

© Семенюк Л. М., Яроцький М. Є., \*Ліхачов В. К., \*Добровольська Л. М.

УДК 612.017/018:[618.3+618.1-007.17]:618.2/7-06-084

Семенюк Л. М., Яроцький М. Є., \*Ліхачов В. К., \*Добровольська Л. М.

## ЗМІНИ ГОРМОНАЛЬНО-ІМУНОЛОГІЧНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ЯК ПРЕДИКТОР НЕВИНОШУВАННЯ ВАГІТНОСТІ У ЖІНОК З ГІПЕРАНДРОГЕНІЄЮ

Центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів

і тканин МОЗ України, відділ репродуктивної медицини і хірургії (м. Київ)

\*ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

vladimir.lihachev@gmail.com

Робота є фрагментом НДР «Прогнозування, профілактика, лікування та реабілітація доброякісних захворювань матки та додатків у жінок різного віку з ендокринною патологією», № державної реєстрації 0113U002703.

**Вступ.** В останні роки увагу вчених привертають імунні аспекти звичного не виношування вагітності, яке в 40-50% випадків проявляється патологічними змінами на різних рівнях імунної системи. Для нормального перебігу вагітності надзвичайно важливим є імунологічна толерантність материнського організму до антигенів плоду, зумовлена як активними, так і пасивними механізмами [1]. Порушення процесів формування такої толерантності призводить до патологічних станів, які характеризуються активацією клітинної та гуморальної ланок імунної системи з розвитком клінічних проявів відторгнення плідного яйця різного ступеня виразності [1,3]. Причому організм вагітної повинен підтримувати стан імунологічного балансу між повноцінною імункомпетентністю по відношенню до чужерідних мікроорганізмів та імунотолерантністю до плода, що розвивається. Дослідження останніх років значно змінили нашу уяву про механізми та час формування ускладнень гестаційного процесу [4,5]. На сьогодні порушення механізмів імунорегуляції в ранні терміни вагітності розглядається в якості відправної точки майбутніх репродуктивних втрат.

Особливої уваги заслуговує в цьому аспекті звичне не виношування вагітності у жінок з адреналовим генезом гіперандрогенії, адже при цій патології ранні втрати вагітності сягають 30%, а клінічним маркером вважається вагітність, що не розвивається [2,6].

**Мета дослідження:** вивчення дисбалансу статевих гормонів і порушень системного та місцевого імунітету у пацієток із звичним не виношуванням вагітності на тлі гіперандрогенії для прогнозування розвитку наступної вагітності.

**Об'єкт і методи дослідження.** У пацієток із звичним не виношуванням вагітності на тлі гіперандрогенії були вивчені показники гормонів репродукції та вмісту популяцій і субпопуляцій лімфоцитів периферичної крові у 65 пацієток, з них: у 45 пацієток з наднирниковою гіперандрогенією (НГА) та ранніми репродуктивними втратами в анамнезі

(основна група) та у 20 жінок з нормальною генеративною функцією (контрольна група). Обстеження проводилося на прегравідарному етапі та в І-му триместрі вагітності. Локальний клітинний імунітет вивчався в біоптатах ендоцервікусу у 15 здорових невагітних жінок і 25 вагітних основної групи з явищами істміко-цервікальної недостатності з письмового дозволу пацієток.

**Результати досліджень та їх обговорення.** По результатах аналізу гормонограм у жінок з НГА чітко виявлялася тенденція до зниження синтезу прогестерону щодо медіани контрольної групи, хоча його концентрація залишалася в межах нижньої межі референтних значень. Рівень естрадіолу не відрізнявся від середніх значень норми для жінок репродуктивного віку. Найбільш демонстративно зниження рівня прогестерону проявлялося при підвищенні в крові жінок основної групи 17-гідроксипрогестерона (17-ОНП), дегідроепіандростерона і тестостерона (по всіх парах гормонів  $p < 0,05$ ). Виявлений феномен відносної недостатності прогестерону слід розглядати як біохімічний маркер неповноцінності лютеїнової фази циклу в умовах надлишку андрогенів або 17-ОНП, що призводить до вторинного гальмування функції гранульозних клітин яєчників.

Субпопуляційний аналіз лімфоцитів периферичної крові пацієток основної групи (табл. 1) показав, що до настання вагітності у них достовірно

Таблиця 1.

### Клітинний імунітет у обстежених жінок до вагітності

Показник, %	Основна група	Контрольна група
CD3	59,1 ± 2,8	63,2 ± 1,34
CD4	36,4 ± 2,9**	51,3 ± 2,62
CD8	24,5 ± 3,1	25,8 ± 1,57
CD4/CD8	1,5	2,0
CD16	29,1 ± 3,0**	13,6 ± 0,74
CD19	14,5 ± 1,7**	7,9 ± 0,68
CD25	5,9 ± 1,4**	1,8 ± 0,45
CD95	12,7 ± 1,68*	5,9 ± 1,33
HLA-DR	17,9 ± 1,2**	11,2 ± 0,75 *

Примітка: \* –  $P < 0,02$ ; \*\* –  $P < 0,001$

знижується кількість Т-хелперів (CD4). Це, при відсутності різниці між показниками CD8, призвело до зниження імунорегуляторного індексу. Одночасно у жінок основної групи зростають показники натуральних кілерів (CD16), маркера активації інтерлейкіна-2 (CD25), кількості дендритних клітин (HLA-DR) та клітин, готових до апоптозу (CD95). Такий комплекс імунологічних зсувів може свідчити про наявність хронічного запального процесу в організмі та/або про недостатність лютеїнової фази менструального циклу [2]. Виявлене зростання кількості В-клітин (CD19), вірогідно, зумовлено попередньою тривалою гормонотерапією, що призвела до збільшення вмісту аутоантитіл до гормонів. Наявність у таких жінок недостатності лютеїнової фази сприяє неготовності ендометрію до імплантації зародка.

У пацієнок основної групи в I триместрі вагітності мало місце подальше зниження імунорегуляторного індексу (табл. 2). При цьому рівень CD8 був менший, ніж у контрольній групі, що можна розцінити як порушення Т-супресії, що притаманно фізіологічній вагітності. Збільшується рівень натуральних кілерів (CD16), що підтверджує факт системних порушень регуляторної функції імунної системи при невиношуванні вагітності. Посилення ранньої активації лімфоцитів в основній групі (CD25) свідчить про збільшення готовності клітин до апоптозу, на що вказує достовірне підвищення CD95 порівняно із групою контролю. За даними ряду авторів [1,6], при низькому вмісті прогестерону у зв'язку зі зменшенням вироблення прогестерон-індукуючого блокуючого фактора, подавляється розвиток трофобласту, що може призвести до його неповноцінної інвазії.

Отже, при вагітності у жінок групи ризику по невиношуванню вагітності знижується Т-супресорний імунітет, активуються натуральні кілери, які здатні, пройшовши через плаценту, чинити агресію проти плоду. Збільшення функціональної активності лімфоцитів можна використати для прогнозування розвитку вагітності в I триместрі.

З метою вироблення прогностичних критеріїв проведено аналіз імунологічних параметрів в основній і контрольній групах в динаміці поза і протягом вагітності. При аналізі імунорегуляторних субпопу-

ляцій відзначено тенденцію до зниження вмісту CD4, CD8 у пацієнок основної групи поза і під час вагітності, тобто, в основній групі відзначено зниження імуносупресії Т-клітинного типу. Імунорегуляторний індекс у контрольній групі знизився в порівнянні з показником поза вагітністю і склав 1,2. В основній групі імунорегуляторної індекс практично не змінився і склав 1,4, що, ймовірно, обумовлено зниженням Т-супресії.

Кількість натуральних кілерів з настанням вагітності в контрольній групі достовірно знижується ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з показниками поза гестацією. В основній групі також має місце зниження рівня натуральних кілерів з настанням вагітності, однак у порівнянні з аналогічним показником контрольної групи, рівень натуральних кілерів вище. Крім того, в основній групі спостерігалось підвищення рівня активованих клітин (CD25). Враховуючи загальні механізми регуляції активності клітин, можна припустити, що зниження функції і можлива загибель цитотрофобласта обумовлена високою цитотоксичною активністю натуральних кілерів, що є одним з патогенетичних ланок невиношування вагітності. Звертає на себе увагу тенденція до збільшення кількості CD19 лімфоцитів з настанням вагітності, що, ймовірно, говорить про активацію аутоенсибілізації і також зумовлює несприятливий результат вагітності. У контрольній групі при настанні вагітності відзначається деяке зниження кількості клітин, що характеризують готовність клітин до апоптозу (CD95), тоді як в основній групі показник готовності клітин до апоптозу в I триместрі залишається практично на попередньому рівні. Відсутність змін у процесі апоптозу при настанні вагітності є несприятливою ознакою у зв'язку з тим, що елімінація активованих клонів клітин є захисним механізмом, оскільки активовані клітини можуть бути потенційно небезпечні для плоду.

Кількість В-лімфоцитів (CD19) у пацієнок основної групи в порівнянні з контрольною групою, до вагітності достовірно збільшується, а з настанням вагітності прослідковується чітка тенденція до подальшого зростання цього показника.

Стабільно високий рівень дендритних клітин у жінок основної групи до та під час вагітності відображає активну імунну відповідь на чужерідні антигени, якими в даному випадку можуть бути ембріон та хоріон.

Враховуючи, що материнська імунна відповідь відбувається не тільки на системному, а й на локальному рівні, а взаємини між матір'ю і ембріоном у великій мірі залежать від вихідного стану місцевого імунітету, нами вивчено стан імунітету в ендocerвіксі у обстежених жінок (табл. 3).

Як видно з таблиці 3, в показниках місцевого імунітету у пацієнок основної групи має місце зниження зрілих Т-лімфоцитів (CD3), зменшення кількості Т-хелперів, що свідчить про наявність імуносупресії Т-клітинного типу і в локальному імунітеті. Збільшується відсоток натуральних кілерів, що узгоджується з даними інших авторів [1]. Можна припустити, що саме збільшення кількості натуральних кілерів в

Таблиця 2.

### Клітинний імунітет у обстежених жінок в I триместрі вагітності

Показник, %	Основна група	Контрольна група
CD3	62,5 ± 4,1	60,7 ± 2,3
CD4	35,2 ± 1,9*	40,6 ± 2,5
CD8	25,4 ± 1,8****	34,0 ± 1,2
CD4/CD8	1,4	1,2
CD16	26,0 ± 3,9***	11,6 ± 0,55
CD19	17,1 ± 3,1***	8,3 ± 0,43
CD25	10,8 ± 2,4**	6,7 ± 0,6
CD95	10,2 ± 1,0****	4,1 ± 0,35
HLA-DR	17,5 ± 2,1****	8,2 ± 0,7

Примітка: \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,02$ ; \*\*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\*\* –  $P < 0,001$

місці контакту організму матері та плода призводить до загибелі цитотофласта.

Виходячи із результатів проведеного дослідження, можна запропонувати наступні прогностичні імунологічні ознаки ризику невиношування наступної вагітності у жінок з гіперандрогенією:

- зниження імунорегуляторного індексу (CD4/CD8);
- збільшення рівня натуральних кілерів (CD16);
- зростання кількості активованих клітин (CD25; CD95);

**Таблиця 3.**

### Місцевий клітинний імунітет в ендоцервіксі у обстежених жінок

Показник,%	Основна група	Контрольна група
CD3+	20,6 ± 3,1***	38,3±3,9
CD4+	16,9 ± 2,8	19,2 ± 2,1
CD8+	17,4 ± 3,0*	22,3 ± 3,6
CD16+	18,1 ± 2,6****	9,6 ± 2,3
CD19+	10,5 ± 2,0****	5,2± 1,3

**Примітка:** \* – P<0,05; \*\* – P<0,02; \*\*\* – P<0,01; \*\*\*\* – P<0,001

- високий рівень HLA-DR.

#### **Висновки**

1. Порушення в імунній системі на фоні гормонального гіперандрогенного дисбалансу призводять до зміни напрямку імунологічної відповіді на вагітність.

2. Виявлення та усунення цих причин дозволять відбутись успішній імплантації ембріона і підвищити ймовірність виношування вагітності.

3. Зміни імунної відповіді на вагітність у жінок з гіперандрогенією можуть слугувати прогностичними ознаками ризику невиношування наступної вагітності такими жінками.

4. Консервативна корекція гіперандрогенної дисфункції на прегравідарному етапі, вірогідно, сприятиме нормалізації основних параметрів гормонально-імунологічних механізмів і відновленню здатності організму матері до забезпечення повноцінної імплантації та нормального розвитку вагітності на її ранніх етапах.

**Перспективи подальших досліджень.** Проведені дослідження вказують на необхідність подальших досліджень для удосконалення методів діагностики, прогнозування, лікування, профілактики ускладнень вагітності, пов'язаних з гіперандрогенією.

### Література

1. Газиєва И. А. Иммунопатогенетические механизмы формирования плацентарной недостаточности и ранних репродуктивных потерь: автореф. дисс. канд. мед. наук. / И. А. Газиєва. – Екатеринбург, 2014. – С. 1-26.
2. Дубосарская З. М. Теория и практика эндокринной гинекологии – Днепропетровск: ЛИРА, 2010. – 459 с.
3. Манухин И. Б. Клинические лекции по гинекологической эндокринологии / И. Б. Манухин, Л. Г. Тумилович, М. А. Геворкян // – М., 2006 – С.24-41,87-95, 153-166, 191-233.
4. Манухина Е. И. Состояние аутоиммунитета у пациенток с гиперандрогенией / Е. И. Манухина, М. А. Геворкян, Е. М. Кузнецова // Проблемы репродукции. – 2011, №6 – С. 26-29.
5. Морфофункціональні зміни в плаценті на тлі домінування андрогенів / Л. М. Семенюк, В. К. Ліхачов, Л. М. Добровольська // Журнал Вісник проблем біології і медицини. – 2014.- Випуск 3, том 2(111). – С. 237-241.
6. Escobar-Morreale H. F. A prospective study of the prevalence of nonclassical congenital adrenal hyperplasia among women presenting with hyperandrogenic symptoms and signs / H. F. Escobar-Morreale, R. Sanchon & J. L. San Millan // J Clin Endocrinol Metab – 2008 93 527-533.

**УДК** 612.017/018:[618.3+618.1-007.17]:618.2/7-06-084

#### **ЗМІНИ ГОРМОНАЛЬНО-ІМУНОЛОГІЧНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ЯК ПРЕДИКТОР НЕВИНОШУВАННЯ ВАГІТНОСТІ У ЖІНОК З ГІПЕРАНДРОГЕНІЄЮ**

**Семенюк Л. М., Яроцький М. Є., Ліхачов В. К., Добровольська Л. М.**

**Резюме:** Для нормального перебігу вагітності окрім гормонального забезпечення надзвичайно важливим є імунологічна толерантність материнського організму до антигенів плоду. Науковий і практичний інтерес представляє вивчення в динаміці окремих параметрів системного імунітету та їх вкладу в становлення гестаційного процесу, а також розробка ранніх методів прогнозування та профілактики ранніх втрат вагітності на тлі гіперандрогенії, спрямованих на безпечне завершення вагітності.

**Ключові слова:** невиношування вагітності, гіперандрогенія, імунітет, толерантність, репродуктивні втрати.

**УДК** 612.017/018:[618.3+618.1-007.17]:618.2/7-06-084

#### **ИЗМЕНЕНИЯ ГОРМОНАЛЬНО-ИМУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ КАК ПРЕДИКТОР НЕ ВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ У ЖЕНЩИН С ГИПЕРАНДРОГЕНИЕЙ**

**Семенюк Л. Н., Яроцкий Н. Е., Лихачов В. К., Добровольская Л. Н.**

**Резюме:** Для нормального течения беременности кроме гормонального обеспечения чрезвычайно важна иммунологическая толерантность материнского организма к антигенам плода. Научный и практический интерес представляет изучение в динамике отдельных параметров системного иммунитета и их вкладу в становление гестационного процесса, а также разработка ранних методов прогнозирования и профилактики ранних потерь беременности на фоне гиперандрогении, направленных на безопасное завершение беременности.

**Ключевые слова:** не вынашивание беременности, гиперандрогения, иммунитет, толерантность, репродуктивные потери.

UDC 612.017/018:[618.3+618. /-007.17]:618.2/7-06-18

### CHANGES IN HORMONAL AND IMMUNOLOGICAL REGULATION AS A PREDICTOR OF MISCARRIAGE IN WOMEN WITH HYPERANDROGENISM

**Semenyuk L. M., Yarotsky M. E., Likhachov V. K., Dobrovol'ska L. M.**

**Abstract.** The organism of pregnant woman must maintain a state of immunological balance between full immune competency against alien microorganisms and immunologic tolerance to the developing foetus. Disorder of tolerance formation processes leads to pathological conditions characterized by activation of cellular and humoral links of the immune system with the development of clinical manifestations of ovum rejection of varying severity that is considered as the starting point of reproductive losses.

Therefore, the aim of the research was to study the imbalance of sex hormones and disorders of systemic and local immunity in patients with recurrent miscarriage on the background of hyperandrogenism (HA) to predict the development of the next pregnancy. The indicators of reproductive hormones and content of populations and subpopulations of peripheral blood lymphocytes were studied in 45 patients with adrenal hyperandrogenism (AHA) and early reproductive losses in the anamnesis (the main group) and 20 women with normal reproductive function (control group); local cellular immunity in endocervical bioplates of 15 healthy non-pregnant women and 25 pregnant women of the main group was studied.

A tendency of synthesis progesterone decrease toward the median of the control group was observed in women with adrenal hyperandrogenism (AHA); this phenomenon of progesterone relative deficiency should be considered as a biochemical marker of the luteal phase inferiority of the cycle in conditions of androgen excess, that leads to the secondary function inhibition of the ovaries granular cells. Estradiol level did not differ from the mean normal values for women of reproductive age.

Subpopulation analysis of peripheral blood lymphocytes in patients of the main group stated that the number of T-helpers (CD4) before the pregnancy is significantly decreased, the number of natural killer cells (CD16), the activation marker interleukin-2 (CD25), the number of dendrite cells (HLA-DR) and cells that are ready to apoptosis (CD95) are increasing. The presence of luteal phase insufficiency in women leads to the unavailability of the endometrium to embryo implantation.

In women of risk group with miscarriage, T-suppressor immunity decreases, natural killer cells, which are capable to commit aggression against the fetus, while passing through placenta are activated upon the occurrence of pregnancy. The increase of functional activity of lymphocytes can be used to predict the development of pregnancy in the first trimester.

Considering the general mechanisms of cell activity regulation, it can be assumed that the decrease in function and possible loss of cytotrophoblast are caused by the high cytotoxic activity of natural killers, which is one of the pathogenetic links of pregnancy miscarriage. The tendency towards the increase of the number CD19 lymphocytes during the pregnancy, which probably stated the activation of autosensibilization and also predetermines an unfavorable outcome of pregnancy is noteworthy.

The following predictive immunological risk markers of miscarriage of the next pregnancy in women with hyperandrogenism can be proposed: reduction of immunoregulatory index (CD4/CD8); increased level of natural killer cells (CD16); the increase in the number of activated cells (CD25; CD95); high level of HLA-DR

Conservative correction of hyperandrogenism dysfunction on preconception stage will facilitate normalization of the main parameters of hormonal and immunological mechanisms and restore mother's organism ability to ensure full implantation and normal development of pregnancy on early stages.

**Keywords:** miscarriage of pregnancy, hyperandrogenism, immunity, tolerance, reproductive losses.

*Рецензент – проф. Громова А. М.*

*Стаття надійшла 05.10.2015 р.*