

бирск.– 2008.– С.70–71.

2. Читава И.Г., Борзова Н.Ю., Сотникова Н.Ю., Крошкина Н.В. Роль регуляторных цитокинов IL-10 и TGF $\beta$ 2 в досрочном прерывании беременности на поздних сроках // Аллергология и иммунология. –2009.– т.1, № 2.– С.250

3. Борзова Н.Ю., Читава И.Г., Сотникова Н.Ю., Крошкина Н.В. Особенности содержания противовоспалительного ци-

токина TGF $\beta$ 2 при угрозе преждевременных родов и влияние на него транскраниальной электростимуляции// Всероссийский Конгресс «Амбулаторно – поликлиническая практика – новые горизонты», 2010 – С.50–51

#### Список сокращений

ИФА – иммуноферментный анализ

ТЭС – транскраниальная электростимуляция

IL – интерлейкин

TGF $\beta$  – трансформирующий фактор роста бета

IgA – иммуноглобулин класса А

IgG – иммуноглобулин класса G

IgM – иммуноглобулин класса М

#### Сведения об авторах:

Читава И.Г., кандидат мед. наук, «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России

153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20. Тел.: +7 (4932) 33-62-63.

#### About the authors:

Chitava I.G., Candidate of Medicine, Ivanovo Research Institute of motherhood and the childhood name V.N. Horodkova of Ministry of health of Russia.

Pobedy Street 20, Ivanovo, 153045, Russia. Tel.: +7 (4932) 33-62-63.

#### Лепилова И.Б.

## Функциональная активность CD56+ естественных киллеров при угрозе невынашивания беременности ранних сроков и влияние на нее сохраняющей терапии

«Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России

Актуальность проблемы невынашивания беременности (НБ) в современном акушерстве неоспорима и по-прежнему остается одной из наиболее сложных и социально значимых. В настоящее время в связи с широким развитием возможностей иммунологии репродукции изучение иммунологических аспектов беременности и ее невынашивания стало одним из самых актуальных и перспективных, и все больше исследователей приходят к выводу о тесной взаимосвязи и взаиморегуляции между эндокринной и иммунной системами, реализующейся на различных этапах репродуктивной функции беременности. Целью исследования являлась оценка функции ЕК у женщин с угрозой невынашивания беременности ранних сроков и разработка прогностических критериев угрожающих преждевременных родов с оценкой влияния сохраняющей терапии на функцию ЕК. Установлено, что для прогнозирования рецидива угрожающих преждевременных родов у женщин с угрозой невынашивания ранних сроков в 6-12 недель гестации необходимо определять соотношения показателей относительного содержания CD25+ к IL-2 лимфоцитам в периферической крови. При значении соотношения равном или более 1,0 прогнозируют развитие угрожающих преждевременных родов.

**Ключевые слова:** невынашивание беременности, ЕК, CD56+, Дюфастон.

#### Lepilova I.B.

## The functional activity of CD56+ natural killer threatened miscarriage early dates and influence of the preserving therapy

Ivanovo Research Institute of mother and child name of Horodkov V.N. of Ministry of Health of Russia

The relevance of miscarriage in modern obstetrics is undeniable and still remains one of the most complex and socially significant. Currently, due to the extensive development opportunities immunology of reproduction study of the immunological aspects of pregnancy and her miscarriage has become one of the most important and promising, and more and more researchers come to the conclusion that the close relationship and interactive regulation between the endocrine and immune systems, which is realized at different stages of reproductive function gestation. Aim of this study was to evaluate the function of natural killer cells in women with threatened miscarriage early pregnancy and development of prognostic criteria for threatening preterm labor with assessing the effects of therapy on the function of preserving the natural killer cells. It was established that for the prediction of recurrence threatening preterm birth in women with threatened miscarriage in early terms of 6-12 weeks of gestation is necessary to determine the ratio of performance relative to the content of CD25 + IL-2 in peripheral blood lymphocytes. If the value of the ratio is equal to or greater than 1.0 predict the development of threatening preterm birth.

**Key words:** miscarriage, EC, CD56+, duphaston.

**А**ктуальность проблемы невынашивания беременности (НВ) в современном акушерстве неоспорима и по-прежнему остается одной из наиболее сложных и социально значимых. Частота этой патологии по различным литературным источникам составляет от 5,3 до 20%, т.е. практически каждая 5-я беременность заканчивается самопроизвольным выкидышем или преждевременными родами. Еще более значимой проблему НВ делают современный низкий уровень рождаемости: – 9,8% (2002), 10,4% (2004), 10,1% (2006), не обеспечивающий воспроизводство населения, снижение уровня повторных родов с 51 до 41%, уменьшение доли детей с 22,6% (2002) до 20,9% (2006), что обуславливает негативные тенденции, грозящие демографическими спадами и в дальнейшем. На протяжении последних лет снижается число беременностей (в 2002 г. – 3 млн. 200 тыс., в 2006 г. – 3 млн. 160 тыс.), число бесплодных супружеских пар остается стабильно высоким – 4–5 млн. Недонашивание беременности – одна из основных причин перинатальной заболеваемости и смертности. Около половины всех случаев мертворождений, ранней неонатальной и младенческой смертности приходится на долю недоношенных детей. Поэтому в сложившейся ситуации крайне важно сохранить каждую беременность, обеспечив рождение здорового ребенка.

В настоящее время в связи с широким развитием возможностей иммунологии репродукции изучение иммунологических аспектов беременности и ее невынашивания стало одним из самых актуальных и перспективных, и все больше исследователей приходят к выводу о тесной взаимосвязи и взаиморегуляции между эндокринной и иммунной системами, реализующейся на различных этапах репродуктивной функции.

В настоящее время имеется большое количество гипотез, пытающихся объяснить феномен неотторжения генетически и иммунологически чужеродного плода. Опираясь на иммунологические теории взаимоотношений мать-плод, можно выделить основные аспекты иммунологии невынашивания беременности. В последние годы установлено, что неосложненная беременность сопровождается активацией лимфоцитов, в том числе и клеток с цитотоксической

активностью ЕК имеют важное значение в формировании децидуальной оболочки и развитии нормальной беременности. Нарушение функции или количества ЕК ассоциируется с бесплодием неясного или иммунного генеза, невынашиванием, а также преэклампсией, синдромом задержки развития плода и эндометриозом. В то же время, несмотря на большое число работ, посвященных роли ЕК при беременности, а особенно при угрозе ее прерывания остается неясной.

Согласно последним литературным данным, одним из основных гормонов, который ингибирует, опосредованно через Т-лимфоциты, реакцию отторжения плода является прогестерон. Известно, что на поверхности НК-клеток находятся так называемые киллер-активирующие и киллер-ингибирующие рецепторы. В результате взаимодействия прогестерона с рецепторами Т-клетки продуцируют прогестерон индуцированный блокирующий фактор (PIBF), который, воздействуя на НК-клетки, смещает иммунный ответ матери на эмбрион в сторону Th -2 типа. При низком содержании прогестерона вырабатывается мало (PIBF), и происходит чрезмерная активация натуральных киллеров. Однако, изучение не только содержания, но и функциональной активности естественных киллеров как на системном, так и на локальном уровне ранее не проводилось. Рандомизированные исследования по значимости тех или иных иммунологических аспектов невынашивания практически отсутствуют.

К настоящему времени нет единого мнения о целесообразности применения различных препаратов в составе терапии угрозы невынашивания беременности ранних сроков.

Целью исследования явилась оценка функции ЕК у женщин с угрозой невынашивания беременности ранних сроков и разработка прогностических критериев угрожающих преждевременных родов с оценкой влияния сохраняющей терапии на функцию ЕК.

#### Материал и методы исследования

В условиях акушерской и гинекологической клиник обследованы 100 беременных женщин со сроком гестации 6–12 недель, и далее прослеживался исход беременности.

В зависимости от характера течения беременности, (наличие или отсутствие угрозы прерывания беременности),

принципов медикаментозной терапии, исходов беременности выделены следующие клинические группы женщин:

– с угрозой прерывания беременности в первом триместре – I группа (n=50), из них:

– беременные, получающие в комплексном лечении угрозы прерывания «Дюфастон» – IA подгруппа (n=25);

– беременные, не получающих в комплексном лечении угрозы прерывания «Дюфастон» – IB подгруппа (n=25);

– с начавшимся самопроизвольным выкидышем I триместра – II группа (n=23).

– без угрозы прерывания в первом триместре беременности (идущие на медицинский аборт по желанию) – контрольная группа (n=27).

Материалом для исследования пациенток служила периферическая венозная кровь и децидуальная ткань плаценты, которую получали при медицинском аборте и самопроизвольном выкидыше. Образцы децидуальной ткани немедленно помещали в физиологический раствор и в течение 15–20 мин. доставляли в лабораторию клинической иммунологии «Ивановского НИИ материнства и детства им. В.Н.Городкова Росмедтехнологий». Все пациентки были обследованы на ВУИ методом ИФА и ПЦР. Наличие активной инфекции у женщин всех обследуемых групп служило критерием исключения.

Все беременные I группы получали комплексную терапию угрозы прерывания беременности. Пациенткам IA подгруппы в комплексную терапию дополнительно был включен препарат «Дюфастон» по 10 мг x 2 раза в день. Беременные с угрозой прерывания обследовались дважды: до начала проводимой терапии и через 2–3 недели после ее начала, а II и контрольной группы – однократно до инструментального опорожнения полости матки.

Выделение мононуклеарных клеток из децидуальной оболочки плаценты осуществляли безферментативным способом.

Выделение мононуклеарных клеток из периферической крови осуществлялось стандартным способом.

Получение экстрактов децидуальной ткани осуществлялось следующим способом: фрагменты децидуальной ткани отмывали от крови и от клеток трофобласта физиологическим раствором, перемешивая на магнитной мешалке в течение 15

минут. Кусочки децидуальной ткани подсушивали на фильтровальной бумаге, взвешивали и гомогенизировали с использованием гомогенизатора до однородной массы. К полученному гомогенату добавляли PBS в объеме равном изначальной массе децидуальной ткани (на 1 г ткани – 1 мл PBS). Взвесь помещали в пластиковые пробирки Falcon и подвергали замораживанию при  $-20^{\circ}\text{C}$  в течение суток. Гомогенат размораживали, фильтровали через 8 слоев плотной марли и ультрацентрифугировали 30 мин при 4000 об/мин при температуре  $+4^{\circ}\text{C}$ . Надосадочную жидкость разливали мелкими аликвотами и замораживали при  $-20^{\circ}\text{C}$  до проведения иммуноферментного анализа.

Поверхностный фенотип клеток и внутриклеточную экспрессию цитокинов определяли с помощью моноклональных антител (mAT) методом двухцветной проточной цитофлуориметрии на приборе FACScan.

Спонтанную внутриклеточную продукцию цитокинов оценивали непосредственно в только что выделенных фракциях клеток. Процедуру внутриклеточного окрашивания проводили в соответствии с инструкциями фирмы-производителя, используя коммерческий набор FIX & PERM cell permeabilization kit (CALTAG Laboratories, США) для пермеабилзации клеточной мембраны. Внутриклеточную продукцию цитокинов оценивали в общей популяции лимфоцитов (IL-2+, IFN $\gamma$ + лимфоциты).

Содержание цитокинов в крови и в экстрактах децидуальной ткани оценивали методом ELISA на микропланшетном ридере Multiscan EX Labsystems (Финляндия).

Статистическая обработка данных проводилась с расчетом среднего арифметического и ошибки среднего арифметического с использованием программы Microsoft Excel Microsoft Office 2000.

## Результаты исследования и их обсуждение

Возраст обследуемых женщин колебался от 15 до 40 лет, подавляющее большинство женщин основных и контрольной групп было в возрасте 21–27 лет, т.е. в активном репродуктивном периоде. Однако, в группе женщин с угрозой прерывания беременности достоверно чаще встречались пациентки старшего репродуктивного возраста ( $>36$  лет) – в 4,0% ( $p<0,05$ , по сравнению с группой контроля).

Также было установлено, что в группу с угрозой прерывания беременности чаще по сравнению с группой контроля входили служащие 38 и 11,1% ( $p<0,01$ ); и пациентки с высшим образованием 42 и 11,1% соответственно ( $p<0,01$ ).

При оценке семейного положения установлено, что число пациенток, находящихся вне брака, было достоверно выше во II клинической группе по сравнению с группой контроля: 47,8 и 18,5% соответственно, ( $p<0,05$ ), что согласуется с данными литературы о неблагоприятном влиянии данного фактора на течение и исход беременности.

При проведении анализа данных акушерско-гинекологического анамнеза установлено, что I и II основные группы по количеству первородящих достоверно не отличались от контроля: 76, 43,5 и 63% соответственно ( $p>0,05$ ); медицинских аборт в анамнезе: 38, 69,6, и 55,6%, соответственно ( $p>0,05$ ). Однако, самопроизвольные выкидыши в анамнезе достоверно чаще по сравнению с контролем отмечены у пациенток с угрозой прерывания беременности: 20 и 8,7% соответственно ( $p<0,05$ ). Случаев привычного невынашивания беременности у женщин всех клинических групп не было. Также фактором исключения из обследования служила гиперандрогения.

Гинекологическими заболеваниями достоверно чаще страдали пациентки I и II клинических групп по сравнению с контрольной: 66, 87 и 27% соответственно, ( $p<0,001$  в обоих случаях).

Наиболее часто выявлялись воспалительные заболевания внутренних половых органов, которые достоверно чаще имели место у пациенток I и II основных групп по сравнению с контролем (36, 34,8 и 11,1%, ( $p<0,02$  в обоих случаях, соответственно).

Также у пациенток с угрозой прерывания беременности достоверно чаще по сравнению с контролем гинекологический анамнез был отягощен эндометриозом (12 и 4,4% соответственно,  $p<0,02$ ) и бесплодием (16 и 0% соответственно,  $p<0,01$ ).

Таким образом, анализ акушерско-гинекологического анамнеза подтверждает литературные данные о роли нарушений репродуктивной функции и воспалительного фактора на развитие угрозы прерывания беременности.

Экстрагенитальная патология в анамнезе была выявлена у 90% женщин I основной клинической группы, у 34,8%

– во II, и у 44,4% пациенток – в группе контроля ( $p<0,001$  и  $p>0,05$  соответственно по сравнению с контролем).

У женщин с угрозой невынашивания беременности достоверно чаще, чем в контрольной группе выявлялись: хронический пиелонефрит (24 и 0% соответственно,  $p<0,001$ ); диффузное увеличение щитовидной железы: (18 и 7,4% соответственно,  $p<0,02$ ); НЦД по гипотоническому типу: (14 и 3,7% соответственно,  $p<0,02$ ); ожирение: (14 и 3,7% соответственно,  $p<0,02$ ).

Важным аспектом, проанализированным нами, явилась оценка течения беременности после перенесенной угрозы прерывания и ее исход. Однако, поскольку беременность у пациенток II и контрольной групп завершилась в I триместре, дальнейшее течение беременности и родов было проанализировано только у женщин I клинической группы.

Последующее течение беременности осложнилось рецидивом угрозы прерывания во II триместре у 60% беременных I группы, в том числе у 68% – пациенток IA подгруппы и у 52% – IB подгруппы, ( $p>0,05$ ). В третьем триместре частота угрозы прерывания беременности среди пациенток I A и I B подгрупп составила 40 и 44% соответственно, ( $p>0,05$ ).

ФПН выявлялась в обеих подгруппах с одинаковой частотой – 40%, ( $p>0,05$ ). Нарушение продуцирования околоплодных вод в виде много- и маловодия отмечалось лишь в 4% и только среди пациенток, не получающих в комплексном лечении препарат «Дюфастон». Как следствие ФПН, а также ряда других неблагоприятных факторов у 48% пациенток I A подгруппы развилась хроническая внутриутробная гипоксия плода, в I B подгруппе частота данной патологии составила 40%, ( $p>0,05$ ). Отставание фетометрических показателей у плодов как в I A, так и во I B подгруппах было выявлено в 8% случаев ( $p>0,05$ ). Развитие такого осложнения беременности, как гестоз, отмечено у 48% беременных обеих подгрупп. При анализе частоты развития гестоза было установлено, что в I A подгруппе чаще развивалась водянка: в 40% случаев, а в I B – нефропатия: в 20%, ( $p>0,05$ ).

Таким образом, наше исследование подтверждает данные литературы о высокой частоте различных осложнений беременности после перенесенной угрозы прерывания беременности в I триместре.

У 76% пациенток I группы беременность завершилась своевременными родами, в том числе: у 88% пациенток, получающих препарат «Дюфастон», и лишь у 64% пациенток I Б подгруппы, ( $p < 0,05$ ).

Досрочное прерывание беременности среди женщин основной группы произошло в 24% случаев, т.е. практически у каждой четвертой. В I А подгруппе преждевременные роды произошли у 8% пациенток, самопроизвольные выкидыши у – 4%. Среди пациенток I Б подгруппы невынашивание беременности отмечалось в 3 раза чаще, чем среди пациенток, получающих в комплексном лечении препарат «Дюфастон»: преждевременные роды были у 24% женщин ( $p < 0,05$ ), самопроизвольные выкидыши у 12% ( $p < 0,05$ ).

Достоверных различий в частоте осложнений родов и послеродового периода между пациентками I А и I Б подгрупп выявлено не было.

Высокая частота различных осложнений беременности, а особенно, угрозы ее прерывания, отклонения от нормального течения родов не могут не сказаться на состоянии здоровья плода и новорожденного.

С перинатальной патологией родились 43,5% детей I группы, в том числе больными родились 59,1% новорожденных из I Б подгруппы, и 37,5% – из I А подгруппы, ( $p < 0,05$ ). В состоянии асфиксии легкой и средней степени тяжести родилось 37,5% детей I А подгруппы, а среди детей I Б этот показатель оказался выше и составил 59%, ( $p < 0,05$ ). Развитие конъюгационной желтухи отмечено у 8,3% новорожденных I А подгруппы и у 22,7% детей I Б подгруппы ( $p < 0,05$ ). На долечивание на второй этап выхаживания новорожденных и другие стационары было переведено 37% детей первой группы, из них – 29,2% детей из I А подгруппы, и 45,4% из I Б подгруппы, ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, нами было установлено, что в подгруппах женщин, получивших и не получивших в комплексном лечении угрожающего выкидыша препарат «Дюфастон», достоверных различий в дальнейшем течении беременности, в частности, рецидива угрозы прерывания, гестоза, ФПН, ХВУГП, много- и маловодия не было. Однако, в ходе проведенного исследования выявлено, что в группе пациенток, принимающих в комплексном лечении препарат «Дюфа-

стон», в 3 раза реже отмечено досрочное прерывание беременности, а уровень здоровья новорожденных у пациенток этой подгруппы был достоверно выше, по сравнению с подгруппой женщин, не получавших «Дюфастон».

В последние годы установлено, что неосложненная беременность сопровождается активацией лимфоцитов, в том числе и клеток с цитотоксической активностью. Одной из наиболее важных популяций лимфоцитов с цитотоксической активностью является популяция ЕК. У человека ЕК составляют около 15% всех циркулирующих лимфоцитов и около 70% децидуальных лейкоцитов в первом триместре беременности. Нами проведена оценка содержания CD56+ ЕК и их функциональной активности на системном (периферической крови) и локальном (децидуальная оболочка плаценты) уровнях у беременных I триместра при самопроизвольном выкидыше, угрозе прерывания беременности и при физиологическом течении гестационного процесса.

Нами было установлено, что при самопроизвольном выкидыше I триместра в периферической крови женщин было выше, чем у женщин контрольной группы, количество CD56+ ЕК ( $p < 0,001$ ). Одновременно в периферической крови пациенток отмечалось более высокое, чем при физиологически протекающей беременности, содержание CD56+ ЕК, экспрессирующих рецепторы к IL-2 и IFN $\gamma$  ( $p < 0,001$  в обоих случаях). Кроме того, анализ полученных данных показал, что у женщин при СВ отмечался более высокий уровень CD56+ ЕК, внутриклеточно синтезирующих IL-2 и IFN $\gamma$  ( $p < 0,01$  и  $p < 0,05$  соответственно). Однако при данной патологии не было выявлено изменений в сывороточном содержании IL-2 и IFN $\gamma$  ( $p > 0,05$  в обоих случаях).

IL-2 является одним из цитокинов Th-1 типа, действие которого при беременности до конца еще не установлено, а данные об его продукции при беременности противоречивы. Вероятно, усиленная продукция иммунокомпетентными клетками IL-2 в начале беременности, особенно на системном уровне, является физиологичной, и определяет формирование специфического иммунного ответа матери на антигены плода. Снижение продукции IL-2 у женщин с угрозой прерывания беременности может приводить к извращению реакции материнской иммунной системы на развивающийся плод

и, по-видимому, может быть одним из неблагоприятных факторов, обуславливающих включение механизмов досрочного прерывания беременности.

Кроме того, нами установлено, что у женщин с СВ I триместра значительно возросло количество лимфоцитов с рецепторами к IL-2 и к IFN $\gamma$  (CD25+ и CD119+ клетки соответственно) ( $p < 0,001$  в обоих случаях). У женщин, беременность которых закончилась самопроизвольным выкидышем, был выше, чем у женщин с неосложненной беременностью, уровень периферических лимфоцитов, внутриклеточно продуцирующих IL-2 и IFN $\gamma$  ( $p < 0,01$  и  $p < 0,05$  соответственно).

Нами установлено, что показатель соотношения периферических CD25+/IL2+ лимфоцитов у беременных женщин с угрозой невынашивания в I триместре может служить прогностическим критерием угрозы преждевременных родов. На основании проведенного исследования разработан «Способ прогнозирования угрожающих преждевременных родов у женщин с угрозой невынашивания ранних сроков» (патент № 2344424 от 20 января 2009 года). Так, при значении данного соотношения равном или более 1,0 прогнозируется развитие угрожающих преждевременных родов. Точность заявляемого способа составила 82,6%, специфичностью 76,9%, чувствительностью 90%.

В ходе настоящего исследования было также установлено, что в норме и при СВ на ранних сроках беременности CD56+ клетки составляли доминирующую популяцию в лимфоцитарном инфильтрате децидуальной оболочки плаценты. Однако, при развитии СВ уровень децидуальных ЕК с фенотипом CD56+ достоверно снижался ( $p < 0,01$ ).

Выявленные нами изменения количественных характеристик CD56+ лимфоцитов децидуальной оболочки плаценты происходили на фоне увеличения содержания в децидуальной оболочке плаценты CD56+ ЕК, экспрессирующих низкоафинные рецепторы к IL-2, по сравнению с таковыми при неосложненной беременности I триместра ( $p < 0,001$ ). Однако следует отметить, что при данной патологии содержание децидуальных CD56+ ЕК, несущих на своей поверхности рецепторы к IFN $\gamma$  (CD56+CD119+ клетки), не отличалось от такового при физиологической беременности ( $p > 0,05$ ).



Нами также было установлено, что при самопроизвольном выкидыше I триместра на ранних сроках было достоверно выше, чем при неосложненной беременности тех же сроков, количество децидуальных CD56+ лимфоцитов, внутриклеточно продуцирующих как IL-2, так и IFN $\gamma$  ( $p < 0,05$  и  $p < 0,01$  соответственно).

Параллельно нами было также установлено, что при самопроизвольном выкидыше в лейкоцитарном инфильтрате децидуальной оболочки плаценты заметно возрастало общее число лимфоцитов, несущих на своей поверхности рецепторы к IL-2 и IFN $\gamma$ , по сравнению с таковым при физиологической беременности ( $p < 0,05$  в обоих случаях).

Высокий уровень клеточных популяций, внутриклеточно продуцирующих те или иные цитокины, не является абсолютным показателем их активности, так как определяет лишь потенциальные возможности клеток, но не учитывает роль активационных и ингибирующих сигналов, определяющих интенсивность продукции и секрецию цитокинов в ткани в целом. В связи с этим, нас интересовало исследование содержания изучавшихся цитокинов в экстрактах децидуальной оболочки плацент I триместра при неосложненной беременности и самопроизвольном выкидыше. Как видно из результатов проведенного исследования, концентрация IL-2 в экстрактах децидуальной ткани при самопроизвольном выкидыше была достоверно выше, чем при физиологической беременности I триместра ( $p < 0,05$ ). Кроме того, нами было установлено, что самопроизвольное прерывание беременности характеризовалось более высоким содержанием IFN $\gamma$  в экстрактах децидуальной оболочки плаценты по сравнению с таковым в те же сроки неосложненной беременности ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, наши данные показали, что при развитии самопроизвольного выкидыша в I триместре беременности в децидуальной оболочке плаценты происходило изменение количества и функции CD56+ ЕК, повышалось содержание IL-2 и IFN $\gamma$ .

Несомненный интерес представляет сравнение изменений в содержании и функциональной активности CD56+ ЕК при самопроизвольном выкидыше и угрозе невынашивания I триместра, не завершившейся самопроизвольным выкидышем.

У женщин с угрозой невынашивания I триместра по сравнению с показателями женщин с неосложненной беременностью тех же сроков отмечалось увеличение в крови содержания CD56+ ЕК ( $p < 0,001$ ). Однако параметры, характеризующие функциональную активность CD56+ ЕК, практически не отличались от таковых у женщин контрольной группы ( $p > 0,05$  во всех случаях).

В то же время, у них отмечались изменения функциональной активности периферических лимфоцитов. У женщин с угрозой невынашивания ранних сроков был выше, чем у женщин контрольной группы, уровень лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы к IL-2 ( $p < 0,01$ ) и усиливалась внутриклеточная продукция IL-2 и IFN $\gamma$  лимфоцитами периферической крови ( $p < 0,001$  и  $p < 0,01$ , соответственно).

При самопроизвольном выкидыше I триместра было выше, чем при угрозе невынашивания тех же сроков, не сопровождавшейся самопроизвольным выкидышем, содержание в крови CD25+, CD119+ лимфоцитов ( $p < 0,001$  в обоих случаях), а также количество лимфоцитов, внутриклеточно продуцирующих IL-2 и IFN $\gamma$  ( $p < 0,001$  в обоих случаях). У них также выше был уровень CD56+ ЕК ( $p < 0,05$ ), а также уровень CD56+ ЕК, осуществляющих рецепцию ( $p < 0,001$  в обоих случаях) и внутриклеточную продукцию IL-2 и IFN $\gamma$  ( $p < 0,001$  и  $p < 0,05$ , соответственно).

Таким образом, изменения в содержании и функциональной активности ЕК при самопроизвольном выкидыше и угрозе невынашивания в I триместре были сходными, но более выраженными при самопроизвольном выкидыше, чем при угрозе невынашивания беременности, не сопровождавшейся самопроизвольным выкидышем. По-видимому, углубление изменений в содержании и функции CD56+ ЕК может способствовать нарушению местного иммунного гомеостаза и самопроизвольному прерыванию беременности.

Согласно последним исследованиям в области медицины, на сегодняшний день в мире нет ни одного основанного на постулатах доказательной медицины лекарства, реально пролонгирующего беременность. Учитывая вышеприведенные данные, для сохранения беременности необходим лекарственный препарат, который ингибирует реакцию отторжения плода, опосредованную через Т-

лимфоциты. В этом вопросе данные Радзинского В.Е. (2009г.) полностью солидарны с результатами, полученными Сидельниковой В.М. о том, что именно такими свойствами обладает ретропрогестерон – «Дюфастон». Препарат «Дюфастон», увеличивая синтез прогестерониндуцирующего блокирующего фактора (PIBF), играет роль блокатора интерлейкинового каскада, что обуславливает его применение в лечении угрозы прерывания беременности в ранние сроки. Иммунологические эффекты ПИБФ затрагивают как клеточные, так и гуморальные иммунные механизмы. В последнее время «Дюфастон» получил широкое применение в акушерской практике.

Дюфастон – это препарат, иммунологическое действие которого подтверждено в официальных международных исследованиях и который целесообразно применять не для восполнения чаще всего мифического «дефицита» прогестерона, а для блокады интерлейкинового каскада. Проведенные нами исследования подтверждают иммуномодулирующее действие «Дюфастона». Установлено, что после проведенного курса сохраняющей терапии с применением препарата «Дюфастон» отмечалось достоверное снижение уровня в крови CD56+ ЕК по сравнению с таковым до лечения ( $p < 0,05$ ), хотя их содержание и не достигало показателей контрольной группы ( $p < 0,01$ ). Традиционная сохраняющая терапия без включения препарата «Дюфастон» не влияла на уровень CD56+ ЕК ( $p > 0,05$ ). После проведенного курса лечения с включением препарата «Дюфастон» происходила нормализация уровня CD56+ ЕК, экспрессирующих рецепторы к IL-2 и IFN $\gamma$  ( $p < 0,05$  в обоих случаях). Помимо этого, отмечалась нормализация содержания общего пула лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы к IL-2, ( $p < 0,05$ ). После проведенного лечения с применением препарата «Дюфастон» в крови наблюдалось снижение содержания CD56+ ЕК, внутриклеточно продуцирующих IFN $\gamma$  ( $p < 0,05$ ), при этом уровень CD56+IFN $\gamma$ + клеток становился достоверно ниже, чем в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). Одновременно после курса терапии с включением препарата «Дюфастон» происходила нормализация и общего содержания в крови лимфоцитов, внутриклеточно продуцирующих IFN $\gamma$  ( $p < 0,01$ ) и IL-2 ( $p < 0,001$ ). Отмеченное нами нормализующее влияние препарата «Дюфас-

тон» на уровень внутриклеточной продукции IL-2 и IFN $\gamma$  следует рассматривать как позитивное и, вероятно, обуславливающее клиническую эффективность препарата. Как особо положительный момент, следует рассматривать нормализующее влияние препарата «Дюфастон» на внутриклеточную продукцию IFN $\gamma$ , поскольку хорошо известно, что IFN $\gamma$  оказывает эмбриотоксическое действие. Таким образом, полученные нами результаты позволяют сделать вывод о том, что применение препарата «Дюфастон» приводит к нормализации цитокинового каскада у женщин с угрозой невынашивания на ранних сроках гестации, снижает изначально высокую системную продукцию IFN $\gamma$ , что, по-видимому, снимает блок продукции цитокинов Т-хелперами и способствует повышению продукции IL-2.

Суммируя полученные результаты, можно прийти к следующему заключению. Угроза прерывания беременности в I триместре ассоциируется с изменением количества и функциональной активности CD56+ ЕК в периферической крови, которые более выражены при самопроизвольном выкидыше. В децидуальной оболочке плаценты при раннем самопроизвольном выкидыше происходит снижение количества CD56+ ЕК на фоне повышения их функциональной активности и увеличения концентрации IL-2 и IFN $\gamma$  в экстрактах децидуальной ткани. Включение препарата «Дюфастон» в комплексную терапию угрозы невынашивания беременности ранних сроков приводит к нормализации количества и функции периферических CD56+ ЕК, способствует снижению частоты невынашивания беременности. Повышение соотношения CD25+/IL-2+ лимфоцитов в периферической крови женщин с угрозой невынашивания беременности I триместра является критерием угрожающих преждевременных родов.

#### Выводы

1. Для прогнозирования рецидива угрожающих преждевременных родов у

женщин с угрозой невынашивания ранних сроков в 6–12 недель гестации необходимо определять соотношения показателей относительного содержания CD25+ к IL-2 лимфоцитам в периферической крови.

2. При значении соотношения равном или более 1,0 прогнозируют развитие угрожающих преждевременных родов.

#### Литература

1. Борзова Н.Ю., Посисеева А.В., Бойко Е.А., Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Кудряшова А.В., Лепилова И.Б. Влияние препарата ДЮФАСТОН на цитокиновый профиль беременных с угрозой невынашивания беременности ранних сроков – Журнал РОАГ.–2006.– №4.–с.11–12.
2. Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Крошкина Н.В., Борзова Н.Ю., Лепилова И.Б. Влияние препарата Дюфастон на цитокиновый профиль при невынашивании беременности ранних сроков – Russian Journal of Immunology.– 2006.–V. 9, Suppl.3.– P.119–120.
3. Крошкина Н.В., Сотникова Н.Ю., Борзова Н.Ю., Лепилова И.Б. Характеристика синтеза и продукции цитокинов у женщин с угрозой невынашивания беременности ранних сроков – Медицинская иммунология.– 2006. – Том 8. – № 2–3. – С.312.
4. Крошкина Н.В., Сотникова Н.Ю., Борзова Н.Ю., Лепилова И.Б. Особенности внутриклеточной продукции и рецепции IFN CD56+ лимфоцитами при невынашивании беременности – Ж. Физиология и патология иммунной системы.– 2006.– №10. – Прил. 1. – С.60.
5. Крошкина Н.В., Сотникова Н.Ю., Борзова Н.Ю., Лепилова И.Б. Особенности продукции и рецепции цитокинов в децидуальной оболочке плаценты при самопроизвольном выкидыше – Russian Journal of Immunology.– 2007.–V. 9, Suppl.4.– P.92–93
6. Крошкина Н.В., Сотникова Н.Ю., Борзова Н.Ю., Лепилова И.Б., Кудряшова А.В., Панова И.А., Лукина Н.С., Пелевина М.И. Роль ранних нарушений продукции цитокинов в формировании патоло-

гии беременности – Российский иммунологический журнал.– 2007.– Т.1(10).–№3–4.– С.258–265.

7. Крошкина Н.В., Сотникова Н.Ю., Борзова Н.Ю., Лепилова И.Б. Функциональное состояние естественных киллеров в периферической крови и децидуальной оболочке у женщин с невынашиванием беременности ранних сроков – Вестник РУДН.–2009.–№6. – с.268–273.

8. Крошкина Н.В., Сотникова Н.Ю., Борзова Н.Ю., Лепилова И.Б. Патент 2344424 Российская Федерация. Способ прогнозирования угрожающих преждевременных родов у женщин с угрозой невынашивания ранних сроков – заявитель и патентообладатель Ивановский науч. – исслед. ин – т материнства и детства. – № 2007126889; заявл. 16.07.07; опубл. 20.01.2009. Бюл. 2.

9. N.Yu. Sotnikova, N.V. Kroshkina, D.N. Voronin, I.B. Lepilova Local immune events in RSA – Immunology of Reproduction Materials of 12-th lut.symposium.– Varna, 2009.– P.46–47.

#### Список сокращений

CD – cluster of differentiation (кластер дифференцировки лимфоцитов)

Ig – иммуноглобулин

PIBF – прогестерон индуцированный блокирующий фактор

Th – Т-хелпер

АГ – антиген

АТ – антитело

ВУИ – внутриутробное инфицирование

ДО – децидуальная оболочка

ЕК(НК) – естественные киллеры

ИЛ(IL) – интерлейкин

ИКК – иммунокомпетентных клеток

ИФА – иммуноферментный анализ

ИФН (IFN) – интерферон

НБ – невынашивание беременности

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СВ – самопроизвольный выкидыш

УН – угроза невынашивания

ФБ – физиологическая беременность

ФПН – фетоплацентарная недостаточность

#### Сведения об авторах:

Лепилова И.Б., кандидат мед. наук, «Ивановский НИИ материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России 153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20. Тел.: +7 (4932) 33-62-63.

#### About the authors:

Lepilova I.B., Candidate of Medicine, Ivanovo Research Institute of motherhood and the childhood name V.N. Horodkova of Ministry of health of Russia.

Pobedy Street 20, Ivanovo, 153045, Russia. Tel.: +7 (4932) 33-62-63.