

## ЭФФЕКТ АЛЛОИММУНИЗАЦИИ ЛИМФОЦИТАМИ МУЖА НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ЖЕНЩИНЫ ПРИ ВЫСОКОМ СХОДСТВЕ ПАРТНЕРОВ ПО АНТИГЕНАМ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ

© 2019 г. А. В. Федорова<sup>2</sup>, Н. А. Хонина<sup>1\*</sup>

\*E-mail: nkhonina@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>«Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»  
Новосибирск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 28.03.2019

В работе исследован уровень пролиферативного ответа мононуклеарных клеток женщины на антигены партнера в однонаправленной смешанной культуре лимфоцитов при различном сходстве партнеров по антигенам II класса главного комплекса гистосовместимости. Установлено, что пары с высокой степенью сходства (по 5–6 антигенам) характеризуются достоверно более низким уровнем пролиферации лимфоцитов на аллоантигены по сравнению с группой, у которых такое сходство отсутствует. Проведение аллоиммунизации лимфоцитами партнера сопровождается усилением пролиферации клеток на аллоантигены. Однако при сходстве по 3 и более антигенам регистрируется достоверно более низкий пролиферативный ответ, чем при минимальном или полном отсутствии совместимости по антигенам II класса.

**Ключевые слова:** бесплодие, антигены гистосовместимости, пролиферативный ответ, смешанная культура лимфоцитов

DOI: 10.31857/S102872210006985-8

Адрес: 630099 Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14, ФГБНУ НИИФКИ Хонина Наталья Алексеевна.

Тел./факс: +7(383)2282101

E-mail: nkhonina@mail.ru

Авторы:

**Федорова А. В.**, студентка 5 курса «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» Новосибирск, Россия.

**Хонина Н. А.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия.

Бесплодие неясного генеза остается одной из наиболее сложных проблем в репродуктивной медицине. У женщин могут отсутствовать анатомические дефекты репродуктивной системы, гинекологические заболевания, эндокринная патология, исключен мужской фактор, но беременность либо не наступает, либо прерывается на ранних стадиях. Одним из факторов, негативно влияющих на имплантацию и ранние сроки беременности, являются иммунные дис-

функции, которые вызывают нарушение формирования иммунологической толерантности и, как следствие, невынашивание беременности [1]. Отсутствие толерантности к аллоантигенам плода может быть следствием высокого сходства партнеров по HLA антигенам главного комплекса гистосовместимости (ГКС), что проявляется снижением пролиферативного ответа на аллоантигены и недостаточной продукцией блокирующих факторов. Аллоиммунизация лимфоцитами (АИЛ) мужа направлена на коррекцию иммунных дисфункций у женщин с бесплодием [2, 3, 4]. Однако не ясно насколько АИЛ способна усилить пролиферативный ответ клеток на антигены партнера при высокой степени ГКС.

В настоящей работе проведен сравнительный анализ уровня пролиферации лимфоцитов женщины на антигены партнера до и после проведения АИЛ в зависимости от степени их сходства по антигенам II класса ГКС.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 282 женщины, обследованные в НИИФКИ в период с 2013 по 2017 гг., с первичным и вторичным (ПНБ) бесплодием. Возраст женщин варьировал от 24 до 39 лет (в среднем  $32,4 \pm 2,4$  года). У женщин с первичным бесплодием ( $n=130$ ) не была выявлена причина infertility (регулярный овуляторный менструальный цикл, проходимость маточных труб, фертильная сперма партнера, отсутствие анатомических дефектов репродуктивных органов). У женщин с вторичным бесплодием ( $n=152$ ) в анамнезе регистрировалось не менее 3 беременностей, которые закончились потерей плода. Пролиферативный ответ мононуклеарных клеток женщины (МНК) оценивали в однонаправленной смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ), где МНК женщины ( $0,1 \times 10^6$ ) культивировали с МНК партнера ( $0,1 \times 10^6$ ), обработанных митомицином С (40 мкг/мл), в течение 5 суток в присутствии 10% сыворотки мужа или сыворотки женщины. Интенсивность пролиферации МНК оценивали радиометрически по включению  $^3\text{H}$ -тимидина. Всем женщинам была проведена процедура АИЛ клетками мужа, при наличии у него отрицательных анализов на содержание HBS антигенов, антител к гепатиту С, RW и ВИЧ. Первый курс АИЛ состоял из 3 подкожных инъекций МНК ( $20\text{--}25 \times 10^6$  клеток), выделенных из периферической крови мужа. После завершения курса АИЛ проводили повторное иммунологическое обследование.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Уровень пролиферативного ответа клеток женщин в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ) варьировал от 898 до 30112 имп/мин и в среднем составил – 4365 имп/мин. В зависимости от степени сходства по антигенам II класса ГКС (DRB1, DQA1, DQB1) пары были разделены на 4 группы: 1-ю группу составили пары с отсутствием сходства по антигенам ГКС; во 2-ю группу вошли пары со сходством по 1–2 антигенам; в 3-ю группу включили пары со сходством по 3–4 антигенам и 4-ю группу составили пары с высокой степенью гистосовместимости (5–6 антигенов). Исследования показали, что уровень пролиферации МНК в группе 1 и 2 был сопоставим ( $5254$  vs  $5009$  имп/мин;  $p=0,08$ ), в 3-й группе отмечена тенденция к более низкому пролиферативному ответу по сравнению с 1 группой

( $4602$  vs  $5009$  имп/мин;  $p=0,1$ ). У женщин из 4-й группы уровень пролиферации был на 60% ниже и достоверно отличался от такового в 1-й группе ( $3210$  vs  $5009$  имп/мин;  $p=0,04$ ). Проведение АИЛ сопровождалось повышением ответа МНК на аллоантигены во всех группах. При этом достоверное повышение уровня пролиферации клеток получено только в 1-й и 2-й группах, где регистрировалось отсутствие или минимальное сходство партнеров по антигенам ГКС. У пациентов из 3-й и 4-й групп отмечалось усиление пролиферации клеток на уровне тенденций. Уровень пролиферативного ответа клеток после проведения АИЛ был максимальный в группе 1 и достоверно отличался от такового в группе 3 ( $5634$  vs  $6253$  имп/мин;  $p=0,04$ ) и группе 4 ( $4571$  vs  $6253$  имп/мин;  $p=0,04$ ). Однако, различия между параметрами в оппозиционных группах (с отсутствием сходства и высокой степенью гистосовместимости) после проведения АИЛ снижались и составили 27%.

Полученные результаты свидетельствуют, что при высокой степени гистосовместимости партнеров регистрируется более низкий пролиферативный ответ лимфоцитов на антигены мужа по сравнению с парами, у которых отсутствует сходство по антигенам ГКС. Проведение АИЛ сопровождается повышением уровня пролиферации клеток, однако, данный показатель остается наиболее низким при высокой степени гистосовместимости партнеров.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Shankarkumar U., Pawar A., Gaonkar P., Parasannavar D., Salvi V., Ghosh K. HLA allele associations in idiopathic recurrent spontaneous abortion patients from India. *J Hum Reprod Sci.* 2008, 1, 19–24.
2. Cavalcante M. B., Sarno M., Niag M. Lymphocyte immunotherapy for recurrent miscarriages: Predictors of therapeutic success. *Am J Reprod Immunol.* 2018, 79: e12833. doi: 10.1111/aji.12833.
3. Günther V., Alkatout I., Junkers W., Maass N., Ziemann M., Görg S., von Otte S. Active Immunisation with Partner Lymphocytes in Female Patients Who Want to Become Pregnant – Current Status. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2018, 178, 260–273. doi: 10.1055/s-0044-101609.
4. Khonina N. A., Broitman E. V., Shevela E. Y., Pashman N. M., Chernykh E. R. Mixed lymphocyte reaction blocking factors (MRL-Bf) as potential biomarker for indication and efficacy of paternal lymphocyte immunization in recurrent spontaneous abortion. *Arch Gynecol Obstet.* 2013, 288, 933–7. doi: 10.1007/s00404-013-2832-x.

**THE EFFECT OF ALLOIMMUNIZATION BY HUMAN LYMPHOCYTES  
ON THE PROLIFERATIVE ACTIVITY OF WOMAN CELLS  
WITH A HIGH FREQUENCY OF HLA SHARING**

© 2019 A. V. Fedorova<sup>2</sup>, N. A. Khonina<sup>1\*</sup>

\*E-mail: [nkhonina@mail.ru](mailto:nkhonina@mail.ru)

<sup>1</sup>*Federal Budget Institution of Science «Research Institute of fundamental and clinical immunology», Novosibirsk, Russia*

<sup>2</sup>*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

**Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 28.03.2019

The level of the proliferative response of female cells to partner antigens in women with a high degree of HLA sharing in couples is significantly lower than in women with no HLA similarity. The alloimmunization of the partner's lymphocytes is accompanied by an increase in the proliferative response in all groups of women regardless of HLA sharing. However, woman with a high sharing of HLA antigens have a lower level of cell proliferation than woman with no sharing of HLA antigens.

*Key words:* infertility, HLA sharing, proliferative response, mixed lymphocyte culture

**Authors:**

**Fedorova A. V.**, student of NSU, Novosibirsk, Russia;

**Khonina N. A.**, ✉ MD, PhD, Leading Researcher of the Laboratory of Cell Immunotherapy of Federal Budget Institution of Science «Research Institute of fundamental and clinical immunology», Novosibirsk, Russia. **E-mail:** [nkhonina@mail.ru](mailto:nkhonina@mail.ru)