, С5а-компонентов комплемента и их регуляторов — фактора Н и С1-ингибитора. В плазме крови установлено повышение концентрации продуктов перекисного окисления липидов (МДА и АГП), СМОН, снижение ОАА сыворотки, активности каталазы и СОД. В вагинально-цервикальном смыве определено повышение ФНО, ИЛ-6, ИЛ-8), ИЛ-4, ИНФ γ , всех изученных компонентов комплемента и снижение концентрации РАИЛ, тогда как содержание ИЛ-2 не отличалось от здоровых доноров. На местном уровне у пациенток с ГЭ также, как в плазме крови, оказалась повышена концентрация МДА, АГП, СМОН и снижена ОАА, тогда как активность СОД и каталазы осталась на уровне нормы.

Заключение. Таким образом, у больных с эндометриозными поражениями наблюдаются признаки иммунопатологии и развитие «оксидантного стресса», что проявляется активацией перекисного окисления липидов, системы комплемента и провоспалительного сдвига цитокинового звена иммунитета, приводящие к ослаблению иммунного контроля, нарушению фосфолипидного компонента клеточных мембран, что создает условия для имплантации и развития функциональных очагов эндометрия вне их нормальной локализации. При этом степень выраженности нарушенных показателей иммунного и метаболического статуса, как на системном так и на местном уровне у пациенток с ГЭ, требует апробирования дополнительных средств и способов фармакологической коррекции, особенно на системном уровне.

ОСОБЕННОСТИ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ПРОДУКЦИИ IL-10 ПЕРИФЕРИЧЕСКИМИ МОНОЦИТАМИ И ДЕЦИДУАЛЬНЫМИ МАКРОФАГАМИ ПРИ ЗАДЕРЖКЕ РОСТА ПЛОДА

Милеева П.Л., Бойко Е.Л., Сотникова Н.Ю., Воронин Д.Н.

ФГБУ «ИвНИИ МиД им. В.Н. Городкова» МЗ РФ, Иваново, Россия

Согласно современным данным частота задержки роста плода (ЗРП) встречается от 5 до 17%, а у недоношенных детей, данная патология выявляется до 22%. ЗРП, несмотря на современные методы диагностики и лечения, остается одной из ведущих причин перинатальной смертности и заболеваемости, но и причиной многочисленных изменений в организме ребенка, которые на протяжении последующих лет жизни являются причиной нарушений его физического и умственного развития, а также повышенной соматической и инфекционной заболеваемости. Риск формирования задержки роста плода, может быть обусловлен изменением функциональной активности цитокинов, в том числе и провоспалительного цитокина интерлейкина-10 (IL-10). Имеющиеся в литературе данные о характере и продукции цитокинов в периферической крови и децидуальной оболочке плаценты при ЗРП не позволяют сделать однозначных выводов о формировании того или иного типа иммунного ответа. **Целью нашего исследования** — оценить внутриклеточную про-

дукцию IL-10 в периферической крови матери и децидуальной оболочке плаценты при задержке роста плода. Для выполнения поставленной цели нами были обследованы 110 женщин репродуктивного возраста в сроке 26–39 недель гестации. В основную клиническую группу вошли 60 женщин, беременность которых осложнилась ЗРП (по данным УЗИ). Контрольную группу составили 50 женщин с нормально протекающей на момент обследования пролонгированной беременностью. Методом проточной цитофлюорометрии оценивалась внутриклеточная продукция IL-10 моноцитами периферической крови и макрофагами децидуальной оболочки плаценты. В ходе исследования нами не было выявлено достоверных различий во внутриклеточной продукции IL-10 моноцитами периферической крови между клиническими группами, однако на уровне плаценты у женщин с ЗРП продукция данного цитокина макрофагами децидуальной оболочкой была достоверно ниже, чем в группе контроля ($p=0,001$). В группе женщин с ЗРП беременность чаще заканчивалась преждевременными родами, по сравнению с группой контроля ($p=0,001$). У женщин с ЗРП и преждевременными родами внутриклеточная продукция IL-10 децидуальными макрофагами была достоверно ниже, чем в группе женщин с ЗРП, у которых роды закончились своевременно ($p=0,001$). При формировании подгрупп, по степеням тяжести ЗРП (I подгруппа - ЗРП I степени; II подгруппа - ЗРП II-III степени), также отмечалось достоверное снижение продукции IL-10 макрофагами децидуальной оболочкой в обеих подгруппах, по сравнению с контрольной ($p=0,01$, $p=0,001$, соответственно). При этом отмечалось более выраженное снижение продукции IL-10 в подгруппе с ЗРП II-III степени, по сравнению с ЗРП I степени, но достоверной разницы между клиническими подгруппами выявлено не было. Таким образом, снижение продукции IL-10 в ткани плаценты, ассоциированно с воспалительным процессом, может быть важным звеном в патогенезе развития ЗРП.

ОСОБЕННОСТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ НАИВНЫХ Treg В РАННИЕ СРОКИ БЕРЕМЕННОСТИ

Мишарина Л.В., Кудряшова А.В.

ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В.Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия

В настоящее время имеется большое количество работ, свидетельствующих о крайне важной роли регуляторных Т-клеток (Treg) при беременности. **Целью нашей работы** было выявить особенности содержания естественных (nTreg) и индуцированных (iTreg) Treg в различных фракциях CD4 $^{+}$ наивных клеток (Tn) периферической крови в I триместре гестации. Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь. Всего было обследовано 15 небеременных женщин репродуктивного возраста с реализованной репродуктивной способностью (небеременные доноры) и 29 беременных женщин в 6-10 недель гестации. Все беременные женщины на момент обследования не имели акушерско-гинекологической патологии. В последующем у 7 женщин наблюдались признаки угрозы невынашивания беременности (УН), у 22 женщин беременность протекала без осложнений на всем протяжении гестации (контрольная группа). Методом многоцветной проточной цитометрии в пуле наивных CD4 $^{+}$ лимфоцитов определяли содержание тимических (CD31+thymic) и центральных (CD31-central) клеток,

несущих маркеры естественных (CTLA-4+ и CD25+) и индуцированных (TGFβ1+) Treg. Нами было установлено, что с наступлением беременности достоверно повышался уровень наивных Th, что сопровождалось снижением уровня CD4+ Tn с фенотипом ранних эмигрантов из тимуса CD31+thymic и увеличением содержания CD31-central клеток относительно показателей небеременных женщин. Кроме того, проведенные исследования показали, что в I триместре беременности в общем пуле CD4+ Tn увеличивался уровень nTreg (CTLA-4+ и CD25+), в том числе и в 31+thymic, и в 31-central фракциях. Уровень iTreg в ранние сроки гестации возрастал в CD4+ Tn и во фракции 31-central клеток по сравнению с небеременными донорами. Следует отметить, что уровень nTreg и iTreg 31+thymic клеток всегда многократно превышал значения nTreg и iTreg 31-central Tn. В группе женщин с УН при сравнении с небеременными донорами нами отмечалось еще более выраженное снижение уровня CD31+thymic и увеличение CD31-central клеток, но практически полностью отсутствовали изменения в показателях содержания iTreg и nTreg в популяциях 31+thymic и CD31-central клеток. При сравнении групп женщин с УН и неосложненным течением беременности на всем протяжении гестации нами отмечалось снижение уровня iTreg и nTreg с фенотипом CTLA-4 в общем пуле CD4+ Tn, а также во фракции 31+thymic клеток. Как известно повышение уровня Treg при беременности определяется необходимостью осуществлять контроль толерантности к антигенам плодного происхождения через подавление аутореактивных Т-лимфоцитов. Проведенные нами исследования показали, что, несмотря на транзиторную атрофию тимуса во время беременности, рост фракции nTreg в периферической крови в основном определялся их выходом из тимуса. В то время как уровень iTreg повышался при беременности только в популяции центральных наивных клеток. Развитие угрозы прерывания беременности ассоциируется с нарушением как тимической, так и внетимической дифференцировки естественных и индуцированных Treg, необходимых для поддержания баланса между процессами активации и супрессии реакций иммунной системы, способствующих пролонгированию беременности.

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ПРОМОТОРНЫХ УЧАСТКОВ ГЕНОВ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ И ГЕНОВ СВЕРТЫВАЮЩЕЙ СИСТЕМЫ КРОВИ, КАК ПРЕДИКТОРОВ РАЗВИТИЯ ПРЕЭКЛАМПСИИ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН

Павловская В.Н., Гумилевский Б.Ю.

ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет», ГБУЗ НИИГТП ФМБА РФ, Волгоград, Россия

Введение. В настоящий момент большое внимание уделяется изучению молекулярно — генетических факторов развития преэклампсии (ПЭ). Тем не менее, многочисленные научные работы, посвященные этой теме, содержат противоречивые сведения, до конца не объясняющие этиопатогенетические механизмы развития данного осложнения беременности. Что может быть связано с особенностями изучаемых выборок, наличием альтернативных методов исследования, статистического анализа полученных результатов и неоднозначной трактовки

клинических проявлений ПЭ. Поэтому так актуально дальнейшее комплексное изучение и поиск лабораторно — значимых маркеров риска развития преэклампсии.

Цель. Изучить роль полиморфизма аллельных вариантов генов интерлейкинов: IL-2 (T-330G), IL-4 (-589C>T) и генов свертывающей системы крови: F5 (G1691A Arg506Gln), ITGB3 (1565T>C Leu59Pro,) в развитии преэклампсии у беременных женщин г.Волгограда и Волгоградской области.

Материалы и методы. Для реализации поставленной цели обследовано 32 женщины, вторая половина беременности которых была осложнена преэклампсией (17 женщин с ПЭ умеренной степени тяжести и 15 — с тяжелой ПЭ). Средний возраст пациенток составил $28,8 \pm 0,8$ лет. Определение snp-мутаций генов интерлейкинов (IL 2, IL 4) и генов свертывающей системы крови (F5, ITGB3) осуществляли с применением метода ПЦР с аллель — специфичными праймерами, детекция конечного продукта реакции проводилась в режиме реального времени.

Результаты. В ходе исследования установлены достоверные различия соотношений частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов IL-2 ($2 = 5,7, p < 0,05$), IL-4 ($2 = 27,02, p < 0,05$), F5 ($2 = 23,95, p < 0,05$), ITGB3 ($2 = 12, p < 0,05$) в сравнении с такими же полиморфными маркерами европейской популяции женщин с физиологически протекающей беременностью.

Выводы. Полученные нами предварительные результаты свидетельствуют о том, что наличие сочетания аллельных вариантов генов цитокинов IL-2, IL-4 и генов свертывания крови F5, ITGB3 могут являться предиктором развития ПЭ у беременных женщин Волгограда и Волгоградской области.

ИММУНОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА FASL, ЭКСПРЕССИРОВАННОГО НА СПЕРМАТОЗОИДАХ ЧЕЛОВЕКА

Плосконос М.В.^{1,2}, Николаев А.А.¹

¹ ГБОУ ВПО Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России, Астрахань, Россия

² Волжская государственная академия водного транспорта, Астрахань, Россия

Fas-рецепторно-лигандная система вовлечена в защиту от иммунологических реакций в иммунологически привилегированных тканях организма, в том числе в яичках. Клетки семенников — клетки Сертоли — постоянно вырабатывают высокий уровень Fas-лиганда (FasL) — трансмембранного специфического белка, относящегося к семейству TNF-подобных цитокинов, который, связываясь с Fas-рецептором на поверхности лимфоцитов, запускает сигнал апоптоза лимфоцитов, проникших в паренхиму яичка. Таким образом, роль FasL в яичках заключается в поддержании иммунопривилегированности, а так же в регуляции физиологического апоптоза половых клеток.

Однако, предложена новая функция FasL - функция самозащиты мужской гаметы от антиспермальных активированных лимфоцитов как в мужском, так и в женском половом тракте, т.е. функция иммунопротектора. Поэтому экспрессия FasL на сперматозоидах может быть одним из факторов, повышающим их выживание. В человеческой репродуктивной системе экспрессия FasL остается под вопросом, что диктует необходимость расширения

работы в этом направлении, есть только единичные факты, свидетельствующие о присутствии белка FasL на человеческих сперматозоидах.

Цель исследования состояла в том, чтобы выявить экспрессию FasL на сперматозоидах фертильных и субфертильных мужчин.

Были исследованы образцы эякулятов 46 фертильных и 78 субфертильных мужчин (средний возраст $33,5 \pm 1,0$ лет). Измерение показателей стандартной спермограммы проводили согласно нормативам ВОЗ. Определение экспрессии FasL на сперматозоидах проводилось соответствующими моноклональными антителами с последующей флуоресцентной микроскопией.

Выявлено, что только у 9 из 46 (19,7%) мужчин с нормальными параметрами спермы (более 20×10^6 сперматозоидов/мл; более 50% подвижных; более 14% с нормальной морфологией по «строгим критериям» Kruger-Menkveld) на сперматозоидах экспрессирован FasL. Экспрессии FasL на сперматозоидах субфертильных мужчин обнаружено не было.

Таким образом, результаты исследования выявили различия в экспрессии FasL на сперматозоидах фертильных и субфертильных мужчин. Частичная экспрессия FasL на сперматозоидах фертильных мужчин, может объясняться переводом FasL в его растворимую форму sFasL с помощью специфической металлопротеиназы в период процесса разжижения спермы в течение 30 мин при её подготовке к исследованию. Однако разжижение спермы в норме происходит и в женском половом тракте, что может говорить о существовании альтернативных защитных механизмах для иммунопротекции сперматозоидов в женском половом тракте. Возможно, сперматозоиды экспрессирующие FasL у фертильных мужчин, являются теми клетками, которые участвуют в механизме братоубийственной элиминации через апоптоз Fas-экспрессирующих сперматозоидов, а отсутствие FasL на сперматозоидах у субфертильных мужчин свидетельствует об отсутствии такого механизма, в результате чего, клетки, экспрессирующие Fas и предназначенные к гибели путём апоптоза, избегают этого механизма. Выживание дефектных гамет ухудшает качество спермы.

Таким образом, качество сперматозоидов контролируется не только в течение сперматогенеза, но и после. Поэтому FasL, экспрессирующийся на сперматозоидах, необходим для осуществления обеих функций: для контроля за качеством спермы и для защиты от иммунного наблюдения.

СПОСОБНОСТЬ К АПОПТОЗУ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК ПОД ВЛИЯНИЕМ «СРЕДНИХ МОЛЕКУЛ» СПЕРМОПЛАЗМЫ МУЖЧИН

Плосконос М.В.^{1,2}, Николаев А.А.¹

¹ ГБОУ ВПО Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России, Астрахань, Россия

² Волжская государственная академия водного транспорта, Астрахань, Россия

Роль апоптоза в мужской репродуктивной системе велика, но ощущается недостаток сведений о факторах, вызывающих апоптоз половых клеток и как следствие нарушение фертильности.

Иммунология — та область знаний, в которой роль апоптоза определялась достаточно разносторонне, пото-

му что апоптоз является фундаментальным процессом регулирования иммунной системы. Удобной тест-системой для оценки апоптоза служат лимфоциты периферической крови, т.к. они хорошо изучены в различных отношениях, достаточно резистентны к апоптозу при культивировании в течение 24 часов, индуцировать который, можно только при их активации.

Спермоплазма имеет весьма сложный молекулярный состав, среди компонентов которой, известна фракция под названием — «средние молекулы» (middle molecular substances).

Целью настоящей работы была оценка способности к апоптозу лимфоцитов периферической крови человека после 24-х часовой инкубации с фракцией «средних молекул» (СМ), выделенной из спермоплазмы фертильных и субфертильных мужчин.

Лимфоциты периферической крови 30 здоровых доноров выделяли на градиенте плотности фиколла — верографина, плотностью 1,077 по методу Boyum. СМ-фракцию выделяли из спермоплазмы 22 фертильных мужчин и 30 субфертильных мужчин, состоящих в бесплодном браке, методом Глинского Г.В. и соавт. [1980].

После выделения одну порцию лимфоцитов инкубировали в течение 24 ч с 10^{-8} М фракции СМ спермоплазмы фертильных мужчин (проба 1), другую порцию клеток инкубировали при тех же условиях с СМ-фракцией спермоплазмы субфертильных мужчин (проба 2), а третья порция клеток служила контролем (проба 3).

Апоптоз оценивали с помощью меченного флуоресцеином аннексина V, специфически связывающегося с остатками фосфатидилсерина на мембранах апоптозных клеток, и пропидиума йодида. Количество апоптозных клеток подсчитывали, используя флуоресцентный микроскоп.

Рассчитывался показатель ИА — индекс апоптоза:

ИА = апоптоз в опыте/апоптоз в контроле.

Выявили, что СМ-фракция спермоплазмы фертильных мужчин, добавленная к культивируемым клеткам, ингибировала, хоть и не значительно, спонтанный апоптоз лимфоцитов по сравнению с контролем. Так при инкубации с СМ-фракцией спермоплазмы фертильных мужчин значение показателя ИА было менее 1. Действие СМ-фракции, выделенной из спермоплазмы субфертильных мужчин приводило к увеличению процентной доли клеток с признаками апоптоза по сравнению с контролем (проба 3) и с пробой 1. Значение ИА при этом было выше 1, что свидетельствует о стимулирующем действии «средних молекул» из спермоплазмы субфертильных мужчин.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что СМ, выделенные из спермоплазмы мужчин разной фертильности, оказывают разное влияние на динамику апоптоза культивируемых лимфоцитов. Представляет интерес дальнейшее изучение СМ-фракции спермоплазмы с целью выяснения её роли при формировании так называемой фоновой фертильности эякулята, а так же в создании наиболее благоприятных условий для выживания сперматозоидов и оптимального выполнения ими прокреативной функции.

АКТИВНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ СПЕЦИФИЧНЫХ К HLA ПЛОДА И ВЛИЯНИЕ НА НЕЕ АУТОЛОГИЧНОЙ СЫВОРОТКИ У ЖЕНЩИН ПРИ НОРМАЛЬНОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И УГРОЗЕ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Тренина Т.И., Бушмелева Н.Н., Храмова Т.В.,
Шайдуллина Р., Гумерова Д.Р.

ФГБОУ ВПО «Удмуртский государственный
университет», Ижевск, Россия

ФГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская
академия», Ижевск, Россия

Предполагается, что до 80% случаев репродуктивных потерь неясного генеза обусловлены нарушениями иммунных механизмов, обеспечивающих установление толерантности к эмбриону. Однако в настоящее время взаимоотношения между иммунной системой матери и эмбрионом во многом не известны и дифференциальная диагностика невынашивания иммунной природы не разработана. Данные клинических исследований позволяют предполагать, что для установления толерантности к плоду и успешного вынашивания необходимо распознавание HLA антигенов эмбриона иммунной системой матери, активация лимфоцитов, специфичных к данным антигенам, и установление контроля над последними с участием антиидиотипических антител. Для проверки гипотезы был проведен анализ показателей иммунного ответа женщин на HLA плода при нормально протекающей беременности и угрозе ее прерывания.

В исследовании, проведенном на базе «9 Городская клиническая больница МЗ УР» участвовали небеременные женщины (n=23), беременные с нормально протекающей беременностью (n=32), и женщины, у которых беременность сопровождалась угрозой прерывания (УПБ) (n=25). Все женщины дали информированное согласие на участие в исследовании. Пролиферативную активность лимфоцитов женщин к HLA плода исследовали в односторонней смешанной культуре лимфоцитов с лимфоцитами мужа (СКЛ). Антиидиотипические антитела определяли методом ингибирования пролиферативной активности лимфоцитов женщины в присутствии аутологичной сыворотки в смешанной односторонней культуре лимфоцитов.

Обнаружено, что лимфоциты небеременных женщин пролиферируют в СКЛ с лимфоцитами мужа, а сыворотка 40% женщин ингибирует эту пролиферацию, что указывает на наличие в ней антиидиотипических антител к HLA мужа. Обнаружен также стимулирующий эффект сыворотки женщин на пролиферацию аутологичных лимфоцитов, вызванную HLA мужа (40% образцов). Следовательно, антиидиотипические антитела к HLA присутствуют в сыворотке до беременности и могут не только подавлять, но и стимулировать пролиферацию лимфоцитов, вызванную HLA.

В первом триместре нормальной беременности пролиферативная активность лимфоцитов женщины к HLA плода выше, чем у небеременных. Во втором и третьем - достоверно не отличается от таковой у небеременных женщин. У женщин с диагнозом УПБ как в первом, так и во втором триместре беременности уровень пролиферативной активности к HLA плода, в 2 раза ниже, чем у женщин с нормально протекающей беременностью, а также небеременных женщин. В третьем триместре активность

лимфоцитов у всех исследованных беременных женщин близка к таковой у небеременных женщин. Сыворотка женщин с нормально протекающей беременностью оказывает достоверно более сильный ингибирующий эффект на пролиферативную активность аутологичных лимфоцитов, вызванную лимфоцитами мужа, чем у небеременных женщин. У женщин с УПБ как в первом, так и во втором триместре ингибирующий эффект сыворотки на пролиферативную активность аутологичных лимфоцитов слабее, чем таковой у женщин с нормально протекающей беременностью. В третьем триместре ингибирующий эффект сыворотки беременных женщин в норме не отличается от такового у небеременных. У женщин с диагнозом УПБ в третьем триместре сыворотка не оказывает ингибирующего эффекта на пролиферацию аутологичных лимфоцитов, вызванную лимфоцитами мужа. Таким образом, УПБ ассоциирована со слабой отзывчивостью лимфоцитов женщины на отцовские HLA плода и слабым ингибирующим эффектом антиидиотипических антител к HLA.

ПРИЗНАКИ ИЗБЫТОЧНОЙ СУПРЕССИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ЖЕНЩИН И ИХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ ПРИ НЕДОНОШЕННОСТИ

Фефелова В.В.¹, Лисихина Н.В.², Колоскова Т.П.¹

¹ НИИ медицинских проблем Севера, Красноярск, Россия

² Сибирский юридический институт ФСКН, Красноярск, Россия

Введение: Поскольку для организма беременной женщины плод является полуаллогенным аллотрансплантатом, при беременности формируются различные механизмы защиты плода, среди которых имеет место супрессия иммунной системы беременных женщин. При патологии беременности могут возникать нарушения в сбалансированной системе подавления иммунной активности.

Цель: изучить метаболические параметры клеток иммунной системы, в значительной мере характеризующие функциональное состояние иммунной системы, у новорожденных детей и их матерей при недоношенности.

Материалы и методы: обследовано 205 человек. В лимфоцитах пуповинной крови изучена активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) по методу Р.П. Нарциссова (1969) - ключевого фермента основного метаболического пути клеток, в том числе и клеток иммунной системы, у 65 недоношенных новорожденных и у 62 их матерей. В контрольной группе - у 39 доношенных новорожденных и у 39 их матерей.

Результаты: Нами обнаружено значительное снижение активности СДГ у недоношенных новорожденных (5,1 гранул/кл.) по сравнению с доношенными новорожденными - 9,6 гранул/кл. ($p < 0,001$). Подобные закономерности были выявлены и другими авторами, которые связывали снижение активности СДГ у недоношенных новорожденных с гипоксией (Желев В.А., 2005), поскольку СДГ - митохондриальный фермент, характеризующий работу цикла Кребса, аэробного пути превращения субстратов. Однако нами было обнаружено снижение активности СДГ не только у недоношенных новорожденных, но и у их матерей по сравнению с контролем ($p < 0,001$). Предполагать состояние гипоксии у матерей, родивших недоношенных детей нет никаких оснований.

Заключение: Известно, что процессы супрессии иммунной системы, имеющие место при нормально протекающей беременности, усиливаются при невынашивании. (Никитин А.И. с соавтр.1992; Сухих Г.Т. с соавтр., 2003). Снижение активности СДГ у недоношенных новорожденных может быть обусловлено не только и не столько гипоксией и незрелостью функциональных систем, как это считается многими авторами, сколько нарастанием супрессии иммунной системы, в результате которой подавляется деятельность клеток иммунной системы, в том числе процессы метаболизма этих клеток. Отражением этих процессов может служить снижение активности СДГ в клетках иммунной системы и у матери и у недоношенного ребенка, как это представлено в данной работе. Эти данные, по-видимому, следует учитывать при интерпретации изменений показателей метаболизма клеток иммунной системы у недоношенных детей и выборе методов коррекции выявленных изменений.

ОСОБЕННОСТИ АПОПТОЗА ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ В ЛИМФОЦИТОВ У ЖЕНЩИН С ЗАДЕРЖКОЙ РОСТА ПЛОДА

Фролова М.В., Сотникова Н.Ю.

ФГБУ «Ив НИИ М и Д им. В.Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия

Развитие синдрома задержки роста плода сопровождается нарушением регуляции иммунных реакций и ведет к дисбалансу адаптивного иммунитета, в том числе гуморального. Целью нашей работы было выявить особенности апоптоза периферических В лимфоцитов при беременности, осложненной задержкой роста плода (ЗРП). Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь 55 беременных женщин в сроке 32-36 недель гестации, из них 18 с неосложненным течением беременности и 37 женщин, которым по данным клинических исследований, УЗИ и доплерометрии был поставлен диагноз ЗРП. При рождении диагноз ЗРП подтвердился у 29 женщин, 8 женщин родили детей без признаков ЗРП. Методом проточной цитометрии в популяции CD20+ В-лимфоцитов определяли содержание В1- и В2-лимфоцитов, В клеток, экспрессирующих CD95 и CD95L молекулы; уровень AnnexinV+ В1- и В2-клеток. Мы не обнаружили достоверных различий в содержании В1 и В2 лимфоцитов в сравниваемых группах, однако в группе женщин, родивших детей с ЗРП отмечалась выраженная тенденция к росту CD5+ В лимфоцитов по сравнению с показателями при неосложненной беременности. Во всех сравниваемых группах показатели содержания CD95+CD5- и CD95+CD5+ лимфоцитов не различались и не зависели от массо-ростовых показателей новорожденного. При оценке уровня CD95L+CD5+ и CD95L+CD5- В-лимфоцитов в группе женщин, родивших детей с ЗРП, достоверно повышалось содержание CD95L+CD5- лимфоцитов и имела тенденция к росту CD95L+CD5+ клеток относительно показателей контрольной группы. В то время как в группе женщин с диагнозом ЗРП, впоследствии родивших детей-нормотрофов, уровень CD95L+CD5+ и CD95L+CD5- клеток в популяции CD20+ лимфоцитов достоверно не менялся и соответствовал показателям группы контроля. Представляется вполне вероятным, что рост уровня В2 и В1 клеток, имеющих апоптоз-индуцирующую активность,

отражает нарушение течения естественных процессов апоптоза при ЗРП, в том числе и на уровне фето-плацентарного комплекса. Результаты аннексинового теста показали, что в группе женщин, родивших детей с ЗРП в периферической крови наблюдалось достоверное снижение уровня В2 лимфоцитов и тенденция к снижению уровня В1 клеток, вступивших в апоптоз, по сравнению с показателями контрольной группы. В группе женщин с диагнозом ЗРП, родивших детей с нормативными значениями массо-ростового коэффициента, эти показатели соответствовали таковым в контрольной группе. Кроме того, эта группа отличалась от группы женщин, родивших детей с ЗРП достоверно повышенным показателем содержания AnnexinV+CD5- клеток в популяции CD20+ В-лимфоцитов. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что при ЗРП основные изменения параметров апоптоза В-лимфоцитов происходят в популяции В2 клеток и в максимальной степени проявляются в группе женщин, родивших детей со сниженными показателями массо-ростового коэффициента. Ранее проведенные нами исследования показали при ЗРП усиление функциональной активности В2 лимфоцитов. Установленное нами нарушение апоптоза активированных В-клеток при ЗРП, может определять чрезмерную продукцию антител, в том числе и аутоантител, к тканям плаценты и плода, способствуя развитию патологического процесса.

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ CD34+CD45+ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИЕ ПРЕДШЕСТВЕННИКИ У ЖЕНЩИН С ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ И ОСЛОЖНЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТЬЮ

Хонина Н.А.¹, Черных Н.П.², Сланова С.П.²,
Дударева А.В.², Пронкина Н.В.¹, Пасман Н.М.²

¹ ФБГУ научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии

² Новосибирский Государственный университет; Новосибирск, Россия

Мобилизация костномозговых предшественников (КМП) при различных стресс-индуцирующих воздействиях рассматривается в качестве важного механизма активации репаративных процессов и иммуномодуляции. Недавние исследования показали, что мобилизация КМП выявляется также при беременности, хотя данные о содержании КМП при физиологической и осложненной беременности немногочисленны и противоречивы. Предполагается, что эти клетки могут участвовать в процессах неоваскуляризации. Учитывая иммуномодулирующие свойства КМП, нами было высказано предположение о возможном участии КМП в регуляции иммунных и воспалительных реакций. Целью настоящей работы явилась оценка циркулирующих гемопоэтических предшественников (ГП) при физиологической и осложненной беременности и анализ взаимосвязь между их содержанием и уровнем С-реактивного белка.

В исследование были включены 29 женщин в I триместре физиологической беременности (группа 1), 11 женщин с угрозой самопроизвольного выкидыша (УСВ, группа 2), 16 женщин из группы 1, обследованные повторно в III триместре (группа 3), 13 беременных с тяжелыми формами гестоза (группа 4). Контрольная группа небеременных включала 16 фертильных женщин. На момент исследования у всех беременных отсутствовали

хронические заболевания в стадии обострения, острые инфекционные заболевания, эндокринная патология, тяжелая экстрагенитальная патология. Количественное содержание CD34+CD45+ клеток (ГП) оценивали методом проточной цитометрии с использованием соответствующих антител. Статистическая обработка проводилась с использованием программы «STATISTICA 6.0».

Проведенные исследования не выявили различий в содержании ГП у женщин из группы I и небеременных. Тем не менее, индивидуальный анализ показал, что в 44 % случаев (13/29) содержание ГП у беременных превышало верхнюю границу нормативного диапазона. У беременных с УСВ содержание ГП также значимо не отличалось от такового у небеременных. Индивидуальный анализ выявил повышение содержания ГП у беременных в 36% случаев (4/11). Концентрация СРБ у беременных из групп I и 2 находилась в пределах нормативного диапазона. Сравнение количества CD34+CD45+ клеток в динамике беременности выявило значимое возрастание их содержания по мере увеличения гестационного срока. При этом частота беременных с повышенным уровнем CD34+CD45+ клеток составляла 75% (12/16). В то же время, несмотря на возрастание ГП в III триместре беременности, уровень СРБ в эти сроки не отличался от такового в I триместре. Беременные с гестозом отличались от женщин с неосложненной гестацией достоверно более низким содержанием ГП. Так, возрастание ГП наблюдалось только в 7% случаев. Низкое содержание ГП у беременных с гестозом регистрировалось на фоне повышенного уровня СРБ. Анализ корреляционной зависимости между концентрацией СРБ в сыворотке крови и количеством ГП у женщин в III триместре беременности выявил достоверную обратную взаимосвязь между указанными параметрами ($r_{sp} = -0,46$; $p > 0,05$).

Полученные данные о возрастании количества циркулирующих ГП в динамике физиологической беременности и дефиците этих клеток у женщин с гестозом, а также обратной корреляционной связи между уровнем ГП и концентрацией СРБ у беременных в III триместре расширяет наши представления о феномене мобилизации КМП и свидетельствуют об их возможной патогенетической и прогностической значимости при гестации.

ИЗУЧЕНИЕ НЕТОЗА У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН В СТАРШЕМ РЕПРОДУКТИВНОМ ВОЗРАСТЕ

Чеканов А.В.¹, Мудров В.П.², Стамм М.В.², Баранова О.А.¹, Бабушкин А.В.¹, Клочкова А.В.¹, Соловьева Э.Ю.¹, Федин А.Н.¹, Казаринов К.Д.³, Нелюбин В.Н.⁴

¹ НИЛ биомедицинских исследований в неврологии ГБОУ ВПО «Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

² ФГБУ «9 Лечебно-диагностический центр Минобороны России», Москва, Россия

³ Фрязинский филиал Института радиотехники и электроники (ФИРЭ) им. В.А. Котельникова РАН, Московская область, Фрязино, Россия

⁴ ФГБУЗ «Клиническая больница 123 ФМБА», Московская область, Одинцово, Россия

Нейтрофильные гранулоциты и механизмы взаимодействия с другими клетками играют важную роль в ре-

акциях врожденного и приобретенного иммунитета, а также в поддержании гомеостаза организма в целом. Используя кислород-зависимые и кислород-независимые механизмы, нейтрофилы осуществляют основную функцию фагоцитоза по отношению к биологическим агентам, имеющим корпускулярную структуру (бактериальные и грибковые патогены, клетки простейших, собственные поврежденные клетки и продукты их распада).

Известно, что нейтрофильные гранулоциты после активации выбрасывают во внеклеточное пространство сетеподобные структуры - «нейтрофильные внеклеточные ловушки» (Neutrophil Extracellular Traps, NETs). Нами было проведено исследование процесса нетоза в нейтрофилах, предварительно активированных наночастицами серебра диаметром 25 нм, в двух группах беременных женщин в старшем репродуктивном возрасте с патологией протекания беременности и без патологии.

При помощи методов флуоресцентной и трансмиссионной электронной микроскопии были получены предварительные результаты, указывающие на отличие протекания процесса нетоза в исследуемой группе по сравнению с группой контроля. Используя метод хемилюминесценции было проведено исследование фагоцитарной активности исходных нейтрофилов в двух группах пациентов. Уровень фагоцитарной активности неактивированных нейтрофилов не различался у группы старшего гестационного возраста и группы контроля, тогда как при активации нейтрофилов наночастицами серебра наблюдались достоверные различия.

Полученные предварительные данные позволяют рассмотреть роль нетоза в патологии беременности при преэклампсии и рецидивах потери плода.

ОЦЕНКА НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНДОКРИННОЙ И ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ЖЕНЩИН С СИНДРОМОМ ГИПЕРСТИМУЛЯЦИИ ЯИЧНИКОВ

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

ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России, Екатеринбург

Введение. Синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ) связывают с активацией системы ренин-ангиотензин-альдостерон (РААС), нарушением взаимодействия эндокринной и иммунной систем. Некоторые авторы склонны считать активацию РААС одним из ведущих патологических звеньев развития СГЯ. Другие авторы указывают на первичную роль в патофизиологии СГЯ провоспалительных цитокинов. Высказывается предположение, что секретируемые гиперстимулированными яичниками цитокины могут проникать из фолликулярной жидкости во внутреннюю среду организма (кровь, лимфу, тканевую жидкость) и оказывать свое влияние на системном уровне посредством неоангиогенеза и увеличения сосудистой проницаемости. Вместе с тем, несмотря на имеющиеся в литературе данные, на сегодняшний день нет четкого определения, является ли РААС ведущим фактором, запускающим механизм развития СГЯ, или вовлекается в процесс вторично, также отсутствуют ясные представления, касающиеся причинно-следственных связей в каскаде иммунных реакций, запускающих и сопровождающих СГЯ. **Цель исследования:** оценить маркеры активации системы РААС, содержание эндотелина-1, уровень провоспалительных цитокинов и белков острой фазы у женщин при различной форме синдрома гиперстимуляции

яичников. **Материал и методы.** Обследовано 105 женщин, беременность которых наступила в результате экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), подразделенных в ходе исследования на три группы: 1-я группа – 21 женщина с ранней формой СГЯ умеренной и тяжелой степени, 2-я группа – 28 женщин с поздней формой СГЯ умеренной и тяжелой степени и 3-я группа (сравнения) – 56 женщин, у которых программа ЭКО завершилась наступлением клинической беременности без признаков СГЯ. Показатели функционального состояния эндотелия, уровень гормонов РААС, кортизола и цитокинов определяли методом иммуноферментного анализа. Уровень эндотелина-1 определяли с использованием тест-систем фирмы «Biomedica» (Австрия); концентрацию ренина оценивали с использованием набора фирмы «USCN Life Sciences Inc.» (Китай), ангиотензина II – с применением тест-систем «Peninsula Laboratories» (США), альдостерона – с помощью реактивов фирмы «Diagnostics Biochem Canada Inc.» (Канада), Содержание кортизола оценивали с использованием тест-систем фирмы Beckman Coulter (США) на анализаторе «Access 2», того же производителя, содержание IL-6, IL-8, TNF- α – с применением наборов фирмы «Вектор-Бест» (Россия). Концентрацию гаптоглобина и церулоплазмينا определяли турбидиметрическим методом с использованием реагентов фирмы «Sentinel» (Италия). **Результаты исследования.** Результаты исследования маркеров РААС показали, что у женщин с ранней и поздней формой СГЯ содержание ангиотензина-II статистически значимо превышало аналогичные показатели группы сравнения. Содержание ренина и альдостерона, а также уровень эндотелина-1 у женщин основных групп и группы сравнения были сопоставимы. Гиперактивация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы обуславливает вазоконстрикцию, повышение общего периферического сопротивления сосудов, уменьшение скорости почечной фильтрации и почечного кровотока, следствием чего является активация глюкокортикоидной функции коры надпочечников. По результатам проведенного исследования, у женщин основных групп содержание кортизола статистически значимо превышало аналогичные параметры группы сравнения. Определение уровня провоспалительных медиаторов показало, что содержание IL-6 и TNF- α у пациенток с ранней и поздней формой СГЯ было достоверно выше показателей группы сравнения, а уровень IL-8 у пациенток при поздней форме СГЯ был статистически значимо снижен. Концентрация гаптоглобина у пациенток основных групп не отличалась от аналогичных показателей группы сравнения, а при развитии поздней формы СГЯ регистрировалось статистически значимое снижение уровня церулоплазмينا. Церулоплазмин как реактант острой фазы в неспецифической защите организма выступает в роли сывороточного антиоксиданта – ингибитора перекисного окисления липидов, регулятора уровня биогенных аминов. Снижение концентрации этого острофазного белка в сыворотке крови у женщин с тяжелой формой СГЯ может свидетельствовать о нарушении компенсаторных реакций, направленных на снижение оксидативного стресса. Таким образом, проведенные исследования показали, что наряду с активацией системы РААС, сопряженной с повышенным уровнем провоспалительных цитокинов, существенную роль в патогенезе развития СГЯ играет увеличение содержания кортизола и снижение продук-

ции факторов, обладающих антиоксидантным действием. Вне зависимости от времени формирования синдрома у всех женщин с СГЯ наблюдается повышение уровня ангиотензина II, кортизола, содержания IL-6 и TNF- α . Развитие поздней формы СГЯ ассоциируется со снижением уровня IL-8 и церулоплазмينا, что на фоне повышенной продукции провоспалительных цитокинов может расцениваться как оксидативный стресс.

СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА ПРИ ГЕНИТАЛЬНОМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ: НАРУШЕНИЯ, КОРРЕКЦИЯ

Ярош А.А., Мальцева А.Н., Конопля А.А., Гаврилюк Е.В.

Курский государственный медицинский университет,
Курск, Россия

Введение. Эндометриоз – патологический процесс, характеризующийся разрастанием ткани, родственной эндометрию, вне пределов слизистой оболочки матки. Несмотря на многолетнюю историю его изучения, вопрос о происхождении и патогенезе эндометриоза по-прежнему остается спорным. В настоящее время все активнее внимание гинекологов и клинических иммунологов уделяется состоянию иммуно-метаболического статуса и роли иммунных нарушений в патогенезе эндометриоза. Имеются противоречивые данные о нарушениях системы комплемента у пациенток с аденомиозом, что диктует необходимость изучения изменений показателей системы комплемента на системном и местном уровнях и определение эффективности стандартного лечения в их коррекции.

Цель. Изучение характера нарушений системы комплемента на системном и локальном уровнях у больных генитальным эндометриозом и установление клинико-иммунологической эффективности использования в стандартном лечении сочетания из иммуномодулятора, антиоксиданта и мембранопротектора.

Материалы и методы. Под постоянным наблюдением в Перинатальном центре ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа» находилось 44 пациентки в возрасте 20-40 лет с верифицированным диагнозом внутренний генитальный эндометриоз (ГЭ) 2 стадии. У 20 больных проведено стандартное лечение, включавшее антибактериальную, противовоспалительную, антимикотическую фармакотерапию. 24 пациентки дополнительно к стандартному лечению получали по схеме циклоферон, цитофлавин, фосфоглив. Контрольная группа состояла из 15 доноров того же возраста. Количественная оценка уровней C3, C3a, C5, C5a, C4-компонентов комплемента, фактора Н и C1-ингибитора (C1-инг.) в плазме крови и цервикально-влагалищном смыве проводилась методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Основные результаты. У больных ГЭ при поступлении в стационар в плазме крови выявлено повышение уровня C3, C4, C5, C3a, C5a-компонентов комплемента и их регуляторов – фактора Н и C1-ингибитора. На фоне проводимого комплексного лечения у пациенток с ГЭ в плазме крови снижается, но не до уровня здоровых доноров, концентрация C3, C4-компонентов комплемента. В вагинально-цервикальном смыве установлено повышение концентрации всех изученных компонентов комплемен-

та. Использование стандартного комплексного лечения полностью нормализует на локальном уровне лишь содержание C5 и частично – C3, C3a-компоненты системы комплемента. Использование циклоферона цитофлавина и фосфоглива у пациенток с ГЭ позволило нормализовать в плазме крови уровень C5a, C4, C3, а в вагинально-цервикальном смыве концентрацию C4 компонентов комплемента. Таким образом, использование препаратов с иммуномодулирующими, антиоксидантными мембранопротекторными эффектами у пациенток с аденомиозом позволило корректировать и нормализовать большинство нарушенных показателей системы комплемента на системном и местном уровне, что необходимо использовать при разработке эффективных способов фармакологической иммунореабилитации пациенток с данной нозологией.

Заключение. Таким образом, у пациенток с ГЭ на момент поступления в стационар выявлена активация системы комплемента, как на системном уровне (в крови), так и на местном (в цервикально-вагинальном смыве). В настоящее время считается доказанным, что выживание и имплантация жизнеспособных фрагментов эндометрия в перитонеальной поверхности обусловлены нарушениями локального иммунного ответа. Анализируя полученные результаты, определена недостаточная эффективность использования стандартного лечения в коррекции нарушений системы комплемента у пациенток с ГЭ, особенно на локальном (местном) уровне, что обосновывает необходимость в дополнении к стандартному лечению использование препаратов с иммунокорректирующими, антиоксидантными и мембранопротективными свойствами.