

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРИЧИНЫ РАННИХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОТЕРЬ

Д. Ю. Айрапетов, И. М. Ордянец

Изучен патогенез невынашивания беременности на основе анализа генов главного комплекса гистосовместимости HLA супругов и показателей иммунного статуса у женщин с привычным невынашиванием беременности.

Привычная потеря беременности — это частая проблема супружеских пар. В настоящее время практически у каждой пятой женщины беременность прерывается самопроизвольным выкидышем [2; 3; 6]. Согласно определению ВОЗ, привычным выкидышем принято считать наличие в анамнезе у женщины подряд двух и более самопроизвольных прерываний беременности в сроки до 22 недель.

За последние 25—30 лет отмечается тенденция к увеличению частоты спонтанного прерывания беременности. За это время стало известно, что к основным причинам гибели эмбриона, кроме анатомических, эндокринных и инфекционных, относятся генетические и иммунные аномалии [3; 6; 7]. Большинство иммунных механизмов, регулирующих беременность, неизвестны. Это связано, во-первых, со сложностью данных механизмов, во-вторых, с пренебрежением ими в клинике.

По мнению одних авторов, невынашивание может быть вызвано нарушением продукции материнским организмом антител к отцовским антигенам (эти антитела защищают плод от атаки материнской иммунной системы) [7]. Существует и другое мнение ученых, согласно которому высокая степень совместимости родителей по HLA-системе не может быть причиной недостаточного иммунного ответа и невынашивания беременности и роль материнских блокирующих антител в развитии толерантности к плодовым тканям тоже дискуссионна. Вместе с тем есть мнение, что типирование антигенов HLA вообще не показано пациенткам с привычным выкидышем [1; 4].

В первые недели беременности популяция лимфоцитов децидуальной оболочки представлена прежде всего CD56⁺-NK-клетками (80 %), Т-лимфоцитами (CD3⁺) (10 %) и CD14⁺-макрофагами (10 %). Эти клетки накапливаются в большом количестве в месте имплантации [5]. Они играют большую

роль в модулировании иммунного ответа матери по отношению к плаценте в направлении цитотоксического хелперного ответа 1-го типа или супрессивного и стимулирующего рост хелперного ответа 2-го типа. Во время беременности и раннего послеродового периода субпопуляции Т-клеток периферической крови меняются. С начала беременности и в течение всего ее срока абсолютное количество Т-клеток (CD3) и их основных разновидностей (CD4 и CD8) уменьшается. В послеродовом периоде количество Т-клеток в крови повышается. Эти изменения отражают общую иммуносупрессию в организме матери во время беременности [8; 9; 10].

Классические NK-клетки эндометрия имеют фенотип CD56⁺/16⁻. Считается, что они регулируют инвазию трофобласта. Повышенная активность естественных киллеров в периферической крови может быть отражением повышения их активности в эндометрии. Повышенное абсолютное количество CD56⁺-клеток зафиксировано в эндометрии женщин с привычным ранним невынашиванием [8; 10].

Таким образом, повышение числа активированных лимфоцитов в децидуе у женщин с привычным невынашиванием и нормальным кариотипом плода позволяет сделать предположение о вовлеченности в патогенез привычного невынашивания реакций клеточного иммунитета. Исследование естественных киллеров периферической крови имеет прогностическое значение при привычном невынашивании. Влияние на количество и функцию этих клеток кажется обещающей терапевтической мерой [2; 4; 7].

Цель исследования — расширить представления о патогенезе невынашивания беременности на основании изучения генов главного комплекса гистосовместимости HLA супругов и показателей иммунного статуса у женщин с привычным невынашиванием беременности.

© Айрапетов Д. Ю., Ордянец И. М., 2013

Материал и методы исследования. Проведено обследование 217 небеременных женщин из супружеских пар с привычным невынашиванием беременности ранних сроков. Критерием включения в группы являлось наличие в анамнезе женщин репродуктивного возраста 3 и более случаев невынашивания беременности в первом триместре. Пациентки не имели в анамнезе роды.

В соответствии с поставленными задачами исследования проводилось определение антигенов HLA-II-класса у всех супружеских пар. В результате обследования выявлено, что среди них преобладали пары, имеющие совместимость по аллелям системы HLA-II-класса — 164 пары (75,6 %). У 53 пар (24,4 %) совместимости не выявлено.

Нами установлено, что из 164 пациенток с совместимостью с мужем антигенов HLA самопроизвольный выкидыш произошел у 75 (45,7 %) и у 26 (49,1 %) из 53 женщин — без HLA-совпадений. Неразвивающаяся беременность была у 89 (54,3 %) пациенток с HLA-совпадениями и у 27 (50,9 %) без HLA-совместимости антигенов. В результате статистического анализа выяснилось, что различия между группами по типу прерывания беременности не выявлено ($p > 0,05$).

Нами установлено, что основная часть репродуктивных потерь происходит в первом триместре. У всех женщин первая беременность закончилась прерыванием в сроках от 5 до 13 недель, т. е. все они страдали первичным невынашиванием ($p < 0,001$). Половина беременностей прерывается по типу неразвивающейся беременности вне зависимости от наличия либо отсутствия гомологии HLA-антигенов у супругов.

Женщины с совпадениями по HLA-антигенам и без совпадений сходны между собой по типу репродуктивных потерь, среднему возрасту, семейному положению, профессиональной принадлежности, менструальной функции, экстрагенитальной патологии, но различны по частоте хронических воспалительных гинекологических заболеваний.

Возраст пациенток колебался от 19 до 37 лет и в среднем составил $29 \pm 0,3$ года. При изучении социального статуса пациенток нами выявлено, что основной контингент обследованных женщин был представлен служащими (45,6 %) и домохозяйками (29 %). Экстрагенитальные заболевания были выявлены у 46,1 % обследованных, преимущественно в виде хронического гастрита — 16,1 %, хронического цистита — 13,4 %, хронического тонзиллита — 6,9 %, ожирения — 3,7 %, вегетососудистой дистонии — 3,2 %, заболеваний щитовидной железы — 2,8 %.

Анализ менструальной функции пациенток показал, что возраст наступления менархе у пациенток в среднем составил $13,4 \pm 0,25$ года. Средняя продолжительность менструального кровотечения составила 4–6 дней. Менструальная функция у 74 (98,7 %) из 75 пациенток с выкидышами и у 87 (97,7 %) из 89 пациенток с неразвивающейся беременностью в анамнезе и HLA-совпадением оказалась ненарушенной. Менструальная функция у 24 (92,3 %) из 26 пациенток с выкидышами и у 25 (92,6 %) из 27 пациенток с неразвивающейся беременностью в анамнезе и без HLA-совпадений оказалась также ненарушенной. Среди нарушений менструального цикла в большинстве случаев в обеих группах встречались аменорея и олигоменорея. При проведенном нами статистическом анализе выяснилось, что различия между группами по данному показателю не выявлено ($p > 0,05$). Средний возраст начала половой жизни у обследованных женщин достоверно не различался ($p > 0,05$) и колебался от 18 до 23 лет.

При анализе анамнестических данных о гинекологических заболеваниях у пациенток с привычным невынашиванием беременности выявлено, что преобладали воспалительные заболевания матки и ее придатков — у 36 (16,6 %) женщин, причем достоверные отличия были между пациентками с невынашиванием беременности и совпадением по HLA-антигенам и без совпадений антигенов. У пациенток с невынашиванием беременности и HLA-совпадениями воспалительные заболевания были в анамнезе у 19 (11,6 %) женщин, что достоверно отличается от количества пациенток с невынашиванием и без совпадений по HLA-антигенам — 17 (32,1 %), у которых были воспалительные заболевания матки и придатков. Также установлено, что воспалительные заболевания органов малого таза не влияли на характер и тип прерывания беременностей в обеих группах, так как процент беременностей, прервавшихся по типу самопроизвольного выкидыша и по типу неразвивающейся беременности, оказался практически одинаковым.

Нами установлено, что, помимо иммуногенетического фактора невынашивания беременности, существует огромный ряд других, такие как эндокринный, тромбофилический, инфекционный, анатомический.

В нашем случае после проведенного обследования выявлено, что среди пациенток как с гомологией генов HLA, так и без нее были женщины, у которых причинами невынашивания беременности оказались следующие: у 121 (55,8 %) пациентки — HLA-гомо-

логия, у 43 (19,8 %) — сочетанная патология — HLA-гомология+другие причины, у 53 (24,4 %) пациенток — без HLA-гомологии, но с другими причинами.

Из 121 пациентки с гомологией антигенов HLA неразвивающаяся беременность была у 64 (53 %), выкидыши — у 57 (47 %) женщин. Из 43 пациенток с гомологией и другими причинами (сочетанная патология) неразвивающаяся беременность была у 25 (58 %), выкидыши — у 18 (42 %). 19 пациенток этой группы имели хронический эндометрит (подтвержден гистологически), у 2 были миомы тела матки, у 4 гиперандрогения, у 1 аномалии полового аппарата, у 6 недостаточность лютеиновой фазы (подтверждена данными УЗИ малого таза и гормональным исследованием), у 11 тромбофилии. Из 53 пациенток без гомологии антигенов 17 имели хронический эндометрит (подтвержден гистологически), у 4 были миомы тела матки, у 3 гиперплазия эндометрия, у 6 гиперандрогения, у 2 аномалии полового аппарата, у 8 недостаточность лютеиновой фазы (подтверждена данными УЗИ малого таза и гормональным исследованием), у 13 тромбофилии.

В результате статистического анализа нами установлено, что из 121 супружеской пары с гомологией, 1–2 идентичных антигена (аллели в локусах) были у 21 (17,4 %), 3–4 идентичных антигена — у 58 (47,9 %), 5–6 — у 42 (34,7 %). Из 43 супружеских пар с сочетанной патологией 1–2 идентичных антигена были у 8 (18,6 %), 3–4 — у 22 (51,2 %), 5–6 — у 13 (30,2 %).

При проведении иммунологического обследования оценивался популяционный состав иммунокомпетентных клеток периферической крови, уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови у 217 пациенток с привычным невынашиванием беременности в анамнезе. В качестве контроля показатели иммунитета были изучены у 18 практически здоровых фертильных женщин.

Имунологическое обследование было построено исходя из наличия либо отсутствия гомологии HLA-антигенов, количества совпадающих аллелей. Установлена зависимость изменений клеточного и гуморального иммунитета от наличия и отсутствия гомологии генов HLA, количества совпадающих аллелей в антигенах супругов и наличия либо отсутствия хронического эндометрита. Основные изменения коснулись уровней CD8, CD16, CD56, IgM. Наличие гомологии антигенов HLA приводит к уменьшению уровня CD8 и IgM и в то же время к увеличению уровня CD16, CD56. Причем чем больше схожи аллели, тем больше изменения.

Наличие хронического эндометрита увеличивает уровень CD16, CD56. При выявлении совместимости супругов по 1–2 антигенам системы HLA имеется незначительное повышение уровня CD16, CD56 в периферической крови — до 22 %, при выявлении совместимости по 3–4 антигенам — от 22 до 25 %, при выявлении совместимости по 5–6 антигенам — более 25 %.

Далее нами продолжено иммунологическое исследование, которое заключалось в определении уровня антиотцовских антилейкоцитарных антител (АОАТ) у супружеских пар с привычным невынашиванием беременности. Данное исследование проведено всем 217 обследуемым парам. У женщин без HLA-совпадений с неразвивающейся беременностью уровень АОАТ составлял $68 \pm 2,2$ % и достоверно не отличался от нормы ($p > 0,05$). У пациенток без HLA-совпадений с выкидышами уровень АОАТ также достоверно не отличался от нормы ($p > 0,05$) и составлял $73 \pm 1,5$ %.

Пациентки с HLA-гомологией с 1–2 совпадениями аллелей. У женщин только с HLA-совпадениями и неразвивающейся беременностью уровень АОАТ достоверно отличался от нормы ($p < 0,05$) и составлял $17,8 \pm 0,1$ %; у пациенток только с HLA-совпадениями и выкидышами этот показатель также достоверно отличался от нормы ($p < 0,05$) и составлял $17,4 \pm 0,3$ %; у пациенток с HLA-совпадениями и другими причинами неразвивающейся беременности уровень АОАТ достоверно отличался от нормы ($p < 0,05$) и составлял $18 \pm 0,2$ %; у пациенток с HLA-совпадениями и другими причинами выкидышей данный показатель также достоверно отличался от нормы и составлял $17,5 \pm 0,3$ %.

Пациентки с HLA-гомологией с 3–4 совпадениями аллелей. У женщин только с HLA-совпадениями и неразвивающейся беременностью уровень АОАТ достоверно отличался от нормы ($p < 0,05$) и составлял $9,5 \pm 0,1$ %, у пациенток только с HLA-совпадениями и выкидышами этот показатель также достоверно отличался от нормы ($p < 0,05$) и составлял $9,7 \pm 0,2$ %. У пациенток с сочетанной патологией и неразвивающейся беременностью уровень АОАТ достоверно отличался от нормы ($p < 0,05$) и составлял $9,3 \pm 0,1$ %, у пациенток с HLA-совпадениями и другими причинами выкидышей данный показатель также достоверно отличался от нормы и составлял $9,5 \pm 0,2$ %.

Пациентки с HLA-гомологией с 5–6 совпадениями аллелей. У женщин только с HLA-совпадениями и неразвивающейся беременностью уровень АОАТ достоверно отли-

чался от нормы ($p < 0,05$) и составлял $3,7 \pm 0,1$ %, у пациенток только с HLA-совпадениями и выкидышами данный показатель также достоверно отличался от нормы ($p < 0,05$) и составлял $3,8 \pm 0,2$ %. У пациенток с HLA-совпадениями и другими причинами неразвивающейся беременности уровень АОАТ достоверно отличался от нормы ($p < 0,05$) и составлял $4 \pm 0,4$ %, у пациенток с HLA-совпадениями и другими причинами выкидышей этот показатель также достоверно отличался от нормы и составлял $3,6 \pm 0,1$ %.

Таким образом, установлено, что уровень АОАТ зависит от наличия и отсутствия гомологии HLA-антигенов и количества совпадающих аллелей антигенов. У пациенток без HLA-гомологии уровень антиотцовских антител оказался в норме, в то время как у пациенток с похожестью антигенов он отличался от нормы, и чем больше схожесть аллелей у супругов, тем уровень АОАТ ниже. Наличие либо отсутствие хронического эндометрита не влияет на уровень антиотцовских антилейкоцитарных антител.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Левкович М. А. Анализ секреции цитокинов при угрозе прерывания беременности различного генеза / М. А. Левкович, В. И. Орлов, М. В. Дударева // Рос. аллергол. журн. — 2008. — № 1. — С. 153–154.
2. Левкович М. А. Значение иммунологических маркеров у беременных с фетоплацентарной недостаточностью и инфекцией для прогнозирования перинатального поражения ЦНС новорожденного // Мед. иммунология. — 2006. — Т. 8, № 2–3. — С. 313–314.
3. Роль антигенов II класса главного комплекса гистосовместимости в привычном невынашивании беременности / Т. С. Бескоровайная, Н. В. Полтавец, Е. А. Блинец [и др.] // Проблемы репродукции. — 2006. — № 2. — С. 46–54.
4. Экстраэмбриональные и околоплодные структуры при нормальной и осложненной беременности / В. Е. Радзинский, А. П. Милованова, И. М. Ордянец [и др.]. — М., 2004. — С. 18–26.
5. Asymmetric Antibodies: a Protective Arm in Pregnancy / G. Gutierrez, T. Gentile, S. Miranda, R. A. Marni // Chem. Immunol. Allergy. — 2005. — Vol. 89. — P. 158–168 [Review].
6. CD200-dependent and NonCD200-dependant Pathways of NK Cell Suppression by Human IVIG / D. A. Clark, K. Wong, D. Banwatt [et al.] // J. Assist Reprod Genet. — 2008. — Feb. — Mar., № 25 (2–3). — P. 67–72.
7. Noelle: Cutting Edge: Contact-mediated Suppression by CD4+CD25+regulatory Cells Involves a Granzyme Bdependent, Perforin-independent Mechanism / D. C. Gondek, L. F. Lu, S. A. Quezada // J. Immunol. — 2005. — Vol. 174. — P. 1783–1786.
8. Regulatory T cells and Regulatory Natural Killer (NK) Cells Play Important Roles in Feto-maternal Tolerance / S. Saito, A. Shiozaki, Y. Sasaki [et al.] // Semin. Immunopathol. — 2007. — Jun., № 29 (2). — P. 115–122 [Review].
9. Takeshit T. Diagnosis and Treatment of Recurrent Miscarriage Associated With Immunologic Disorders: Is Paternal Lymphocyteimmunization a Relic of Past? / T. Taniguchi // J. Nippon. Med. Sch. — 2004. — Vol. 71, № 5. — P. 308–313.
10. The HLA Genomic Loci Map: Expression, Interaction, Diversity and Disease / T. Shiina, K. Hosomichi, H. Inoko, J. K. Kulski // J. Hum. Genet. — 2009. — Jan., № 54 (1). — P. 15–39 [Review].

Поступила 07.12.2012.