

ФАКТОР, *IN VITRO* ПОДАВЛЯЮЩИЙ МИГРАЦИЮ МАКРОФАГОВ, В КРОВИ ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ ВЫКИДЫШЕМ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ, РАЗВИВАЮЩЕЙСЯ ПОСЛЕ ИММУНОЦИТОТЕРАПИИ

Вторушина В.В., Кречетова Л.В., Инвиева Е.В., Тетруашвили Н.К.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Цель — оценить содержание MIF в сыворотке периферической крови, а также продукцию MIF митоген-стимулированными клетками цельной периферической крови в течение беременности у женщин с идиопатическим привычным выкидышем, получающих в качестве лечения иммуноцитотерапию как в прегравидарной подготовке, так и в I триместре беременности.

В исследовании приняла участие 51 женщина от 20 до 40 лет: 10 фертильных здоровых вне беременности, 23 женщины с идиопатическим привычным выкидышем (ИПВ), 18 женщин с физиологическим течением беременности на разных сроках гестации (12 — в I триместре, 12 — во II, 9 — в III). Содержание MIF оценивали методом мультиплексного анализа на проточном флуориметре.

Из 23 женщин с ИПВ у 6 беременность потеряна в I триместре, у 14 женщин беременность пролонгирована до доношенного срока и завершилась рождением здорового ребенка, у трех произошли преждевременные роды в сроке от 24 до 35 недель живым плодом.

Межгрупповых различий в сывороточном уровне MIF у женщин контрольных и пациенток с ИПВ нет как вне беременности, так и во время беременности. Однако динамика показателя во время беременности, отражающая его рост во II и III триместрах в обеих группах женщин (контрольная и с ИПВ) одинаковая. Также во время беременности совпадает динамика продукции MIF митоген-активированными клетками цельной периферической крови, кроме значений во II триместре: в этом сроке продукция MIF женщин с ИПВ значимо ниже, хотя все равно увеличена по сравнению с I триместром в 3 раза (в контроле — в 5 раз). Значения MIF в сроке 5-6 недель в сыворотке женщин с физиологическим течением беременности ниже, чем у женщин в обеих подгруппах ИПВ, но различия в содержании MIF у женщин с выкидышем и с доношенной беременностью — нет. Также не выявлено различий в содержании MIF в супернатантах активированных клеток цельной крови женщин по срокам обследования в группах и между группами в одинаковые сроки обследования.

Показано положительное влияние ИЦТ на течение и исходы беременности у женщин с беременностью, пролонгированной до доношенного срока. Содержание MIF в сыворотке у женщин с доношенной беременностью выше, чем у женщин с выкидышем, что согласуется с выводами других

Адрес для переписки:

Инвиева Евгения Владимировна
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ
117198, Россия, Москва, ул. Акад. Опарина, 4.
Тел.: 8 (495) 438-11-83.
E-mail: e_inviyeva@oparina4.ru

Address for correspondence:

Inviyeva Eugenia V.
V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology
117198, Russian Federation, Moscow, Acad. Oparin str., 4.
Phone: 7 (495) 438-11-83.
E-mail: e_inviyeva@oparina4.ru

Образец цитирования:

В.В. Вторушина, Л.В. Кречетова, Е.В. Инвиева, Н.К. Тетруашвили «Фактор, in vitro подавляющий миграцию макрофагов, в крови женщин с привычным выкидышем при беременности, развивающейся после иммуноцитотерапии» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 3. С. 399-408.
doi: 10.46235/1028-7221-1040-MIF

© Вторушина В.В. и соавт., 2021

For citation:

V.V. Vtorushina, L.V. Krechetova, E.V. Inviyeva, N.K. Tetruashvili “Macrophage inhibiting factor in women with habitual miscarriage in pregnancy following immunocytotherapy”, Russian Journal of Immunology/ Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 3, pp. 399-408.
doi: 10.46235/1028-7221-1040-MIF

DOI: 10.46235/1028-7221-1040-MIF

авторов о неблагоприятном влиянии низких уровней MIF в сыворотке в ранние сроки беременности на ее развитие.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что не у всех женщин с ИПВ иммуноцитотерапия способствует пролонгированию беременности до доношенного срока. Поэтому необходимо проведение дальнейших исследований по поиску критериев назначения ИЦТ в лечении идиопатического привычного выкидыша.

Ключевые слова: привычный выкидыш, иммуноцитотерапия, MIF, беременность, иммунная система, иммунокоррекция

MACROPHAGE INHIBITING FACTOR IN WOMEN WITH HABITUAL MISCARRIAGE IN PREGNANCY FOLLOWING IMMUNOCYTOTHERAPY

Vtorushina V.V., Krechetova L.V., Inviyaeva E.V., Tetrushvili N.K.

V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

Abstract. The aim of our study was to evaluate the macrophage inhibitory factor (MIF) content of in peripheral blood serum, as well as MIF production by mitogen-stimulated cells from whole peripheral blood during pregnancy in women with idiopathic recurrent miscarriage who received immunocytotherapy both prior to and in the first trimester of pregnancy. The study involved 51 women 20 to 40 years old: 10 fertile healthy females beyond pregnancy, 23 women with idiopathic recurrent miscarriage (IRM), 18 women with a physiological course of pregnancy at different stages of gestation (12, in the first trimester; 12, in the second; 9, in third trimester). MIF content was assessed by multiplex analysis using flow fluorometry. Of 23 women with IRM, six lost their pregnancy in the first trimester, 14 women prolonged pregnancy to the full-term resulting into birth of a healthy child; three had premature births at 24 to 35 weeks with a live fetus. There were no intergroup differences in the serum MIF level in control women and in patients with IRM, both beyond and during pregnancy. However, the dynamics of this index during pregnancy, was similar with increase during the II and III trimesters in both groups of women (control and with IRM). During pregnancy, the dynamics of MIF production by mitogen-activated cells from peripheral blood was also similar, except for values in the II trimester: in this period, MIF production in women with IRM was significantly lower, although it was still increased 3 times compared to the 1st trimester (5-fold to controls). In women with physiological pregnancy, the serum MIF levels at 5 to 6 weeks were lower than in women in both IRM subgroups, but there was no difference in MIF content for women with miscarriage and full-term pregnancy. Similarly, there were no differences of MIF contents in the supernates of activated whole blood cells of women at the time of study within groups and between the groups at the same time of examination. It has been shown that ICT has a positive effect on the course and outcomes of pregnancy in women with pregnancy prolonged to full-term. The serum MIF content in women with full-term pregnancy is higher than in women with miscarriage, which is consistent with results of other authors about adverse developmental effects of low serum MIF levels at early pregnancy terms. The results obtained indicate that immunocytotherapy do not regularly promote pregnancy to full term in women with IPV. Therefore, further research is required to find out criteria for administering ICT in treatment of idiopathic recurrent miscarriage.

Keywords: habitual miscarriage, immunocytotherapy, MIF, pregnancy, immune system, immunocorrection

Работа была выполнена в рамках государственного задания 2021 16-А21.

Введение

Факторы, тормозящие реакции, которые нацелены на отторжение плода во время беременности, формируются в процессе морфогенеза плаценты с учетом регуляции и формирования иммунной системы [4, 5]. Блокирующие свойства

сыворотки беременных осуществляются рядом белков как высокомолекулярных иммуноглобулиновой природы, так и низкомолекулярных, обладающих иммунными свойствами, которые участвуют в формировании толерантности материнского организма к антигенам плода отцовского происхождения и влияют на исходы беременности. Одним из низкомолекулярных белков, интерес к которым был обусловлен их способ-

ностью контролировать интенсивность иммунного воспалительного ответа, является фактор, подавляющий миграцию макрофагов (МИФ, или MIF – Macrophage Migration Inhibition Factor), белок, продуцируемый активированными Т-лимфоцитами. Эффект ингибирования миграции макрофагов установлен в экспериментах *in vitro* [5, 6]. Показано, что MIF освобождается из мононуклеаров в ответ на любые провоспалительные и митогенные стимулы и инициирует ряд основных внутриклеточных сигнальных событий, приводящих через активацию p44/p42 митоген-активированной протеин-киназы и освобожденную под действием цитоплазматической фосфолипазы А арахидоновую кислоту к пролиферативным и провоспалительным эффектам [6]. Физиологическая роль MIF определяется провоспалительными эффектами лимфоцитов и макрофагов, связанными с физиологией эндометрия, поскольку показана экспрессия MIF в эндометрии в течение всего менструального цикла и в ранней беременности [8, 9], обсуждается его роль в поддержании иммунной привилегированности на фето-материнском интерфейсе, например, предполагается, что один из механизмов поддержания беременности и развития эмбриона ХГЧ связан с иммуномодуляторными и ангиогенными свойствами MIF [14].

Показан пониженный уровень MIF в крови и эндометрии пациенток с привычным выкидышем (классификация по МКБ-10) [12]. В патогенезе идиопатического привычного выкидыша (ИПВ), или выкидыша неясной этиологии, участие иммунной системы признается ведущим, и для коррекции этого вида акушерской патологии используется иммунокорректирующая терапия, одним из часто обсуждаемых видов которой является иммуноцитотерапия (ИЦТ), или аллоиммунизация пациенток лимфоцитами супруга. Долгое время считалось, что положительный эффект аллоиммунизации связан с формированием блокирующих свойств сыворотки беременных, сдерживающих отторжение плода. MIF – один из сывороточных факторов, который также может быть одним из факторов, который участвует в развитии гестационной иммуносупрессии. Поэтому исследование MIF в периферической крови женщин с привычными потерями беременности, получающих иммуноцитотерапию в период подготовки к беременности (прегравидарной подготовке) и в I триместре беременности представляет интерес для оценки влияния данного фактора на исход беременности.

Целью данной работы было оценить содержание MIF в сыворотке периферической крови, а также продукцию MIF митоген-стимулированными клетками цельной периферической крови

в течение беременности у женщин с идиопатическим привычным выкидышем, получающих в качестве лечения иммуноцитотерапию как в прегравидарной подготовке, так и в I триместре беременности.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 51 женщина от 20 до 40 лет, из них: 10 фертильных здоровых вне беременности, 23 женщины с привычным выкидышем неясного генеза в анамнезе, 18 женщин с физиологическим течением беременности на разных сроках гестации (12 женщин – в I триместре, 12 – во II, 9 – в III). Возраст женщин в исследуемых группах достоверно не отличался и составил $30,17 \pm 3,30$ лет у женщин с привычным выкидышем, $29,00 \pm 3,79$ – у женщин с физиологическим течением беременности и $28,2 \pm 4,2$ – у фертильных женщин вне беременности ($M \pm SD$, ANOVA $p > 0,05$). Исследование одобрено Комитетом по этике ФГБУ «НЦ АГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (протокол №13 от 6.12.2013 г.). Исследование проводилось Центре в 2014–2018 гг.

Критерии включения в группу исследования: не менее 2 выкидышей от одного и того же партнера, которые произошли в первом триместре, возраст женщины от 20 до 40 лет, нормальный кариотип партнера, нормозооспермия партнера, самопроизвольное наступление беременностей, отсутствие анатомических, генетически обусловленных, аутоиммунных, гормональных нарушений, тяжелых экстрагенитальных заболеваний, подписание формы информированного согласия на участие в исследовании.

Критерии включения в контрольную группу: наличие, как минимум, одних родов в анамнезе от данного партнера, возраст женщины от 20 до 40 лет, неотягощенный акушерский и гинекологический анамнез, отсутствие гормональных нарушений, которые сопровождаются изменениями менструального цикла, нормальный кариотип партнеров, нормозооспермия, физиологическое течение данной беременности, подписанная форма информированного согласия на проведение исследования. Для фертильных женщин дополнительно условием включения являлось наличие здорового ребенка в возрасте до 2 лет.

Процедуру ИЦТ осуществляли аллогенными клетками супругов в прегравидарной подготовке и в первом триместре наступившей беременности. До проведения настоящего исследования пациентки ИЦТ не получали. Методика проведения ИЦТ утверждена на заседании Ученого совета ФГБУ «НЦ АГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (протокол № 19 от 25 декабря 2012 г.).

Для проведения процедуры использовали лимфоциты, соответствующие критериям донорства. В процедурном кабинете осуществляли забор крови из локтевой вены в стерильную пробирку объемом 50 мл, в качестве антикоагулянта использовали 200 мкл раствора гепарина (исходный раствор 5000 МЕ/мл). Выделение лимфоцитарной взвеси проводили в кабинете с необходимым оборудованием и ламинарным шкафом. После тщательного перемешивания кровь инкубировали при 37 °С в течение 1-1,5 часов. При разделении крови на 2 слоя (верхний – плазма с мононуклеарными клетками, нижний – эритроциты), верхний слой переносили в центрифужную стерильную пробирку объемом 14 мл и центрифугировали в течение 7 минут при 1500 об/мин. После удаления супернатанта в пробирку вносили 6 мл стерильного физиологического раствора, наслаивали на 3 мл фикола в двух пробирках параллельно, сохраняя соотношение 1:2, и центрифугировали в течение 30 минут при 1500 об/мин. Лимфоцитарные кольца собирали в чистую стерильную пробирку, отмывали 2 раза 14 мл физиологического раствора в течение 7 минут при 1500 об/мин. После центрифугирования надосадов удаляли, осадок тщательно перемешивали в 2 мл стерильного физиологического раствора. Подсчет осуществляли в камере Горяева и в полученной взвеси определяли количество клеток. Концентрация лимфоцитов в физиологическом растворе составляла от 20 до 50 млн в 1 мл раствора.

В течение прегравидарной подготовки лимфоциты супруга вводили внутрикочно в 10-12 точек в ладонную поверхность предплечья дважды с интервалом в один месяц на 5-10 день менструального цикла, а во время наступившей беременности – в сроках 5-6 недель и 8-9 недель согласно протоколу ведения беременности у пациенток с ИПВ [4]. В течение недели производили визуальную оценку местной реакции организма на введение лимфоцитов партнеров.

Забор крови осуществляли натошак из локтевой вены. В прегравидарной подготовке кровь забирали до иммунизации и после каждого введения клеток на 18-22 день менструального цикла, а у беременных – в сроке 5-6 недель (до иммунизации), в 8-9 недель (до иммунизации) и в 12 недель гестации.

Женщины, включенные в исследование, обследовались вне беременности, а также в 5-6, 8-9, 12, 16-24 и 30-38 недель гестации.

Сыворотку периферической крови получали путем центрифугирования в течение 10 минут при 3000 g, второй раз в течение 3 минут при 10000 g, аликвотировали и хранили до анализа при -80 °С.

Для получения супернатантов после 24-часовой митогенной стимуляции клеток цельной крови использовали набор «Цитокин-стимул-бест» фирмы «Вектор-Бест» (Россия). В соответствии с рекомендацией производителя стимулирование 1 мл цельной крови осуществлялось в стерильном флаконе в CO₂-инкубаторе при 37 °С в течение 24-х часов. Смесь митогенов для стимулирования 1 мл цельной крови содержала 4 мкг ФГА, 4 мкг Кон А, 2 мкг липополисахарида. По окончании инкубации препараты крови центрифугировали в течение 10 минут при 3000 g, отбирали супернатант, вновь центрифугировали в течение 3 минут при 10000 g, отобранную надосадочную жидкость аликвотировали и образцы хранили до анализа при -80 °С.

Содержание MIF оценивали методом мультиплексного анализа наборами фирмы Bio-Rad (США) на проточном флуориметре Bio-Plex-200 System (Bio-Rad, США). Результаты обрабатывали с помощью приложения Bio-Plex Manager 6,0 Properties (Bio-Rad, США). Содержание MIF представлено в пг/мл.

Из 23 женщин с ИПВ, включенных в исследование, у 14 женщин беременность пролонгирована до доношенного срока и завершилась рождением здорового ребенка, у 6 женщин беременность потеряна в I триместре, у трех произошли преждевременные роды в сроке от 24 до 35 недель, мертворождений у этих женщин не было.

Статистическую обработку результатов исследования проводили стандартными методами с помощью Microsoft Office Excel 2007 и пакета MedCalc12 для Windows 7. Для проверки нормальности распределения применяли критерий Шапиро–Уилка. Данные представлены как медиана и интерквартильный размах распределения ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$), для оценки значимости различий в двух группах применяли U-критерий Манна–Уитни, в трех и более группах – критерий Краскела–Уоллиса с поправкой Бонферрони.

Результаты и обсуждение

В настоящем исследовании представлены результаты анализа содержания MIF в сыворотке и в супернатантах митоген-активированных клеток цельной периферической крови женщин с ИПВ, которые при подготовке к беременности в качестве монотерапии получали две процедуры аллоиммунизации лимфоцитарными клетками супруга и две процедуры в I триместре наступившей беременности в составе комплексной терапии ИПВ.

В таблице 1 представлены данные по содержанию MIF в сыворотке и в супернатантах клеток цельной периферической крови женщин с ИПВ с беременностью, пролонгированной до доношен-

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ MIF В СЫВОРОТКЕ И СУПЕРНАТАНТАХ МИТОГЕН-AКТИВИРОВАННЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЖЕНЩИН С ИПВ С БЕРЕМЕННОСТЬЮ, ПРОЛОНГИРОВАННОЙ ДО ДОНОШЕННОГО СРОКА, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. MIF CONTENT IN SERUM AND SUPERNATANTS OF MITOGEN-ACTIVATED PERIPHERAL BLOOD CELLS OF WOMEN WITH IRM WITH PREGNANCY PROLONGED TO TERM, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Сроки обследования Examination terms		Содержание MIF (пг/мл) в группах MIF content (pg/ml) in groups	
		контрольной control	с ИПВ with IRM
		в сыворотке периферической крови in peripheral blood serum	
Вне беременности Out of pregnancy		150 (119-275) (n = 10)	238 (128-324) n = 23
Во время беременности During pregnancy	1-й триместр 1 st trimester	206 (100-260) (n = 12) p_{ттр}-p_{лттр} < 0,0085 p _{лттр} -p _{лттр} < 0,0085 p_{ттр}-p_{лттр} < 0,0085 p _{лттр} -p _{лттр} < 0,0085	250 (163-314) (n = 14) p_{ттр}-p_{лттр} < 0,0085 p _{лттр} -p _{лттр} < 0,0085 p_{ттр}-p_{лттр} < 0,0085 p _{лттр} -p _{лттр} < 0,0085
	2-й триместр 2 nd trimester	307 (211-583) (n = 12) p_{вб}-p_{лттр} < 0,0085 p _{оп} -p _{лттр} < 0,0085	476 (231-644) (n = 13) p_{вб}-p_{лттр} < 0,0085 p _{оп} -p _{лттр} < 0,0085
	3-й триместр 3 rd trimester	602 (367-798) (n = 9) p_{вб}-p_{лттр} < 0,0085 p _{оп} -p _{лттр} < 0,0085	554 (391-701) (n = 13) p_{вб}-p_{лттр} < 0,0085 p _{оп} -p _{лттр} < 0,0085
		в супернатантах митоген-активированных клеток периферической крови in supernatants of mitogen-activated peripheral blood cells	
Вне беременности Out of pregnancy		1600 (1208-2258) (n = 10)	2114 (1251-2376) (n = 23)
Во время беременности During pregnancy	1-й триместр 1 st trimester	302 (140-500) (n = 12) p_{вб}-p_{лттр} < 0,0085 p _{оп} -p _{лттр} < 0,0085	200 (145-682) (n = 14) p_{вб}-p_{лттр} < 0,0085 p _{оп} -p _{лттр} < 0,0085
	2-й триместр 2 nd trimester	1536 (681-2655) (n = 12) p_{ттр}-p_{лттр} < 0,0085 p _{лттр} -p _{лттр} < 0,0085	602 (222-1040) (n = 13) p_{вб}-p_{лттр} < 0,0085 p _{оп} -p _{лттр} < 0,0085 p_{к2}-p_{ипв2} = 0,033 p _{с2} -p _{IRM2} = 0,033
	3-й триместр 3 rd trimester	1140 (1001-3022) (n = 9) p_{ттр}-p_{лттр} < 0,0085 p _{лттр} -p _{лттр} < 0,0085	969 (543-2425) (n = 13) p_{ттр}-p_{лттр} < 0,0085 p _{лттр} -p _{лттр} < 0,0085

Примечание. По срокам обследования различия в сывороточном уровне MIF и в содержании супернатантов митоген-стимулированных клеток периферической крови значимы в контрольной группе и в группе с ИПВ по критерию Краскела-Уоллиса; во II триместре различия в содержании супернатантов митоген-стимулированных клеток значимы в группе с физиологическим течением беременности и в группе с ИПВ по U-критерию Манна-Уитни; вб – вне беременности, тр – триместр.

Note. By the time of examination, the differences in the serum level of MIF and in the content of supernatants of mitogen-stimulated peripheral blood cells are significant in the control group and in the group with IRM according to the Kruskal-Wallis test; in the II trimester, differences in the content of supernatants of mitogen-stimulated cells are significant in the group with the physiological course of pregnancy and in the group with IRM according to the Mann-Whitney U-test; op, out of pregnancy, tr, trimester.

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ MIF В СЫВОРОТКЕ И СУПЕРНАТАНТАХ МИТОГЕН-AКТИВИРОВАННЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЖЕНЩИН С ИПВ В I ТРИМЕСТРЕ ГЕСТАЦИИ С РАЗНЫМИ ИСХОДАМИ БЕРЕМЕННОСТИ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. MIF CONTENT IN SERUM AND SUPERNATANTS OF MITOGEN-ACTIVATED PERIPHERAL BLOOD CELLS OF WOMEN WITH IRM IN THE FIRST TRIMESTER OF GESTATION WITH DIFFERENT PREGNANCY OUTCOMES, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Сроки обследования в I триместре Examination dates in the first trimester	Содержание MIF (пг/мл) в группах MIF content (pg/ml) in groups		
	контрольной control	с выкидышем with miscarriage	с доношенной беременностью with full-term pregnancy
	в сыворотке периферической крови in peripheral blood serum		
5-6 нед. 5-6 weeks	100 (52-156) (n = 6)	190 (168-293) (n = 6) $p_{к-рв} < 0,025$ $p_{с-рм} < 0,025$	305 (275-326) (n = 14) $p_{к-рв} < 0,025$ $p_{с-рв} < 0,025$
8-9 нед. 8-9 weeks	244 (136-378) (n = 8)	172 (113-363) (n = 5)	295 (248-303) (n = 10)
12 нед. 12 weeks	244 (220-289) (n = 12)		307 (126-336) (n = 13)
	в супернатантах митоген-активированных клеток периферической крови in supernatants of mitogen-activated peripheral blood cells		
5-6 нед. 5-6 weeks	140 (89-218) (n = 6)	448 (291-663) (n = 6)	189 (167-610) (n = 14)
8-9 нед. 8-9 weeks	335 (220-652) (n = 8)	487 (371-577) (n = 5)	136 (106-631) (n = 10)
12 нед. 12 weeks	402 (195-500) (n = 12)		466 (250-1257) (n = 13)

Примечание. Различия в сыворотке крови в сроке 5-6 недель между группами значимы по критерию Краскела-Уоллиса.

Note. Differences in blood serum at 5-6 weeks between groups are significant according to the Kruskal-Wallis test.

ного срока, и в контрольных группах женщин, как вне беременности, так и во время беременности.

Как следует из представленных в таблице 1 данных, межгрупповых различий в сывороточном уровне MIF вне беременности у женщин контрольных и пациенток с ИПВ нет, как не выявлено межгрупповых различий и во время беременности, но динамика показателя во время беременности, отражающая его рост во II и III триместрах в обеих группах женщин (контрольная и с ИПВ) одинаковая. Также совпадает динамика продукции MIF митоген-активированными клетками цельной периферической крови в течение беременности женщин в группах контрольной и с ИПВ, кроме значений во II триместре: в этом сроке продукция MIF женщин с ИПВ зна-

чимо ниже ($p = 0,033$), хотя все равно увеличена по сравнению с I триместром в 3 раза (в контроле – в 5 раз).

Поскольку в данной таблице представлены результаты у женщин с ИПВ с беременностью, пролонгированной до доношенного срока, то эти данные можно рассматривать как свидетельство положительного влияния ИЦТ на течение и исходы беременности у данной категории пациентов. Ранее нами было показано, что и субпопуляционный состав лимфоцитов, а также их способность отвечать на активационный стимул у женщин с физиологическим течением беременности и у женщин с ИПВ с доношенной после ИЦТ в I триместре беременностью не отличается [3], и динамика баланса Th1/Th2-цитокиновой продукции одинакова в обеих группах женщин и

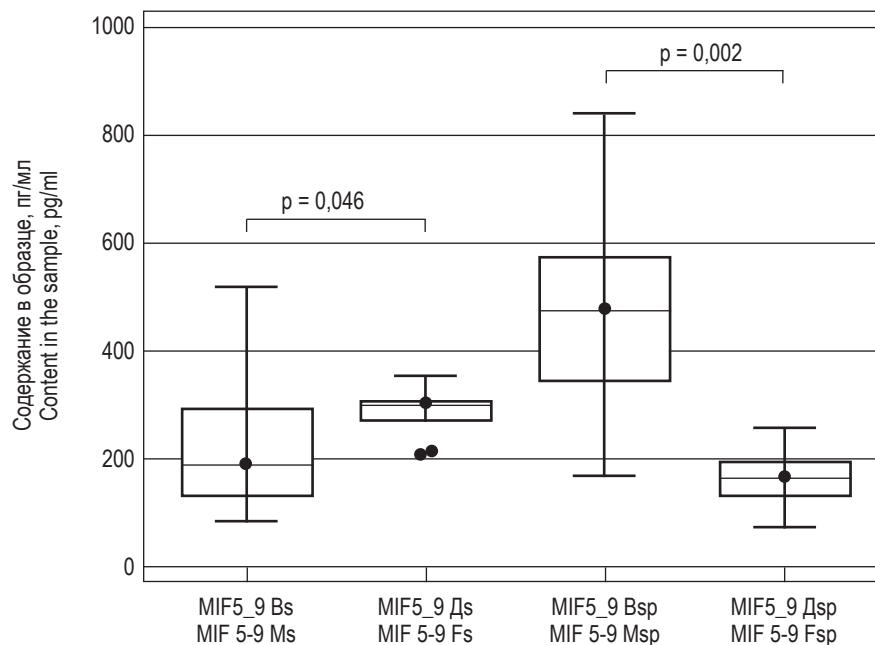


Рисунок 1. Содержание MIF в сроке 5-9 недель гестации в сыворотке и супернатанте митоген-активированных клеток периферической крови женщин с ИПВ с разными исходами беременности, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Примечание. В – выкидыш, Д – доношенная беременность, s – в сыворотке, sp – в супернатанте; различия по U-критерию Манна-Уитни значимы ($p < 0,05$).

Figure 1. MIF content at 5-9 weeks of gestation in serum and supernatant of mitogen-activated peripheral blood cells of women with IRM with different pregnancy outcomes, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Note. M, miscarriage; F, full-term pregnancy; s, in the serum; sp, in the supernatant; differences according to the Mann-Whitney U-test are significant ($p < 0.05$).

характеризовалась преимущественно провоспалительной направленностью в I и III триместрах, противовоспалительной – во II триместре [2].

В таблице 2 представлено содержание MIF в разные сроки I триместра гестации у пациенток с разными исходами беременности, наступившей после ИЦТ в прегравидарной подготовке.

Как следует из данных таблицы 2, значения MIF в сроке 5-6 недель в сыворотке женщин с физиологическим течением беременности ниже, чем у женщин в обеих подгруппах ИПВ, но различия в содержании MIF у женщин с выкидышем и с доношенной беременностью – нет. Также не выявлено различий в содержании MIF в супернатантах активированных клеток цельной крови женщин по срокам обследования в группах и между группами в одинаковые сроки обследования.

Известно, что к сроку 8-9 недель гестации завершаются начальные этапы формирования плаценты, которые имеет важнейшее значение для пролонгирования беременности. Потери беременности в эти сроки свидетельствуют о неспособности трофобласта к дальнейшему росту и развитию. По литературным данным, секреция

MIF плацентой препятствует апоптозу клеток трофобласта [10, 13]. Поэтому было проанализировано содержание MIF в сроках 5-9 недель гестации в сыворотке и супернатантах женщин, потерявших беременность, и у женщин с доношенной беременностью (рисунок).

Из представленных на рисунке данных, у женщин с доношенной беременностью содержание MIF в сыворотке выше, чем у женщин с выкидышем, что согласуется с выводами других авторов о неблагоприятном влиянии низких уровней MIF в сыворотке в ранние сроки беременности на ее развитие [11, 15]. Интересным оказался результат со значимо низким уровнем MIF в супернатантах митоген-активированных клеток периферической крови женщин с доношенной беременностью по сравнению с уровнем у женщин с выкидышем. Эти результаты совпадают с ранее опубликованными нами данными о самом низком уровне блокирующего эффекта аутологичной сыворотки у женщин с доношенной беременностью именно в анализируемом сроке гестации по сравнению с уровнем у женщин с ИПВ в течение всей доношенной беременности [1]. Блокирующий эффект рассчитывался по инги-

бириванию экспрессии раннего активационного маркера CD69 митоген-активированными мононуклеарами периферической крови в культуре при добавлении в среду инкубации аутологичной сыворотки [7]. Данные о динамике блокирующей активности сыворотки в течение первого триместра у женщин с доношенной беременностью подтверждают значимость при имплантации высокого уровня иммуносупрессии. На сроке 8-9 недель происходило резкое падение БЭ до минимальных значений, зарегистрированных в первом триместре. Вероятно, высокая блокирующая активность имеет значение именно для периода имплантации, а дальнейший процесс развития беременности, видимо, протекает на фоне сни-

жения иммуносупрессии. Минимальное значение блокирующей активности сыворотки в 8-9 недель гестации может отражать необходимость иммунного контроля первой волны инвазии трофобласта в спиральные артерии матки.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что не у всех женщин с ИПВ иммуноцитотерапия способствует пролонгированию беременности до доношенного срока. Поэтому необходимо проведение дальнейших исследований по поиску критериев назначения ИЦТ в лечении идиопатического привычного выкидыша.

Список литературы / References

1. Кречетова Л.В., Николаева М.А., Ванько Л.В., Голубева Е.Л., Зиганшина М.М., Тетруашвили Н.К., Вторушина В.В., Сухих Г.Т. Блокирующий эффект аутологичной сыворотки женщин с привычным невынашиванием беременности // *Акушерство и гинекология*, 2013. № 3. С. 38-42. [Krechetova L.V., Nikolaeva M.A., Vanko L.V., Golubeva E.L., Ziganshina M.M., Tetrushvili N.K., Vtorushina V.V., Sukhikh G.T. Blocking effect of autologous serum in women with recurrent miscarriage. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2013, no. 3, pp. 38-42. (In Russ.)]
2. Кречетова Л.В., Николаева М.А., Ванько Л.В., Зиганшина М.М., Вторушина В.В., Хачатрян Н.А., Тетруашвили Н.К., Сухих Г.Т. Продукция цитокинов *in vitro* мононуклеарными клетками периферической крови при проведении аллоиммунизации у пациенток с привычным выкидышем // *Акушерство и гинекология*, 2014. № 5. С. 51-56. [Krechetova L.V., Nikolaeva M.A., Vanko L.V., Ziganshina M.M., Vtorushina V.V., Khachatryan N.A., Tetrushvili N.K., Sukhikh G.T. Production of cytokines *in vitro* by mononuclear cells of peripheral blood during alloimmunization in patients with recurrent miscarriage. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2014, no. 5, pp. 51-56. (In Russ.)]
3. Кречетова Л.В., Тетруашвили Н.К., Вторушина В.В., Степанова Е.О., Николаева М.А., Голубева Е.Л., Хачатрян Н.А. Динамика субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови в первом триместре беременности у женщин с привычным выкидышем на фоне проведения иммуноцитотерапии // *Акушерство и гинекология*, 2015. № 6. С. 59-66. [Krechetova L.V., Tetrushvili N.K., Vtorushina V.V., Stepanova E.O., Nikolaeva M.A., Golubeva E.L., Khachatryan N.A. The course of changes in subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes in the first trimester of pregnancy in women with recurrent miscarriage during immunotherapy. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2015, no. 6, pp. 59-66. (In Russ.)]
4. Сидельникова В.М. Подготовка и ведение беременности у женщин с привычным невынашиванием: методические рекомендации и клинические протоколы. 3-е изд. М.: МЕДпрессинформ, 2013. 224 с. [Sidelnikova V.M. Preparation and maintenance of pregnancy in women with recurrent pregnancy loss: manuals and clinical guidelines]. Moscow: MEDpress-inform, 2011. 224 p.
5. Сотникова Н.Ю. Иммунологическая загадка беременности. Иваново: МИК, 2005. 276 с. [Sotnikova N.Yu. Immunological mystery of pregnancy]. Ivanovo: MIC, 2005. 276 p.
6. Суслов А.П., Коноплева М.В., Третьяков О.Ю. Фундаментальная иммунобиология провоспалительных цитокинов и MIF // *Медицинская иммунология*, 2006. Т. 8, № 1. С. 5-22. [Suslov A.P., Konopleva M.V., Tretyakov O.Yu. Fundamental immunobiology of proinflammatory cytokines and MIF. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2006, Vol. 8, no. 1, pp. 5-22. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2006-1-5-22.
7. Патент 2396566 РФ, МПК G01N 33/ 53 (2006.01). Способ определения блокирующего эффекта аутологичной женской сыворотки / Сухих Г.Т., Ванько Л.В., Николаева М.А., Зиганшина М.М., Сидельникова В.М., Кречетова Л.В.; заявитель и патентообладатель ФГБУ НЦ АГП им.В.И.Кулакова, ГОУВПО ММА им. И.М. Сеченова. № 2009116174/15; заявл. 29.04.2009; опубл. 10.08.2010; Бюлл. № 22. 10 с. [Patent 2396566 RF, IPC G01N 33/53 (2006.01). Method for determining the blocking effect of autologous female serum / Sukhikh G.T., Vanko L.V., Nikolaeva M.A., Ziganshina M.M., Sidelnikova V.M., Krechetova L.V.; applicant and patentee FGBU NTs AGP named after V.I. Kulakov, GOUVPO MMA named after V.I. THEM. Sechenov. No. 2009116174/15; declared 04/29/2009; publ. 08/10/2010; Bulletin No. 22. 10 p.

8. Arcuri F., Ricci C., Ietta F., Cintonino M., Tripodi S.A., Cetin I., Garzia E., Schatz F., Klemi P., Santopietro R., Paulesu L. Macrophage migration inhibitory factor in the human endometrium: expression and localization during the menstrual cycle and early pregnancy. *Biol. Reprod.*, 2001, Vol. 64, no. 4, pp. 1200-1205.
9. Arcuri F., Cintonino M., Carducci A., Papa S., Riparbelli M.G., Mangioni S., Di Blasio A.M., Tosi P., Viganò P. Human decidual natural killer cells as a source and target of macrophage migration inhibitory factor. *Reproduction*, 2006, Vol. 131, no. 1, pp. 175-182.
10. Bevilacqua E., Paulesu L., Ferro E.A., Ietta F., Faria M.R., Lorenzon A.R., Costa A.F., Martucci M. Review: putative roles for the macrophage migratory inhibitory factor at the maternal fetal interface. *Placenta*, 2014, Vol. 35 Suppl., pp. S51-S56.
11. Cardaropoli S., Ietta F., Romagnoli R., Rolfo A., Paulesu L., Todros T. Lower macrophage migration inhibitory factor concentrations in maternal serum before pre-eclampsia onset. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2014, Vol. 34, no/ 7, pp. 537-542.
12. Comba C., Bastu E., Dural O., Yasa C., Keskin G., Ozsurmeli M., Buyru F., Serdaroglu H. Role of inflammatory mediators in patients with recurrent pregnancy loss. *Fertil. Steril.*, 2015, Vol. 104, no. 6, pp. 1467-1474.e1.
13. Pearce B.D., Garvin S.E., Grove J., Bonney E.A., Dudley D.J., Schendel D.E., Thorsen P. Serum macrophage migration inhibitory factor in the prediction of preterm delivery. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2008, Vol. 199, no. 1, pp. 46.e1-e6.
14. Viganò P., Cintonino M., Schatz F., Lockwood C.J., Arcuri F. The role of macrophage migration inhibitory factor in maintaining the immune privilege at the fetal-maternal interface. *Semin. Immunopathol.*, 2007, Vol. 29, no. 2, pp. 135-150.
15. Yamada H., Kato E., Morikawa M., Shimada S., Saito H., Watari M., Minakami H., Nishihira J. Decreased serum levels of macrophage migration inhibition factor in miscarriages with normal chromosome karyotype. *Hum. Reprod.*, 2003, Vol. 18, pp. 616-620.

Авторы:

Вторушина В.В. — к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Кречетова Л.В. — д.м.н., заведующая лабораторией клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Vitorushina V.V., PhD (Medicine), Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

Krechetova L.V., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Clinical Immunology, V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

Ивьяева Е.В. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Inviyaeva E.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Clinical Immunology, V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

Тетруашвили Н.К. — д.м.н., заведующая отделением патологии беременности (отделение терапии и профилактики невынашивания беременности) ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Tetruashvili N.K., PhD, MD (Medicine), Head, Department of Pregnancy Pathology (Department of Therapy and Prevention of Miscarriage), V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

Поступила 01.07.2021
Принята к печати 20.07.2021

Received 01.07.2021
Accepted 20.07.2021