

КУСТ Алена Валерьевна

**РОЛЬ В-ЛИМФОЦИТОВ В ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫХ ПРОЦЕССАХ
ПРИ ПРИВЫЧНОМ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук, профессор

Малышкина Анна Ивановна
Сотникова Наталья Юрьевна

Официальные оппоненты:

Тетруашвили Нана Картлосовна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, второе акушерское отделение патологии беременности, руководитель

Доброхотова Юлия Эдуардовна – доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра акушерства и гинекологии лечебного факультета, заведующий кафедрой

Ведущая организация – федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2021 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.1.010.01 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «ИВ НИИ М и Д им. В. Н. Городкова» Минздрава России, сайт: www.niimid.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Панова Ирина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

На сегодняшний день проблема невынашивания беременности является одной из самых значимых в практическом здравоохранении [Тетруашвили Н. К. и др., 2017; Доброхотова Ю. Э. и др., 2017; Биржанова Г. Т., 2018; Каусова К. Г. и др., 2017]. Около 80% всех самопроизвольных выкидышей происходит до 12-й недели гестации, большинство из них обусловлено преходящим действием повреждающих факторов и не вызывает нарушение репродуктивной функции женщины в последующем [Волков В. Г., 2017]. Особое место в структуре нозологических форм нарушений репродуктивной функции занимает привычное невынашивание беременности (ПНБ) [Krieg S. et al., 2015]. По данным различных авторов, в структуре невынашивания частота привычного невынашивания составляет от 5 до 20% [Миров А. И., 2017; Тетруашвили Н. К., и др., 2017; Борзова Н. Ю. и др., 2016; Доброхотова Ю. Э. и др., 2016].

Женщины, страдающие от повторных репродуктивных потерь, представляют собой группу риска по развитию различных осложнений беременности, таких как плацентарная недостаточность, задержка роста и хроническая гипоксия плода [Тетруашвили Н. К. и др., 2018; Стрижаков А. Н., 2006]. Кроме того, известно, что пациентки с привычным невынашиванием подвержены риску возникновения вторичного бесплодия после 3-й потери беременности [Тетруашвили Н. К. и др., 2018]. Каждая прервавшаяся беременность у женщин с ПНБ наносит не только психологическую травму, но и отрицательно сказывается на состоянии репродуктивной системы в целом за счет последствий самого прерывания беременности, а также выполнения инвазивных процедур [Михалевич С. И., 2012].

Механизмы ПНБ остаются не до конца ясными, хотя известно, что иммунологические факторы играют важную роль. По данным разных исследователей, повторная потеря беременности связана с нарушениями иммунологической толерантности иммунной системы матери в 14-55 % случаев [Vilibio J. P. et al., 2020; Muayalo K. P. et al., 2018]. Известно, что В-клетки принимают активное участие в регуляции материнского иммунного ответа при беременности. Нарушение дифференцировки В-лимфоцитов за счет клеток, участвующих в реакциях аутоиммунитета, описано при самопроизвольном выкидыше, преэклампсии, задержке внутриутробного развития плода и преждевременных родах [Wang Y. et al., 2020; Prieto J. et al., 2017; Tay J. et al., 2018].

В связи с этим, можно предположить, что при ПНБ характер дифференцировки В-лимфоцитов и регуляции ее активности должны значительно изменяться. Уточнение механизмов дифференцировки В-лимфоцитов может быть перспективным направлением для раскрытия

патогенеза привычного невынашивания и поиска точек приложения медикаментозных методов коррекции данной патологии.

Степень разработанности темы исследования

Имеются единичные работы по содержанию субпопуляций В-клеток у небеременных женщин с анамнезом рецидивирующих потерь беременности. Литературные данные о содержании периферических В-лимфоцитов у женщин с ПНБ противоречивы: Nguyen P. L. et al. (2013) и Jablonowska B. et al. (2002) отмечают аномальное увеличение относительного и абсолютного числа CD19+ В-клеток за счет В1-клеток. В то же время, имеются данные о снижении количества периферических CD19+ В-лимфоцитов в крови беременных женщин, беременность которых завершилась самопроизвольным выкидышем [Tu W. et al., 2020].

Показано, что при привычном невынашивании в периферической крови возрастает количество активированных наивных В-клеток с фенотипом IgD+CD38+ и снижается число наивных В-клеток с фенотипом IgD+CD38– [Батурина И. Л. и др., 2016]. Имеются данные о связи снижения содержания Breg (регуляторных В-клеток) у женщин с ПНБ [Hosseini A. et al., 2018; Furuzawa-Carballeda J. et al., 2013].

В то же время, остальные этапы дифференцировки и факторы, ее регулирующие, остаются практически неизученными.

Цель исследования: установить особенности регуляции дифференцировки и функциональной активности периферических В-лимфоцитов у женщин с угрозой прерывания беременности и привычным невынашиванием беременности, на основании полученных данных разработать критерии прогноза исхода настоящей беременности.

Задачи исследования

1. Дать характеристику анамнеза, состояния здоровья, течения беременности и родов, перинатальных исходов у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием беременности, на основании чего выявить наиболее значимые факторы риска данной патологии.
2. Оценить особенности содержания незрелых, зрелых, наивных, клеток памяти, В1- и В2-лимфоцитов, плазмочитов, секреторных В-лимфоцитов у женщин с угрозой прерывания беременности и привычным невынашиванием.
3. Оценить сывороточный уровень BAFF и APRIL, рецепцию BAFF и синтез АКТ периферическими В-лимфоцитами у женщин с угрозой прерывания беременности и привычным невынашиванием.
4. Разработать прогностические критерии исхода беременности у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием беременности.

Научная новизна исследования

Впервые показано, что угрожающий выкидыш в сроке 5-12 недель беременности у женщин с привычным невынашиванием ассоциирован с изменениями дифференцировки В-клеточного звена на системном уровне, проявляющимися в увеличении количества В-лимфоцитов за счет незрелых форм, дефицитом зрелых высокоэффекторных клеток, а также секреторных В-лимфоцитов. В то время как для угрозы прерывания при первой беременности характерны сдвиг дифференцировки в сторону зрелых форм В-лимфоцитов и В-клеток, участвующих в реакциях аутоиммунитета, на фоне дефицита секреторных В-лимфоцитов.

Установлено, что у женщин с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием беременности дефицит IL-10–продуцирующих В-лимфоцитов и низкий уровень экспрессии мРНК АКТ в периферических В-клетках ассоциированы с самопроизвольным прерыванием беременности до 22 недель.

Впервые определено, что дифференцировка периферических В-лимфоцитов у женщин с угрожающим привычным выкидышем протекает на фоне усиления рецепции BAFF при сниженном его сывороточном содержании. Угроза прерывания первой беременности ассоциирована с повышенной концентрацией BAFF на системном уровне.

Впервые установлено, что угроза прерывания беременности как у женщин с привычным невынашиванием, так и при первой беременности, характеризуется повышенным уровнем экспрессии мРНК АКТ в периферических В-лимфоцитах.

Теоретическая и практическая значимость работы

Уточнены наиболее значимые факторы риска угрожающего выкидыша в ранние сроки беременности у женщин с привычным невынашиванием беременности в анамнезе.

Разработан новый способ прогнозирования самопроизвольного прерывания беременности по относительному содержанию CD20+IL-10+ лимфоцитов перед назначением сохраняющей терапии у женщин с привычным невынашиванием (Патент РФ № 2746033, 2021г.).

Предложен новый иммунологический критерий прогноза самопроизвольного прерывания беременности до 22 недель у женщин с привычным невынашиванием, основанный на определении уровня экспрессии мРНК АКТ в CD19+ В-лимфоцитах.

Методология и методы исследования

Работа выполнена в течение 2018-2021 годов на базах Федерального государственного бюджетного учреждения «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор – д.м.н., проф. Малышкина А. И.) и ОБУЗ ГКБ №8 (главный врач – Грязнова М. А.).

Иммунологические исследования проводились в лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (зав. лабораторией – заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор Сотникова Н. Ю.).

Всего было обследовано 136 женщин в сроке беременности 5-12 недель. Выделены следующие группы:

- женщины с угрожающим самопроизвольным выкидышем на момент обследования и привычным невынашиванием беременности в анамнезе (основная группа, n=65);
- первобеременные женщины с угрожающим самопроизвольным выкидышем на момент обследования (группа сравнения, n=36 – выделение группы произведено с целью уточнения патогенетических механизмов формирования привычного невынашивания);
- пациентки без признаков угрозы прерывания беременности на момент обследования и отсутствием привычного невынашивания беременности в анамнезе (контрольная группа, n=35).

Критерии включения в исследование: пациентки с диагнозом привычный выкидыш, имеющие в анамнезе 2 подряд и более самопроизвольных выкидыша (код по МКБ-Х: O26.2), и угрозой прерывания беременности ранних сроков (код по МКБ-Х: O20.0), имеющие прогрессирующую одноплodную маточную беременность в сроке 5-12 недель, подтвержденную по данным ультразвукового исследования, с визуализацией плодного яйца в полости матки, наличием сердцебиения эмбриона и признаками угрозы прерывания.

Критерии исключения из исследования: самопроизвольный выкидыш «в ходу»; многоплодная беременность; беременность, наступившая в результате вспомогательных репродуктивных технологий; анэмбриония и другие достоверные признаки нежизнеспособной маточной беременности; аномалии развития матки; структурные перестройки кариотипов супругов, выявленные на прегравидарном этапе; женщины с наличием острой или обострением хронической инфекции на момент обследования; женщины с тяжелой экстрагенитальной патологией; выраженные аллергические реакции на момент обследования; женщины с аутоиммунными заболеваниями.

Все пациентки обследованы согласно приказу Минздрава России №572н «Порядок оказания медицинской помощи по профилю акушерство и гинекология» от 1 ноября 2012 года и согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ от 20.12.2012г. №1273н «Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при привычном невынашивании беременности», а также согласно Клиническим рекомендациям «Выкидыш в ранние сроки беременности: диагностика и тактика ведения» от 16.05.2016 г.

Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь, забор которой у женщин с угрозой прерывания беременности производился в момент госпитализации до назначения сохраняющей терапии.

Лабораторные методы:

Методом многоцветной проточной цитофлуориметрии проводилось определение субпопуляций CD19+ В-лимфоцитов, CD19+IgD+ зрелых, CD19+IgD+CD27- наивных, CD19+CD38+CD20- плазматических клеток, CD19+CD27+IgD± клеток памяти, CD19+CD27+IgD+ «непереключенных» и CD19+CD27+IgD- «переключенных» клеток памяти, CD19+BAFFR+, CD20+ В-лимфоцитов, CD20+CD5+ В1-клеток, CD20+CD5- В2-клеток, CD20+IgM+ незрелых, CD20+IgG+ зрелых, секреторных CD20+IL-4+, CD20+IL-6+, CD20+IL-10+ В-лимфоцитов с помощью моноклональных антител (мАТ) на приборе FACSCantoII (Becton Dickenson, США);

Определение экспрессии мРНК АКТ периферическими CD19+ клетками методом RT-PCR в режиме реального времени.

Сывороточное содержание BAFF, APRIL, IgA, IgM, IgG оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на микропланшетном ридере Multiscan EX (Labsystems, Финляндия).

Наличие IgA, IgM, IgG к HSV1, HSV 2, CMV, Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis и Ureaplasma urealyticum производилось методом ИФА с использованием тест-систем ЗАО «Вектор-Бест», Россия.

Определение сывороточного содержания циркулирующих иммунных комплексов проводилось на фотоэлектрическом колориметре КФК-2 по стандартной методике.

Математическая обработка осуществлялась в пакете прикладных программ «Statistica 13.0.», «Microsoft Office 2007», «MedCalc» и «OpenEpi» по общепринятым методам вариационной статистики после проверки рядов на нормальность распределения. В программе «OpenEpi» рассчитывали отношение шансов (ОШ) с 95% ДИ. ROC-анализ был проведен с использованием программы «MedCalc».

Положения, выносимые на защиту

Изменения характера дифференцировки В-звена иммунитета на системном уровне являются одним из механизмов угрозы прерывания беременности в сроке 5-12 недель. Угрожающий привычный выкидыш протекает на фоне относительного В-клеточного лимфоцитоза, сопровождающегося сдвигом дифференцировки В-лимфоцитов в сторону незрелых форм, дефицитом зрелых высокоэффекторных В-клеток и В-лимфоцитов, внутриклеточно продуцирующих IL-6 и IL-10. Для угрожающего выкидыша при первой беременности характерны сдвиг дифференцировки в сторону зрелых форм и увеличение доли В1-клеток на фоне дефицита секреторных В-лимфоцитов, внутриклеточно продуцирующих IL-6 и IL-10.

Показатель относительного содержания CD20+IL-10+ лимфоцитов в периферической крови, определенный у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием в сроке 5-12 недель, позволяет прогнозировать самопроизвольное прерывание беременности до 22 недель.

Угрожающий выкидыш у женщин с привычным невынашиванием ассоциирован с усиленной рецепцией ВAFF при сниженной его сывороточной концентрации, в то время как угрожающий выкидыш при первой беременности характеризуется повышенным содержанием ВAFF. Увеличение уровня экспрессии мРНК АКТ периферическими В-лимфоцитами характерно как для угрожающего привычного выкидыша, так и для первобеременных с угрозой прерывания.

Дополнительным критерием самопроизвольного прерывания беременности до 22 недель у женщин с угрожающим самопроизвольным выкидышем и привычным невынашиванием является низкий уровень экспрессии мРНК АКТ в CD19+ В-клетках.

Внедрение результатов работы в практику

Разработанный способ прогнозирования исхода беременности (Патент РФ № 2746033 от 06.04.2021) прошел предрегистрационные испытания и используется в гинекологической клинике ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава России. Материалы диссертации используются в учебном процессе кафедры акушерства и гинекологии, анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава России.

Личное участие автора

Автор самостоятельно проводил отбор пациенток в исследуемые группы согласно критериям включения и исключения, клиническое обследование женщин с последующим наблюдением за течением беременности, родов, послеродового периода, состоянием новорожденных. Автором лично осуществлялись все этапы иммунологических исследований, систематизация, статистико-математическая обработка данных, анализ и описание полученных результатов, формулирование выводов, практических рекомендаций.

Апробация работы

Основные результаты диссертации доложены на Научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы здоровья матери и ребенка 2019» с интернет-трансляцией (Иваново, 2019), V Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием (Иваново, 2019), Объединенном иммунологической форуме (Новосибирск, 2019), Научно-практической конференции «Инструменты и механизмы современного развития» (Казань, 2019), XIII Всероссийской научно-практической конференция студентов и молодых ученых-медиков «Молодежь – практическому здравоохранению» - (Иваново, 2019), VI Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека»

(Иваново, 2020), VII Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека» (Иваново, 2021), Научно-практической конференции молодых ученых (Иваново, 2021).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ, из них 4 в рецензируемых журналах, включенных в перечень журналов, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации научных результатов диссертаций.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 129 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы с клинической характеристикой обследованных женщин, главы собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 222 источника, в том числе 90 отечественных и 132 иностранных. Работа иллюстрирована 23 таблицами и 6 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Результаты исследования и их обсуждение

Возрастной состав женщин варьировал от 18 до 40 лет. Женщины основной группы были старше ($31,18 \pm 5,18$ лет) по сравнению с женщинами групп контроля ($28,14 \pm 4,22$ лет) ($p=0,003$) и сравнения ($26,75 \pm 4,49$ лет) ($p=0,000$), что может быть обусловлено насыщенным репродуктивным анамнезом. Женщины старшего репродуктивного возраста чаще встречались в основной группе по сравнению с контролем (21,54 против 2,86%, ОШ 9,33; 95% ДИ 1,17-74,3, $p=0,028$). Известно, что беременность, наступившая в позднем репродуктивном периоде, является беременностью высокого риска и ассоциирована с высокой частотой развития хромосомных аномалий эмбриона и гестационных осложнений [Серова О. Ф., 2020; Баландина А. О. и др., 2018; Мазин П. В., 2018].

Обследуемые женщины были сопоставимы по усредненным массовым показателям, индексу массы тела, показателем уровня систолического и диастолического артериального давления ($p>0,05$ во всех случаях). Отягощенный семейный анамнез по невынашиванию беременности имелся лишь у 6,15% женщин основной группы ($p>0,05$).

В структуре перенесенных заболеваний, включая детские инфекции, среди женщин основной группы преобладала ветряная оспа по сравнению с группами контроля (81,54 против 60%, ОШ 2,94; 95% ДИ 1,17-7,40, $p=0,035$) и сравнения (81,54 против 61,11%, ОШ 2,81; 95% ДИ 1,12-7,03, $p=0,029$). Перенесенная вирусная инфекция, вызванная *Varicella zoster*, могла оказать

супрессорное влияние на становление иммунитета в детстве и привести впоследствии к неадекватному реагированию иммунокомпетентных клеток на патогены во взрослом возрасте и развитию вторичных иммунодефицитных состояний [Данусевич И. Н., 2013].

При анализе экстрагенитальной патологии среди обследуемых было выявлено, что женщины основной группы, как по сравнению с контрольной группой, так и с группой сравнения, чаще имели заболевания щитовидной железы, связанные с ее гипо- и гиперфункцией, (21,54 против 2,86%, ОШ 9,33; 95% ДИ 1,172 – 74,3, $p=0,027$; 21,54 против 2,78%, ОШ 9,61; 95% ДИ 1,21- 76,43, $p=0,004$, соответственно) и хронический цистит (29,23 против 5,71%, ОШ 6,82; 95% ДИ 1,49-31,29, $p=0,000$; 29,23 против 11,11%, ОШ 3,30; 95% ДИ 1,03-10,63, $p=0,02$, соответственно). Полученные данные согласуются с данными литературы [Щербаков А. Ю. и др., 2018; Бахарева И. В., 2013; Сидельникова В. М., 2005].

Обследуемые женщины были сопоставимы по становлению и характеру менструальной функции. У женщин основной группы чаще имелось нарушение менструального цикла по типу олигоменореи по сравнению с группой контроля (26,15 против 5,71%, ОШ 5,84; 95% ДИ 1,26-27, $p=0,027$). Выявленные нами нарушения в работе щитовидной железы могли в значительной степени влиять на наличие овуляции, менструальный ритм, фертильность и вынашивание беременности [Щербаков А.Ю., 2018]. Олигоменорея у женщин основной группы является возможным отражением нарушения функционирования щитовидной железы у данной категории пациенток.

При анализе гинекологических заболеваний среди обследуемых было установлено, что женщины основной группы значительно чаще имели хронический эндометрит в анамнезе по сравнению с группами контроля (72,31 против 11,43%, ОШ 20,24; 95% ДИ 6,25-65,49, $p=0,000$) и сравнения (72,31 против 22%, ОШ 9,14; 95% ДИ 3,52-23,75, $p=0,000$), а также инфекции, передаваемые преимущественно половым путем (ИППП) (44,62 против 8,57%, ОШ 8,59; 95% ДИ 2,39-30,92, $p=0,01$ и 44,62 против 8,33%, ОШ 8,86; 95% ДИ 2,47-31,84, $p=0,011$, соответственно). Полученные нами данные согласуются с установленным фактором риска инфекционного генеза ПНБ [Макаров И.О. и др., 2011; Тулупова М. С., 2008]. Длительная персистенция инфекционных агентов в мочеполовом тракте у женщин с привычным невынашиванием может являться причиной хронического воспалительного иммунного ответа на местном и системном уровнях, что влечет за собой нарушения в процессах структурной перестройки gravidарного эндометрия, дифференцировки ворсин хориона, ремоделирования сосудов и, как следствие, формирует условия для возникновения первичной плацентарной недостаточности и прерыванию беременности [Озолия Л. А. и др., 2017; Перетятко Л. П. и др., 2017]. Кроме того, хронический эндометрит создает предпосылки для развития недостаточности лютеиновой фазы

менструального цикла [Данусевич И. Н., 2013], что также могло обусловить развитие олигоменореи у женщин с ПНБ.

Выскабливания полости матки в анамнезе имели 92,31% женщин основной группы и 17,14% группы контроля (ОШ 58; 95% ДИ 16,34 – 205,9, $p=0,000$). На одну женщину основной группы приходилось $2,92\pm 1,79$ выскабливаний полости матки, в то время как в группе контроля – $0,20\pm 0,47$ ($p=0,000$). Женщины группы сравнения не имели выскабливаний полости матки в анамнезе. Хирургический кюретаж является инвазивной высокотравматичной манипуляцией и сопряжен с высоким риском осложнений, а также формированием и усугублением воспалительного процесса в эндометрии [Доброхотова Ю. Э. и др., 2017].

При оценке репродуктивной функции было установлено, что женщины обследуемых групп были сопоставимы по возрасту сексуального дебюта и, преимущественно, начинали половую жизнь до брака ($p>0,05$ во всех случаях). Женщины основной группы значительно чаще по сравнению с группой контроля имели в анамнезе неразвивающиеся беременности (70,77 против 8,57%, ОШ 25,82; 95% ДИ 7,05-94,61, $p=0,000$) и самопроизвольные выкидыши (67,69 против 8,57%, ОР 22,35; 95% ДИ 6,14-81,39, $p=0,000$). В соответствии с имеющимися данными, риск самопроизвольного прерывания существенно повышается после предшествующей потери беременности на раннем сроке [Адамян Л. В. и др., 2018].

Пациентки с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием в анамнезе на этапе планирования настоящей беременности в подавляющем большинстве (92,31%) прошли прегравидарную подготовку по сравнению с женщинами групп контроля (48,57%) и сравнения (38,89%) ($p=0,000$ во всех случаях). Различия между группами могут быть обусловлены тем, что женщины с ПНБ, имея повторные потери беременности в анамнезе, более тщательно подходили к вопросу планирования настоящей беременности.

Женщины основной группы и группы сравнения поступали в стационар с клинической картиной угрожающего и начавшегося самопроизвольного выкидыша. Значимых различий в локализации болевых ощущений среди обследуемых выявлено не было ($p>0,05$). Наличие признаков угрожающего и начавшегося выкидыша у пациенток основной группы и группы сравнения по данным клинико-инструментального исследования было сопоставимо: кровянистые выделения из половых путей при гинекологическом осмотре наблюдались у 58 % женщин с ПНБ и у 61,1% первобеременных, отслойка хориона по данным ультразвукового исследования у 41,5% женщин с ПНБ и 50% пациенток группы сравнения ($p>0,05$ во всех случаях).

При поступлении в стационар до назначения сохраняющей терапии всем женщинам с угрозой прерывания была взята периферическая венозная кровь для общеклинических и иммунологических исследований. Показатели

общеклинического анализа крови и гемастазиограммы не выходили за рамки лабораторных норм у всех обследуемых женщин, однако в основной группе отмечалось увеличение относительного содержания лимфоцитов периферической крови ($29,07 \pm 6,27\%$) по сравнению с контролем ($21,13 \pm 5,41\%$, $p=0,000$) и группой сравнения ($24,57 \pm 6,0\%$, $p=0,001$).

При анализе инфекционного статуса на момент обследования было выявлено, что 23,3% женщин основной группы имели IgM к HSV 1 и 2 типов, что достоверно превышало частоту обнаружения данного показателя в контрольной группе ($p=0,031$). Циркуляция антител к вирусным агентам в организме матери, в том числе и к Herpes simplex virus, обуславливает гиперкоагуляционные изменения гемостаза как на системном, так и на местном уровнях, что приводит к тромбированию хориальных сосудов и отслойке плодного яйца, создавая тем самым предпосылки для развития ПНБ [Доброхотова Ю. Э. и др., 2017; Озолия Л. А. и др., 2017]. Количество женщин с маркерами инфицирования CMV, Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis и Ureaplasma urealyticum было сопоставимо во всех исследуемых группах ($p>0,05$). Активная герпетическая инфекция при беременности способствует сдвигу иммунного ответа материнского организма в сторону Th 1 (T – хелперов 1-го типа), активации цитотоксических реакций на границе «мать-плод», тромбозу сосудов трофобласта и увеличению продукции простагландинов, приводящих к маточным сокращениям [Савченко Т. Н. и др., 2014].

Таким образом, беременность женщин с угрозой прерывания на момент обследования и привычным невынашиванием протекала под действием факторов риска, в разной степени оказывающих негативное влияние на гестационный процесс. Риск развития угрожающего самопроизвольного выкидыша в I триместре беременности был повышен у женщин позднего репродуктивного возраста в 9,3 раз, переболевших в детстве ветряной оспой – в 2,9 раз, имеющих заболевания щитовидной железы – в 9,3 раз, хронический цистит – в 6,8 раза, нарушение менструального цикла по типу олигоменореи – в 5,8 раз, ИППП – в 8,6 раз, хронический эндометрит – в 20,2 раза, имевших в анамнезе неразвивающиеся беременности – в 25,8 раз, подвергавшихся выскабливаниям полости матки – в 58 раз, являющихся носителями маркеров активной герпетической инфекции на момент обследования – в 9,1 раз.

Среди осложнений беременности у женщин с привычным невынашиванием наиболее часто встречались: угрожающий поздний выкидыш (62,9%), истмико-цервикальная недостаточность (17,3%), угрожающие преждевременные роды (30,8%) по сравнению с контрольной группой (20%, 0%, 17,1%, соответственно, $p<0,05$ во всех случаях) и первобеременными с угрозой прерывания (22,2%, 0%, 0%, соответственно,

$p < 0,05$ во всех случаях). Частота встречаемости рвоты беременных, анемии, гестационного сахарного диабета, перенесенных острых респираторных заболеваний во время беременности, инфекционных заболеваний мочеполового тракта, признаков внутриутробного инфицирования, плацентарной недостаточности, задержки роста плода среди женщин обследуемых групп не имела значимых различий ($p > 0,05$ во всех случаях).

Беременность женщин с привычным невынашиванием завершилась самопроизвольным прерыванием до 22 недель в 18,4% случаев: у 4,6% – самопроизвольным выкидышем, у 13,8% – неразвивающейся беременностью. Преждевременные роды в основной группе произошли в 13,4% случаев, из них «ранние» составили 7,7%, в срок 34-36 недель 6 дней – 5,7%. Своевременные роды произошли в 68,2% случаев. 46,1% женщин с привычным невынашиванием были родоразрешены через естественные родовые пути, 53,9% – путем операции кесарева сечения. Родовая деятельность женщин с ПНБ наиболее часто осложнялась родовым излитием околоплодных вод (в 21,25% случаев).

Беременность женщин группы сравнения завершилась в 5,6% самопроизвольным выкидышем, в 22,2% – неразвивающейся беременностью, в 72,2% – своевременными родами. Родоразрешение через естественные родовые пути было у 73,1% первобеременных с угрозой прерывания, что превышало значения данного показателя в основной группе ($p = 0,018$), путем операции кесарева сечения - у 26,9%. Беременность женщин группы контроля завершилась в 100% срочными родами, что превышает данный показатель в группе женщин с привычным невынашиванием ($p = 0,001$) и первобеременных с угрозой прерывания ($p = 0,000$). Способ родоразрешения и показания к оперативному родоразрешению не имели значимых различий между основной и контрольной группами. Осложнений раннего и позднего послеродового периодов среди женщин исследуемых групп зарегистрировано не было.

При сопоставлении исходов беременности с маркерами острого и/или хронического воспаления на момент обследования в I триместре у женщин обследуемых групп нами не было выявлено зависимости между самопроизвольным прерыванием беременности до 22 недель и частотой обнаружения Ig A, M, G к исследуемым инфекционным агентам ($p > 0,05$ во всех случаях).

Средние длина и масса тела новорожденных в основной группе составили $50,19 \pm 3,91$ см и $3104,23 \pm 592,51$ г, соответственно, что отличалось от более высоких значений групп контроля ($51,89 \pm 2,83$ см и $3404 \pm 429,17$ соответственно) ($p < 0,05$ во всех случаях) и обусловлено наличием преждевременных родов в данной группе. Средняя длина и масса тела детей, рожденных от женщин группы сравнения, значимо не отличалась от

показателей других новорожденных и составила $50,88 \pm 2,01$ см и $3258,38 \pm 381,49$ г соответственно. Средние оценки новорожденных по шкале Апгар на 1 и 5 минуте были сопоставимы во всех группах. В основной группе зафиксирован 1 случай антенатальной гибели плода в сроке 28 недель 2 дня вследствие преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты, декомпенсированной плацентарной недостаточности. В ОРИТН сразу после рождения переведены 7 новорожденных основной группы и по 1 новорожденному групп контроля и сравнения. Показаниями для перевода в ОРИТН были дыхательная недостаточность и недоношенность. В структуре заболеваний новорожденных от женщин с привычным невынашиванием преобладала конъюгационная желтуха (22%).

Средний срок пребывания в новорожденных стационаре достоверных различий между группами не имел. 78% новорожденных от матерей с привычным невынашиванием выписаны домой, 14% переведены на 2 этап выхаживания, 8% нуждались в дальнейшем лечении в условиях детской больницы. Большинство новорожденных от женщин групп контроля и сравнения выписаны домой (96,15% и 94,29%, соответственно). 1 ребенок, рожденный женщиной группы контроля, продолжил лечение в условиях детской больницы, 1 переведен на 2 этап выхаживания. 1 новорожденный группы сравнения переведен в детскую больницу. Разница в количестве выписанных новорожденных домой между основной группой и группой сравнения была значима и составила 18,15% ($p < 0,05$). Наши результаты согласуются с данными научной литературы и еще раз подтверждают, что пациентки с привычным невынашиванием демонстрируют более неблагоприятное течение беременности и перинатальные исходы [Кречетова Л. В. и др., 2015].

Беременность – уникальное состояние иммунологической толерантности материнского организма к отцовским антигенам плода. В-лимфоциты являются ключевыми участниками адаптивного иммунного ответа посредством синтезируемых антител и секретируемых цитокинов. В-клетки играют важную роль в иммунологической реактивности организма женщины в ответ на полуаллогенный трансплантат [Bulmer J. N. et al., 2010; Carbone J. et al., 2016], в связи с чем мы предполагаем, что при ПНБ характер функциональной активности и дифференцировки В-клеток должен значительно меняться. В нашем исследовании определялись особенности субпопуляционного состава В-лимфоцитов, параметры функциональной активности и содержание факторов регуляции дифференцировки и функционирования В-клеток на системном уровне.

При определении уровня периферических В-клеток в CD20+ лимфоцитарном гейте среди обследуемых было выявлено, что у женщин с ПНБ имелось повышение относительного содержания В-лимфоцитов

(6,84±3,51%) по сравнению с группой контроля (5,31±2,60%, $p=0,020$) и сравнения (5,26±3,95%, $p=0,044$) за счет равномерного увеличения фракций В1- (8,0±5,91%) и В2-клеток (92,0±5,93%). Полученные данные могут свидетельствовать о значении вирусной инфекции в иммунорегуляторных отношениях материнского организма к отцовским антигенам эмбриона. Эта мысль подтверждается повышением частоты выявления маркеров активной герпетической инфекции у женщин с ПНБ и компрометацией материнской иммунной системы *Varicella Zoster*, что согласуется с данными литературы [Доброхотова Ю. Э. и др., 2017; Данусевич И. Н., 2013]. Равномерное увеличение В1- и В2-фракций у женщин с ПНБ не согласуется с литературными данными [Nguyen P. L. et al., 2013; Jablonowska B. et al., 2002] и, возможно, обусловлено критерием исключения из нашего исследования женщин с аутоиммунной патологией. В группе сравнения содержание В1-клеток (11,19±6,98%) превышало таковое в основной группе, а В2-клеток, напротив, было меньше (88,77±5,07%), что может свидетельствовать об усилении реакций аутоиммунитета в генезе угрозы прерывания при первой беременности [Prieto J. et al., 2017]. При определении относительного содержания В-клеток в CD19+ лимфоцитарном гейте имела выраженная тенденция к повышению CD19+ клеток в основной группе ($p=0,071$).

После выхода из костного мозга незрелые В-лимфоциты, экспрессирующие IgM, проходят несколько стадий транзиторных В-клеток, после чего происходит переключение изотипов иммуноглобулинов на IgG и IgA, IgD [Москалев А. В. и др., 2019]. При анализе относительного содержания периферических В-лимфоцитов, поверхностно экспрессирующих IgM, IgG и IgD, у женщин основной группы было выявлено значимое повышение циркулирующих незрелых клеток с фенотипом CD20+IgM+ по сравнению с группой контроля (40,40±17,72% против 29,50±13,53%, $p=0,035$). Также отмечалась выраженная тенденция к снижению относительного содержания зрелых CD20+IgG+ В-лимфоцитов в основной группе по сравнению с контролем (5,04±3,81 против 8,0±6,64%, $p>0,05$). Содержание зрелых В-лимфоцитов, оцениваемых по экспрессии IgD, не имело значимых различий между группами. Преобладание незрелых форм В-клеток у женщин с ПНБ могло обусловить недостаточную эффективность реакций гуморального иммунитета в ответ на антигенную стимуляцию [Лушова А. А. и др., 2019].

Зрелые наивные В-лимфоциты являются первой линией защиты организма от патогенов. При поступлении чужеродного антигена зрелые В-клетки активируются, и в ходе реакций герминативного центра дают начало В-клеткам памяти и плазматическим клеткам. При повторном поступлении антигена «переключенные» В-клетки памяти дифференцируются в плазмоциты «напрямую», в отличие от «непереключенных», которые мигрируют в герминативные центры для дальнейшего созревания [Rosado M. M. et al., 2021]. Нами установлено, что для женщин с угрожающим

привычным выкидышем характерны снижение пула циркулирующих наивных клеток наряду с увеличением доли клеток памяти за счет «непереключенной» фракции, что согласуется с данными литературы [Freitag N. et al., 2020] (Таблица 1). Схожие изменения зарегистрированы в группе сравнения.

Таблица 1.

Особенности общего содержания CD19+ IgD+CD27- наивных, CD19+ IgD±CD27+, CD19+ IgD+CD27+ «непереключенных» и CD19+ IgD-CD27+ «переключенных» клеток памяти в популяции CD19+ В-лимфоцитов в периферической крови у женщин обследуемых групп

Показатель, % (M ± SD)	Контрольная группа (n=26)	Основная группа (n=48)	Группа сравнения (n=23)
CD19+IgD+CD27- наивные	62,71±6,83	45,70±13,84 p ₁ =0,04	51,18±9,69 p ₂ =0,014
CD19+IgD±CD27+ Клетки памяти	32,67±6,05	47,21±15,24 p ₁ =0,047	43,99±7,99 p ₂ =0,006
CD19+IgD+CD27+ Непереключенные клетки памяти	11,53±2,90	24,62±14,37 p ₁ =0,044	17,79±7,22 p ₂ =0,038
CD19+IgD-CD27+ переключенные клетки памяти	21,18±4,53	22,60±6,74	26,21±8,61

Примечание: p₁ – уровень статистической значимости различий показателей между основной и контрольной группами, p₂ – уровень статистической значимости различий между группой сравнения и контрольной группой

Плазмоциты являются терминально дифференцированными высокоэффекторными клетками адаптивного иммунитета, основной задачей которых является выработка антител. Относительное содержание плазмоцитов у женщин основной группы было значимо ниже (2,09±1,51%) по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы (3,06±2,23%) и группы сравнения (6,23±7,74%) (p<0,05 в обоих случаях). Разница в содержании плазматических клеток первобеременных с угрозой прерывания по сравнению с контролем была значима (p<0,05).

Выявленное преобладание незрелых форм В-лимфоцитов, выраженный дефицит наивных клеток, плазмоцитов и повышенное содержание «непереключенных» В-клеток памяти у женщин с ПНБ может быть связано с нарушением В-клеточного созревания в зародышевых центрах у данной категории пациенток.

При оценке антитело-продуцирующей функции В-лимфоцитов по продукции Ig A, M и G антител, а также антиген-связывающей функции по наличию ЦИК у женщин с ПНБ нами не было выявлено значимых различий

между обследуемыми группами, что может быть обусловлено длительным периодом полураспада иммуноглобулинов.

Важнейшими цитокинами В-звена иммунитета являются IL-4, IL-6 и IL-10. Указанные интерлейкины не только влияют на направленность и интенсивность иммунного ответа, но также посредством аутокринной регуляции оказывают стимулирующее влияние на переключение изотипов иммуноглобулинов и, в особенности, на дифференцировку плазмоцитов, а также участвуют в регуляции апоптоза [Danaii S. et al., 2020; Darmochwal-Kolarz D. et al., 2002]. В группах женщин с угрожающим выкидышем нами было отмечено снижение количества IL-6- и IL-10-продуцирующих В-лимфоцитов (Таблица 2).

Таблица 2.

Содержание CD20+IL4+, CD20+IL6+ и CD20+IL10+ в популяции CD20+ периферических В-лимфоцитов у женщин обследуемых групп

Показатель, % (M ± SD)	Контрольная группа (n=35)	Основная группа (n=60)	Группа сравнения (n=25)
CD20+IL-4+	3,23±1,02	3,24±1,04	3,59±1,34
CD20+IL-6+	8,59±4,34	5,97±2,44 p ₁ =0,015	5,12±2,02 p ₂ =0,004
CD20+IL-10+	10,77±6,01	5,43±2,83 p ₁ =0,002	7,13±3,72 p ₂ =0,044

Примечание: p₁ – уровень статистической значимости различий между основной и контрольной группами; p₂ – уровень статистической значимости различий между группой сравнения и контрольной группой.

Клетки с фенотипом CD20+IL-10+ относят к регуляторным В-лимфоцитам (Breg), главной функцией которых является контроль воспалительных реакций. Количество Breg увеличивается в первом триместре беременности, подавляя тем самым нежелательные иммунные ответы материнских эффекторных Т-клеток [Danaii S. et al., 2020]. Полученные нами данные согласуются с данными литературы [Esteve-Solé A. et al., 2018]. Максимальное снижение относительного содержания IL-10 – продуцирующих В-клеток отмечалось у женщин основной группы, беременность которых завершилась самопроизвольным прерыванием до 22 недель (3,84±0,71%). На основании полученных данных нами был разработан способ прогнозирования самопроизвольного выкидыша в сроке до 22 недель беременности у женщин с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием в анамнезе (Патент РФ № 2746033, 06.04.2021). Сущность способа заключается в том, что в периферической венозной крови беременных с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием в анамнезе в сроке 5-12 недель гестации до назначения сохраняющей терапии определяют относительное содержание IL-10+ клеток среди CD20+ В-лимфоцитов, и при его значении равном 4,5% или менее прогнозируют

неразвивающуюся беременность и самопроизвольный выкидыш в сроке гестации до 22 недель с точностью 87,9%.

Паракринная регуляция дифференцировки В-клеточного звена иммунитета находится под влиянием BAFF и APRIL. BAFF (фактор активации В-лимфоцитов) является ключевым лигандом для выживания, пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов, начиная с самых ранних этапов [E. Sevdali et al., 2019]. BAFF после связывания с BAFF-R (рецептором к BAFF) активирует протеинкиназу В (АКТ) и киназу, регулируемую внеклеточными сигналами (Erk), тем самым, способствуя выживанию В-клеток [Zheng N. et al., 2015]. При анализе экспрессии BAFF-R в CD19+ лимфоцитарном гейте было выявлено, что у женщин с привычным невынашиванием отмечалась повышенная экспрессия рецепторов к BAFF на периферических В-клетках по сравнению с контролем ($97,91 \pm 1,48\%$ против $95,81 \pm 1,90$, $p=0,040$), что может свидетельствовать об усиленной готовности периферических В-лимфоцитов к дифференцировке. Сывороточное содержание BAFF у женщин основной группы, напротив, было значительно снижено ($1,2420 [1,0685-1,3855]$ нг/мл) по сравнению с группами контроля ($1,4480 [1,3050-1,6010]$ нг/мл) ($p=0,02$) и сравнения ($1,5505 [1,2520-1,8260]$ нг/мл) ($p=0,016$). Уменьшение BAFF на системном уровне у женщин с ПНБ может свидетельствовать либо об ускоренном его связывании с BAFF-R, либо с недостаточной его продукцией, и как следствие, дефициту стимулирующего влияния на дифференцировку зрелых высокоэффекторных В-клеток. У первобеременных с угрозой прерывания количество CD19+BAFFR+ В-лимфоцитов было близко к значениям группы контроля ($95,53 \pm 1,01\%$), а сывороточное содержание BAFF напротив, было повышено ($p < 0,05$). Полученные данные позволяют предположить избыточное стимулирующее действие BAFF на дифференцировку зрелых форм В-клеток.

APRIL (лиганд, индуцирующий пролиферацию) регулирует функциональную активность и контролирует выживаемость В-клеток после встречи с антигеном, а также участвует в образовании долгоживущих плазматических клеток в костном мозге [Samy E. et al., 2017]. При оценке содержания APRIL значимых различий между обследуемыми группами зарегистрировано не было, однако имелась тенденция к снижению данного параметра в группе женщин с привычным невынашиванием по сравнению с показателями контрольной группы ($0,2308 [0,2151-0,2505]$ нг/мл против $0,25 [0,2355-0,3280]$ нг/мл, $p > 0,05$).

Взаимодействие BAFF/BAFF-R активирует сигнальный путь PI3K-АКТ, определяющий метаболизм, рост, пролиферацию, выживание, транскрипцию и синтез белка [Szydłowski M. et al., 2014]. При количественном анализе экспрессии мРНК АКТ в периферических В-клетках было установлено, что для женщин с угрожающим выкидышем как у первобеременных ($0,157 [0,141-0,375]$ к/пар* 10^4) так и пациенток с привычным невынашиванием ($0,093 [0,006-0,330]$ к/пар* 10^4) характерно

выраженное усиление синтеза АКТ по сравнению с контрольной группой (0,006 [0,000-0,080] к/пар*10⁴) ($p < 0,05$ во всех случаях), что может быть обусловлено активацией и повышенной готовностью к изменениям дифференцировки и функциональной активности В-клеток [Jiang N. et al., 2020].

Максимально выраженное угнетение экспрессии АКТ периферическими В-клетками отмечалось у женщин основной группы, беременность которых завершилась самопроизвольным прерыванием до 22 недель, что может свидетельствовать о нарушении процессов активации и выражаться в угнетении выработки антител и выживаемости В-клеток у данной категории пациенток. На основании полученных данных был выявлен дополнительный критерий прогноза исхода беременности, позволяющий с точностью 83,3% прогнозировать неразвивающуюся беременность и самопроизвольный выкидыш у женщин с угрозой прерывания беременности в 5-12 недель и ПНБ в анамнезе. Сущность способа заключается в том, что в периферических CD19+ В-лимфоцитах беременных с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием в анамнезе в сроке 5-12 недель гестации до назначения сохраняющей терапии определяют уровень экспрессии мРНК АКТ, и при его значении равном или менее 0,0106 к/пар*10⁴ прогнозируют самопроизвольное прерывание беременности до 22 недель. Уровни экспрессии АКТ в CD19+ В-лимфоцитах среди первобеременных, завершивших свою беременность родами и самопроизвольным прерыванием до 22 недель, не имели значимых различий ($p > 0,05$).

Таким образом, угроза прерывания беременности у женщин с привычным невынашиванием ассоциировалась с одной стороны с относительным В-клеточным-лимфоцитозом за счет равномерного повышения В1- и В2- субпопуляций, увеличением пула клеток памяти за счет непереключенных клеток памяти наряду с увеличением циркулирующих незрелых форм В-лимфоцитов, а с другой стороны, с выраженным дефицитом плазмочитов, наивных клеток и В-лимфоцитов, внутриклеточно продуцирующих IL-6 и IL-10, на фоне снижения стимулирующего влияния BAFF и APRIL. Данные изменения сочетались с повышенным уровнем экспрессии мРНК АКТ и рецепции BAFF периферическими В-клетками.

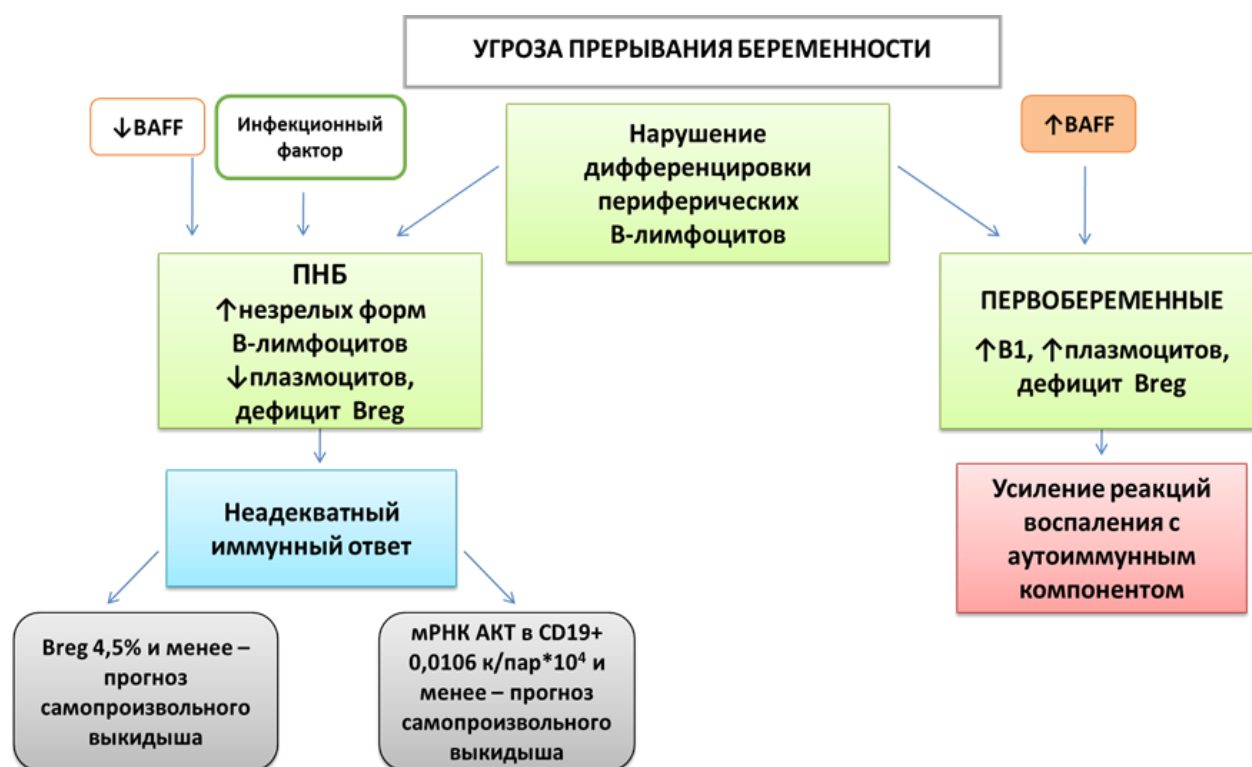
По нашим данным, женщины с ПНБ представляют собой особую категорию пациенток, иммунная система которых с детства подвергалась компрометации со стороны вирусных инфекционных агентов, и, по мере взросления, стимулировалась персистирующим воспалением. Эти факторы могли привести к неадекватному иммунному ответу на продукты зачатия в ранние сроки беременности у данной группы пациенток.

У первобеременных с угрозой прерывания было зарегистрировано уменьшение наивных В-клеток, клеток с фенотипом CD20+IL-6+, CD20+IL-10+, увеличение В-клеток памяти за счет непереключенной фракции наряду с

повышением плазмоцитов при нормальном относительном содержании В-лимфоцитов с повышенным содержанием В1-клеток, а также повышение периферического BAFF и экспрессии АКТ в В-лимфоцитах.

Таким образом, природа иммунных нарушений при угрозе прерывания беременности различна у женщин с ПНБ и у первобеременных (Схема 1). В первом случае отмечается неадекватный иммунный ответ, а во втором – усиленное развитие воспалительных реакций с аутоиммунным компонентом.

Схема 1. Схема возможных патогенетических механизмов невынашивания беременности у женщин с ПНБ и при первой беременности



Проведенные нами исследования позволили выявить новые патогенетические механизмы угрозы прерывания беременности как у женщин с ПНБ, так и у первобеременных, на основании которых разработаны методы прогнозирования исхода беременности у женщин с угрожающим выкидышем в сроке 5-12 недель и ПНБ в анамнезе.

ВЫВОДЫ

1. У женщин с привычным невынашиванием риск возникновения угрозы прерывания беременности в ранние сроки увеличивается по достижении позднего репродуктивного возраста, при перенесенной в детстве ветряной оспе, при имеющихся заболеваниях щитовидной железы, хроническом цистите, олигоменорее, ИППП, хроническом эндометрите, неразвивающейся беременности и при наличии выскабливаний полости матки в анамнезе.

2. У женщин с привычным невынашиванием беременности, перенесших угрозу прерывания в 5-12 недель, последующее течение беременности осложняется угрожающим самопроизвольным выкидышем, угрожающими преждевременными родами, развитием истмико-цервикальной недостаточности, а также рождением детей с конъюгационной желтухой.

3. Угроза прерывания беременности как у женщин с привычным невынашиванием, так и у первобеременных ассоциирована со снижением уровня наивных клеток и В-лимфоцитов, внутриклеточно продуцирующих IL-6 и IL-10, увеличением количества В-клеток памяти за счет фракции непереключенных В-лимфоцитов. Угрожающий выкидыш у женщин с привычным невынашиванием беременности по сравнению с контролем дополнительно характеризуется относительным В-клеточным лимфоцитозом, преобладанием незрелых В-клеток и дефицитом плазмоцитов на фоне повреждающего действия инфекционного фактора. Угроза прерывания при первой беременности по сравнению с контролем сопровождается увеличением В1 клеток и плазмоцитов.

4. У женщин с угрожающим самопроизвольным выкидышем и привычным невынашиванием беременности по сравнению с контролем отмечается снижение сывороточного содержания BAFF на фоне усиления его рецепции и повышение уровня экспрессии мРНК АКТ периферическими В-клетками. У первобеременных с угрозой прерывания по сравнению с контролем наблюдается повышение уровня сывороточного уровня BAFF и экспрессии мРНК АКТ в В-лимфоцитах.

5. Низкое содержание CD20+IL-10+ в CD20+ лимфоцитарном гейте (4,5% и менее) позволяет с высокой точностью – 87,9% прогнозировать неразвивающуюся беременность или самопроизвольный выкидыш до 22 недель у женщин с угрозой прерывания в 5-12 недель и привычным невынашиванием.

6. Дополнительным критерием прогнозирования самопроизвольного прерывания беременности до 22 недель у женщин с угрожающим самопроизвольным выкидышем и привычным невынашиванием является низкий уровень экспрессии мРНК АКТ в CD19+ В-клетках. При ее значении 0,0106 или менее к/пар*10⁴ с точностью 83,3% прогнозируется неразвивающаяся беременность или самопроизвольный выкидыш.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При ведении беременности женщин с привычным невынашиванием необходимо учитывать следующие факторы риска развития угрожающего выкидыша в ранние сроки: поздний репродуктивный возраст, перенесенная в детстве ветряная оспа, имеющиеся заболевания щитовидной железы, хронический цистит, олигоменорея, ИППП, хронический эндометрит, неразвивающиеся беременности с выскабливанием полости матки в

анамнезе, наличие маркеров острой герпетической инфекции на момент обследования.

2. Для прогнозирования самопроизвольного прерывания беременности до 22 недель у женщин с привычным невынашиванием в ранние сроки беременности перед проведением сохраняющей терапии рекомендуется определять относительное содержание CD20+IL-10+ лимфоцитов и при его значении 4,5% и менее прогнозировать данный исход с точностью – 87,9%, чувствительностью – 100% и специфичностью – 82,6%.

3. Дополнительным прогностическим критерием самопроизвольного прерывания беременности до 22 недель у женщин с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием рекомендуется в ранние сроки беременности определение уровня экспрессии мРНК АКТ в периферических CD19+ В-лимфоцитах и при его значении 0,0106 к/пар*10⁴ и менее прогнозировать его с точностью – 83,3%, чувствительностью – 78,6%, специфичностью – 100%.

4. Данные по прогнозированию неблагоприятного исхода беременности у женщин с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием беременности в анамнезе следует учитывать при лечении данной категории пациентов.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации научных результатов диссертаций

1. Крошкина, Н. В. Анализ цитокинов периферической крови у женщин с привычным невынашиванием беременности / Н. В. Крошкина, **А. В. Куст**, Е. В. Козелкова // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т.13(22). – № 2. – С. 344–346.
2. Инфекционный статус у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием беременности в анамнезе / **А. В. Куст** [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т.13(22). – № 2. – С. 362–364.
- 3 Особенности содержания цитокинов периферической крови у беременных женщин с привычным невынашиванием беременности / А. И Малышкина, Н. Ю. Сотникова, Н. В. Крошкина, И. Е. Таланова, **А. В. Куст**, Е. В. Козелкова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – Т. 65, № 5. – С. 299–303.
4. Анализ дифференцировки периферических В-лимфоцитов у женщин с угрожающим самопроизвольным выкидышем и привычным невынашиванием беременности в анамнезе / Н. Ю. Сотникова, А. И. Малышкина, Д. Н. Воронин, **А. В. Куст** // Сибирский научный медицинский журнал. – 2021. – № 41(3). – С. 38–44.

Публикации в журналах, сборниках, материалах конференций, тезисы докладов

1. Таланова, И. Е. Роль инфекционных факторов в развитии угрозы прерывания беременности у женщин с привычным невынашиванием / И. Е. Таланова, **А. В. Куст**, Е. В. Козелкова // Инструменты и механизмы современного инновационного развития: материалы международной научно-практической конференции. - ООО "ОМЕГА САЙНС", Уфа, 2019. – Т. 1. – С.211–213.
2. Особенности цитокинового статуса беременных при привычном невынашивании / Е. В. Козелкова, **А. В. Куст** [и др.] // Молодежь – практическому здравоохранению: материалы XIII Всероссийской с международным участием научной конференции студентов и молодых ученых / под ред. И. К. Томиловой [и др.]. – Иваново, 2019. – С. 16–19.
2. **Куст, А. В.** Анализ субпопуляций В-лимфоцитов и особенности инфекционного статуса у женщин с привычным невынашиванием беременности / А. В. Куст, А. И. Малышкина, Н. Ю. Сотникова // Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека: материалы VI Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием / под ред. И. К. Томиловой [и др.]. – Иваново: ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России, 2020. – С. 28–30.
3. Характеристика цитокинового фона беременных женщин с привычным невынашиванием в анамнезе / Е. В. Козелкова, **А. В. Куст**, А. И. Малышкина, Н. Ю. Сотникова // Мать и Дитя: сборник тезисов XIII регионального научно-образовательного форума и материалы Пленума Правления Российского общества акушеров-гинекологов / под ред. Г. Т. Сухих, В. Н. Серова. – М., 2020. – С. 45–46.
5. Параметры функциональной активности В-лимфоцитов при привычном невынашивании беременности / **А. В. Куст**, Н. Ю. Сотникова, Д. Н. Воронин, А. И. Малышкина // XV Международный конгресс по репродуктивной медицине: материалы / под ред. Г. Т. Сухих, Л. В. Адамян. – М., 2021. – С. 28–29.
6. Пат. 2746033 Российская Федерация, МПК G01N 33/53. Способ прогнозирования репродуктивных потерь в сроке до 22 недель беременности у женщин с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием в анамнезе / Малышкина А. И., Сотникова Н. Ю., Воронин Д. Н., **Куст А. В.**, Таланова И. Е.; заявитель и патентообладатель федеральное государственное бюджетное учреждение "Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). № 2020122936; заяв. 06.07.2020; опубл. 06.04.2021; Бюл. № 10. Электрон. опт. диск (CD-ROM).
7. Особенности содержания плазмоцитов и цитокин-синтезирующих В-лимфоцитов при привычном невынашивании беременности / **А. В. Куст**, А. И. Малышкина, Н. Ю. Сотникова // Медико-биологические, клинические и

социальные вопросы здоровья и патологии человека: материалы VII Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием / под ред. И. К. Томиловой [и др.]. – Иваново: ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России, 2021. – С. 75-77.

8. Особенности экспрессии мРНК АКТ в CD19+ лимфоцитах у женщин с привычным невынашиванием беременности / Н. Ю. Сотникова, А. И. Малышкина, **А. В. Куст**, Д. Н. Воронин // Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний: материалы XXXIV Международного конгресса с курсом эндоскопии / под ред. Л. В. Адамян, Г.Т. Сухих. – М., 2021. – С. 34-34.

9. Клинико-анамнестические данные и инфекционный статус женщин с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием / А. И. Малышкина, **А. В. Куст**, Н. Ю. Сотникова // Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний: материалы XXXIV Международного конгресса с курсом эндоскопии / под ред. Л. В. Адамян, Г.Т. Сухих. – М., 2021. – С. 22-23.

10. Сотникова, Н.Ю. Особенности сывороточного содержания BAFF и APRIL у женщин с привычным невынашиванием беременности / Н.Ю. Сотникова, **А.В. Куст** // Вестник науки и образования. – 2021. – № 12(115). Часть 1. – С. 24-28.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

APRIL – лиганд, индуцирующий пролиферацию

АКТ - протеинкиназа В

BAFF – фактор активации В-лимфоцитов

BAFFR – рецептор к BAFF

Breg –регуляторные В-клетки

CD – кластер дифференцировки

CMV – цитомегаловирус

Erk - киназа, регулируемая внеклеточными сигналами

HSV – вирус простого герпеса

Ig - иммуноглобулин

IL – интерлейкин

ROC – кривая операционных характеристик

ДИ – доверительный интервал

ИППП – инфекции, передаваемые преимущественно половым путем

МАТ – моноклональные антитела

ОШ – отношение шансов

ПНБ – привычное невынашивание беременности

ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы