

ВЛИЯНИЕ ИММУНОЦИТОТЕРАПИИ НА СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ЖЕНЩИН С ИДИОПАТИЧЕСКИМ ПРИВЫЧНЫМ ВЫКИДЫШЕМ

Кречетова Л.В., Вторушина В.В., Инвиева Е.В., Ванько Л.В., Николаева М.А., Тетруашвили Н.К.

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

Резюме. Цель – изучение влияния иммуноцитотерапии на содержание в периферической крови пациенток с идиопатическим привычным выкидышем CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺ клеток с естественной регуляторной активностью и активированных Th17-клеток с фенотипом CD4⁺CD25^{high}RORγt⁺, а также на продукцию *in vitro* цитокинов митоген-стимулированными клетками цельной периферической крови. Группу исследования составили 33 пациентки с ИПВ, забеременевшие после проведенной предгестационной аллоиммунизации. У 27 пациенток беременность пролонгирована до доношенного срока и завершилась рождением жизнеспособного ребенка, у 6 прервалась до 12 недель гестации. До назначения ИЦТ обследовано 19 пациенток, 16 – после аллоиммунизации вне беременности, 17 – в 5-6 и 8-9 недель наступившей беременности и 11 пациенток – в 12 недель. В контрольной группе обследовано 12 фертильных женщин вне беременности и 10 женщин в 12 недель физиологической беременности. Проводили оценку в периферической крови доли FoxP3⁺ и RORγt⁺ клеток среди Т-лимфоцитов с фенотипом CD4⁺CD25^{high} и определяли содержание цитокинов провоспалительной (IFNγ, TNFα, IL-1β, IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12p70) и противовоспалительной (IL-4, IL-10) направленности, а также содержание IL-17. Нами было выявлено, что после предгестационной аллоиммунизации у женщин, потерявших данную беременность, был низкий уровень FoxP3⁺Treg, подавляющих провоспалительные Th17-зависимые реакции, без изменений в уровне активированных Th17-клеток (CD4⁺CD25^{high}RORγt⁺ лимфоцитов). При сроке 5-6 недель уровень CD4⁺CD25^{high}RORγt⁺ лимфоцитов был резко снижен по сравнению с уровнем вне беременности. Указанные факты в сочетании с данными о высокой продукции в сроке 5-6 недель IL-17 клетками периферической крови в культуре *in vitro* позволяют предположить, что после предгестационной аллоиммунизации у женщин с выкидышем формируется тенденция к провоспалительному типу продукции цитокинов, но в сроке 5-6 недель гестации она реализуется не в направлении Th1, а в направлении Th17-ответа, и низкий уровень в периферической крови клеток с фенотипом CD4⁺CD25^{high}RORγt⁺ может отражать усиленную миграцию Th17-клеток из периферической крови в эндометрий матки. Таким образом, показано влияние иммуноцитотерапии на субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови и профиль цитокиновой продукции, а также на течение I триместра и исходы наступившей беременности у женщин с идиопатическим привычным выкидышем.

Ключевые слова: привычный выкидыш, иммуноцитотерапия, цитокины, FoxP3⁺, Treg, Th17

Адрес для переписки:

Инвиева Евгения Владимировна
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова»
117997, Россия, Москва, ул. Акад. Опарина, 4.
Тел.: 8 (495) 438-11-83.
E-mail: e_inviyeva@oparina4.ru

Address for correspondence:

Inviyeva Eeugenia V.
V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology
117997, Russian Federation, Moscow, Acad. Oparin str., 4.
Phone: 7 (495) 438-11-83.
E-mail: e_inviyeva@oparina4.ru

Образец цитирования:

Л.В. Кречетова, В.В. Вторушина, Е.В. Инвиева, Л.В. Ванько, М.А. Николаева, Н.К. Тетруашвили «Влияние иммуноцитотерапии на состояние иммунной системы женщин с идиопатическим привычным выкидышем» // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 4. С. 751-764. doi: 10.15789/1563-0625-EOI-1860

For citation:

L.V. Krechetova, V.V. Vtorushina, E.V. Inviyeva, M.A. Nikolaeva, L.V. Vanko, N.K. Tetrushvili "Effect of immunocytotherapy on the state of the immune system of women with idiopathic habitual miscarriage", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2020, Vol. 22, no. 4, pp. 751-764. doi: 10.15789/1563-0625-EOI-1860

EFFECT OF IMMUNOCYTOTHERAPY ON THE STATE OF THE IMMUNE SYSTEM OF WOMEN WITH IDIOPATHIC HABITUAL MISCARRIAGE

Krechetova L.V., Vtorushina V.V., Inviyaeva E.V., Nikolaeva M.A., Vanko L.V., Tetrushvili N.K.

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

Abstract. We aimed for assessing effects of immunocytotherapy upon the subpopulations of CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺ cells with natural regulatory activity and activated Th17 cells with the CD4⁺CD25^{high}RORγt⁺ phenotype, as well as *in vitro* production of cytokines in mitogen-stimulated cells from peripheral blood in the patients with idiopathic habitual miscarriage (IHM). The study group consisted of 33 patients with IHM who became pregnant after a pre-gestational alloimmunization. In 27 patients, the pregnancy was prolonged to the full term and ended with the birth of viable babies, in six cases it was terminated before 12 weeks of gestation. Before administration of immunocytotherapy (ICT), 19 patients were examined, of them 16 after alloimmunization outside of pregnancy, 17 at 5–6 and 8–9 weeks of pregnancy. Eleven patients were immunized at 12 weeks of pregnancy. In the control group, 12 fertile women outside pregnancy and 10 women at 12 weeks of physiological pregnancy were examined. The proportion of FoxP3⁺ and RORγt⁺ cells with the CD4⁺CD25^{high} phenotype was evaluated among T-lymphocytes from peripheral blood, as well as content of proinflammatory cytokines (IFNγ, TNFα, IL-1β, IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12p70) and anti-inflammatory factors (IL-4, IL-10), as well as IL-17 amounts.

We have found that, following pre-gestational alloimmunization, the women who lost this pregnancy, had a low level of FoxP3⁺Tregs that suppress pro-inflammatory Th17-dependent reactions, however, without changing levels of activated Th17 cells (CD4⁺CD25^{high}RORγt⁺ lymphocytes). These facts, along with high *in vitro* production of IL-17 by peripheral blood cells at the terms of 5–6 weeks of gestation, suggest that, after pre-gestational alloimmunization in women with miscarriage, a predilection is formed to pro-inflammatory cytokine production. However, at the 5–6 week-period, it is realized not in the Th1 direction of, but towards Th17 response, and a low level of CD4⁺CD25^{high}RORγt⁺ cells may reflect an increased migration of Th17 cells from peripheral blood to the uterine endometrium.

Thus, we have shown the effect of immunocytotherapy upon subpopulational composition of peripheral blood lymphocytes and the cytokine profile, as well as upon the course of first trimester and outcomes of pregnancy in women with idiopathic habitual miscarriage.

Keywords: habitual miscarriage, immunocytotherapy, cytokines, FoxP3⁺, Treg, Th17

Статья выполнена в рамках темы Госзадания АААА-А18-118053190024-2.

Введение

Идиопатический привычный выкидыш (ИПВ) — акушерская патология, развитие которой с наибольшей вероятностью можно объяснить нарушением взаимоотношений иммунной системы матери и плода. Успешное применение иммунокорректирующей терапии для лечения привычной потери беременности ранних сроков свидетельствует в пользу данного предположения [1, 6, 9, 11, 14]. Наиболее дискуссионным видом иммунотерапии является иммунизация пациенток лимфоцитами партнера (клеточная иммунотерапия, аллоиммунизация, иммуноцитотерапия, ИЦТ).

Однозначного представления об эффективности ИЦТ в лечении привычного выкидыша нет. Отсутствие общепринятых протоколов подготовки клеток для иммунизации и процедуры иммунизации существенно затрудняет оценку эффективности аллоиммунизации и понимание механизмов ее действия [12, 15]. Долгое время ИЦТ рассматривалась как способ изменения провоспалительного состояния женской иммунной системы, способствующего отторжению плода, на противовоспалительное, то есть как способ изменения баланса иммунных реакций Th1/Th2 в сторону Th2-реакций. Так, сообщалось, что у пациенток с ИПВ вне беременности выше количество TNFα⁺Th1-клеток и выше соотношение TNFα/IL-10 Th1/Th2-продуцирующих клеток, что трактовалось как провоспалительное состояние иммунной системы [20, 33]. Показано, что

в супернатантах культур мононуклеарных клеток женщин с ИПВ, сокультивируемых с мононуклеарными клетками супругов, уровень TNF α выше, чем в контрольных пробах. После проведения иммунотерапии лимфоцитами супругов в таких же образцах пациенток с благополучной завершившейся беременностью уровень TNF α и IFN γ оказался значимо ниже, что авторами рассматривалось как благоприятное влияние иммунотерапии на баланс иммунных реакций [16, 31]. В работе Wilczy ski J.R. и соавт. не обнаружено различий в соотношении концентраций цитокинов Th1/Th2-типа у пациентов с ИПВ с доношенной и прервавшейся после иммунизации лимфоцитами супругов беременностью и отсутствовала корреляция с пролонгированием беременности и составом цитокинов периферической крови [28].

С открытием значимости для формирования антиген-специфической толерантности естественных Т-регуляторных клеток (FoxP3⁺Treg-клеток, Treg) высказано мнение, что иммунотерапия ИПВ должна иметь целью не супрессию материнской иммунной системы, а, скорее, повышение толерантности, что обусловлено данными об увеличении числа периферических Treg во время беременности и об отсутствии такой динамики у женщин с ИПВ [29]. Показано как увеличение количества Treg при аллоиммунизации [3], так и отсутствие изменений в их содержании [22]. Поэтому стали актуальными исследования взаимоотношений Treg с клетками Th17-линии у женщин с ИПВ на фоне клеточной иммунотерапии [32]. Анализ дифференцировки Treg и Th17-клеток показал их взаимное регулирование [10]. Транскрипционные факторы (ТФ) FoxP3 и ROR γ t совместно экспрессируются в стимулированных через Т-клеточный рецептор (ТКР, TCR) наивных CD4⁺Т-клетках в раннюю фазу их дифференцировки [18], и направление дифференцировки антиген-стимулированных Т-клеток по пути Th17 или Treg зависит от баланса ROR γ t и FoxP3, регулируемого цитокинами [8, 19, 35]. Баланс FoxP3⁺Treg-клеток с субпопуляцией Th17-клеток имеет важное значение для пролонгирования беременности. Есть данные о том, что ИЦТ приводит к снижению соотношения Th17/Treg в периферической крови женщин с ПВ, что считается благоприятным для поддержания развития гестационных процессов [24, 30].

Обобщая вышеизложенное, можно заключить, что исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови и профиля цитокиновой продукции ими *in vitro* является важным для понимания механизмов влияния ИЦТ на состояние иммунной системы женщин с привычным выкидышем и представляет научный и практический интерес.

Целью данной работы явилось изучение влияния иммуноцитотерапии пациенток с идиопатическим привычным выкидышем на содержание естественных регуляторных клеток (CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺) и активированных Th17-клеток (CD4⁺CD25^{high}ROR γ t⁺) в периферической крови, а также на уровень продукции цитокинов *in vitro* митоген-стимулированными клетками цельной периферической крови.

Материалы и методы

Группу исследования составили 33 пациентки с ИПВ, забеременевшие после проведенной предгестационной аллоиммунизации. У 27 пациенток беременность пролонгирована до доношенного срока и завершилась рождением жизнеспособного ребенка, у 6 — прервалась до 12 недель гестации.

Процедуру ИЦТ проводили аллогенными клетками супругов в предгестационной 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).

В специальном помещении, оснащеном ламинарным шкафом и необходимым лабораторным оборудованием, осуществляли выделение лимфоцитарной взвеси. После тщательного перемешивания кровь инкубировали при 37 °С в течение 1-1,5 часов. После разделения 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 надосадо удаляли, осадок тщательно перемешивали в 2 мл стерильного физиологического раствора.

Путем визуального подсчета в камере Горяева в полученной взвеси определяли количество клеток. Концентрация лимфоцитов в физиологическом растворе составляла от 20 до 50 млн в 1 мл раствора.

Во время предгестационной подготовки лимфоциты супруга вводили в ладонную поверхность предплечья дважды с интервалом в один месяц на 5-10 день менструального цикла, внутривенно в 10-12 точек, а во время наступившей беременности – в сроках 5-6 недель и 8-9 недель, согласно протоколу ведения беременности у пациенток с ПВ [7]. В течение недели производили визуальную оценку местной реакции организма на введение лимфоцитов партнеров.

Забор крови осуществляли натошак из локтевой вены. В предгестационной 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.

До назначения ИЦТ обследовано 19 пациенток, 16 – после аллоиммунизации вне беременности, 17 – в 5-6 и 8-9 недель наступившей беременности и 11 пациенток – в 12 недель. В контрольной группе обследовано 12 фертильных женщин вне беременности и 10 женщин в 12 недель физиологической беременности.

Критерии включения в группу исследования: наличие не менее 2 выкидышей от одного и того же партнера, произошедших 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, сопровождающихся изменениями менструального цикла, нормальный кариотип партнеров, нормозооспермия, физиологическое течение данной беременности, подписанная форма информированного согласия на проведение исследования.

Кровь для анализа у женщин вне беременности забирали натошак из локтевой вены на 18-22 день менструального цикла, у беременных – в сроке 5-6 недель, в 8-9 недель и в 12 недель гестации.

Оценка содержания в периферической крови женщин с привычным выкидышем CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺ клеток и CD4⁺CD25^{high}RORγt⁺ клеток

Оценку в периферической крови доли FoxP3⁺ и RORγt⁺ клеток среди Т-лимфоцитов с фенотипом CD4⁺CD25^{high} проводили с помощью стандартного набора буферов “FoxP3 Staining Buffer Set” (eBioscience, США). Лимфоциты выделяли стандартным методом центрифугирования в градиенте плотности с использованием смеси фиколл-верографин плотностью 1,077 [5]. До пермеабиллизации клетки окрашивали антителами к CD4, меченными FITC, и антителами к CD25, меченными PE, для последующей идентификации субпопуляции CD4⁺CD25^{high}. После пермеабиллизации клетки были окрашены антителами к FoxP3 или RORγt, меченными аллофикоцианином (APC). Использовались антитела фирмы eBioscience (США). Анализ проводили на проточном цитофлуориметре Gallios фирмы Beckman Coulter (США) с использованием программы Kaluza. В лимфоцитарном гейте копили от 1 млн до 1,5 млн клеток.

Продукция цитокинов *in vitro* митоген-стимулированными клетками периферической крови женщин с ИПВ

Для получения супернатантов после 24-часовой митогенной стимуляции клеток цельной крови использовали набор «Цитокин-стимул-бест» (АО «Вектор-Бест», Россия). В соответствии с рекомендацией производителя стимулировать 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-х минут при 10000 g, отобранную надосадочную жидкость алиquotировали и образцы хранили до анализа при -80 °С.

Содержание цитокинов провоспалительной (IFNγ, TNFα, IL-1β, IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12p70) и противовоспалительной (IL-4, IL-10) направленности в супернатантах оценивали с помощью мультиплексного анализа с использованием стандартного набора “Human Th1/Th2 11-plex Ready-to-Use Kit” (eBioscience, США), содержание IL-17 оценивали методом СВА с помощью стандартного набора “Human IL-17A Flex set” (Becton Dickinson, США). Анализ проводили на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США). Расчет результатов производили с помощью программы FlowCytomix Pro 3.0.

Статистическую обработку данных производили общепринятыми методами вариационной статистики. Данные представлены как среднее \pm ошибка среднего. Соответствие расчетных выборок показателей нормальному распределению оценивали с помощью критерия Колмогорова–Смирнова с использованием пакета Statistica 6 для Windows XP. Значимость наблюдаемых отклонений средних значений измеренных параметров оценивали с помощью двухвыборочного t-критерия Стьюдента с различными дисперсиями для средних значений с использованием пакета статистического анализа для Microsoft Office Excel 2007.

Результаты

Содержание в периферической крови женщин с идиопатическим привычным выкидышем $CD4^+CD25^{high}FoxP3^+$ и $CD4^+CD25^{high}ROR\gamma t^+$ клеток

Результаты анализа содержания $CD4^+CD25^{high}$ лимфоцитов с ТФ $FoxP3^+$ или $ROR\gamma t^+$ у пациенток с ИПВ представлены на рисунке 1.

Согласно полученным данным (рис. 1А), доля $FoxP3^+$ -Трег среди $CD4^+CD25^{high}$ клеток в периферической крови женщин с беременностью была сходной в разные сроки обследования, не отличалась от доли у женщин контрольной группы вне беременности и в 12 недель гестации.

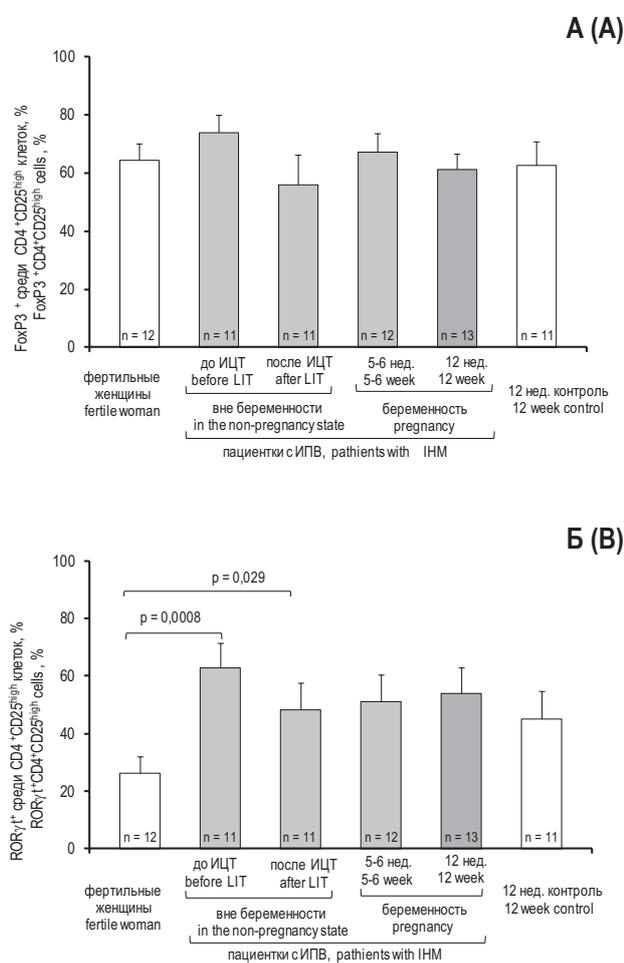


Рисунок 1. Доля $FoxP3^+$ (А) и $ROR\gamma t^+$ (Б) Т-лимфоцитов с фенотипом $CD4^+CD25^{high}$ у пациенток с ИПВ после аллоиммунизации вне беременности и в I триместре пролонгированной беременности

Примечание. □ – контрольные группы; ■ – пациентки с ИПВ.

Figure 1. Proportion of $FoxP3^+$ (A) and $ROR\gamma t^+$ (B) T lymphocytes with the $CD4^+CD25^{high}$ phenotype in patients with IHM after allimmunization outside pregnancy and in the first trimester of a prolonged pregnancy

Note. □, control groups; ■, patients with IHM.

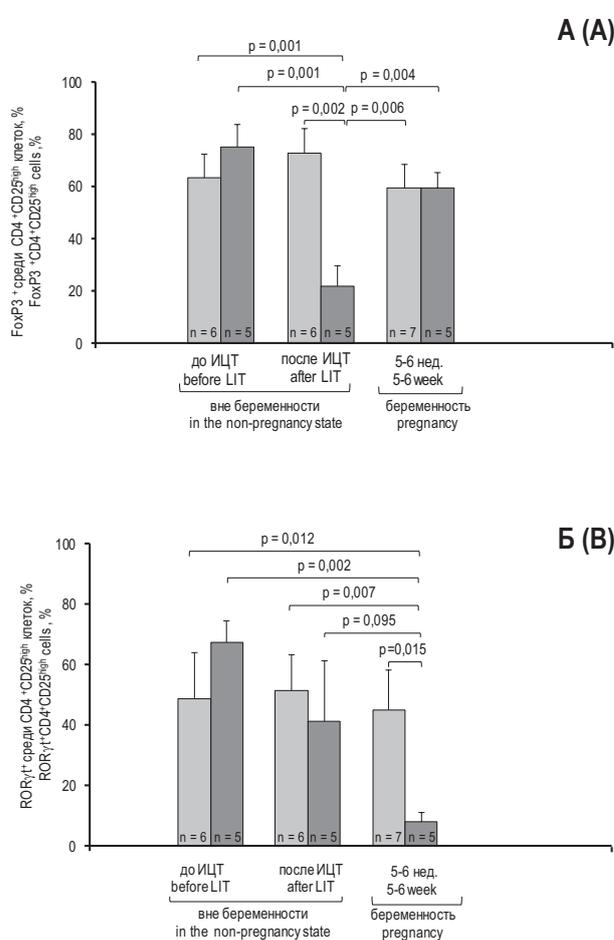


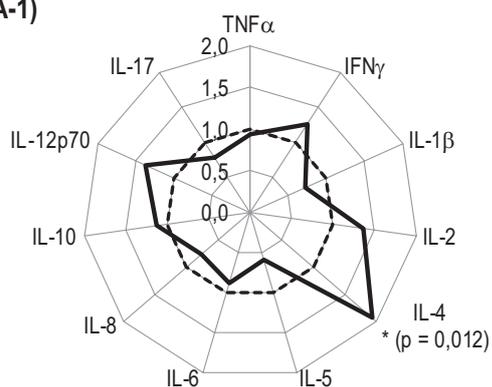
Рисунок 2. Доля $FoxP3^+$ (А) и $ROR\gamma t^+$ (Б) Т-лимфоцитов с фенотипом $CD4^+CD25^{high}$ у пациенток с ИПВ с пролонгированной и прервавшейся беременностью

Примечание. □ – с пролонгированной беременностью, ■ – с прервавшейся беременностью.

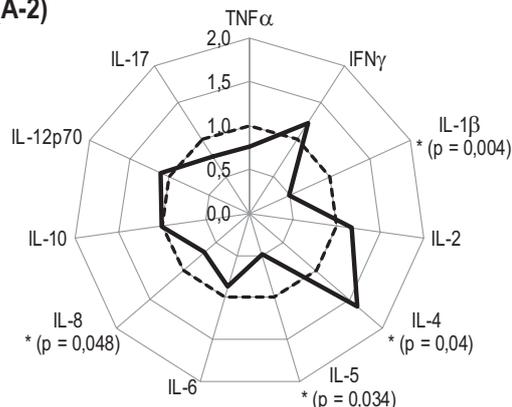
Figure 2. Proportion of $FoxP3^+$ (A) and $ROR\gamma t^+$ (B) T lymphocytes with the $CD4^+CD25^{high}$ phenotype in patients with IHM with prolonged and terminated pregnancy

Note. □, with prolonged pregnancy; ■, with an aborted pregnancy.

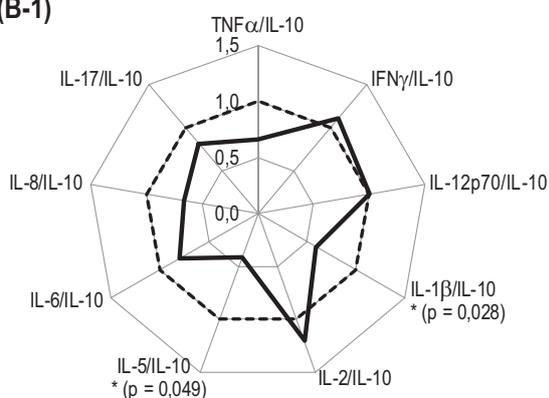
A-1 (A-1)



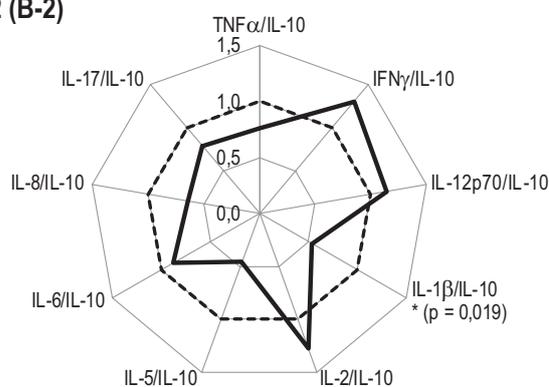
A-2 (A-2)



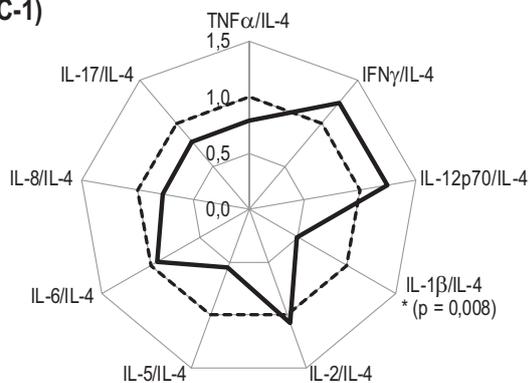
Б-1 (B-1)



Б-2 (B-2)



В-1 (C-1)



В-2 (C-2)

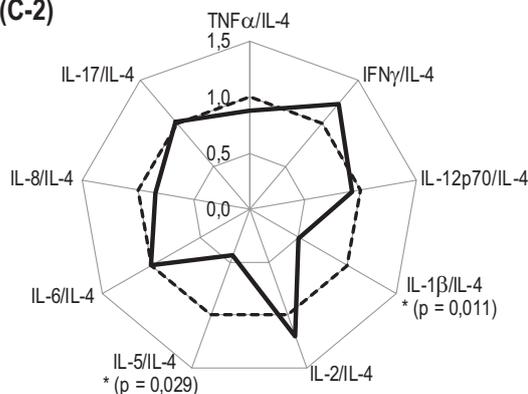


Рисунок 3. Характеристика продукции *in vitro* цитокинов клетками цельной крови женщин с ИПВ после аллоиммунизации вне беременности

Примечание. По осям представлены отношения средних значений показателей пациенток с ИПВ ($n = 19$) к средним значениям в контрольной группе ($n = 12$) до аллоиммунизации (1) и после аллоиммунизации (2). А – содержание цитокинов. Б – отношение содержания провоспалительных цитокинов к IL-10. В – отношение содержания провоспалительных цитокинов к IL-4. Пунктирная линия соответствует уровню равенства значений. * – показатель, достоверно отличающийся от значений в контрольной группе.

Figure 3. Characterization of *in vitro* production of cytokines by the whole blood cells of women with IHM after alloimmunization outside pregnancy

Note. The axes are the ratios of the average values of indicators of patients with IHM ($n = 19$) to the average values in the control group ($n = 12$) before alloimmunization (1) and after alloimmunization (2). A, cytokine content. B, the ratio of the content of pro-inflammatory cytokines to IL-10. C, the ratio of the content of pro-inflammatory cytokines to IL-4. The dashed line corresponds to the level of equality of values. *, indicator significantly different from the values in the control group.

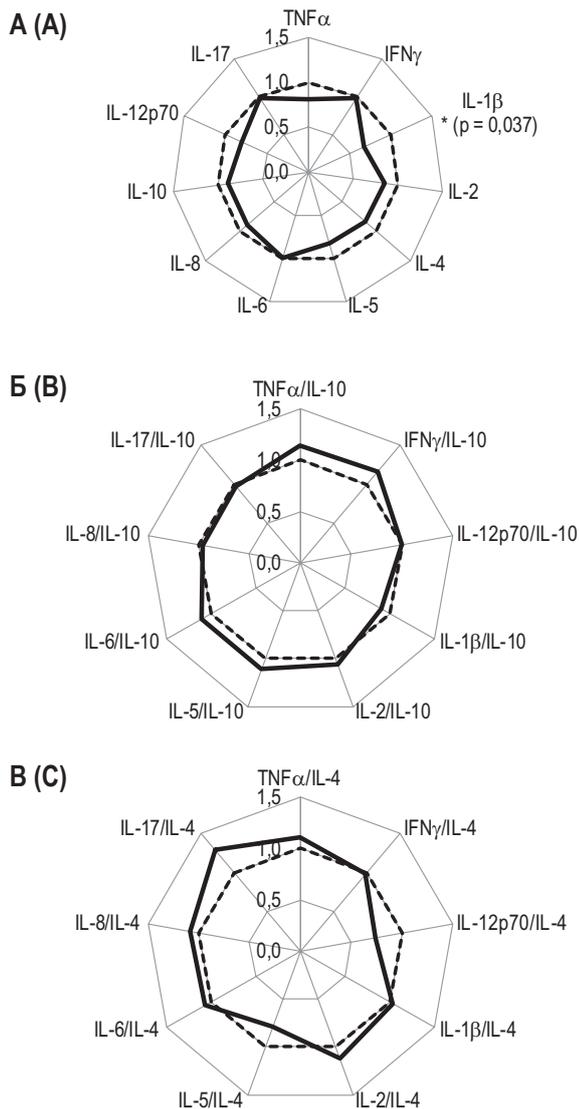


Рисунок 4. Характеристика продукции *in vitro* цитокинов клетками цельной крови женщин с ИПВ после предгестационной аллоиммунизации

Примечание. По осям представлены отношения средних значений показателей пациенток с ИПВ после предгестационной аллоиммунизации к исходным значениям (n = 19). А – содержание цитокинов. Б – отношение содержания провоспалительных цитокинов к IL-10. В – отношение содержания провоспалительных цитокинов к IL-4. Пунктирная линия соответствует уровню равенства значений. * – показатель, достоверно отличающийся от исходных значений.

Figure 4. Characterization of *in vitro* production of cytokines by whole blood cells of women with IHM after pregestational alloimmunization

Note. The axes represent the ratio of the average values of indicators of patients with IHM after pregestational alloimmunization to the initial values (n = 19). A, cytokine content. B, the ratio of the content of pro-inflammatory cytokines to IL-10. C, the ratio of the content of pro-inflammatory cytokines to IL-4. The dashed line corresponds to the level of equality of values. *, indicator significantly different from the original values.

Доля $ROR\gamma t^+$ клеток среди $CD4^+CD25^{high}$ клеток (рис. 1Б) до предгестационной аллоиммунизации была значимо выше, чем в контроле ($p = 0,0008$). По окончании предгестационной аллоиммунизации различия сохранились ($p = 0,029$), но в I триместре пролонгированной беременности отсутствовали.

Анализ динамики доли $FoxP3^+$ и $ROR\gamma t^+$ среди $CD4^+CD25^{high}$ клеток у пациенток с пролонгированной и прервавшейся беременностью представлен на рисунке 2.

Как следует из рисунка 2, у пациенток, потерявших беременность, после предгестационной аллоиммунизации наблюдалось транзитное снижение доли $FoxP3^+Treg$ (рис. 2А).

Доля $ROR\gamma t^+$ клеток среди $CD4^+CD25^{high}$ лимфоцитов у пациенток, потерявших данную беременность (рис. 2Б), в 5-6 недель гестации имела минимальные значения за весь период наблюдения.

Исследование цитокинового профиля супернатантов активированных *in vitro* лимфоцитов периферической крови пациенток с ИПВ

Результаты анализа цитокиновой продукции клетками цельной крови до и после предгестационной аллоиммунизации пациенток в сравнении с контрольными и исходными значениями представлены на рисунке 3.

Как видно из данных на рисунке 3, до предгестационной аллоиммунизации продукция IL-4 митоген-стимулированными клетками цельной крови пациенток была высокой. Обнаружена тенденция к увеличенной продукции IL-2, который вырабатывается в ответ на митогенную стимуляцию не только Т-, но и В-лимфоцитами и сам стимулирует выработку как других провоспалительных цитокинов, так и IL-4. Одной из функций IL-4 является подавление секреции макрофагами IL-1 β , TNF α и IL-6, что подтверждается выявленными нами тенденциями к снижению продукции IL-1 β , IL-6. При этом соотношения IL-1 β /IL-4 и IL-1 β /IL-10 были значимо ниже, чем у женщин контрольной группы. Также значимо ниже, чем в контроле, оказалось соотношение IL-5/IL-10 при тенденции к снижению продукции IL-5 (цитокин из группы гранулоцитарно-макрофагальных колоннестимулирующих факторов) клетками крови пациенток.

Все вместе указанные различия можно рассматривать как проявление склонности к формированию у пациенток с ИПВ на этапе подготовки к беременности (до назначения аллоиммунизации) преимущественно Th2-направленности иммунных реакций.

После предгестационной аллоиммунизации у пациенток по сравнению с контрольной группой сохраняется увеличенной продукция IL-4

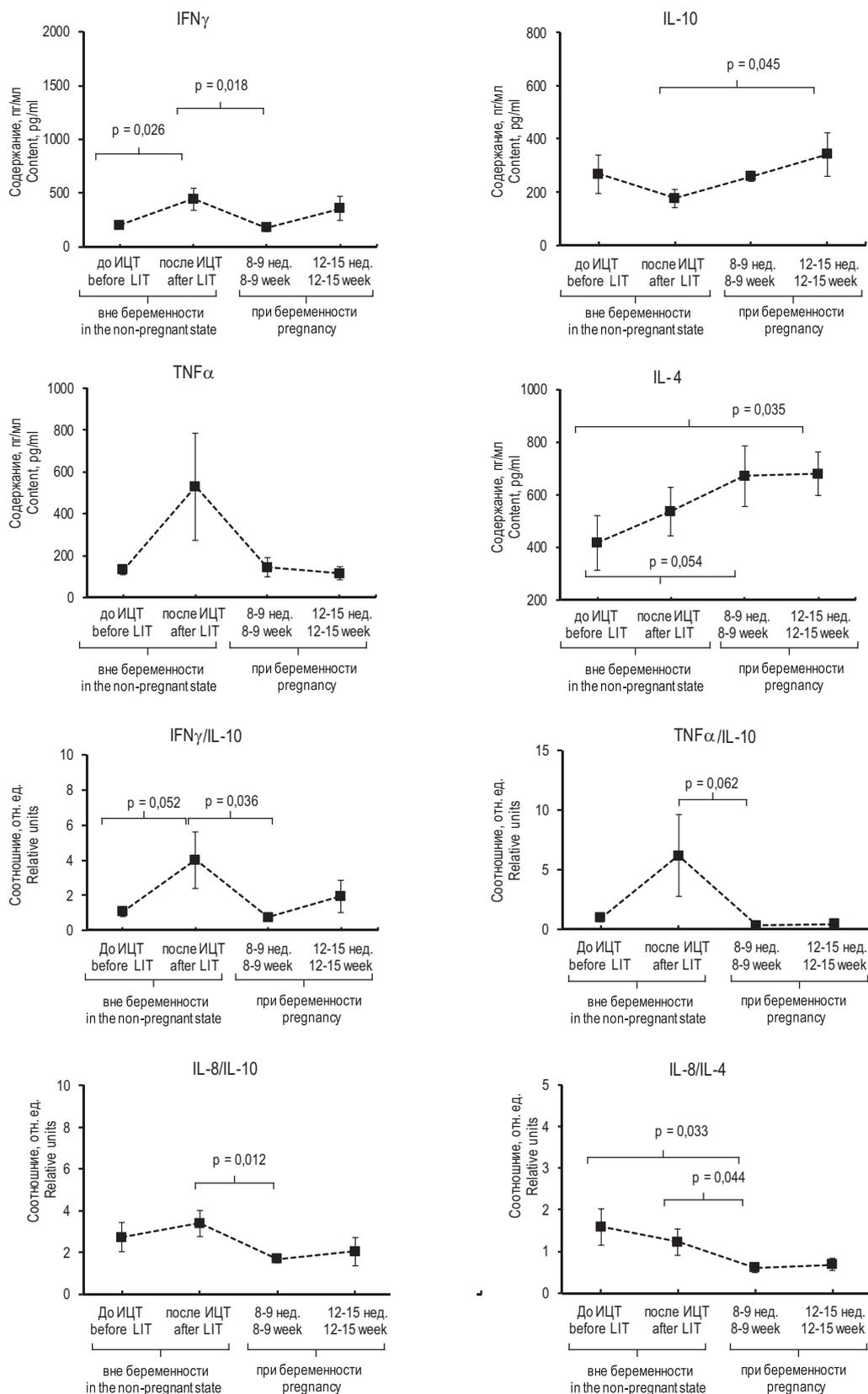


Рисунок 5. Баланс продукции цитокинов про- и противовоспалительной направленности митоген-стимулированными лимфоцитами периферической крови женщин с пролонгированной беременностью

Figure 5. Balance of cytokine production of pro- and antiinflammatory mitogen-stimulated peripheral blood lymphocytes in women with prolonged pregnancy

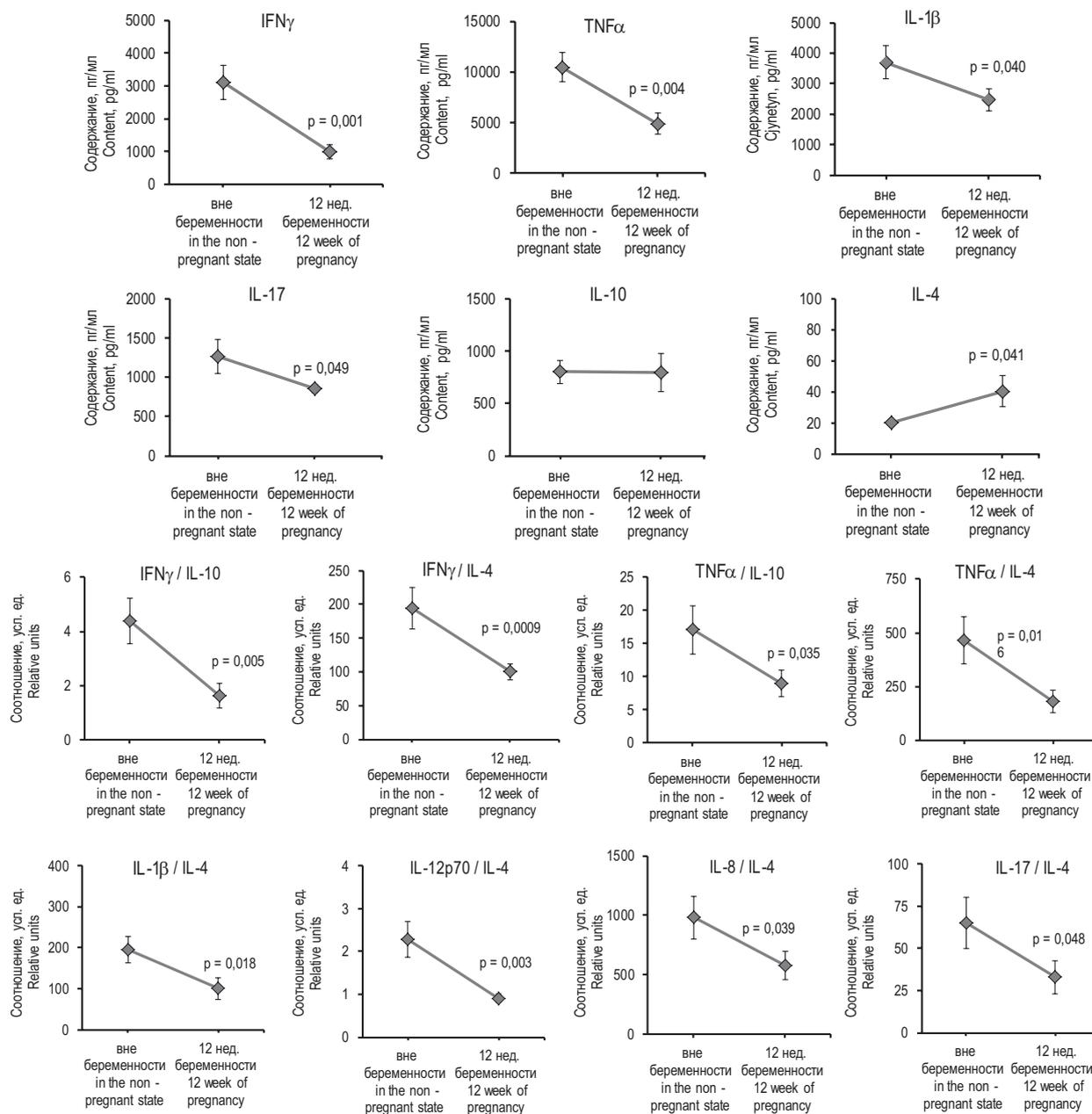


Рисунок 6. Баланс продукции цитокинов про и противовоспалительной направленности митоген-стимулированными лимфоцитами периферической крови женщин контрольных групп

Figure 6. Balance of the production of cytokines pro and anti-inflammatory mitogen-stimulated peripheral blood lymphocytes of women in control groups

($p = 0,012$ и $p = 0,040$), выявляется достоверное снижение продукции IL-1 β ($p = 0,004$) и IL-5 ($p = 0,034$); не изменяются соотношения практически всех исследованных провоспалительных цитокинов к IL-10 (рис. 3Б) и к IL-4 (рис. 3В), выявляется снижение соотношения IL-5/IL-4 ($p = 0,029$) и исчезают различия в соотношении

IL-5/IL-10. Продукция IL-1 β также значимо снижена по сравнению с исходными значениями ($p = 0,037$), а продукция остальных исследованных цитокинов осталась на уровне, одинаковом со значениями до лечения (рис. 4).

Следовательно, после предгестационной аллоиммунизации у пациенток сохранилась склон-

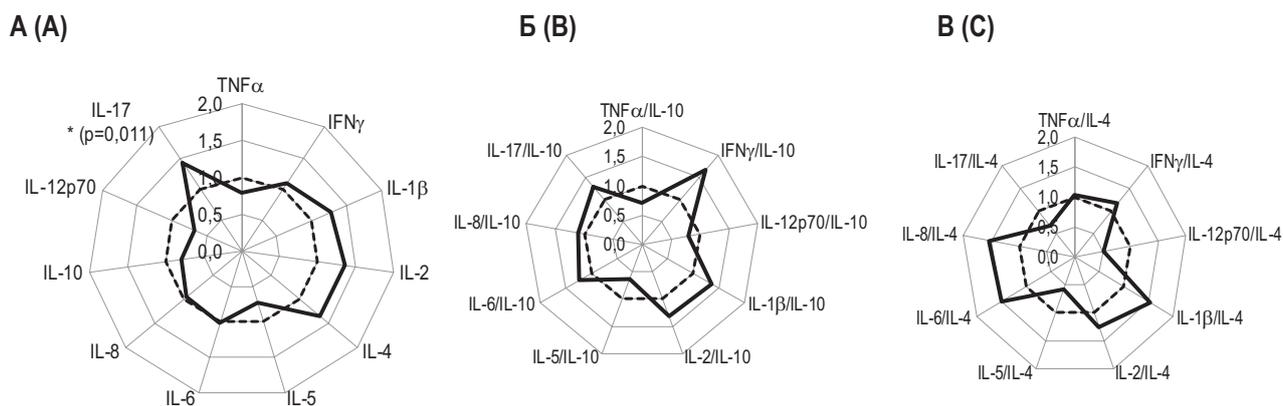


Рисунок 7. Продукция цитокинов *in vitro* клетками цельной крови пациенток с ИПВ в 5-6 недель при доношенной беременности и при выкидыше

Примечание. По осям представлены отношения средних значений показателей в 5-6 недель гестации у пациенток с выкидышем ($n = 7$) к средним значениям у пациенток с доношенной беременностью ($n = 10$). А – содержание цитокинов. Б – отношение содержания провоспалительных цитокинов к IL-10. В – отношение содержания провоспалительных цитокинов к IL-4. Пунктирная линия соответствует уровню равенства значений. * – показатель, достоверно отличающийся между группами.

Figure 7. *In vitro* production of cytokines by the whole blood cells of patients with IHM at 5-6 weeks during full-term pregnancy and miscarriage

Note. The axes are the ratios of average values of indicators at 5-6 weeks of gestation in patients with miscarriage ($n = 7$) to average values in patients with full-term pregnancy ($n = 10$). A, cytokine content. B, the ratio of the content of pro-inflammatory cytokines to IL-10. C, the ratio of the content of pro-inflammatory cytokines to IL-4. The dashed line corresponds to the level of equality of values. *, indicator significantly different between groups.

ность к формированию преимущественно Th2-типа иммунных реакций.

Однако у женщин с пролонгированной беременностью после предгестационной ИЦТ выявлено преобладание цитокинов Th1-типа, интенсивность продукции которых резко снижалась к 8-9 неделе гестации (рис. 5). Также выявлено, что в 12 недель физиологической беременности уровень продукции *in vitro* цитокинов провоспалительного профиля значимо ниже, чем у фертильных женщин вне беременности (рис. 6). Указанный результат отражает контроль иммунных реакций в период ранней беременности, включающий воспалительные процессы при имплантации и плацентации.

У пациенток, потерявших данную беременность несмотря на ИЦТ, в 5-6 недель гестации (рис. 7) выявлена более высокая продукция IL-17 ($p = 0,011$), принимающего участие в развитии повреждающих форм воспалительных реакций.

Обсуждение

В ранее проведенных исследованиях нами были получены данные о сходстве субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови пациенток с пролонгированной беременностью и у женщин с физиологическим течением

беременности, что свидетельствует о нормализации иммунных реакций у женщин с ИПВ после проведенной аллоиммунизации [3].

В данном исследовании показано, что в 12 недель гестации доля FoxP3⁺ и ROR γ t⁺T-клеток среди периферических CD4⁺CD25^{high} лимфоцитов у женщин с доношенной беременностью также не отличалась от доли этих клеток у женщин с физиологической беременностью, что подтверждает предположение о нормализации иммунных реакций у женщин с ИПВ после аллоиммунизации.

До предгестационной аллоиммунизации выявлено преобладание в периферической крови у пациенток с ИПВ ROR γ t⁺ клеток среди лимфоцитов с фенотипом CD4⁺CD25^{high}, что согласуется с данными других исследователей [21, 23], соответствует высказанным в литературе предположениям о потере FoxP3⁺ в условиях воспаления [13] и об ассоциации сниженной супрессивной функции Treg при ИПВ с хроническим течением воспалительного процесса. Снижение функции Treg и их содержания в периферической крови, а также в децидуальной оболочке матки при ИПВ отмечается в ряде исследований и является отражением хронического воспаления у этой категории пациенток [17, 26, 27, 34]. Превалирование ROR γ t⁺ клеток среди лимфоцитов с

фенотипом CD4⁺CD25^{high} сохраняется и по окончании предгестационной подготовки.

Однако у пациенток с пролонгированной беременностью в 5-6 недель и в 12 недель гестации доля субпопуляции CD4⁺CD25^{high}RORγt⁺ клеток была одинаковой и не отличалась от доли у женщин в 12 недель физиологической беременности (рис. 1) при стабильном уровне FoxP3⁺Treg на всех сроках обследования.

У пациенток с прервавшейся беременностью после предгестационной аллоиммунизации отмечено снижение уровня FoxP3⁺Treg при отсутствии изменений в уровне CD4⁺CD25^{high}RORγt⁺ клеток, но начальные сроки гестации характеризовались низким уровнем CD4⁺CD25^{high}RORγt⁺ клеток при восстановлении уровня FoxP3⁺Treg до исходного. Подобные резкие изменения в содержании исследованных субпопуляций после аллоиммунизации и в ранние сроки гестации, по-видимому, отражают несбалансированность иммунных механизмов, обеспечивающих развитие беременности у пациенток с выкидышем. Изложенные результаты подтверждают предположения о необходимости баланса в уровне активированных CD4⁺CD25^{high}RORγt⁺ клеток (активированных Th17-клеток) и FoxP3⁺Treg-клеток в ранние сроки гестации для успешного пролонгирования беременности.

Образование периферических индуцибельных специфических Treg-клеток, с которыми связывают формирование толерантности к отцовским антигенам плода, зависит от цитокинового окружения. Именно цитокины образуют регуляторную сеть, обеспечивающую равновесие иммунных реакций между материнским организмом и плодом. От баланса цитокинов в регуляторной сети зависит характер течения ранних сроков беременности и успешность вынашивания плода [2, 25]. Поэтому исследования цитокинового профиля супернатантов активированных *in vitro* лимфоцитов периферической крови пациенток с ИПВ необходимы для понимания механизмов, лежащих в основе эффективности ИЦТ в лечении ИПВ.

До предгестационной аллоиммунизации нами выявлено преобладание Th2-типа иммунных реакций у женщин с ИПВ, которое сохраняется и после аллоиммунизации. Однако у женщин с доношенной беременностью получены данные о транзитном формировании Th1-провоспалительного типа иммунных реакций в I триместре. Поскольку беременность у этих женщин завершилась рождением жизнеспособного ребенка в доношенном сроке, полученный результат, с одной стороны, подтверждает необ-

ходимость Th1-реакций для успешности процессов второй волны инвазии трофобласта и плацентации, а с другой — позволяет предположить, что проведение аллоиммунизации способствует контролю уровня провоспалительных реакций.

Нами выявлено, что после предгестационной аллоиммунизации у женщин, потерявших данную беременность, был низкий уровень FoxP3⁺Treg, подавляющих провоспалительные Th17-зависимые реакции, без изменений в уровне активированных Th17-клеток (CD4⁺CD25^{high}RORγt⁺ лимфоцитов). В сроке 5-6 недель уровень CD4⁺CD25^{high}RORγt⁺ лимфоцитов был резко снижен по сравнению с уровнем вне беременности.

Указанные факты в сочетании с данными о высокой продукции в сроке 5-6 недель IL-17 клетками периферической крови в культуре *in vitro* позволяют предположить, что после предгестационной аллоиммунизации у женщин с выкидышем формируется тенденция к провоспалительному типу продукции цитокинов, но в сроке 5-6 недель гестации она реализуется не в направлении Th1, а в направлении Th17-ответа, и низкий уровень в периферической крови клеток с фенотипом CD4⁺CD25^{high}RORγt⁺ может отражать усиленную миграцию Th17-клеток из периферической крови в эндометрий матки, где и разворачиваются все драматические события, связанные с потерей беременности. Последнее свидетельствует о наличии особенностей функционирования иммунной системы у данной категории пациенток с ИПВ, являющихся причиной неэффективности аллоиммунизации в контроле уровня и направленности иммунных реакций во время беременности.

Эффективность аллоиммунизации доказана тем, что у 82% женщин с ИПВ беременность была пролонгирована и завершилась рождением жизнеспособного ребенка, что подтверждает успешное формирование толерантности иммунной системы матери по отношению к антигенам плода, зависящее в том числе и от функциональной активности лимфоидных клеток, мигрирующих к месту имплантации плодного яйца.

Выводы

Результаты проведенных исследований указывают на дисбаланс иммунных реакций у пациенток с ИПВ, потерявших беременность на фоне аллоиммунизации, что согласуется с ранее опубликованными нами данными о различиях в субпопуляционном составе лимфоцитов периферической крови [4] и представленными данными о цитокиновом статусе женщин с разными исхо-

дами беременности, наступившей после предгестационной аллоиммунизации.

чения данной процедуры в лечении ИПВ и понижения механизмов ее эффективности.

Заключение

Таким образом, показано влияние иммуноцитотерапии на субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови и профиль цитокиновой продукции, а также на течение I триместра и исходы наступившей беременности у женщин с идиопатическим привычным выкидышем. Требуются дальнейшие исследования компонентов иммунной системы для поиска критериев назна-

Благодарности

Выражаем огромную благодарность Хачатрян Н.А., Сарибеговой В.А. – аспиранткам 2-го отделения патологии беременности (отделение терапии и профилактики невынашивания беременности) ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России за помощь в подборе биологического материала и оценке клинико-анамнестических характеристик пациента.

Список литературы / References

1. Говалло В.И., Быкова Е.Я., Кальке И.К. Сравнительный анализ методов иммунотерапии самопроизвольных выкидышей // *Акушерство и гинекология*, 1985. № 3. С. 41-43. [Govallo V.I., Bykova E.Ya., Kalke I.K. Immunotherapy for spontaneous abortion: a comparative study of different methods. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 1985, no. 3, pp. 41-43. (In Russ.)]
2. Зиганшина М.М., Кречетова Л.В., Ванько Л.В., Николаева М.А., Ходжаева З.С., Сухих Г.Т. Динамика цитокинового профиля в ранние сроки физиологической беременности и при привычном невынашивании в анамнезе // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 2012. Т. 154, № 9. С. 371-374. [Ziganshina M.M., Krechetova L.V., Vanko L.V., Nikolaeva M.A., Khodzhaeva Z.S., Sukhikh G.T. Time course of the cytokines profiles during the early period of normal pregnancy and in patients with a history of habitual miscarriage. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2012, Vol. 154, no. 9, pp. 371-374. (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., Tetruashvili N.K., Vtorushina V.V., Stepanova E.O., Nikolaeva M.A., Golubeva E.L., Khachatryan N.A. The course of changes in subpopulatiob composition of peripheral blood lymphocytes in the first trimester of pregnancy in women with reccurent miscarriage during immunotherapy. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2015, no. 6, pp. 59-66. (In Russ.)]
4. Кречетова Л.В., Тетруашвили Н.К., Вторушина В.В., Николаева М.А., Хачатрян Н.А., Агаджанова А.А., Ванько Л.В., Иванец Т.Ю., Сухих Г.Т. Особенности фенотипа лимфоцитов периферической крови женщин с идиопатическим привычным выкидышем в зависимости от исхода беременности на фоне иммуноцитотерапии // *Акушерство и гинекология*, 2017. № 7. С. 52-60. [Krechetova L.V., Tetruashvili N.K., Vtorushina V.V., Nikolaeva M.A., Khachatryan N.A., Agadzhanova A.A., Vanko L.V., Ivanets T.Yu., Sukhikh G.T. Characteristics of the phenotype of peripheral blood lymphocytes in women with idiopathic recurrent miscarriage in relation to the outcome of pregnancy during immunocytotherapy. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2017, no. 7, pp. 52-60. (In Russ.)]
5. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / Под ред. Меньшикова В.В. М.: Медицина, 1987. 368 с. [Menshikov V.V., Delektorskaya L.N., Zolotnitskaya R.P. Laboratory research methods in the clinic: a reference book / Ed. Menshikov V.V.]. Moscow: Medicine, 1987. 368 p.
6. Надеина О.В., Любимова А.И., Умбрумянц Д.В. Трансплантация в системе комплексного лечения самопроизвольных потерь беременности // *Акушерство и гинекология*, 1972. № 9. С. 35-38. Nadeina O.V., Lyubimova A.I., Umbrumyants D.V. Transplantation in the complex treatment of spontaneous pregnancy loss. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 1972, no. 9, pp. 35-38. (In Russ.)]
7. Сидельникова В.М. Подготовка и ведение беременности у женщин с привычным невынашиванием: методические рекомендации и клинические протоколы. 3-е изд. М.: МЕДпресс-информ, 2013. 224 с. [Sidelnikova V.M. Preparation and maintenance of pregnancy in women with recurrent pregnancy loss: manuals and clinical guidelines]. Moscow: MEDpress-inform, 2013. 224 p.
8. Ayyoub M., Deknuydt F., Raimbaud I., Dousset C., Leveque L., Bioley G., Valmori D. Human memory FOXP3⁺ Tregs secret IL-17 *ex vivo* and constitutively express the Th17 lineage-specific transcription factor ROR γ t. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009, Vol. 106, no. 21, pp. 8635-8640.

9. Beer A.E., Quebbeman J.F. The immunobiology and immunopathology of the maternal-fetal relationship. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 1982, Vol. 87, pp. 289-326.
10. Bettelli E., Carrier Y., Gao W., Korn T., Strom T.B., Oukka M., Weiner H.L., Kuchroo V.K. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature*, 2006, Vol. 441, no. 7090, pp. 235-238.
11. Bukovský A., Presl J., Zwinger A., Beran J. Therapeutic transplantation of a skin graft from the partner into an infertile female patient. *Cesk. Gynekol.*, 1988, Vol. 53, no. 4, pp. 291-294.
12. Carp H.J.A. Recurrent pregnancy loss: causes, controversies, and treatment / ed. by H.J.A. Carp. 2nd ed. London: CRC Press, 2014. 456 p.
13. Chen Z., Lin F., Gao Y., Li Z., Zhang J., Xing Y., Deng Z., Yao Z., Tsun A., Li B. FOXP3 and ROR γ t: transcriptional regulation of Treg and Th17. *Int. Immunopharmacol.*, 2011, Vol. 11, no. 5, pp. 536-542.
14. Despodova T. Our experience in treating habitual abortions by skin grafts. *Akush. Ginekol. (Sofia)*, 1985, Vol. 25, no. 2, pp. 42-48. (In Bulg.)
15. Farquharson R.G., Stephenson M.D. Early pregnancy. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2017. 344 p.
16. Gharesi-Fard B., Zolghadri J., Kamali-Sarvestani E. Effect of leukocyte therapy on tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma production in patients with recurrent spontaneous abortion. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2008, Vol. 59, no. 3, pp. 242-250.
17. Guerin L.R., Prins J.R., Robertson S.A. Regulatory T-cells and immune tolerance in pregnancy: a new target for infertility treatment? *Hum. Reprod. Update*, 2009, Vol. 15, no. 5, pp. 517-535.
18. Ichiyama K., Yoshida H., Wakabayashi Y., Chinen T., Saeki K., Nakaya M., Takaesu G., Hor S.i, Yoshimura A., Kobayashi T. Foxp3 Inhibits ROR γ t-mediated IL-17A mRNA Transcription through Direct Interaction with ROR γ t. *J. Biol. Chem.*, 2008, Vol. 283, no. 25, pp. 17003-17008.
19. Ivanov I.I., Zhou L., Littman D.R. Transcriptional regulation of Th17 cell differentiation. *Semin. Immunol.*, 2007, Vol. 19, no. 6, pp. 409-417.
20. Lee S.K., Na B.J., Kim J.Y., Hur S.E., Lee M., Gilman-Sachs A., Kwak-Kim J. Determination of clinical cellular immune markers in women with recurrent pregnancy loss. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2013, Vol. 70, no. 5, pp. 398-411.
21. Lee S.K., Kim J.Y., Hur S.E., Kim C.J., Na B.J., Lee M., Gilman-Sachs A., Kwak-Kim J. An imbalance in interleukin-17-producing T and Foxp3⁺ regulatory T cells in women with idiopathic recurrent pregnancy loss. *Hum. Reprod.*, 2011, Vol. 26, no. 11, pp. 2964-2971.
22. Liang P., Mo M., Li G.G., Yin B., Cai J., Wu T., He X., Zhang X., Zeng Y. Comprehensive analysis of peripheral blood lymphocytes in 76 women with recurrent miscarriage before and after lymphocyte immunotherapy. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2012, Vol. 68, no. 2, pp. 164-174.
23. Liu Y.S., Wu L., Tong X.H., Wu L.M., He G.P., Zhou G.X., Luo L.H., Luan H.B. Study on the relationship between Th17 cells and unexplained recurrent spontaneous abortion. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2011, Vol. 65, no. 5, pp. 503-511.
24. Rafiee M., Gharagozloo M., Ghahiri A., Mehrabian F., Maracy M.R., Kouhpayeh S., Pieper I.L., Rezaei A. Altered Th17/Treg ratio in recurrent miscarriage after treatment with paternal lymphocytes and vitamin D3: a double-blind placebo-controlled study. *Iran. J. Immunol.*, 2015, Vol. 12, no. 4, pp. 252-262.
25. Saini V., Arora S., Yadav A., Bhattacharjee J. Cytokines in recurrent pregnancy loss. *Clin. Chim. Acta*, 2011, Vol. 412, no. 9, pp. 702-708.
26. Saito S., Shima T., Nakashima A., Shiozaki A., Ito M., Sasaki Y. What is the role of regulatory T cells in the success of implantation and early pregnancy? *J. Assist. Reprod. Genet.*, 2007, Vol. 24, no. 9, pp. 379-386.
27. Wang W.J., Hao C.F., Yi-Lin, G.J. Yin, Bao S.H., Qiu L.H., Lin Q.D. Increased prevalence of T helper 17 (Th17) cells in peripheral blood and decidua in unexplained recurrent spontaneous abortion patients. *J. Reprod. Immunol.*, 2010, Vol. 84, no. 2, pp. 164-170.
28. Wilczyński J.R., Radwan P., Tchórzewski H., Banasik M. Immunotherapy of patients with recurrent spontaneous miscarriage and idiopathic infertility: does the immunization-dependent Th2 cytokine overbalance really matter? *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*, 2012, Vol. 60, no. 2, pp. 151-160.
29. Williams Z. Inducing tolerance to pregnancy. *N. Engl. J. Med.*, 2012, Vol. 367, no. 12, pp. 1159-1161.
30. Wu L., Luo L.H., Zhang Y.X., Li Q., Xu B., Zhou G.X., Luan H.B., Liu Y.S. Alteration of Th17 and Treg cells in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion before and after lymphocyte immunization therapy. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2014, Vol. 12, no. 1, 74. doi: 10.1186/1477-7827-12-74.
31. Yamada H., Morikawa M., Furuta I., Kato E.H., Shimada S., Sata F., Kishi R., Minakami H. Circulating cytokines during early pregnancy in women with recurrent spontaneous abortion: decreased TNF-alpha levels in abortion with normal chromosome karyotype. *Hokkaido Igaku Zasshi*, 2004, Vol. 79, no. 3, pp. 237-241.

32. Yang H., Qiu L., Di W., Zhao A., Chen G., Hu K., Lin Q. Proportional change of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells after lymphocyte therapy in unexplained recurrent spontaneous abortion patients. *Fertil. Steril.*, 2009, Vol. 92, no. 1, pp. 301-305.
33. Yoo J.H., Kwak-Kim J., Han A.R., Ahn H., Cha S.H., Koong M.K., Kang I.S., Yang K.M. Peripheral blood NK cell cytotoxicities are negatively correlated with CD8(+) T cells in fertile women but not in women with a history of recurrent pregnancy loss. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2012, Vol. 68, no. 1, pp. 38-46.
34. Zenclussen A.C. Regulatory T cells in pregnancy. *Springer Semin. Immunopathol.*, 2006, Vol. 28, no. 1, pp. 31-39.
35. Zhou L., Lopes J.E., Chong M.M., Ivanov I.I., Min R., Victora G.D., Shen Y., Du J., Rubtsov Y.P., Rudensky A.Y., Ziegler S.F., Littman D.R. TGF-beta-induced Foxp3 inhibits Th17 cell differentiation by antagonizing RORgammat function. *Nature*, 2008, Vol. 453, no. 7192, pp. 236-240.

Авторы:

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

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

Ивняева 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

Ванько Л.В. — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Николаева М.А. — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

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

Authors:

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

Vtorushina V.V., PhD (Medicine), Clinical Immunologist-Allergologist, V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

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

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

Nikolaeva M.A., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Clinical Immunology, V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

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 09.09.2019
Отправлена на доработку 05.12.2019
Принята к печати 27.12.2019

Received 09.09.2019
Revision received 05.12.2019
Accepted 27.12.2019