

Иммуногенетические аспекты привычного выкидыша: контрверсии и способы коррекции

Н.П. Веропотвелян, П.Н. Веропотвелян, Ю.С. Погуляй, С.А. Журавлева

ОКУ «Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики», г. Кривой Рог

В статье представлен краткий обзор литературы и результаты собственных исследований в области иммуногенетических факторов в генезе, диагностике и лечении привычного выкидыша.

Рассматриваются основные иммунологические показатели и описывается их роль в механизмах нарушения иммунного распознавания эмбриона и реагирования материнского организма при этой патологии репродуктивной функции.

Несмотря на множество исследований до настоящего времени нет однозначного ответа на вопросы, какие иммуногенетические механизмы обеспечивают формирование толерантности к антигенам плода отцовского происхождения, а какие приводят к нарушениям гестационных процессов.

Ключевые слова: привычный выкидыш, парадигма Th1/Th2/Th17/Treg-клеток, антиотцовские антитела, блокирующие факторы, HLA, аллолимфоцитотерапия.

Проблема невынашивания беременности остается одной из наиболее актуальных в акушерстве и гинекологии, так как она отражает не только медицинские аспекты, но и социально-экономические. Роль иммунной системы в генезе привычного невынашивания беременности (ПНБ) интенсивно не изучается. Однако считается, что иммуногенетические факторы играют важную роль в реализации репродуктивной функции человека – как в сохранении беременности, так и ее прерывании.

Нарушения иммунных механизмов приводит к ранним самопроизвольным выкидышам. Согласно определению ВОЗ ПНБ устанавливаются в случае произошедших подряд трех и более самопроизвольных выкидышей на сроке гестации до 22 нед (код N 96 по МКБ-10) [9].

При этом единого мнения об этиологии и патогенезе ПНБ не существует, так как свести в одну систему все многообразие факторов довольно сложно, это вызвано тем, что ПНБ является результатом действия не одного, а нескольких причинных факторов. В публикациях ряда авторов [9, 10] явствует, что только в 5–20% случаев причины прерываний не могут быть установлены современными диагностическими ресурсами, поэтому диагноз формируется как привычный выкидыш неясной этиологии (идиопатический привычный выкидыш). Среди причин, приводящих к ПНБ, могут быть генные и хромосомные мутации, анатомические, гормональные нарушения, инфекционные и гемостазиологические причины [11].

А между тем, наблюдается четкая корреляция между количеством самопроизвольных аборт (СА) и риском их повторения в будущем. Так, риск повторного выкидыша после 2 предыдущих беременностей составляет 24%; риск повторного СА составляет 30%, четырех – до 50%.

Одной из известных причин прерывания беременности являются аллоиммунные нарушения, при которых иммунный ответ матери направлен против антигенов плода. К основным из них относят наличие у супругов повышенного количества общих антигенов системы HLA и связанные с этим иммуноассоциированные реакции – снижение продукции

аллоантител к отцовским лейкоцитам, т.е. низкий уровень блокирующих антител в сыворотке крови матери; повышенное содержание цитотоксических клеток в эндометрии, в децидуальной ткани, периферической крови матери [1].

С. Thornton (2010), А. Leber и соавторы (2011) [7, 8] отмечают, что при физиологическом течении беременности плод является своеобразным иммунологически привилегированным объектом, так как обладая антигенным набором, унаследованным от матери, и являясь полуаллогенным объектом, он, тем не менее, не отторгается материнским организмом.

При физиологическом течении беременности у 83,3% женщин установлена сенсibilизация лейкоцитов к антигенам плода. У беременных с ПНБ сенсibilизация клеток слабая и встречается реже; блокирующий эффект сыворотки, как правило, отсутствует.

Установлено, что для нормального иммунного ответа нужна гетерозиготность аллелей главного комплекса гистосовместимости системы HLA, при этом они способны представлять Т-клеткам более широкий круг пептидов, чем гомозиготные варианты. Чем больше степень различия между индивидами по HLA-антигенам, тем интенсивнее протекает правильно направленная активация иммунной системы матери.

Большое число совпадающих антигенов HLA II класса у супругов приводит к тому, что не осуществляется достаточная иммуностимуляция организма матери и она не вырабатывает необходимого количества аллоантител к антигенам эмбриона. Также с HLA-системой связывают развитие аутоиммунной реакции матери, приводящей к выработке антифосфолипидных, антинуклеарных и других антител, повреждающих плаценту.

Экспрессия классических антигенов HLA-A и HLA-B на трофобласте блокирована [25], экспрессия антигенов HLA II класса присутствует.

Тем не менее, признаки «неправильной» стимуляции материнской иммунной системы отцовскими антигенами даже при нормальном течении беременности все-таки присутствуют, это подтверждается исследованиями В. Сидельниковой [26], что антиотцовские антитела (АОАТ) определяют у многорожавших женщин.

S. Agrawal и соавторы [31] указывают, что следствием этого является недостаточная аллогенная стимуляция материнской иммунной системы и низкий гуморальный ответ, который не способствует успешному развитию беременности. Однако однозначного подтверждения эта точка зрения не получила [32]. В связи с чем, до настоящего времени, как отмечают исследователи [9], не ясно, являются ли АОАТ фактором, необходимым для нормального течения беременности, зависит ли продукция антител к антигенам отца, HLA I или II класса по совместимости супружеской пары по HLA-антигенам, имеет ли уровень анти-HLA-I и/или анти-HLA-II антител в сыворотке крови беременных диагностическое значение для прогноза выкидыша на раннем сроке.

L. Regan, P. Braude [27] сообщают, что у пациенток с физиологическим течением беременности в целом отмечается низкий уровень антител, но они могут быть обнаружены начи-

ная с 28-й недели гестации. В исследованиях Т. Maцуyama и соавторов [28] отмечено, что в I триместре беременности антитела зарегистрированы у 5% женщин с нормально протекающей беременностью и у 10% женщин с привычным выкидышем.

Как свидетельствуют данные G. Bartel и соавторов (2011) [29], наблюдается высокий уровень анти-HLA-антител у пациенток с привычным выкидышем и отсутствие связи АОАТ с ранними потерями беременности. М. Pandey и соавторы [30] связывают низкий уровень антилейкоцитарных антител с ранними потерями беременности. В пользу такого положения свидетельствуют результаты о совпадениях антигенов главного комплекса гистосовместимости – HLA – у партнеров в супружеских парах с привычным выкидышем.

Известно, что в случае совпадения HLA-антигенов II класса (DR, DQ и DP) у матери и отца повышается вероятность гомозиготности генов у плода, что имеет негативное значение для последнего. Согласно данным ряда авторов [16], при совместимости супругов по 3 и более HLA-антигенам риск невынашивания беременности составляет практически 100%.

Таким образом, мнения о роли АОАТ в развитии спонтанного привычного аборта противоречивы.

Возвращаясь к изложенному выше, необходимо отметить, что одной из возможных причин противоречивых представлений о значимости антител является отсутствие единого метода их определения. М. Pandey и соавторы [30] считают, что это могут быть и комплементзависимые антитела, определяемые в лимфоцитотоксическом тесте, и антитела, определяемые в тесте перекрестной цитотоксичности [28].

Исследования G. Mog и соавторов (2011) [14] свидетельствуют, что во время беременности АОАТ имеют особую структуру и обозначаются как асимметричные антитела. В работе установлено, что цитокины Th2-функциональной направленности способствуют увеличению пропорции асимметричных антител. Данный факт согласуется с исследованиями других авторов [27] об относительном превалировании Th2-ответа во II триместре беременности и с данными о выявлении АОАТ при физиологической гестации в начале III триместра.

По мнению G. Cutierrez и соавторов [33], один из Fab-фрагментов асимметричных антител гликозилирован и имеет обогащенный маннозой олигосахаридный остаток. Авторы отмечают, что именно с этим связана неспособность асимметричных антител активировать эффекторные механизмы (комплементзависимую цитотоксичность, фагоцитоз), поэтому их роль во время гестации считается защитной, и они рассматриваются как одна из составляющих блокирующих антител [33, 34]. Еще в 2003 г. Е. Сухих и Л. Ванько [35] отмечали, что блокирующие антитела – антитела, которые опосредуют угнетение ответа обратной связью.

В эксперименте, как правило, это растворимые факторы, формирующие супрессивный эффект сыворотки матери на клеточные реакции. Н. Хачатрян, Л. Кречетова, Н. Тетрашвили [9] в своей работе демонстрируют, что природа блокирующих факторов различна, биологический эффект определяется экспериментальной моделью, в которой он регистрируется. Это могут быть факторы, блокирующие реакцию торможения миграции макрофагов (MIF-блокирующие антитела), факторы, блокирующие реакцию ЕА-розеткообразования при определении антител к рецепторам отцовских β-лимфоцитов (FcR-блокирующие антитела), факторы, блокирующие реакцию в смешанной культуре лимфоцитов партнеров (MLR-блокирующие антитела), факторы, блокирующие выявление антител в реакции комплементзависимой цитотоксичности.

Следует отметить, что также в роли блокирующих антител могут выступать антиидиотипические антитела, направленные к антигенсвязывающему участку цитотоксических ан-

тител, распознающих отцовские антигены, или идиотипическим детерминантам Т-клеточного рецептора [35, 36]. Имеются сообщения о том, что за блокирующий эффект ответственны антитела класса иммуноглобулина G изотипа G3 [37].

В публикациях ряда авторов [35, 37] четко продемонстрировано, что блокирующие антитела играют протекторную роль для плода, поскольку способны при воздействии на Т-лимфоциты матери подавлять распознавание антигенов отца, не вызывают патологических изменений в плаценте и у плода, не проникают через плаценту и не циркулируют в крови плода.

В литературе имеются многочисленные сообщения об исследованиях блокирующих антител в смешанной культуре лимфоцитов партнеров в парах с привычным выкидышем в период ранней беременности [38, 39]. Но в то же время Т. Potter и соавторы [40] информируют, что вследствие выраженной гетерогенности выборок пациентов для анализа и гетерогенности схем выявления блокирующих антител абсолютного вывода о значимости их для реализации раннего СА не было. Однако N. Khonina и соавторы [41] сообщают, что интерес к исследованию блокирующих факторов в плазме крови беременных поддерживается до настоящего времени. В экспериментальных моделях М. Vozorgmehr и соавторы [42] установили на линейных мышах снижение способности дендритных клеток индуцировать антиген-специфическую пролиферацию и цитокиновую секрецию клетками лимфатических узлов под влиянием плазмы крови беременных самок.

J. Carp Howard [10] отмечает, что взаимоотношение между эмбрионом и материнским организмом начинается еще до имплантации, поскольку уже на предшествующих ей стадиях эмбрион экспрессирует свой геном. На данном этапе включаются нейрогуморальные механизмы подготовки материнского организма к беременности.

А. Ярилин [4] информирует, что для аллоиммунных реакций отторжения характерно появление растворимых факторов, характеризующих провоспалительную направленность дифференцировки эффекторных клеток, антител, способствующих лизису чужеродных клеток-мишеней, цитотоксических клеток, непосредственно осуществляющих лизис клеток-мишеней, а также усиление функциональной активности естественных клеток-киллеров.

Основываясь на изложенном выше, основные направления поиска иммунологических критериев прогноза развития беременности на ранних ее этапах прежде всего связывают с оценкой клеточных субпопуляций периферической крови продукции активированными клетками биологически активных молекул. Р. Fietta, G. Delsante [5] в своих исследованиях проиллюстрировали значительную гетерогенность субпопуляций Т-хелперных клеток (CD⁴⁺-клеток, Th-клеток), от соотношения которых зависит направленность реакций адаптивного иммунитета.

Н. Хачатрян, Л. Кречетова, Н. Тетрашвили [9] отмечают, что наиболее значимы четыре линии дифференцировки CD⁴⁺-клеток, различающиеся цитокиновой продукцией и биологической функцией: Th (продуцирующие цитокины интерлейкин (ИЛ-2), интерферон (ИФН)-γ, фактор некроза опухоли (ФНО)-α, β, Th2 (продуцирующие цитокины ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13), Th17 (продуцирующие цитокины семейства ИЛ-17, которые опосредуют развитие острого воспаления аутоиммунного и аллергического характера) и естественные Т-регуляторные клетки с поверхностным фенотипом CD⁴⁺, CD²⁵⁺ и конститутивной экспрессией транскрипционного фактора Foxp3 (forkhead box p3) (Treg). Важность различных субпопуляций CD⁴⁺-клеток для репродуктивного процесса постоянно уточняется.

В исследованиях Т. Wegmann и соавторов [6] обсуждалась необходимость превалирования во время гестации Th2-

типа иммунного ответа, а преобладание в сыворотке крови цитокинов Th1-типа трактовалось как угроза беременности, прерывание беременности в I триместре ассоциировалось с нарушением цитокинового баланса Th1/Th2. R. Romero и соавторы [13] считают, что важнейшие механизмы имплантации, плацентации, а также подготовки материнского организма к родам протекают на фоне провоспалительных реакций.

G. Mog и соавторы (2011) [14] сообщают, что направленность Th1/Th2-реакций зависит от срока гестации: на самых ранних стадиях беременности преобладают воспалительные реакции, а сдвиг в сторону Th2-направленности наблюдается на более поздних сроках. V. Zeldovich, A. Bakardjiev (2012) [3] также информируют, что в более ранних исследованиях аргументом в пользу необходимости преваляирования во время беременности иммунного реагирования Th2-типа служило утверждение о развитии состояния гестационной иммуносупрессии.

A. Munoz-Suano и соавторы (2011) [2] сообщают, что с данной точки зрения целесообразность иммунокоррекции при ранних СА заключается в повышении уровня супрессии материнской иммунной системы. Тем не менее состояние гестационной иммуносупрессии не могло объяснить, каким образом во время беременности мать, вынашивая ребенка, одновременно остается способной защитить себя и плод от инфекции. M. Petroff (2011) [17] находит подтверждение, свидетельствующее об активном обоюдном участии материнской иммунной системы и плода в обеспечении развития беременности.

Автор отмечает, что инвазивный трофобласт индуцирует такие изменения в дифференцировке иммунокомпетентных клеток, которые способствуют поддержанию гестационных процессов на фоне формирования толерантности к аллоантигенам плода. В это время сохраняется способность материнского организма развивать иммунный ответ на поступающие извне антигены.

Исходя из указанного выше, в качестве основы иммунорегуляции беременности S. Saito и соавторы (2011) [18] рассматривают уже не парадигму Th1/Th2-ответа, а парадигму Th1/Th2/Th17/Treg-клеток.

J. Ernerudh [19] считает, что согласно последней гипотезе в результате индуцированной беременности происходит дифференцировка иммунокомпетентных клеток, при этом должны появляться материнские регуляторные клетки Treg, которые распознают отцовские антигены плода, супрессируют материнские эффекторные Т-клетки и смягчают материнско-фетальный аллоиммунный конфликт, вызванный отцовскими антигенами.

J. Wilczynski [20] считает, что регуляция цитокиновой продукции Treg-клетками во время беременности более значима, чем баланс Th1/Th2. По мнению Z. Williams [21], коррекцию нарушений рассматривают уже не с позиций увеличения супрессии материнской иммунной системы в целом, а с позиций стимуляции специфических регуляторных механизмов подавления иммунного ответа на конкретные антигены – аллоантигены плода.

A. Leber и соавторы [8] провели исследование на лабораторных животных, которое однозначно подтверждает влияние Treg на репродуктивную функцию, поскольку только Treg, выделенные из крови беременных самок, обеспечивают защиту плода и нормальный исход беременности, а дефицит Treg-клеток ассоциирован с нарушением имплантации и СА. В этих исследованиях выявлено увеличение в периферической крови и децидуальной оболочке пациенток с привычным абортотом клеток с фенотипом Th17.

S. Ziegler, J. Buckner [22] продемонстрировали в других модельных экспериментах взаимоисключающий характер дифференцировки в направлении Th17-клеток и Treg-клеток. S. Saito и соавторы [23] в своих клинических исследова-

ниях проиллюстрировали, что в период беременности наблюдается динамика Treg-клеток, заключающаяся в увеличении их доли среди CD4⁺-клеток в сыворотке крови и децидуальной оболочке матки в течение раннего периода и во II триместре и в уменьшении в послеродовой период. Авторы отмечают, что дефицит Treg-клеток ассоциирован с привычным выкидышем.

Другие исследователи [19] сообщают, что опровержение проведенных исследований наталкиваются на методические трудности, связанные с доказательством корреляции определяемого фенотипа циркулирующих Т-регуляторных клеток и реализацией или супрессивной функции. Но в то же время, исследователи высказывают мнение, что, очевидно, развитие осложнений беременности является следствием неадекватности формирующегося субпопуляционного состава Th-клеток потребностям гестационного процесса [17].

Результаты проведенных исследований иллюстрируют возможность нарушений в распознавании антигенов и соответственно нарушений во взаимодействии звеньев врожденного и адаптивного иммунитета, которые могут определять судьбу беременности на ранних стадиях ее развития [9]. Результаты исследования свидетельствуют, что лимфоидными клетками, осуществляющими функции врожденного иммунитета, являются натуральные клетки-киллеры (NK-клетки), осуществляющие спонтанную цитотоксическую активность против аллогенных клеток и продуцирующие цитокины провоспалительного спектра (ИФН-γ и ФНО-α). A. Leber и соавторы (2011) [8] указывают, что дендритные клетки могут взаимодействовать с маточными NK-клетками и регулировать их функцию в маточно-плацентарном пространстве.

P. Le Bouteiller и соавторы (2011) [43] указывают, что цитолитическая активность маточных NK-клеток ограничена взаимодействием с неклассическими молекулами HLA-G и HLA-E трофобласта, а также их растворимыми формами. C. Lash, J. Bulmer [44] отмечают, что маточные NK-клетки важны для инвазии трофобласта и благоприятного исхода беременности.

B. Fu и соавторы (2013) [45] установили участие NK-клеток в ремоделировании спиральных артерий беременной матки, в регуляции активности Th17-клеток. S. Vao и соавторы [46] указывают, что выявляется увеличенная экспрессия Toll-like рецептора 3 (одного из рецепторов, регулирующих активацию врожденного иммунитета и обеспечивающих взаимосвязь с адаптивным иммунитетом) на децидуальных NK-клетках пациентки с привычным выкидышем, что также может свидетельствовать о нарушении процессов распознавания при этой патологии.

Ряд авторов [20, 47] в своих исследованиях проиллюстрировали участие дендритных и NK-клеток в формировании толерантности к аллоантигенам плода по изучению экспрессии на поверхности лимфоцитов молекулы CD200. В результате взаимодействия CD200 с рецепторами как дендритных клеток, так и NK-клеток, в них индуцируется секреция индоламиндиоксигеназы, и они приобретают способность посредством продукции трансформирующего фактора роста-β стимулировать генерацию Т-регуляторных клеток и соответственно индуцировать формирование периферической толерантности. С количеством CD200-позитивных клеток, которые вводили пациенткам с привычным выкидышем, связывают положительный эффект цитотерапии.

Как отмечает D. Clark [48], в группе пациенток, беременность которых закончилась родами, число CD200-позитивных клеток среди введенных лимфоцитов было существенно выше, чем у пациенток, беременность которых закончилась спонтанным выкидышем.

S. Lee и соавторы (2013) [49] сообщают, что интерес к изучению NK-клеток в развитии раннего СА сохраняется до настоящего времени. При этом исследователи A. Fukui и со-

авторы (2011) [50] анализировали функциональную и фенотипическую гетерогенность данной субпопуляции. Авторы [50] предполагают, что в генезе привычного выкидыша большую роль играет нарушение взаимодействий НК-клеток и клеток адаптивного иммунитета. Однако, как указывает G. Chaouat (2013 г.), значимость оценки маточных НК-клеток и НК-клеток периферической крови для прогноза привычного выкидыша остается невыясненной [51].

На сегодняшний день для коррекции состояний, связанных с иммуногенетическими причинами невынашивания беременности, предложено два терапевтических направления, по поводу эффективности которых ведутся дискуссии: иммунизация отцовскими лейкоцитами (активная иммунизация) лимфоцитотерапия (ЛИТ) и внутривенное введение иммуноглобулинов (пассивная иммунизация).

В 1994 году две независимые группы проводили мета-анализ RMITG (Recurrent miscarriage immunotherapy trialists group) с целью определить эффективность (в том числе и экономическую) и побочные эффекты от применения ЛИТ [12].

Первая группа исследователей обнаружила, что ЛИТ повышает частоту живорождений при невынашивании со статистической достоверностью в 10% [12,15].

К такому же заключению пришла и вторая группа [12, 24]. При анализе учитывался материнский возраст и количество предыдущих СА как факторы, способные влиять на исход беременности [53]. Однако следует отметить, что каждая из групп проанализировала данные 13 исследований (8–68 наблюдений), которые в сумме охватили только около 330 пациенток.

В 2001 году появились публикации, объясняющие механизм действия аллогенных лейкоцитов [55]. В то же время один из последних обзоров Porter и соавторов [56] выявил, что ни один из предлагаемых интервенционных иммунотерапевтических методов не является эффективным. У пациенток с ПНБ не отмечали пользы от ЛИТ, равно как и у тех, у кого имелись антиядерные антитела, антитела к кардиолипину. В то время как у пациенток с первичной потерей (1 СА) в анамнезе отмечен позитивный эффект от ЛИТ (из этой группы были исключены пациентки с аутоантителами). После лечения СА у пациенток происходили не из-за иммунологических механизмов (причин), а из-за аномального кариотипа эмбриона [57, 58].

В других исследованиях анализировали эффективность ЛИТ в зависимости от характеристик и способов подготовки вводимых образцов аллогенных лимфоцитов (2 ед. крови, количество молекул CD200 и др.) [59, 60]. Отметим, что очищенные одноядерные лейкоциты при температуре тела 37°C обладают сильным антиабортивным эффектом (возрастает экспрессия CD200). А одноядерные человеческие лейкоциты в случае хранения при температуре 4°C теряют CD200-клетки [61]. В двойных слепых исследованиях установили эффект от ЛИТ в сравнении с неслепыми исследованиями [62].

Долгосрочные исследования применения ЛИТ у 2687 пациенток в Германии показали минимальные побочные эффекты [53]. После ЛИТ иммунный ответ направлен не на аборт, а на пролонгирование беременности, поскольку ЛИТ стимулирует развитие регуляторных Т-клеток [63].

Считается, что 45% СА и 95% поздних репродуктивных потерь имеют нормальный кариотип, около 30% ранних и поздних акушерских потерь связаны с тромбофилиями, в том числе наследственно обусловленными [53].

Таким образом, из всего изложенного выше можно сделать логическое заключение, что для проведения ЛИТ должны быть исключены следующие возможные причины СА: анатомические, инфекционные, хромосомные/генные, гормональные, аутоиммунные (АФС, аутоиммунный тиреоидит и др.), тромбофилические состояния.

Нами за 5 лет проведена ЛИТ 172 пациенткам в сроке 5–7 нед беременности в большинстве случаев однократно. В случае угрозы прерывания беременности рекомендовали повторное введение лимфоцитов. Выделение аллогенных лимфоцитов осуществляли в асептических условиях из 200 мл свежееконсервированной донорской крови. Клетки в количестве 60–150 млн вводили пациенткам внутривенно на ладонной поверхности предплечья в 8–10 точках [54].

Целесообразно отметить, что для селекции доноров огромное значение имеет полный сбор анамнестических данных, что позволяет исключить скрытое иммунодефицитное состояние у донора. При опросе доноров обращали внимание на клинические признаки иммунологической недостаточности: снижение резистентности к охлаждению, частые простудные заболевания, наличие очагов хронической инфекции (гаймориты, риниты, полисинуситы, фарингиты и другие). Наличие хотя бы одного из перечисленных признаков повышало вероятность иммунологической несостоятельности донора, что приводило к снижению возможности получения высокоэффективного концентрата лимфоцитов.

В последние годы ЛИТ используют при ведении супружеских пар с учетом гистосовместимости по системе HLA. С этой целью нами обследованы 248 пар с ПНБ неясного генеза, которым было проведено генотипирование главного комплекса гистосовместимости по генам II класса HLA: DQA1, DQB1, DR методом ПЦР.

У супругов с ПНБ, в случае различий по исследуемым аллелям антигенов HLA II класса гистосовместимости донорами аллолимфоцитов в основном были мужья, а также их близкие родственники. В случае значимых совпадений антигенов – донорами аллолимфоцитов были сослуживцы беременной и ее мужа, и доноры станции переливания крови.

Пациенткам из таких пар проведено ЛИТ за 1–2 менструального цикла до зачатия, а при наступлении беременности ее повторяли каждые 3 нед, вплоть до 12–16-й недели.

В исследуемой группе при анализе родословной среди родственников пробанда первой, второй и третьей степени родства (в 3–4 поколениях: мать, сестры, братья, бабушки, дедушки, тети, дяди, племянницы и племянники) отягощенности репродуктивного и семейного анамнеза не установлено.

Анализ данных цитогенетического исследования показал, что у исследуемых супружеских пар имелся нормальный набор хромосом, никаких хромосомных aberrаций не выявлено.

При анализе результатов молекулярно-генетических исследований 248 пар с ПНБ было выявлено, что количество значимых совпадений у супружеских пар с ПНБ (от 3 до 6) составило 21,0%.

При проведении анализа количества совпадений по исследуемым аллелям в парах было отмечено следующее распределение: 2 совпадения – 22,6%, 3 совпадения и более – 21,%. Таким образом, количество критических совпадений составило 43,6%.

После проведения ЛИТ 156 беременностей (90,7%) закончились срочными родами; 5 беременностей (2,9%) замерли; в 6 случаях (3,5%) отмечены преждевременные роды; в остальных 5 случаях исходы неизвестны.

Результаты наших исследований свидетельствуют, что возможность сохранения беременности при применении ЛИТ в семьях с 3 и более СА в анамнезе превышало 90% у беременных с ПНБ, а отсутствие применения ЛИТ в комплексном лечении приводит к сохранению беременности только в 29,7% случаях, что является убедительным аргументом в пользу применения аллогенных лимфоцитов для лечения и профилактики ПНБ.

Следовательно, несмотря на разноречивость и неоднозначность мнений различных авторов [12, 15, 56–58, 62, 63], наши

результаты свидетельствуют, что ЛИТ является эффективным методом лечения ПНБ и может с успехом применяться для профилактики и лечения привычной потери беременности.

Согласно данным литературы [35, 52] метод ЛИТ также нашел применение не только в системе комплексного лечения ПНБ, в частности при пороках развития матки, недостаточности лютеиновой фазы, но и для профилактики и лечения гестоза, а также в программе подготовки экстракорпорального оплодотворения у пациенток с аллоиммунными нарушениями [53].

Тем не менее, необходимо подчеркнуть, что большинство специалистов сходятся во мнении [52] о необходимости тщательного подбора пациентов для проведения иммунотерапии на основании данных анамнеза, иммунологических и

молекулярно-генетических тестов. Только тогда этот метод лечения может дать наилучшие результаты.

Таким образом, данные, представленные в обзоре литературы, и результаты собственных исследований, все еще не дают однозначного ответа на вопросы, как иммунные механизмы обеспечивают формирование толерантности к антигенам плода отцовского происхождения, а что приводит к нарушениям гестационных процессов – эти аспекты пока еще остаются некой загадкой.

Будущее в решении практической стороны данной проблемы зависит от поиска иммунологических критериев прогнозирования исхода беременности при привычном выкидыше, а также возможности реализации различных способов терапии этой патологии.

Имуногенетичні аспекти звичного викидня: контрверсії та засоби корекції

М.П. Веропотвелян, П.М. Веропотвелян, Ю.С. Погуляй, С.О. Журавльова

У статті представлений короткий огляд літератури і результати власних досліджень в області імуногенетичних факторів в генезі, діагностиці та лікуванні звичного викидня.

Розглядаються основні імунологічні показники та описується їхня роль у механізмах порушення імунного розпізнавання ембріона та реагування материнського організму при цій патології репродуктивної функції.

Незважаючи на багато досліджень, до сьогодні часу не існує однозначної відповіді, які імуногенетичні механізми забезпечують формування толерантності до антигенів плода батьківського походження, а які призводять до порушень гестаційних процесів.

Ключові слова: звичний викидень, парадигма Th1/Th2/Th17/Treg-клітин, антибатьківські антитіла, блокуючі фактори, HLA, аллоімфоцитотерапія.

Immunogenetic aspects of habitual miscarriage: controversions and ways of correction

P.N. Veropotvelyan, N.P. Veropotvelyan, Y.S. Pogulyay, S.A. Zhuravlova

The article gives a brief overview of the literature and the results of own studies in the sphere of immunogenetic factors in the genesis, diagnostics and treatment of habitual miscarriage.

Main immunologic indices are reviewed and their role in the mechanisms of disturbances in the immune embryo identification and reaction of maternal organism in case of this pathology of the reproductive function is described.

In spite of numerous studies there hasn't been so far a definite answer to the questions about immunogenetic mechanisms which provide tolerance for maturation to the fetus antigens of the paternal origin and those which lead to the disturbances of gestational processes.

Key words: habitual miscarriage, paradigm Th1/Th2/Th17/Treg-cells, antipaternal antibodies, blocking factors, allolymphocytotherapy.

Сведения об авторах

Веропотвелян Петр Николаевич – ОКУ «Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики», 50000, Днепропетровская обл., г. Кривой Рог, пл. Освобождения, 3а; тел.: (0564)92-36-09. E-mail: genetika@ukrpost.ua

Веропотвелян Николай Петрович – ОКУ «Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики», 50000, Днепропетровская обл., г. Кривой Рог, пл. Освобождения, 3а; тел.: (0564) 92-36-09. E-mail: genetika@ukrpost.ua

Погуляй Юлия Сергеевна – ОКУ «Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики», 50000, Днепропетровская обл., г. Кривой Рог, пл. Освобождения, 3а. E-mail: genetika7@gmail.com

Журавлева Светлана Александровна – ОКУ «Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики», 50000, Днепропетровская обл., г. Кривой Рог, пл. Освобождения, 3а

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Coulam C.B., Moore S.B., O'Fallon W. Association between major histocompatibility antigen and reproductive performance. *Am J Reprod Immunol Microbiol.* 1987 Jun14; 2:54–58.
- Munoz-Suano A., Hamilton A.B., Betz A.G. Gimme shelter: the immune system during pregnancy. *Immunol. Rev.* – 2011; 241(1): 20–38.
- Zeldovich V., Bakardjiev A. Host defence and tolerance: unique challenges in the placenta. *PLoS Pathog.* 2012; 8(8): e1002804.
- Ярилин А.А. Иммунология: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010. – 752 с.
- Fietta P., Delsante G. The effector T-helper cell triade. *Riv. Biol.* 2009; 102(1): 61–74.
- Wegmann T.G., Lin H., Guilbert L., Mosmann T.R. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol.Today.* 1993; 14(7): 353–6.
- Thornton C.A. Immunology of pregnancy. *Proc. Nutr. Soc.* 2010; 69(3): 357–65.
- Leber A., Zenciusen M.L., Teles A., Brachwitz N., Casalis P., El-Mousleh T. et al. Pregnancy: tolerance and suppression of immune responses. *Methods Mol. Biol.* 2011; 677: 397–417.
- Хачатрян Н.А., Кречетова Л.В., Тетруашивили Н.К. Аллоиммунные механизмы привычного выкидыша //Акуш. и гинек., 2014. – № 5. – С. 3–8.
- Carp Howard J.A., ed. Recurrent pregnancy loss: causes, controversies and treatment. Informa UK Ltd.; 2007. – 290 p.
- Веропотвелян Н.П., Погуляй Ю.С., Веропотвелян П.Н., Кодунов Л.О. Молекулярно-генетические аспекты привычного невынашивания беременности /Сборник Ассоциации научных трудов акушеров-гинекологов. – К.: Интермед, 2011. – С. 85–86.
- Recurrent miscarriage immunotherapy trialists group. Worldwid collaborative observational study and meta-analysis on allogeneic leukocyte immunotherapy for recurrent spontaneous abortion / *Am J Reprod Immunol* 1994;32:55–72.
- Romero R., Gotsch F., Pineles B., Kusanovic J.P. Inflammation in pregnancy: its roles in reproductive physiology, obstetrical complications, and fetal injury. *Nutr. Rev.* 2007; 65(12, Pt 2): S194–202.
- Mor G., Cardenas I., Abrahams V., Guller S. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2011; 1221: 80–7.
- Collins JA, Roberts RM. Reports of independent analyses of data from the worldwilde prospective collaborative study on immunotherapy for recurrent unexplained abortion: immunotherapy for recurrent spontaneous abortion : analysis1. *Am J Reprod Immunol* 1994;32:275–80.
- Шахгюлян Я.Л., Тетруашивили Н.К., Агаджанова А.А. «Значение HLA системы в патогенезе привычного невынашивания беременности ранних сроков» //Акуш. и гинек., 2006, 6, 3–6.
- Petroff M.G. Review: Fetal antigens-identity, origins, and influences on

- the maternal immune system. *Placenta*. 2011; 32(Suppl. 2): S176–81.
18. Saito S., Nakashima A., Shima T. Future directions of studies for recurrent miscarriage associated with immune etiologies. *J. Reprod. Immunol.* 2011; 90(1): 91–5.
19. Enerudh J., Berg G., Mjösberg J. Regulatory T helper cells in pregnancy and their roles in systemic versus local immune tolerance. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2011; 66(Suppl. 1): 31–43.
20. Wilczynski J.R. Immunological analogy between allograft rejection, recurrent abortion and pre-eclampsia – the same basic mechanism? *Hum. Immunol.* 2006; 67(7): 492–511.
21. Williams Z. Inducing tolerance to pregnancy. – *N. Engl. J. Med.* 2012; 367(12): 1159–61.
22. Ziegler S.F., Buckner J.H. FOXP3 and the regulation of Treg/Th17 differentiation. *Microbes Infect.* 2009; 11(5): 594–8.
23. Saito S., Sasaki Y., Sakai M. CD4+CD25+high regulatory T-cells in human pregnancy. *J. Reprod. Immunol.* – 2005; 65(2): 111–20.
24. Scott J.R. Immunotherapy for recurrent spontaneous abortion :analysis 2. *Am J Reprod Immunol.* – 1994;32:279–80.
25. Shirshhev S.V. Immunologiya materinsko-fetalnyh vzaimodeystviy. Ekaterinburg: RAN UO In-t ekologii i genetiki mikroorganizmov; 2009, 582 s.
26. Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности. – М.: Трида-Х; 2005. – 303 с.
27. Regan L., Braude P.R., Hill D.P. A prospective study of the incidence, time of appearance and significance of anti-paternal lymphocytotoxic antibodies in human pregnancy. *Hum. Reprod.* 1991; 6 (2): 294–8.
28. Maruyama T., Makino T., Sugi T., Iwasaki K., Ozawa N., Matsubayashi H., Nozawa S. Flow cytometric crossmatch and early pregnancy loss in women with a history of recurrent spontaneous abortions who underwent paternal leukocyte immunotherapy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1993; 168(5): 1528–36.
29. Bartel G., Walch K., Wahrmann M., Pils S., Küssel L., Polterauer S. et al. Prevalence and qualitative properties of circulating anti-human leukocyte antigen alloantibodies after pregnancy: no association with unexplained recurrent miscarriage. *Hum. Immunol.* – 2011; 72(2): 187–92.
30. Pandey M.K., Thakur S., Agrawal S. Lymphocyte immunotherapy and its probable mechanism in the maintenance of pregnancy in women with recurrent spontaneous abortion. *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2004; 269(3): 161–72.
31. Agrawal S., Pandey M.K., Mandal S., Mishra L., Agarwal S. Humoral immune response to an allogenic foetus in normal fertile women and recurrent aborters. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2002; 2(1): 6.
32. Koelsch U., Weber C., Ritter C., Viehahn A., Brune T. Immune reactivity between mother and fetus is independent of MHC haplotype. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2007; 58(3): 179. doi: 10.1111/j.1600-0897.2007.00519.8.x
33. Gutierrez G., Gentile T., Miranda S., Margni R.A. Asymmetric antibodies: a protective arm in pregnancy. *Chem. Immunol. Allergy.* – 2005; 89: 158–68.
34. Agrawal S., Pandey M.K., Pandey A. Prevalence of MLR blocking antibodies before and after immunotherapy. *Hematother. Stem Cell Res.* – 2000; 9(2): 257–62.
35. Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Иммунология беременности. – М.: Изд-во РАМН; 2003. – 400 с.
36. Agrawal S., Sharma R.K., Kishore R., Agarwal S.S. Development of anti-idiotypic antibodies to HLA antigens during pregnancy. *Indian J. Med. Res.* 1994; 99: 42–6.
37. Pandey M.K., Saxena V., Agrawal S. Characterization of mixed lymphocyte reaction blocking antibodies (MLR-Bf) in human pregnancy. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2003; 3: 2.
38. Pandey M.K., Agrawal S. Induction of MLR-Bf and protection of fetal loss: a current double blind randomized trial of paternal lymphocyte immunization for women with recurrent spontaneous abortion. *Int. Immunopharmacol.* 2004; 4(2): 289–98.
39. Nonaka T., Takakuwa K., Ooki I., Akashi M., Yokoo T., Kikuchi A., Tanaka K. Results of immunotherapy for patients with unexplained primary recurrent abortions – prospective non-randomized cohort study. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2007; 58(6): 530–6.
40. Porter T.F., La Coursiere Y., Scott J.R. Immunotherapy for recurrent miscarriage. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2006; (2): CD000112.
41. Khonina N.A., Broitman E.V., Shevela E.Y., Pasman N.M., Chernykh E.R. Mixed lymphocyte reaction blocking factors (MLR-Bf) as potential biomarker for indication and efficacy of paternal lymphocyte immunization in recurrent spontaneous abortion. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2013; 288(4): 933–7.
42. Bozorgmehr M., Zarnani A.H., Nikoo S., Moazzeni S.M. Suppressive effect of pregnant serum on murine dendritic cell function. – *J. Obstet. Gynaecol. Res.* – 2012; 38(5): 797–803.
43. Le Bouteiller P., Siewiera J., Casart Y., Aguerre-Girr M., El Costa H., Berrebi A. et al. The human decidual NK-cell response to virus infection: what can we learn from circulating NK lymphocytes? *J. Reprod. Immunol.* – 2011; 88(2): 170–5.
44. Lash G.E., Bulmer J.N. Do uterine natural killer (uNK) cells contribute to female reproductive disorders? *J. Reprod. Immunol.* – 2011; 88(2): 156–64.
45. Fu B., Li X., Sun R., Tong X., Ling B., Tian Z., Wei H. Natural killer cells promote immune tolerance by regulating inflammatory TH17 cells at the human maternal-fetal interface. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2013; 110(3): E231–40.
46. Bao S.H., Shuai W., Tong J., Wang L., Chen P., Sun J. Increased expression of Toll-like receptor 3 in decidual natural killer cells of patients with unexplained recurrent spontaneous miscarriage. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2012; 165(2): 326–30.
47. Vacca P., Cantoni C., Vitale M., Prato C., Canegallo F., Fenoglio D. et al. Crosstalk between decidual NK and CD14+ myelomonocytic cells results in induction of Tregs and immunosuppression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2010; 107(26): 11918–23.
48. Clark D.A. Cell-surface CD200 may predict efficacy of paternal mononuclear leukocyte immunotherapy in treatment of human recurrent pregnancy loss. *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2009; 61(1): 75–84.
49. Lee S.K., Na B.J., Kim J.Y., Hur S.E., Lee M., Gilman-Sachs A., Kwak-Kim. Determination of clinical Cellular immune markers in women with recurrent pregnancy loss. *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2013; 70(5): 398–411.
50. Fukui A., Funamizu A., Yokota M., Yamada K., Nakamura R., Fukuhara R. et al. Uterine and circulating natural killer cells and their roles in women with recurrent pregnancy loss, implantation failure and preeclampsia. *J. Reprod. Immunol.* – 2011; 90(1): 105–10.
51. Chaouat G. Inflammation, NK cells and implantation: friend and foe (the good, the bad and the ugly?): replacing placental viviparity in an evolutionary perspective. *J. Reprod. Immunol.* – 2013; 97(1): 2–13.
52. Тетруашвили Н.К. «Клинико-патогенетическое обоснование использования различных методов иммунотерапии при привычном выкидыше» //Акуш. и гинек., 2008, 5, 7–12.
53. Recurrent pregnancy loss. Causes, Controversies and treatment/ Howard J Carp/ 2007.
54. Веропотвелян Н.П., Веропотвелян П.Н., Горук П.С., Погуляй Ю.С. Рациональный подход к применению лимфоцитотерапии при привычном невынашивании беременности //Здоровье женщины, 2012, № 2 (68). – С. 130–133.
55. Clark DA, Coulam CB, Daya S. et al unexplained sporadic and recurrent miscarriage in the new millennium: a critical analysis is of immune mechanisms and treatment. *Hum.Reprod Update* 2001;7:501–11.
56. Porter TF et al. immunotherapy for recurrent miscarriage. *Cochrane database syst rev* 2006;(2); CD000112.
57. Daya S., Gunby J. and Recurrent misscarriage immunotherapy trialists group. The effectiveness of allogenic leycocyte immunization in unexplained primary recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod immunol*, 1994;32:294–303.
58. Clark DA et al. Implication of abnormal human throphoblast karyotype of the evidence – based approach to the understanding , investigastion , and treatment of recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod immunology* 1996;35:495–8.
59. Carp HJA. Immunization with refrigerated paternal cells did not prevent recurrent miscarriage. *Evidance based Obstet Gynecol*, 2000; 2:49.
60. Clark DA, Chaauat G. Loss of surface CD200 on stored allogenic leucocytes may impair anti-abortive effect in vivo. *Am J Reprod Immunol* 2004;53:13–20.
61. Clark DA, Banwatt D. Altered expression of cell surface CD200 tolerance signaling molecule on human PBL stored at 4°C or 37°C correlates with reduced or increased efficacy in controlled trials of treatment of recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol* 2006; 55:392–3.
62. Clark DA et al. The use of allogenic leucocytes or IVIG G for the treatment of patient with recurrent spontaneous abortion. *Transfus Med Rev* 1997;11:65–94.
63. Sasaki Y et al. Decidual and peripheral blood CD 4+CD25+ regulatory T cells in early pregnancy subjects and spontaneous abortion cases. *Mol Hum Reprod* 2004; 10:347–53.

Статья поступила в редакцию 25.07.2014