

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ИВАНОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МАТЕРИНСТВА И ДЕТСТВА ИМЕНИ В.Н. ГОРОДКОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

КУСТ АЛЕНА ВАЛЕРЬЕВНА

РОЛЬ В-ЛИМФОЦИТОВ В ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫХ ПРОЦЕССАХ
ПРИ ПРИВЫЧНОМ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

3.1.4. – Акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

МАЛЫШКИНА Анна Ивановна

доктор медицинских наук, профессор

СОТНИКОВА Наталья Юрьевна

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
2.1. Организация работы и объем исследований.....	33
2.2. Иммунологические методы исследования.....	35
2.3. Статистическая обработка данных.....	41
Глава 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЕРЕМЕННЫХ С УГРОЗОЙ ПРЕРЫВАНИЯ НА МОМЕНТ ОБСЛЕДОВАНИЯ И ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ.....	43
3.1. Медико-социальный статус беременных женщин исследуемых групп	43
3.2. Течение и исход беременности у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием.....	54
Глава 4. ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ, ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В-ЛИМФОЦИТОВ НА СИСТЕМНОМ УРОВНЕ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ У ЖЕНЩИН С УГРОЗОЙ ПРЕРЫВАНИЯ И ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ.....	68
4.1. Характер содержания и дифференцировки периферических В- лимфоцитов у женщин с угрозой прерывания беременности и привычным невынашиванием.....	68
4.2. Характеристика функциональных особенностей периферических В-лимфоцитов у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием беременности.....	73
4.2.1. Особенности внутриклеточной продукции IL-4, IL-6 и IL-10	

В-лимфоцитами у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием беременности.....	73
4.2.2. Особенности антитело-продуцирующей и антиген-связывающей функций В-лимфоцитов у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием.....	76
4.3. Особенности регуляции функциональной активности и дифференцировки периферических В-лимфоцитов у женщин с угрозой прерывания беременности и привычным невынашиванием.....	78
4.3.1. Особенности рецепции и сывороточного содержания BAFF и APRIL у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием.....	78
4.3.2. Особенности уровня экспрессии мРНК АКТ в CD19+В-лимфоцитах у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием.....	79
Глава 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	83
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	97
ВЫВОДЫ.....	100
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	102
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	103
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	105

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность

На сегодняшний день проблема патологии репродукции является одной из самых важных и значимых в практическом здравоохранении [8, 28, 11, 22, 77]. Около 80% всех самопроизвольных выкидышей происходит до 12-й недели гестации, большинство из них обусловлено преходящим действием повреждающих факторов и не вызывают нарушение репродуктивной функции женщины в последующем [12]. Особое место среди патологии репродуктивной функции занимает привычное невынашивание беременности (ПНБ) [137]. По данным различных авторов, в структуре невынашивания частота привычного невынашивания составляет от 5 до 20% [11, 43, 63, 77].

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 [75, 182, 186]. Кроме того, известно, что пациентки с привычным невынашиванием подвержены риску возникновения вторичного бесплодия после 3-й потери беременности [76]. Каждая прервавшаяся беременность у женщин с ПНБ, являясь травмирующим психологическим фактором, негативно сказывается на состоянии репродуктивной системы за счет последствий самого прерывания беременности, а также выполнения хирургического опорожнения полости матки [54].

В настоящее время известно, что около 50% всех ранее необъяснимых случаев повторных потерь беременности (после исключения генетических, анатомических, гормональных причин) обусловлено нарушениями в иммунной системе материнского организма [77, 114, 115, 168]. Понимание иммунологических механизмов, которые приводят к повторному выкидышу,

является серьезной проблемой в репродуктивной иммунологии и важной целью для разработки и оценки инновационных терапевтических стратегий.

Известно, что В-клетки принимают активное участие в регуляции материнского иммунного ответа при беременности. Имеются работы, показывающие изменения характера дифференцировки В-лимфоцитов при беременности, осложненной задержкой роста плода [85], эндометриозе [21].

Нарушение дифференцировки В-лимфоцитов за счет клеток, участвующих в реакциях аутоиммунитета, описано при самопроизвольном выкидыше, преэклампсии, задержке внутриутробного развития плода и преждевременных родах [101, 161, 184].

Показано, что при нормальной беременности абсолютное число и доля циркулирующих CD5+ В-клеток значительно снижаются по сравнению с состоянием вне беременности [155, 204]. Эти данные свидетельствуют о том, что В-лимфоциты играют важную роль в иммунологической реактивности организма женщины в ответ на аллогенный трансплантат.

В связи с этим, мы предполагаем, что при ПНБ характер дифференцировки В-лимфоцитов и регуляции ее активности должны значительно меняться. Уточнение характера дифференцировки В-лимфоцитов и ее регуляции может быть перспективным направлением для раскрытия патогенеза привычного невынашивания и поиска точек приложения медикаментозных методов коррекции данной патологии.

Степень разработанности темы

Имеются единичные работы по содержанию субпопуляций В-клеток у небеременных женщин с анамнезом рецидивирующих потерь беременности. Известно, что при привычном невынашивании беременности отмечается аномальное увеличение относительного и абсолютного числа CD19+ В-клеток. Кроме того, при привычном невынашивании беременности в крови возрастает уровень CD19+CD5+ В1-клеток [172, 207]. 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– [59]. 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 угрожающим выкидышем 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, плазмоцитов, 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 угрожающим выкидышем 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.

Методология и методы исследования

Для достижения поставленной цели было проведено обследование пациенток с угрозой прерывания беременности и привычным невынашиванием в анамнезе, обратившихся в ФГБУ «Ивановский НИИ М и

Д им. В. Н. Городкова Минздрава России» для проведения сохраняющей терапии. Для обследования пациенток использовался комплекс современных клинических и иммунологических методов. Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакета современных компьютерных программ.

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 BAFF при сниженной его сывороточной концентрации, в то время как угрожающий выкидыш при первой беременности характеризуется повышенным содержанием BAFF. 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.

Теоретическая и практическая значимость научного исследования

Уточнены наиболее значимые факторы риска угрожающего выкидыша в ранние сроки беременности у женщин с привычным невынашиванием 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, 2021).

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

Внедрение результатов работы в практику

Разработанный новый способ прогнозирования самопроизвольного прерывания беременности до 22 недель у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием беременности прошел предрегистрационные испытания и используется в работе гинекологической клиники Федерального государственного бюджетного учреждения «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Степень достоверности полученных результатов

Степень достоверности полученных результатов подтверждается за счет достаточного количества клинических наблюдений, использования различных статистических методов. Обследованы 65 женщин с угрожающим самопроизвольным выкидышем и привычным невынашиванием в анамнезе, 36 первобеременных пациенток с угрозой прерывания, 35 пациенток без угрозы прерывания на момент обследования и привычного невынашивания в анамнезе.

Личный вклад 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 публикаций научных результатов диссертаций.

Объем и структура 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 отечественный и 132 иностранных. Работа иллюстрирована 29 таблицами и 4 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления об этиологии и патогенезе привычного невынашивания беременности

Невынашивание беременности в настоящее время остается актуальной медико-социальной проблемой в связи с ее неблагоприятным влиянием на демографические показатели, а также на здоровье будущих поколений [10, 56]. Частота самопроизвольного прерывания беременности в России достигает 18-27% всех зарегистрированных беременностей, а по данным некоторых источников 45-88% [2, 45, 65]; притом около 80% репродуктивных потерь приходится на I триместр [58, 70].

По определению Всемирной Организации Здравоохранения, привычным выкидышем принято считать 3 и более самопроизвольных прерывания беременности в сроке до 22 недель [20, 60, 77]. Однако, по мнению большинства специалистов репродуктивной медицины [27, 50, 60, 71, 76, 129], достаточно двух последовательных выкидышей для того, чтобы отнести супружескую пару к категории привычного невынашивания и обеспечить проведение всего комплекса диагностических, лечебных и профилактических мер для обеспечения дальнейшей успешной беременности. Частота привычного выкидыша в структуре спонтанных репродуктивных потерь оставляет по данным различных авторов от 2 до 20% [11, 43, 63, 77]. Установлено, что после двух самопроизвольных абортов частота прерывания последующей беременности составляет 20-25%, а после трех — до 45% [5, 69]. Исследования последних лет показали, что женщины с ПНБ после третьей потери беременности подвержены риску возникновения вторичного бесплодия [15,77].

Беременные женщины с привычным невынашиванием в анамнезе составляют группу риска по потере плода во II триместре вследствие истмико-цервикальной недостаточности, а также по развитию поздних гестационных осложнений, таких как плацентарная недостаточность,

отслойка плаценты, задержка роста и антенатальная гибель плода, преждевременные роды [67, 182, 186].

К факторам риска возникновения привычного невынашивания беременности относят: материнский возраст, предыдущее количество выкидышей, антифосфолипидный синдром, врожденные пороки развития матки (перегородка матки), приобретенные пороки развития матки (миома матки, полипы или спайки), хронический эндометрит и нарушение децидуализации, явный гипотиреоз, аномальные родительские кариотипы, ожирение ($\text{ИМТ} > 30 \text{ кг / м}^2$), факторы образа жизни (стресс, курение и чрезмерное употребление алкоголя) [81]. Однако, до 70% пар с ПНБ не имеют факторов риска [193]. Определяющая роль инфекционного фактора развития ПНБ до сих пор служит предметом дискуссий, т.к. появляется все больше исследований, показывающих, что наличие инфекционных агентов в различных ассоциациях приводят к рецидивирующей потере беременности у женщин с выраженными изменениями в иммунном статусе [31, 51].

Причины спорадического невынашивания разнообразны и не всегда могут быть точно верифицированы [69]. Однако известно, что у женщин с ПНБ, как правило, уже 1-я беременность заканчивается ее прерыванием. Показано, что искусственные аборты и роды предшествовали самопроизвольному прерыванию беременности у 43% женщин и только у 17% пациенток с ПНБ. Это говорит о том, что факторы, способствующие потере беременности при ПНБ, имеются у значительного числа женщин до беременности, а не формируются в процессе гестации [88].

Этиология привычного невынашивания сложна, многообразна и зависит от многих факторов. Среди причин, приводящих к повторной потере беременности, выделяют фетальные хромосомные аномалии, анатомические дефекты женской половой системы, истмико-цервикальную недостаточность, эндокринные факторы, инфекционные агенты, хронический эндометрит, неблагоприятные факторы окружающей среды, вредные привычки,

тромбофилические нарушения и т.д., однако этиология ПНБ (до 50% случаев) остается неопределенной [9, 14, 39].

Доля хромосомных нарушений среди причин ПНБ составляет от 2 до 10% [86]. Повторные потери беременности происходят, как правило, до 11 недель на одной и той же стадии гестационного процесса. Срок прерывания беременности зависит от выраженности отклонений в наследственном материале развивающегося организма: чем грубее дефекты, тем раньше останавливается его развитие. В ряде случаев нарушение развития происходит на самых ранних этапах эмбрионального развития - до имплантации, и беременность не диагностируется. В этом случае данная ситуация очень раннего прерывания беременности скрывается под маской бесплодия [69]. При ПНБ аномальный кариотип эмбриона регистрируется намного реже, чем при спорадическом выкидыше [7]. Установлено, что при ПНБ возрастает вероятность присутствия хромосомной aberrации (инверсии или транслокации) в кариотипе одного из родителей, что не сопровождается изменением количества генов, однако приводит к нарушению процессов мейоза в ходе образования половых клеток и приводит к формированию эмбриона с несбалансированным геномом и впоследствии рецидивирующим потерям беременности [86].

Прерывание беременности, обусловленное анатомическими аномалиями репродуктивной системы, может происходить до второго триместра беременности [7, 77]. Они связаны с возникновением дефектов на генном уровне, гормональными влияниями на органогенез и тератогенным воздействием различных факторов на формирующийся плод. Аномалии строения матки (полное удвоение матки, двурога, седловидная, однорогая матка) являются причиной невынашивания беременности в 15% случаях [4]. По данным литературы, к маточной патологии в генезе привычного невынашивания относят также частичную или полную внутриматочную перегородки, генитальный инфантилизм, опухолевые заболевания,

субмукозную миому матки, истмико-цервикальную недостаточность, а также внутриматочные синехии (синдром Ашермана) [40, 77].

Частота эндокринной патологии в структуре причин ПНБ составляет по данным разных авторов от 8 до 20% [3, 77]. К наиболее часто встречающимся эндокринным причинам привычного невынашивания беременности относят недостаточность лютеиновой фазы, гиперсекрецию лютеинизирующего гормона, клинически выраженный гипотиреоз [205], сахарный диабет [77].

Многие исследователи говорят о роли синдрома поликистозных яичников (СПКЯ) в возникновении ПНБ [98, 181]. СПКЯ ассоциирован с рядом осложнений беременности, включая потерю плода, гестационный сахарный диабет и преэклампсию, однако эти расстройства могут быть связаны с сопутствующими состояниями СПКЯ (ожирением, метаболическим синдромом, гиперинсулинемией или гиперандрогенией), а не напрямую с поликистозной трансформацией яичников [111].

Обсуждается роль избыточной массы тела и ожирения в развитии ПНБ. Ожирение увеличивает риск спорадических и привычных выкидышей [112, 162] и объясняется снижением секреции адипонектина [99], вследствие чего нарушается стероидогенез, а также происходит индукция метаболических изменений, связанных с дисфункцией жировой ткани, особенно у генетически предрасположенных женщин [99, 136]. Данные метаанализа Cavalcante M. B. (2019 г.) показали, что женщины с ожирением, имеющие в анамнезе ПНБ, имеют высокий риск потери беременности в будущем, риск которой не был обнаружен среди женщин с избыточным весом [173]. Ожирение не только повышает риск спорадического выкидыша, но и является независимым фактором риска дальнейшего выкидыша у пациенток с ПНБ. Кроме того, женщины с ПНБ, страдающие от ожирения, имели повышенную частоту эуплоидных выкидышей [206].

По мнению ряда учёных, сегодня накоплены значительные научные знания, позволяющие выделить наследственные тромбофилии в самостоятельную группу причин невынашивания беременности [43]. Однако

установлено, что физиологическая беременность связана с протромботическим состоянием [55], а влияние наследственных тромбофилий на возникновение повторного прерывания беременности до конца не изучено. Известно, что гиперкоагуляция может приводить к осложнениям беременности (тромбообразование, выкидыш, задержки внутриутробного развития, отслойки плаценты, мертворождения) на всем ее протяжении [23, 37]. Протеин С является ключевым компонентом антикоагулянтного пути, который предотвращает действие факторов свертывания крови V и VIII. Устойчивость к протеину С приводит к состоянию гиперкоагуляции. Было отмечено, что мутации фактора V (Лейден) также могут приводить к устойчивости к активированному протеину С. Однако связь с невынашиванием беременности сильнее во втором триместре, чем в первом, при этом в большинстве исследований обнаруживается эквивалентная частота лейденских мутаций фактора V в популяциях ПНБ по сравнению с общей популяцией родивших детей [165, 170].

В последние годы среди исследователей активно обсуждается роль витамина D в генезе привычного невынашивания беременности. Сообщается о высокой распространенности недостаточности витамина D у женщин с ПНБ, что может вносить вклад в иммунологическую дисрегуляцию у данной категории пациенток и, как следствие, приводить к возникновению повторных выкидышей [44, 53]. Было показано, что витамин D₃ способствует созданию более благоприятной среды для беременности путем усиления сдвига в сторону Th2-лимфоцитов и регуляции дифференцировки и функциональной активности иммунных клеток. Кроме того, имеются данные, что возникновение ПНБ может быть связано с недостаточностью витамина D и дисбалансом Treg/Th17 [215]. Установлено, что женщины с ПНБ имеют более низкие уровни экспрессии рецепторов к витамину D₃ в ворсинах хориона, децидуальной оболочке и сыворотке по сравнению со здоровыми беременными женщинами [124]. Кроме того, отмечена положительная роль

добавок витамина D у женщин с ПНБ, проявляющаяся в улучшении иммунологического профиля периферической крови [187].

Вопрос об этиологической роли инфекционного фактора, как одного из основополагающих, широко обсуждается среди исследователей: одни исследователи считают, что инфекция — одна из наиболее значимых причин невынашивания как спорадического, так и привычного [10, 45, 46, 57, 68, 75]; другие считают, что для спорадического прерывания, может быть, инфекция играет роль, а для привычного — нет [33, 34, 79]. Так, по данным ряда авторов не показано достоверных различий в кратности потерь беременности в 1 триместре в зависимости от наличия бактериально-вирусного инфицирования [35, 51, 79].

Частота невынашивания беременности при различных видах инфекции находится в пределах от 18,7 до 54,0% [33]. Наличие генитальной инфекции значительно повышает риск прерывания беременности [48]. Установлена роль хламидийной, микоплазменной, уреоплазменной инфекций, а также бактериального вагиноза в возникновении спонтанных выкидышей [51].

Инфекции TORCH (токсоплазмоз, другие (сифилис, ветряная оспа, парвовирус В19), краснуха, цитомегаловирус, и герпес) были широко исследованы как причины ПНБ [25, 42, 51, 87], однако они не составляют большого процента. В то же время, многие из них могут привести к хроническому эндометриту, который является известной причиной привычной потери беременности [137].

К самопроизвольной потере беременности может привести как активный системный воспалительный процесс, так и бессимптомное течение инфекции [35, 69]. Однако появляется все больше данных о том, что инфекционный фактор не является первопричиной невынашивания [45], но в значительной степени приводит к нарушениям в иммунной системе [31, 63]. Инфект, находящийся в материнском организме влечет за собой активацию специфических и эффекторных реакций. Эти изменения носят, как правило, адаптивный характер [44, 51], однако на фоне сниженного врожденного и

приобретенного специфического иммунитета в условиях необходимой толерантности к полуаллогенному плоду, происходит развитие специфического воспалительного процесса и реализация патогенных свойств инфекционного агента [31].

Хронический эндометрит (ХЭ) — это заболевание, характеризующееся персистирующим повреждением эндометрия инфекционным агентом, ведущее к множественным вторичным морфофункциональным изменениям, в результате чего происходит нарушение циклической трансформации и рецепции слизистой оболочки матки [87, 192]. Для постановки диагноза достаточно морфологического исследования эндометрия, взятого в 7-11 дни менструального цикла [29]. Важным дополнительным диагностическим высокочувствительным методом является иммуногистохимическое исследование биоптата, позволяющее определить тип инфекционного агента, стадию воспалительного процесса, а также рецептивность клеток эндометрия к половым гормонам. Однако забор материала является инвазивной процедурой и сопряжен с риском травматического повреждения, разрушения рецепторного аппарата, нарушением микроциркуляции и активации воспалительных реакций [29].

Морфологическими критериями ХЭ считаются обнаружение скопления плазматических клеток, воспалительная лимфоцитарная инфильтрация желез, очаговый фиброз стромы и склеротические изменения спиральных артерий. ХЭ считается подтвержденным при наличии повышенной экспрессии ki-67 (маркера клеточной пролиферации) и CD-138 (маркер плазмоцитов) [87, 154, 182]. По данным Перетятко Л.П. и соавт. (2017 г.), при хроническом эндометрите, сопряженном с привычным невынашиванием беременности в сроках гестации 5-12 недель, были диагностированы сосудистая, трофобластическая и стромальная недостаточность, что ведет к несоответствию морфологических изменений срокам беременности и проявляется в виде отставания васкуло- и ангиогенеза, задержки дифференцировки и деления хориальных ворсин, негативных и эпителия в

хорионе, дистрофических и некротических преобразований стромы и эпителия в хорионе [72]. Основными инфекционными агентами при бессимптомном ХЭ у женщин с ПНБ выделяют условно-патогенные микроорганизмы [183] и персистенцию вирусных агентов (ЦМВ, вирусы простого герпеса, энтеровирусов) [88].

Причины спорадического прерывания беременности и привычного невынашивания могут быть идентичны, но при этом у супружеской пары с привычным невынашиванием всегда есть патология репродуктивной системы более выраженная, чем при спорадическом прерывании [28].

1.2. Иммунологические аспекты привычного невынашивания беременности

В структуре привычного невынашивания значительное место занимают иммунологические причины [26, 47, 60, 63, 132]. По данным разных исследователей, повторная потеря беременности связана с нарушениями в иммунологической толерантности иммунной системы матери до 55 % случаев [24, 115, 168]. Успешная беременность требует значительной иммунологической адаптации материнского организма для обеспечения прикрепления, имплантации и дальнейшего развития плода. Возникающие нарушения в адаптивных реакциях приводят к различным осложнениям беременности, в том числе и к привычному невынашиванию [26, 160, 139, 188].

На ранних сроках беременности среди иммунных факторов, приводящих к ее потере, выделяют аллоиммунные и аутоиммунные факторы. При аллоиммунном генезе привычного выкидыша иммунный ответ направлен против плода [27, 78, 134], что может быть обусловлено совместимостью по главному комплексу гистосовместимости [96], нарушениям в клеточно-опосредуемом иммунном механизме, в частности в Т-хелперном звене [122]. Аутоиммунный характер ПНБ связан с

направленностью материнского иммунного ответа против собственных клеток и тканей. К этой группе факторов относится антифосфолипидный синдром (АФС), наличие антител к β -хорионическому гонадотропину человека (ХГЧ), прогестерону, тиреоидным гормонам [80, 137].

Привычные выкидыши, произошедшие по аллоиммунным причинам, характеризуются нарушением материнского аллоиммунного ответа на отцовские антигены, содержащиеся в трофобласте, что приводит к неприятию полуаллогенного плода [20, 24, 218]. В других случаях причиной гибели плода может быть аллоиммунный ответ из-за отсутствия индукции толерантности к отцовским антигенам [134].

Во время беременности для плода жизненно важно, чтобы и у матери, и у плода была правильно функционирующая иммунная система. Из-за наличия отцовских генов эмбриональные ткани и ткани, окружающие эмбрион, могут распознаваться матерью как аллотрансплантат. Некоторые исследователи предположили, что соответствие человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) между партнерами может вызывать нарушение иммунного распознавания трофобластами, что приводит к выкидышам [144, 149, 210]. Однако, не доказано, что соответствие по HLA – антигенам приводит к выкидышу. Напротив, показано, что при беременности, произошедшей за счет донорства ооцитов большее количество совпадений HLA между матерью и плодом было связано с более здоровым течением беременности [202]. Тот факт, что клетки синцитиотрофобласта ворсин хориона не экспрессируют антигены HLA, является важным фактором предотвращения отторжения полуаллогенных антигенов [221].

Для того чтобы беременность продолжилась до доношенного срока, необходима ранняя модуляция материнского иммунного ответа, чтобы вызвать толерантность к полуаллогенному плоду [26, 80, 139]. В связи с этим, материнская иммунная система должна проявлять толерантность к плоду, сохраняя при этом защиту от инфекции. Иммунный интерфейс матери и плода состоит из различных иммунных клеток, таких как децидуальные

естественные киллеры, макрофаги, Т-лимфоциты, дендритные клетки, В-клетки и NK-клетки. Их взаимодействие между собой, децидуальными, стромальными клетками и трофобластом составляет обширную сеть клеточных связей, нарушение баланса в которых может привести к неблагоприятным исходам беременности, таким как повторная потеря беременности, преэклампсия, задержка внутриутробного развития, внутриутробное инфицирование, преждевременные роды [188, 221].

Для объяснения причин ранних репродуктивных потерь на клеточно-тканевом уровне в настоящее время предложены следующие механизмы: избыточная активность иммунокомпетентных клеток, негативно влияющая на инвазивный трофобласт; повреждающее действие цитокинов на клетки трофобласта; а также сосудистые эффекты ряда цитокинов, приводящие к нарушению маточно-плацентарного кровотока [80, 212].

Динамические иммунологические изменения с момента нормального зачатия включают подавление ответа Т-хелперов (Th)1 и Th17, преобладание Th2-реакций в ответах Т-лимфоцитов и обогащение маточных естественных клеток-киллеров и регуляторных Т-клеток (Tregs) в первом и втором триместрах беременности [171], в то время как популяции клеток Th1 и Th17, по-видимому, имеют противоположный эффект [219].

По имеющимся в мировой литературе данным, многие пациенты с ПНБ имеют клеточные аномалии иммунной системы, в том числе сдвиг дифференцировки периферических Т-лимфоцитов, направленный в сторону Th1 - клеток, увеличение уровня NK клеток и дисбаланс в соотношении Treg и Th17 – лимфоцитов [125, 222]. В частности, наблюдалось снижение количества периферических и эндометриальных Treg у пациенток с привычным невынашиванием беременности неизвестной этиологии [208]. У этих пациентов способность к секреции IL-10 и TGF- β Treg клетками значительно снижена [125].

Известно, что у пациентов с рецидивирующими ранними самопроизвольными выкидышами увеличивается количество

циркулирующих NK-клеток, обладающих повышенной цитотоксичностью [62]. Кроме того, более высокие пропорции NK клеток были связаны с более высоким количеством CD16⁺ цитотоксических маточных NK (uNK) лимфоцитов [208, 221]. uNK составляют примерно 70% всех лимфоцитов матки; они в избытке присутствуют в децидуальной оболочке во время начала имплантации и регулируют ремоделирование децидуальных кровеносных сосудов, пролиферацию децидуальных клеток и инвазию трофобласта [166]. Чрезмерное ремоделирование децидуальных кровеносных сосудов на ранних сроках беременности может привести к локальному окислительному стрессу, который также может играть важную роль в патогенезе привычного невынашивания беременности [108]. В то же время, у небеременных пациенток с привычным невынашиванием в анамнезе отмечалось преобладание субпопуляции CD16+CD56 NK-клеток с повышенной цитотоксичностью в биоптатах эндометрия, взятых во 2 фазе менструального цикла [221].

Аутоиммунный генез привычного выкидыша ассоциирован с наличием в организме беременной женщины аутоиммунных антител, таких как антифосфолипидные антитела, анти тиреоидные и анти трансглутаминазные, антиэндомиоциальные [213] антитела к прогестерону [125].

Рецидивирующая потеря беременности на ранних сроках часто является следствием АФС. Данная приобретенная тромбофилия характеризуется наличием циркулирующих антифосфолипидных антител (волчаночный антикоагулянт, антикардиолипин, анти-β2 Гликопротеин I) и связанного с ними тромбоза артерий, вен или мелких сосудов [199]. Выкидыш является наиболее частым среди осложнений акушерского АФС, включающего также мертворождение, задержку роста плода или преэклампсию [157]. Определяющий механизм, благодаря которому АФС приводит к неблагоприятному исходу беременности, все еще неясен: долгое время предполагалось, что он связан с тромбозом плацентарных кровеносных сосудов [174], однако в настоящее время появляется все больше

исследований, показывающих, что в основе патогенеза выкидыша лежит негативное воспалительное действие антифосфолипидных антител на плацентарные и эндотелиальные клетки и активация системы комплемента антифосфолипидными антителами [121, 220].

Роль антител к щитовидной железе в патогенезе ПНБ в настоящее время дискуссионна. Существуют работы, в которых описана более высокая частота встречаемости антитиреоидных антител (тиреоглобулина, антител к тиреопероксидазе и антител к рецепторам тиреотропного гормона) у женщин с рецидивирующей потерей беременности, чем в общей популяции, даже при отсутствии дисфункции щитовидной железы [38, 205]. Механизмы, участвующие в возникновении привычного выкидыша не установлены, но есть предположение, что антитиреоидные антитела могут вызывать дефицит тиреоидного гормона, вызывая нарушения децидуализации [186, 217].

По данным Менжинской И.В. (2017 г.), антитела к ХГЧ и прогестерону являются независимыми факторами риска раннего привычного выкидыша и угрозы прерывания беременности. Антитела к ХГЧ ассоциируются с высоким риском угрозы прерывания беременности в I триместре, развитием плацентарной недостаточности и хронического синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания. Наличие антител к прогестерону связано с высоким риском гипоплазии хориона в I триместре беременности [8, 36].

Таким образом, ПНБ является мультифакториальной патологией, обусловленной действием различных повреждающих факторов на организм женщины. В настоящее время не существует понимания единого механизма возникновения ПНБ, и соответственно, эффективных и безопасных терапевтических стратегий для коррекции данной патологии.

1.3. Созревание, направления дифференцировки, регуляция функционирования В-лимфоцитов

В-лимфоциты представляют собой неоднородную клеточную популяцию, обеспечивающую реакции адаптивного иммунитета, а также регуляцию направленности и интенсивности иммунных реакций. Характерной чертой всех В-клеток является экспрессия ВСR-В-клеточного рецептора, способного связывать нативные антигены [186]. Согласно имеющимся данным, физиологическая беременность ассоциирована с В-клеточной лимфопенией в I триместре [158]. В литературе имеются данные об изменении количества, функциональной активности и дифференцировке В-лимфоцитов при беременности, осложненной задержкой роста плода (ЗРП). По данным Фроловой М.В. (2016 г.), установлено, что при беременности, осложненной ЗРП, происходит активация дифференцировки В-лимфоцитов до конечных этапов, с одновременной активацией ВАFF-ВАFFR-зависимого пути, усиление внутриклеточной продукции В-клетками IL-4 и IL-6 на фоне увеличения периферического содержания IL-10, снижения доли Vreg на системном уровне, увеличения циркулирующих иммунных комплексов, наряду с нарушением процессов апоптоза периферических В-лимфоцитов [83].

Литературные данные о дифференцировке и функциональной активности при привычном невынашивании крайне немногочисленны. Сообщалось о снижении количества периферических CD19+ В-лимфоцитов в крови беременных женщин, беременность которых завершилась самопроизвольным выкидышем [97, 131].

Образование В-лимфоцитов начинается с ранних этапов эмбрионального развития и продолжается на протяжении всей жизни человека. В-клетки берут свое начало от общего лимфоидного предшественника: в эмбриональный период этот процесс локализуется в печени и костном мозге, а у взрослых - только в костном мозге [66, 73].

Дифференцировка В-лимфоцитов проходит в несколько этапов, каждый из которых характеризуется присутствием определенных маркеров и перестройкой генов иммуноглобулинов.

Про-В-клетки представляют собой самую раннюю стадию развития В-лимфоцитов и переходят на стадию пре-В-клеток после успешной перестройки локусов их генов тяжелой цепи иммуноглобулина с образованием пре-BCR, одна из первых основных контрольных точек в развитии В-клеток [143]. Про-В-клетки развиваются в участках костного мозга, богатых IL-7, который в свою очередь способствует делению и выживанию клеток [110, 141, 175]. Пре-В-клетки можно далее подразделить на незрелые, активно делящиеся большие пре-В-клеточные и более зрелые, покоящиеся маленькие пре-В клетки [91].

После успешного соединения с остальными компонентами BCR (Ig α и Ig β) В-клетка начинает экспрессировать поверхностные иммуноглобулины класса М (IgM) и становится незрелым В-лимфоцитом. После выхода из костного мозга незрелые В-лимфоциты проходят через несколько промежуточных стадий транзиторных В-клеток (Т1, Т2 и Т3). На поверхности Т1-лимфоцитов появляется молекула CD24 (маркер выхода из костного мозга) и начинает экспрессироваться мембранная форма IgD. Транзиторные В-клетки подвергаются антиген-независимой положительной и отрицательной селекции, в ходе чего происходит удаление В-клеточных аутореактивных клонов. Т1- и Т2-лимфоциты дают начало В-лимфоцитам зародышевых центров и В-клеткам маргинальной зоны селезенки [101, 135, 189].

Срок жизни транзиторных В-клеток составляет от 1 до 5 дней, после чего они превращаются в зрелые наивные В-лимфоциты и мигрируют в региональные лимфоузлы, образуя В-зону первичного фолликула. Выбор пути дальнейшего развития определяется силой передачи сигнала BCR: сильная передача сигналов способствует образованию фолликулярных В-

клеток, в то время как слабая передача сигналов опосредует формирование В-клеток маргинальной зоны (MZ) [145, 186].

Фолликулярные В-лимфоциты представляют собой большинство циркулирующих зрелых В-клеток. В-клетки MZ находятся в маргинальной зоне селезенки, имеют увеличенный размер и более низкий порог активации в сравнении с фолликулярными клетками [138]. Более того, В-клетки MZ также являются долгоживущими и могут подвергаться самообновлению.

В-клетки в MZ включают гетерогенную популяцию наивных переключенных и непереключенных MZ-В-клеток. Эти клетки несут гены Ig, продуцируют низкоаффинные молекулы IgM, и составляют первую линию защиты от вторжения патогенов [73]. MZ-В-клетки могут отвечать как на Т-клеточно-независимые антигены, так и на Т-клеточно-зависимые антигены [142]. Активация MZ-В-клеток может быть усилена макрофагами и дендритными клетками в MZ за счет секреции цитокинов и факторов активации В-лимфоцитов, таких как BAFF (фактор активации В-клеток) и APRIL (лиганд, индуцирующий пролиферацию). В настоящее время обсуждается фундаментальная роль В-клеток MZ в сложном балансе между подавлением иммунных реакций материнского организма в ответ на плодовые антигены и реакций противоинфекционного иммунитета [158].

По данным Батуриной и соавт., (2016 г.) установлено, что при ПНБ в периферической крови возрастает количество активированных наивных В-клеток с фенотипом IgD+CD38+ и снижается число наивных В-клеток с фенотипом IgD+CD38– [59].

Перемещение MZ-В-клеток между MZ и фолликулами, а также транспорт антигенов (иммунных комплексов) к фолликулярным дендритным клеткам (ФДК) расшифровывают роль MZ-В-клеток как антигенпрезентирующих клеток для участия в иммунном ответе, которые генерируют высоко аффинные антитела. Иммунные комплексы, захваченные ФДК, участвуют в отборе мутировавших В-клеток, которые экспрессируют Ig с более высоким сродством, с помощью фолликулярных хелперных Т-

клеток (Tfh). Во-первых, ФДК представляют антиген В-клеткам, которые претерпевают соматическую гипермутацию рекомбинацию с переключением классов. Эти В-клетки затем продолжают представлять антигены клеткам Tfh, которые доставляют сигналы выживания этим высокоаффинным В-клеткам зародышевого центра, которые впоследствии в зародышевом центре затем дифференцируются либо в В-клетки памяти, либо в плазматические клетки [142, 159, 185].

Плазматические клетки являются эффекторными клетками гуморальной адаптивной иммунной системы. Это терминально дифференцированные В-клетки, которые секретируют большие количества высокоспецифичных антител для нейтрализации патогенов [73, 146].

Плазматические клетки можно условно разделить на короткоживущие плазматические клетки, которые умирают вскоре после сокращения ответа первичных антител, и долгоживущие плазматические клетки, которые мигрируют в костный мозг и продолжают секретировать антитела еще долгое время после клиренса иммунизирующего антигена [66, 151].

Большинство В-клеток герминативного центра подвергаются апоптозу, однако небольшая часть В-лимфоцитов выживает и покидает зародышевый центр, чтобы стать долгоживущими покоящимися клетками памяти [130, 164].

В-клетки памяти (Bm) формируют основу гуморальной иммунологической памяти и предназначены для распознавания и ответа на антигены, с которыми ранее уже был контакт [73, 130]. После повторного контакта с антигеном В-клетки памяти быстро дифференцируются в плазматические коротко- и долгоживущие клетки, секретирующие антитела [130, 201]. В-клетки памяти не принимают участия в иммунном ответе, в ходе которого они были образованы, однако в ходе вторичного иммунного ответа их реакция оказывается более оперативной, мощной и результативной, чем ответ наивных лимфоцитов. В-клетки памяти способны длительно существовать в организме человека в отсутствие антигена, вызвавшего их

образование, однако при его повторном введении быстро распознавать и реагировать на антиген [73, 130]. В-клетки памяти встречаются в периферической крови, лимфатических узлах и в лимфоидной ткани слизистых оболочек. Для Вm-клеток человека характерна поверхностная экспрессия CD27 [151].

Согласно классификации, в основе которой лежит экспрессия Вm IgD и CD27, выделяют следующие субпопуляции [73, 179]:

1. Непереключенные В-клетки памяти (CD27+IgD-/IgM+/-) – клетки данной субпопуляции дифференцирующихся по экстрафолликулярному пути и не проходят через селекцию, переключение классов Ig и созревание аффинности.
2. Переключенные В-клетки памяти (CD27+IgD-/IgG+IgA+) берут начало от плазмбластов в зародышевых центрах, для них характерно переключение классов Ig и наличие множественных соматических мутаций в V-генах Ig. Фракция переключенных В-клеток памяти является продуцентами плазмбластов при реинфицировании.
3. Двойные негативные В-клетки памяти (CD27-IgD-). Отличительная особенность этой субпопуляции - ослабленная способность дифференцироваться в плазматические клетки

Регуляторные В-клетки (Breg), хотя и составляют небольшую часть циркулирующих В-лимфоцитов периферической крови, являются важными иммунорегуляторами, которые поддерживают периферическую толерантность и подавляют воспалительные аутоиммунные реакции [139, 176, 197]. Наиболее подробно изучены клетки Breg, продуцирующие IL-10. Клетки B10 за счет продукции IL-10 ингибируют Th1 и Th17 клетки, и поддерживают/усиливают Treg, снижение которых ассоциировано с привычным невынашиванием беременности [105, 163].

Клетки B10 также уменьшают активацию макрофагов и дендритных клеток, продукцию ими фактора некроза опухоли- α (TNF α) и антиген-презентирующую способность, таким образом, уменьшая пролиферацию Т-

клеток [103, 163]. Помимо IL-10 – опосредованных механизмов регуляции иммунного ответа Breg реализуют свои эффекты через IL-35 или посредством трансформации фактора роста- β (TGF β) [139, 200].

У людей количество Breg-клеток в периферической крови достигает максимума в 8-10 лет и снижается в течение жизни, достигая минимума в пожилом возрасте [214]. Вероятно, дефицит Breg, способствует потере иммунологической толерантности и развитию аутоиммунитета вследствие потери должного уровня иммуносупрессии и персистенции хронического воспаления. Количественные и функциональные дефекты Breg описаны при нескольких аутоиммунных заболеваниях, включая системную красную волчанку, ревматоидный артрит, рассеянный склероз и псориаз [116, 148, 153, 178, 191]. Экспериментально установлено, что дифференцировка в Breg определяется клеточным микроокружением и может происходить из незрелых и зрелых В-лимфоцитов, плазмбластов, В-клеток памяти, плазмоцитов [73].

Среди циркулирующих в периферической крови В-лимфоцитов по поверхностной экспрессии CD5+ выделяют В1-клетки, которые в определенных условиях принимают участие в реакциях аутоиммунитета [101, 184, 189] и В2 – высокоэффекторные клетки, значительно преобладающие над субпопуляцией В1-клеток. В доступной литературе имеются данные об увеличении количества CD19+CD5+ клеток при снижении CD19+ лимфоцитов у женщин с привычным невынашиванием в анамнезе [211].

Фактор активации В-клеток (BAFF), член семейства факторов некроза опухоли (TNF), поддерживает гомеостаз зрелых В-лимфоцитов, опосредуемый через рецепторы BAFFR, BCR или TACI. BAFF секретируется нейтрофилами, моноцитами, дендритными клетками, лимфоидными стромальными клетками и злокачественных В-клетками [92, 198, 203].

На уровне белка BAFFR экспрессируется на поверхности всех субпопуляций периферических В-клеток человека, за исключением плазматических клеток и центробластов, расположенных в темной зоне зародышевых центров. BAFFR связывает TNF-подобные молекулы BAFF, TACI и BCMA в качестве одиночного лиганда [106, 107, 209]. Связывание BAFF с BAFFR активирует несколько нижестоящих путей, которые регулируют основные функции выживания, включая синтез белка и энергетический метаболизм, необходимые для увеличения периода жизни незрелых, переходных и зрелых В-клеток. Связывание BAFF с BAFFR активирует зависимый от фосфоинозитид-3-киназы сигнальный путь PI3K /АКТ/mTOR и инициирует метаболическое перепрограммирование В-клеток, приводя к увеличению клеточной функциональной активности и продолжительности жизни [152].

Дефицит BAFFR ведет к значительному снижению пула циркулирующих В-клеток, низким уровням сывороточных IgM и IgG, и повышенному уровню IgA [203]. В то же время, отсутствие BAFFR, ведет к уменьшению В2-пула В-лимфоцитов и сопровождается умеренным снижением уровня IgA в сыворотке крови и сильным снижением уровня IgG. Установлено, что отсутствие экспрессии BAFFR вызывает остановку дифференцировки переходных T2 / наивных В-клеток и В-клеток маргинальной зоны [196].

Чрезмерное производство BAFF вредно для организма человека. Доказано, что избыток BAFF способствует развитию аутореактивных В-клеток, и, как следствие, аутоиммунных заболеваний [105, 198, 209]. Имеются данные о повышенной экспрессии BAFF в присутствии прогестерона, согласно чему предполагается способность женских половых гормонов к модуляции экспрессии BAFF [104]. Известно, что высокая экспрессия гена BAFF связана с усилением воспалительных реакций в маточных трубах человека, что предполагает его возможную роль в процессе развития трубной беременности [100].

Данные о содержании BAFF при беременности носят единичный характер: по данным Фроловой М.В (2016 г.), у беременных женщин с задержкой роста плода в сроке 32-36 недель гестации в периферической крови отмечается повышенное содержание BAFFR+ В-клеток; усиление плотности экспрессии BAFFR на В-лимфоцитах, снижение сывороточного уровня BAFF в случае рождения детей с умеренной или тяжелой степенью ЗРП [84]. Исследование J. Тау и соавт. (2018 г.) свидетельствует о повышении BAFF в сыворотке крови у женщин с преэклампсией [161]. По данным Xin-Yi Li и соавт., (2020 г.) содержание сывороточного BAFF повышено у женщин с антифосфолипидным синдромом и предыдущими потерями беременности на разных сроках [118]. В настоящее время имеются лишь единичные данные о содержании BAFF при рецидивирующей потере беременности: у пациенток с повторным самопроизвольным выкидышем его уровень в децидуальной оболочке и трофобласте был существенно снижен по сравнению с таковым у здоровых беременных [133].

APRIL другой член TNF-alpha семейства, который поддерживает выживание плазмочитов [216]. APRIL экспрессируется моноцитами, макрофагами, дендритными клетками, клетками стромы костного мозга и Т-клетками. Избыток APRIL, как и BAFF связан с развитием аутоиммунных заболеваний и коррелирует с их тяжестью и уровнем патогенных аутоантител [94, 156, 209]. Помимо реакций аутоиммунитета, повышенное количество APRIL потенцирует реакции пролиферации при злокачественных процессах, таких как миеломная болезнь, острый лимфобластный лейкоз [93, 109].

По данным Абдуллаевой Л.Х. (2017 г.), зарегистрировано снижение концентрации APRIL в перитонеальной жидкости женщин с распространенным эндометриозом и хроническим сальпингитом [1]. Литературные данные о содержании APRIL при физиологической беременности и осложнениях гестации в настоящее время отсутствуют.

Важнейшими цитокинами В-звена иммунитета, оказывающими аутокринное регулирующее влияние на дифференцировку В-клеток, являются IL-4, IL-6 и IL-10. IL-4 и IL-6 стимулируют активацию пролиферации активированных антигеном В-лимфоцитов, переключение изотипов иммуноглобулинов и синтез антител [102, 108]. IL-10 способствует процессу созревания плазматических клеток, предотвращает апоптоз В-лимфоцитов [150, 169].

Данные зарубежных исследователей свидетельствуют о повышении количества периферических В-лимфоцитов при одновременном снижении уровня регуляторных В-лимфоцитов у женщин с преждевременными родами. Этими же авторами показана повышенная секреция провоспалительного цитокина IL-6 супернатантом В-клеток перед родами [190]. Литературные данные о внутриклеточной экспрессии IL-4, IL-6 и IL-10 В-лимфоцитами при беременности у женщин с привычным невынашиванием практически отсутствуют. Имеются лишь единичные работы, посвященные изучению IL-10 – продуцирующих В-лимфоцитов, дефицит которых является важным звеном в патогенезе рецидивирующей потери беременности [147].

Таким образом, участие В-лимфоцитов в механизмах развития привычного невынашивания беременности, не вызывает сомнений, но изучен недостаточно и требует более глубокого исследования. Особенности характера дифференцировки и функциональной активности В-лимфоцитов у беременных женщин с угрожающим самопроизвольным выкидышем и привычным невынашиванием представляются крайне актуальными, поскольку позволят глубже понять патогенез данной патологии и определить новые точки приложения для терапевтических методов коррекции.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Организация работы и объем исследований

Работа выполнена 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.) в течение 2018-2021 годов. Иммунологические исследования проводились в лаборатории клинической иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения «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.).

Обследование пациенток проводилось согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ от 01.11.2012г. №572н. «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)» и 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.

Производилась выкопировка данных анамнеза, результатов исследований и наблюдений из историй болезней (ф. № 096/у) и индивидуальных карт беременной и родильницы (ф. №III/У), после чего полученные данные вносились в специально разработанную «Карту обследования беременной женщины». Каждая пациентка подписывала информированное добровольное согласие на обследование.

Беременные женщины обследовались однократно в сроке гестации 5-12 недель. Клинически и иммунологически было обследовано 136 беременных женщин:

- Основная группа – 65 женщин с угрожающим самопроизвольным выкидышем на момент обследования и привычным невынашиванием в анамнезе;
- Группа сравнения – 36 первобеременных женщин с угрожающим самопроизвольным выкидышем на момент обследования без привычного невынашивания в анамнезе;
- Группа контроля – 35 женщин без угрозы прерывания беременности на момент обследования и привычного невынашивания в анамнезе.

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 ранних сроков (код по МКБ-Х: O20.0);
- прогрессирующая одноплодная маточная беременность в сроке 5 – 12 недель, подтвержденная по данным ультразвукового исследования, с визуализацией плодного яйца в полости матки, наличием сердцебиения эмбриона и признаками угрозы прерывания.
- информированное согласие пациентки на участие в исследовании.

Критерии исключения:

- 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;
- женщины с выраженными аллергическими реакциями на момент обследования;
- женщины с аутоиммунными заболеваниями.

Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь из локтевой вены. Забор крови проводился в утренние часы, натощак, перед назначением сохраняющей терапии.

Исследования были одобрены на заседании локального этического комитета ФГБУ «Ивановского научно-исследовательского института материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации от 21.11.2018 г.

2.2. Иммунологические методы исследования

Выделение иммунокомпетентных клеток

Для проведения исследований методом проточной цитометрии забор крови производили в центрифужные пробирки, содержащие 2,7% раствор ЭДТА из расчета 3 мл крови на 1 мл раствора ЭДТА. Выделение иммунокомпетентных клеток из периферической крови осуществлялось традиционным методом скоростного центрифугирования при 1500 об/мин в градиенте плотности фиколл-урографина (d-1,078) [113]. После центрифугирования обогащенную популяцию лимфоидных клеток собирали в интерфазе Среда 199/фиколл-урографин и дважды отмывали в Среде 199 центрифугированием в течение 10 мин. Полученные лимфоциты впоследствии были использованы для проведения трехцветной проточной цитометрии.

Получение концентрированной фракции CD19+ В-клеток из смеси лимфоцитов осуществлялось методом магнитной сепарации с

использованием магнитных частиц, конъюгированных с анти-человеческими CD19 антителами (Dynabeads®CD19 PanB, Invitrogen Limited, Lithuania). Процедуру выделения популяций проводили в соответствии с инструкцией фирмы-разработчика.

Проточная цитометрия

Поверхностный фенотип клеток, внутриклеточная экспрессия цитокинов, определялись при помощи моноклональных антител (мАТ) методом проточной цитометрии на приборе FACSCantoII (Becton Dickinson, США). Фирма-производитель и клон используемых в исследовании мАТ указаны в таблице 2.2.1.

Таблица 2.2.1

Панель моноклональных антител, использованных в исследовании

№ п/п	мАТ	Клон	Фирма-производитель	Флюорохромная метка
1.	Human CD20	B9E9 (HRC20)	Beckman Coulter, Франция	FITC
3.	Human CD5	L17F12	eBioscience, США	PE
4.	Human IgD	IA6-2	Beckman Coulter, США	FITC
6.	Human CD268 (BAFFR)	8A7	eBioscience, США	FITC
7.	Human CD27	1A4CD27	Beckman Coulter, Франция	PE
8.	Human CD38	LS198-4-3	Beckman Coulter, Франция	PE
9.	Human IgG	G18-145	Becton, Dickinson and Company, США	PE-Cy7
10.	Human IgM	SA-DA4	eBioscience, США	PE
11.	Human IL-4	4D9	Beckman Coulter, Франция	PE

Продолжение таблицы 2.2.1.

№ п/п	МАТ	Клон	Фирма-производитель	Флюорохромная метка
12.	Human IL-6	MQ2-13A5	eBioscience, США	PE
13.	Human IL-10	JES3-9D7	eBioscience, США	PE
14.	Human CD19	J3-119	Beckman Coulter, Франция	PE
15.	Human CD19	J3-119	Beckman Coulter, Франция	APC
15.	Human CD20	2H7	eBioscience, США	PerCP-Cy5.5

FITC – флюоресцеинизотиоцианат

PE – фикоэритрин

PerCP-Cy5.5 – перидинин хлорофилл протеин комбинированный с цианином

PE-Cy7 – фикоэритрин-цианин 7

APC – аллофикоцианин

При оценке мембранной экспрессии CD-маркеров периферическими лимфоцитами к 50 мкл суспензии клеток в концентрации 1×10^6 клеток/мл одновременно добавляли необходимое сочетание моноклональных антител по 20 мкл каждого, меченных FITC, PE, PerCP-Cy5.5, PE-Cy7 или APC. Далее клетки инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 30 минут. Впоследствии клетки отмывали в 1 мл фосфатного буфера (PBS), содержащего 0,1% азид натрия, и фиксировали реагентом CellFix (eBioscience, Бельгия) в соответствии со стандартной методикой.

На графиках бокового и прямого светорассеивания с учетом размеров и плотности клеток, ограничивали лимфоцитарный гейт. В общем гейте лимфоцитов определяли уровень CD20+, CD19+ клеток. В лимфоцитарном гейте проводили второе гейтирование В-клеток по экспрессии моноклональных антител CD20 или CD19. В CD20+ лимфоцитарном гейте

определяли относительное содержание CD20+CD5+, CD20+CD5-, CD20+IgM+, CD20+IgG+. В CD19+ лимфоцитарном гейте определяли относительное содержание CD19+IgD+ зрелых, CD19+IgD+CD27- наивных и CD19+CD38+CD20- плазматических клеток, CD19+CD27+IgD± клеток памяти, CD19+CD27+IgD+ «непереключенных» и CD19+CD27+IgD- «переключенных» клеток памяти, CD19+BAFFR+.

Внутриклеточную продукцию IL-4, IL-6, IL-10 оценивали в популяции CD20+ лимфоцитов (CD20+IL-4+, CD20+IL-6+, CD20+IL-10+), в соответствии со стандартным протоколом внутриклеточного окрашивания клеток. Клетки, предварительно меченные анти-CD20+ мАТ, фиксировали в течение 15 мин в 100 мкл фиксирующего буфера А из набора FIX&PERM cell permeabilization reagents (Beckman Coulter, Франция). Впоследствии производили инкубацию клеток со 100 мкл пермеабилизирующего буфера В с анти-IL-4-мАТ, с анти-IL-6-мАТ, с анти-IL-10-мАТ для внутриклеточного окрашивания. Затем проводилась стандартная процедура фиксации клеток раствором CellFix. Полученная суспензия клеток использовалась для проведения дальнейшего цитометрического анализа.

Определение содержания сывороточных факторов методом ELISA

Сывороточное содержание BAFF, APRIL, IgA, IgM, IgG оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на микропланшетном ридере Multiscan EX (Labsystems, Финляндия). В таблице 2.2.2 представлена характеристика использовавшихся в работе тест-систем для проведения ИФА. Анализ и интерпретацию результатов проводили в соответствии с рекомендациями фирмы-разработчика.

Тест-системы, использованные для проведения иммуноферментного анализа

№ п/п	Показатель	Фирма-производитель	Предел чувствительности системы
1.	BAFF	eBioscience, Австрия	> 0,13 нг/мл
2.	APRIL	ThermoFisher	> 0,13 нг/мл
3.	IgA	ЗАО Вектор-Бест, Россия	-
4.	IgM	ЗАО Вектор-Бест, Россия	-
5.	IgG	ЗАО Вектор-Бест, Россия	-

Проведение обратнo-транскрипционной количественной полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени.

Для количественного определения экспрессии мРНК АКТ в CD19+ В-лимфоцитах использовали количественный метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Процедуру выделения тотальной РНК из периферических CD19+ В-лимфоцитов, лизированных в растворе, содержащем гуанидинатиоцианат, цитрат натрия, 37 саркозил и 2-меркаптоэтанол, проводили стандартным гуанидин-тиоцианатфенол-хлороформным методом [120]. Далее выделенную РНК переводили в комплементарную ДНК (кДНК), используя коммерческий набор реагентов «Набор для постановки обратной транскрипции» (ООО «Фрактал Био», Россия). ПЦР-амплификацию в режиме реального времени проводили в соответствии с инструкцией производителя на амплификаторе с оптической насадкой «iCycleriQ» («BIORAD», USA).

Для проведения количественной RT-PCR в реальном времени применялись праймеры и зонды для β 2-микроглобулина, которые использовали в качестве генов домашнего хозяйства и АКТ (ООО «Фрактал Био», Россия). Для количественного определения кДНК в исследуемых образцах строили калибровочную кривую для β 2-микроглобулина и АКТ1, с

использованием серии десятикратных разведений образцов контрольной кДНК. В каждом образце определяли количество копий с использованием стандартной кривой, построенной с помощью программного обеспечения «iCycleriQ» («BIORAD», USA). Количество копий определяемого гена делили на количество копий гена домашнего хозяйства в каждом индивидуальном образце для получения нормализованного значения количества копий определяемого гена, а результаты представляли как нормализованное количество копий в образце ($\times 10^4$ на мкл).

Определение сывороточного содержания специфических антител к возбудителям урогенитальных инфекций

В сыворотке периферической крови женщин исследовали содержание специфических антител к возбудителям урогенитальных инфекций. В работе использовали тест-системы ЗАО «Вектор-Бест», Россия. Результаты регистрировались на микропланшетном ридере Multiscan EX (Labsystems, Финляндия). Методом ИФА определяли: наличие IgM к HSV1, 2, IgM к CMV, IgA, IgM, IgG к *Chlamydia trachomatis*, IgA, IgG к *Mycoplasma hominis*, IgA, IgG к *Ureaplasma urealyticum*. Оценка результатов ИФА производилась в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя реактивов.

Определение сывороточного содержания циркулирующих иммунных комплексов проводилось на фотоэлектрическом колориметре КФК-2 по стандартной методике [82].

Данные по общему количеству проведенных лабораторных исследований представлены в таблице 2.2.3

Общее количество проведенных исследований

Метод исследования	Количество исследований
Клинические	У 136 пациенток
Иммунологические:	
Проточная цитометрия	1536
RT-PCR (ОТ-ПЦР)	48
ИФА	2031
Фотоколориметрия	50
Итого:	3665

2.3. Статистическая обработка данных

Математический анализ проводился по общепринятым методам вариационной статистики в пакете прикладных лицензионных программ «MicrosoftOffice 2010», «StatisticforWindows13.0.», «MedCalc 7.4.4.1». Проверка рядов данных на нормальность распределения осуществлялась с помощью критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Количественное описание величин с нормальным распределением производилось с помощью подсчета среднего арифметического и стандартного отклонения ($M \pm SD$). В случае если распределение отличалось от нормального, значения величин представлялись в виде медианы с указанием 25-го и 75-го перцентилей ($Me [C_{25}-C_{75}]$). Уровень статистической значимости между показателями выборок с нормальным распределением оценивалась по t-критерию Стьюдента, если распределение отличалось от нормального, проводилась оценка по критериям Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова. Уровень значимости $p < 0,05$ расценивался как статистически значимый. Для оценки диагностической значимости исследуемых показателей применялся

ROC-анализ. Количественная интерпретация ROC-анализа оценивалась по показателю AUC (area under ROC-curve) - площадью, ограниченной ROC-кривой и осью доли ложных положительных классификаций, а также уровню чувствительности и специфичности.

ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЕРЕМЕННЫХ С УГРОЗОЙ ПРЕРЫВАНИЯ НА МОМЕНТ ОБСЛЕДОВАНИЯ И ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

3.1. Медико-социальный статус беременных женщин исследуемых групп

На базах ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и ОБУЗ «Городская клиническая больница № 8» г. Иваново в 2018-2021г. было произведено полное клинико-лабораторное обследование 136 женщин в сроке беременности 5-12 недель. Выделены следующие группы:

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

Забор крови у женщин с угрозой прерывания беременности для иммунологических и общеклинических исследований производился в момент госпитализации до назначения сохраняющей терапии.

Женщины основной группы имели более старший средний возраст по сравнению с женщинами групп контроля $28,14 \pm 4,22$ лет ($p=0,003$) и сравнения $26,75 \pm 4,49$ лет ($p=0,000$), с преобладанием обследуемых 26-30 лет (43,08%) (табл. 3.1.1.). Женщины старшего репродуктивного возраста встречались чаще в основной группе и по сравнению с контролем составляли (21,54 против 2,86%, ОШ9,33; 95% ДИ 1,17-74,3, $p=0,028$).

При анализе семейного положения обследуемых было установлено, что женщины основной группы и группы контроля чаще относились к категории замужних по отношению к группе сравнения ($p=0,030$ и $p=0,033$, соответственно). Женщины основной группы имели супруга более старшего возраста по сравнению с группой контроля ($p=0,046$).

Таблица 3.1.1.

Характеристика возрастного состава и семейного положения женщин обследуемых групп

Показатель		Контрольная группа (n=35)	Основная группа (n=65)	Группа сравнения (n=36)
	Средний возраст, лет (M±SD)	28,14±4,22	31,18±5,18 $p_1=0,003$	26,75±4,49 $p_3=0,000$
Число пациенток, абс. (%)	До 25 лет	9 (32,14%)	5 (7,69%) $p_1=0,030$	16 (44,44%)
	ОШ (95% ДИ)		4,15 (1,27- 13,6)	
	26–30 лет	16 (57,14%)	28 (43,08%)	14 (38,89%)
	31–35 лет	9 (32,14%)	18 (27,69%)	5 (13,89%)
	36–40 лет	1 (2,86%)	14 (21,54%) $p_1=0,028$	1 (2,78%)
	ОШ (95% ДИ)		9,33 (1,17-74,3)	
	Одинокая	-	3 (4,62%)	3 (8,33%)
	Незарегистрированный брак	6 (17,14%)	8 (12,31%)	10 (27,78%)
	Замужем	29 (82,86%)	54 (83,08%)	23 (63,89%) $p_2=0,03$; $p_3=0,033$
	Повторный брак	3 (8,57%)	7 (10,77%)	-
	Возраст мужа, лет, (M±SD)	30,77±5,91	33,78±6,24 $p_1=0,046$	35,0±8,84

Примечание. Статистическая значимость различий основной и контрольной групп - p_1 , группы сравнения и группы контроля – p_2 , основной группы и группы сравнения – p_3 .

Анализ уровня образования обследуемых показал, что женщины основной группы в 67,69% случаев имели высшее образование и в 32,31% - среднее специальное (табл.3.1.2). В распределении социальных категорий, наличии профессиональных вредностей на рабочем месте, месте проживания среди обследуемых значимых различий выявлено не было ($p>0,05$ во всех случаях).

Таблица 3.1.2.

Социальная и профессиональная характеристика женщин обследуемых групп

Показатель		Контрольная группа (n=35)	Основная группа (n=65)	Группа сравнения (n=36)
Число пациенток, абс. (%)	Среднее специальное образование	18 (51,43%)	21(32,31%)	15 (41,67%)
	Высшее образование	17 (48,57%)	44 (67,69%)	21 (58,33%)
	Учащаяся	-	-	5 (13,89%)
	Безработная	3 (8,57%)	8 (12,31%)	7 (19,44%)
	Рабочая	20 (58,82%)	34 (52,31%)	13 (36,11%)
	Служащая	11 (32,35%)	23 (35,38%)	11 (30,56%)
	Профессиональные вредности	9 (30%)	22 (41,51%)	5 (13,89%)
	Город	30 (85,71%)	50 (76,92%)	31 (86,11%)
	Район/село	5 (14,29%)	15 (23,08%)	5 (13,89%)

Обследуемые женщины были сопоставимы по усредненным массовым показателям, индексу массы тела (табл. 3.1.3). Показатели уровня систолического и диастолического артериального давления также не имели значимых различий между группами ($p>0,05$).

Конституциональные особенности женщин обследуемых групп

Показатель		Контрольная группа (n=35)	Основная группа (n=65)	Группа сравнения (n=36)
	Рост, см (M±SD)	164,46±5,47	165,55±5,07	165,06±6,05
	Вес, кг (M±SD)	65,10±12,56	62,9±10,65	60,64±10,22
	Индекс массы тела кг/м ² (M±SD)	24,31±4,29	23,24±3,93	22,21±3,32 p2=0,02
Число пациенток, абс. (%)	Недостаток массы тела (<18,5 кг/м ²)	1 (2,86%)	2 (3,08%)	3 (8,33%)
	Избыточная масса тела (25,0–29,9 кг/м ²)	4 (11,43%)	9 (13,85%)	2 (5,56%)
	Ожирение I (30,0–34,9 кг/м ²)	3 (8,57%)	3 (4,69%)	2 (5,56%)
	Ожирение II (35,0–39,9 кг/м ²)	1 (2,86%)	2 (3,08%)	-
	Систолическое артериальное давление, мм.рт.ст. (M±SD)	114,11±7,63	112,66±6,78	118,11±15,89
	Диастолическое артериальное давление, мм.рт.ст. (M±SD)	71,97±8,38	69,62±6,58	70,58±6,10

В структуре перенесенных заболеваний, включая детские инфекции, среди женщин основной группы преобладала ветряная оспа по сравнению с группой 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) (табл. 3.1.4). Обследуемые женщины были сопоставимы по наличию в анамнезе травм и перенесенных экстрагенитальных оперативных вмешательств.

Таблица 3.1.4.

Структура детских инфекций, перенесенных заболеваний, травм, экстрагенитальных операций среди женщин обследуемых групп

Показатель		Контрольная группа (n=35)	Основная группа (n=65)	Группа сравнения (n=36)
Число пациенток, абс. (%)	Корь	-	1 (1,54%)	-
	Краснуха	4 (11,43%)	13 (20%)	6 (16,67%)
	Ветряная оспа	21 (60%)	53 (81,54%) $p_1=0,035$	22 (61,11%) $p_2=0,029$
	ОШ (95% ДИ)		2,94 (1,17-7,40)	2,81 (1,12-7,03)
	Скарлатина	-	1 (1,54%)	-
	Тонзиллит	2 (5,71%)	9 (13,85%)	1 (2,78%)
	Пневмония	3 (8,57%)	8 (12,31%)	3 (8,33%)
	Гепатит А	-	3 (4,62%)	2 (5,56%)
	Грипп	18 (51,43%)	38 (58,46%)	14 (38,89%)
	Травмы в анамнезе	2 (5,71%)	8 (12,31%)	6 (16,67%)
	Экстрагенитальные операции	5 (14,29%)	18 (27,69%)	6 (16,67%)

Примечание. p_1 - статистическая значимость различий основной группы и группы контроля; p_2 - статистическая значимость различий основной группы и группы сравнения.

При анализе экстрагенитальной патологии среди обследуемых выявлено, что женщины основной группы чаще имели заболевания щитовидной железы (21,54 против 2,86%, ОШ 9,33; 95% ДИ 1,172 – 74,3, $p=0,027$) и хронический цистит (29,23 против 5,71%, ОШ 6,82; 95% ДИ 1,49-31,29, $p=0,000$) по сравнению с контрольной группой (табл. 3.1.5.) и группой сравнения (21,54 против 2,78%, ОШ 9,61; 95% ДИ 1,21- 76,43, $p=0,004$ и 29,23 против 11,11%, ОШ 3,30; 95% ДИ 1,03-10,63, $p=0,02$, соответственно) (табл. 3.1.5).

Таблица 3.1.5.

Структура экстрагенитальной патологии среди женщин обследуемых групп

Показатель		Контрольная группа (n=35)	Основная группа (n=65)	Группа сравнения (n=36)
Число пациенток, абс. (%)	Заболевания щитовидной железы	1 (2,86%)	14 (21,54%) $p_1=0,027$, $p_2=0,004$	1 (2,78%)
	ОШ (95% ДИ)		9,33 (1,172 - 74,3)	9,61 (1,21- 76,43)
	Гипертоническая болезнь	3 (8,57%)	5 (7,69%)	-
	Заболевания органов дыхания	4 (11,43%)	6 (9,23%)	2 (5,56%)
	Нейроциркуляторная дистония	7 (20%)	6 (9,23%)	3 (8,33%)
	Хронический гастрит	12 (34,29%)	14 (21,54%)	7 (19,44%)
	Язвенная болезнь желудка	-	2 (3,08%)	-
	Хронический пиелонефрит	4 (11,43%)	11 (16,92%)	3 (8,33%)
	Мочекаменная болезнь	2 (5,71%)	5 (7,69%)	1 (2,78%)
	Хронический цистит	2 (5,71%)	19 (29,23%) $p_1=0,0013$	4 (11,11%) $p_2=0,02$
	ОШ (95% ДИ)		6,82 (1,49-31,29)	3,30 (1,03-10,63)
	Миопия	8 (22,86%)	16 (24,62%)	2 (5,56%)
	Анемия	3 (8,57%)	7 (10,77%)	4 (11%)
	Варикозная болезнь нижних конечностей	5 (14,29%)	4 (6,15%)	1 (2,78%)

Примечание. p_1 - статистическая значимость различий основной группы и группы контроля, p_2 - статистическая значимость различий основной группы и группы сравнения.

Значимых различий в наличии привычных интоксикаций в виде курения и употребления алкоголя, аллергических реакций на медикаменты, пищевые продукты, бытовые аллергены среди женщин обследуемых групп не установлено ($p>0,05$). Отягощенный семейный анамнез по

невынашиванию беременности имелся лишь у 6,15% женщин основной группы ($p>0,05$).

Таблица 3.1.6.

Аллергологический анамнез и вредные привычки женщин обследуемых групп

Показатель		Контрольная группа (n=35)	Основная группа (n=65)	Группа сравнения (n=36)
Число пациенток, абс. (%)	Медикаментозная аллергия	6 (17,14%)	8 (12,31%)	5 (13,89%)
	Пищевая аллергия	-	5 (7,69%)	-
	Бытовая аллергия	-	2 (3,08)	-
	Курение	2 (5,71%)	5 (7,69%)	1 (2,78%)
	Употребление алкоголя	-	1 (1,54%)	-

Анализ становления и характера менструальной функции показал, что средний возраст менархе среди обследуемых не имел значимых различий и составил в контрольной группе $12,97\pm 1,07$ года, в группе сравнения – $13,31\pm 1,47$ лет, в основной группе – $13,23\pm 1,32$ года ($p>0,05$ во всех случаях) (табл.3.1.7). Женщины группы сравнения имели большую продолжительность менструального цикла ($31,50\pm 6,25$ дней) по сравнению с группой контроля ($28,89\pm 1,91$ дней) и основной группой ($29,29\pm 2,98$ дней) ($p=0,02$ и $p=0,05$ соответственно). У женщин основной группы достоверно чаще имелось нарушение ритма менструального цикла в виде олигоменореи по сравнению с группой контроля (26,15 против 5,71%, ОШ 5,84; 95% ДИ 1,26-27, $p=0,027$).

Таблица 3.1.7.

Становление и характер менструальной функции у женщин обследуемых групп

Показатель	Контрольная группа (n=34)	Основная группа (n=65)	Группа сравнения (n=36)
Средний возраст менархе, лет (M±SD)	12,97±1,07	13,23±1,32	13,31±1,47
Длительность менструального цикла, дней, (M±SD)	28,89±1,91	29,29±2,98	31,50±6,25 p2=0,02 p3=0,05
Продолжительность менструации, дней (M±SD)	5,49±0,98	5,18±1,14	5,53±1,03
Умеренная менструальная кровопотеря, абс. (%)	29 (82,86%)	60 (92,31%)	30 (83,33%)
Обильные маточные кровотечения, абс. (%)	6 (17,14%)	3 (4,62%)	6 (16,67%)
Олигоменорея, абс. (%)	2 (5,71%)	17 (26,15%) p1=0,027	7 (19,44%)
ОШ (95% ДИ)	-	5,84 (1,26-27)	6,37 (1,28- 31,52)
Задержки менструаций, дней Me [C ₂₅ -C ₇₅]	15 [10,0-20,0]	20 [10,0-30,0]	35 [14,0-60,0]

Примечание. Статистическая значимость различий основной и контрольной групп - p1, группы сравнения и группы контроля – p2, основной группы и группы сравнения – p3.

При анализе гинекологических заболеваний среди обследуемых было установлено, что женщины основной группы значительно чаще имели хронический эндометрит в анамнезе по сравнению с группой 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 (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) (табл.3.1.8).

Таблица 3.1.8.

Структура перенесенной генитальной патологии среди женщин обследуемых групп

Показатель	Контрольная группа (n=35)	Основная группа (n=65)	Группа сравнения (n=36)
Бесплодие I, абс. (%)	4 (11,43%)	4 (6,15%)	4 (11,11%)
Бесплодие II, абс. (%)	3 (8,57%)	4 (6,15%)	-
Хронический эндометрит, абс. (%)	4 (11,43%)	47 (72,31%) $p_1=0,000$ $p_2=0,000$	8 (22%)
ОШ (95% ДИ)		20,24 (6,25-65,49)	9,14 (3,52- 23,75)
Хронический сальпингит, оофорит, абс. (%)	5 (14,29%)	12 (18,46%)	4 (11,11%)
Вагиниты, абс. (%)	9 (25,17%)	9 (13,85%)	5 (13,89%)
Миома матки малых размеров, абс. (%)	4 (11,43%)	4 (6,15%)	2 (5,56%)
Эндометриоз, абс. (%)	2 (5,71%)	12 (18,46%)	1 (2,78%)
ИППП, абс. (%)	3 (8,57%)	29 (44,62%) $p_1=0,01$ $p_2=0,011$	3 (8,33%)
ОШ (95% ДИ)		8,59 (2,39-30,92)	8,86 (2,47-31,84)
Хламидиоз, абс. (%)	1 (2,86%)	8 (12,31%)	3 (8,33%)
Микоплазмоз, абс. (%)	1 (2,86%)	8 (12,31%)	-
Неопухолевые заболевания шейки матки, абс. (%)	12 (34,9%)	15 (23,08%)	4 (11,1%)
Оперативные вмешательства на органах репродуктивной системы, абс. (%)	6 (17,14%)	22 (33,85%)	2 (5,56%)

Продолжение таблицы 3.1.8.

Показатель	Контрольная группа (n=35)	Основная группа (n=65)	Группа сравнения (n=36)
Выскабливания полости матки, абс. (%)	6 (17,14%)	60 (92,31%) $p_1=0,000$	0 $p_2=0,000$
ОШ (95% ДИ)		58 (16,34 - 205,9)	
Количество выскабливаний полости матки на одну женщину, (M±SD)	0,20 ± 0,47	2,92 ± 1,79 $p_1=0,000$	0

Примечание. p_1 - статистическая значимость различий основной группы и группы контроля; p_2 - статистическая значимость различий основной группы и группы сравнения.

Женщины обследуемых групп были сопоставимы по количеству оперативных вмешательств лапароскопическим и лапаротомическим доступами на органы репродуктивной системы ($p>0,05$). 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, группы контроля - $0,20\pm 0,47$ ($p=0,000$).

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) (табл.3.1.9). Женщины основной группы значительно чаще 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%, $p=0,000$) по сравнению с контролем. Количество искусственных абортов, преждевременных и своевременных родов среди обследуемых было сопоставимым.

Характеристика репродуктивной функции женщин обследуемых групп

Показатель		Контрольная группа (n=35)	Основная группа (n=65)	Группа сравнения (n=36)
Средний возраст начала половой жизни, лет (M±SD)		17,86±2,16	17,83±2,16	18,53±3,08
Добрачное начало половой жизни, абс. (%)		33 (94,29%)	57 (89,06%)	32 (88,89%)
Данная беременность по счету, (M±SD)		2,03±0,05	4,57±2,11	1,0±0,0
Число случаев, абс. (%)	Аборты	4 (11,43%)	10 (15,38%)	-
	Самопроизвольные выкидыши	3 (8,57%)	44 (67,69%) p ₁ =0,000	-
	ОШ (95% ДИ)		22,35 (6,14-81,39)	
	Неразвивающаяся беременность	3 (8,57%)	46 (70,77%) p ₁ =0,000	-
	ОШ (95% ДИ)		25,82 (7,05- 94,61)	
	Эктопическая беременность	-	3 (4,62%)	-
	Роды в анамнезе: Преждевременные - Своевременные -	2 (5,71%) 17 (48,57%)	5 (7,69%) 23 (35,38%)	-
	Среднее количество беременностей на одну женщину, включая настоящую	2,03±0,95	4,57±2,11	1±0,0

Примечание. p₁ - статистическая значимость различий основной группы и группы контроля.

3.2. Течение и исход беременности у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием

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).

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. Наличие признаков угрожающего и начавшегося выкидыша у пациенток основной группы и группы сравнения по данным клинико-инструментального исследования были сопоставимы: кровянистые выделения из половых путей при гинекологическом осмотре наблюдались у 58 % женщин с ПНБ и у 61,11% первобеременных, отслойка хориона по данным ультразвукового исследования у 41,5% женщин с ПНБ и 50% пациенток группы сравнения ($p>0,05$ во всех случаях) (табл.3.2.1.).

Таблица 3.2.1.

Характеристика жалоб, данных гинекологического осмотра и ультразвукового обследования на момент поступления в стационар среди женщин с угрозой прерывания беременности

Показатель	Основная группа (n=65)	Группа сравнения (n=36)
Средний срок беременности по menses при госпитализации, нед. (M±SD)	7,10±2,0	6,96±1,80
Тянущие боли внизу живота, абс. (%)	60 (92,31%)	32 (88,89%)

Продолжение таблицы 3.2.1

Показатель	Основная группа (n=65)	Группа сравнения (n=36)
Тянущие боли в пояснице, абс. (%)	10 (15,38%)	4 (11,11%)
Кровянистые выделения из половых путей, абс. (%)	38 (58,5%)	22 (61,11%)
Эхо-признаки отслойки плодного яйца, абс. (%)	27 (41,5%)	18 (50%)
Эхо-признаки расширения внутреннего зева цервикального канала, абс. (%)	-	4 (11,11%)

Примечание. р - статистическая значимость различий основной группы и группы сравнения.

При поступлении в стационар до назначения сохраняющей терапии всем женщинам с угрозой прерывания была взята периферическая венозная кровь для общеклинических и иммунологических исследований. Нами были определены значимые различия между группами в относительном содержании периферических лимфоцитов в общем анализе крови (табл.3.2.2.). Так, в основной группе относительное содержание лимфоцитов ($29,07 \pm 6,27\%$) превышало значения данного параметра в группах контроля ($21,13 \pm 5,41\%$, $p=0,000$) и сравнения ($24,57 \pm 6,0\%$, $p=0,001$), однако не выходило за рамки референсных значений, установленных в лаборатории. Различия в относительном содержанием лимфоцитов в группах сравнения и контроля были также значимы ($p=0,01$). Остальные полученные показатели общеклинического анализа крови и коагулограммы между группами достоверно не отличались ($p > 0,05$ во всех случаях).

Характеристика показателей общеклинического анализа крови и коагулограммы среди женщин обследуемых групп

Показатель, (M±SD)	Контрольная группа (n=34)	Основная группа (n=65)	Группа сравнения (n=36)
Эритроциты, Т/л	4,24±0,31	4,17±0,32	4,27±0,32
Гемоглобин, г/л	126,83±7,68	125,21±17,51	123,86±11,76
Тромбоциты, Т/л	252,40±62,65	241,29±55,93	233,89±71,09
Лейкоциты, Г/л	7,86±1,34	7,29±2,18	7,00±2,11
Лимфоциты, %	21,13±5,41	29,07±6,27 p ₁ =0,000 p ₃ =0,001	24,57±6,00 p ₂ =0,01
Моноциты, %	6,91±1,02	7,12± 1,43	6,75±1,09
СОЭ, мм/ч	13,77±8,17	12,62±6,37	10,78±8,70
АЧТВ, сек	33,46±3,14	33,40±3,23	32,40±3,15
Фибриноген плазмы, г/л	3,60±0,62	3,47±0,77	3,52±0,71
ПТИ, %	100,56±12,40	99,03±9,91	99,83±8,61
Фибринолитическая активность, %	10,64±2,10	11,38±2,00	10,98±1,89
Тромбиновое время, сек	13,45±1,36	13,76±1,42	13,61±1,46

Примечание. Статистическая значимость различий основной и контрольной групп - p₁, группы сравнения и группы контроля – p₂, основной группы и группы сравнения – p₃.

Методом иммуноферментного анализа в сыворотке периферической венозной крови мы определяли наличие маркеров острого и хронического бактериального и вирусного инфицирования. Анализ полученных результатов показал, что 23,3% женщин с угрозой прерывания беременности

и привычным невынашиванием имели IgM к HSV 1, 2, что достоверно превышало частоту обнаружения данного показателя в контрольной группе ($p=0,031$) (табл.3.2.3.). Количество женщин с IgM к CMV, маркерами острого и хронического инфицирования *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* было сопоставимо во всех исследуемых группах. При оценке распространённости острого вирусного, острого бактериального, острого вирусно-бактериального, острого и хронического бактериального, хронического бактериального инфицирования вышеперечисленными возбудителями значимых различий среди женщин обследуемых групп выявлено не было ($p<0,05$ во всех случаях).

Таблица 3.2.3.

Частота выявления маркеров вирусно-бактериального инфицирования на системном уровне у обследуемых женщин

Число случаев, абс. (%)	Контрольная группа n=31	Основная группа n=60	Группа сравнения n=29
HSV 1, 2 IgM	1(3,2)	14 (23,3) $p=0,031$	2 (6,9)
ОШ (95% ДИ)		9,13 (1,14-73,09)	
CMV IgM	1 (3,2)	4 (6,7)	3 (10,3)
<i>Chlamydia trachomatis</i> IgA, IgM, IgG	9 (29,0)	33 (55,0)	14 (48,3)
<i>Ureaplasma urealyticum</i> IgA, IgG	10 (32,2)	22 (36,7)	6 (20,7)
<i>Mycoplasma hominis</i> IgA, IgG	17 (54,8)	35 (58,3)	15 (51,7)
Активная вирусная инфекция	2 (6,5)	8 (13,3)	2 (6,9)

Продолжение таблицы 3.2.3.

Число случаев, абс. (%)	Контрольная группа n=31	Основная группа n=60	Группа сравнения n=29
Активная бактериальная инфекция	4 (27)	1 (1,7)	4 (13,8)
Активная вирусно- бактериальная инфекция	-	9 (15,0)	2 (6,9)
Хроническое и активное бактериальное инфицирование	5 (16,1)	12 (20)	6 (20,7)
Хроническое бактериальное инфицирование	13 (41,9)	24 (40)	12 (41,4)

Примечание. р - статистическая значимость различий основной группы и группы контроля.

Среди осложнений беременности у женщин с привычным невынашиванием наиболее часто встречались: угрожающий поздний выкидыш (62,96%), истмико-цервикальная недостаточность (17,31%), угрожающие преждевременные роды (30,77%) по сравнению с контрольной группой (20%, 0%, 17,14%, соответственно, $p < 0,05$ во всех случаях) и первобеременными с угрозой прерывания (22,22%, 0%, 0%, соответственно, $p < 0,05$ во всех случаях) (табл.3.2.4). Частота встречаемости рвоты беременных, анемии, гестационного сахарного диабета, перенесенных острых респираторных заболеваний во время беременности, инфекционных заболеваний мочеполового тракта, признаков внутриутробного инфицирования (ВУИ), плацентарной недостаточности, задержки роста

плода среди женщин обследуемых групп не имела значимых различий ($p > 0,05$ во всех случаях).

Таблица 3.2.4.

Осложнения беременности среди женщин обследуемых групп

Показатель, абс, %	Контрольная группа (n = 35)	Основная группа (n = 65)	Группа сравнения (n = 36)
Угрожающий поздний выкидыш	7 (20%)	34 (62,96%) $p_1=0,000$	6 (22,22%) $p_2=0,006$
Рвота беременных	4 (11,43%)	6 (9,23%)	2 (5,56%)
Анемия	5 (14,29%)	14 (26,92%)	6 (23,08%)
Гестационный диабет	6 (17,14%)	2 (3,51%)	-
Истмико-цервикальная недостаточность	-	9 (17,31%) $p_1=0,025$ $p_3=0,01$	-
Острые респираторные заболевания	10 (28,57%)	11 (21,15%)	6 (23,08%)
Инфекционные заболевания при беременности (цистит, кольпит)	9 (25,71%)	9 (17,31%)	3 (11,54%)
Хроническая артериальная гипертензия	3 (8,57%)	-	-
Умеренная преэклампсия	3 (8,57%)	-	-
ВУИ	5 (14,29%)	6 (11,54%)	1 (3,85%)
Преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты (ПОНРП)	-	2 (3,85%)	-
Плацентарная недостаточность	11 (31,43%)	12 (23,08%)	3 (11,54%)
Задержка роста плода	4 (11,43%)	5 (9,62%)	1 (3,85%)
Угрожающие преждевременные роды	2 (5,71%)	16 (30,77%) $p_1=0,010$ $p_3=0,0003$	-

Примечание. Статистическая значимость различий основной и контрольной групп - p_1 , группы сравнения и группы контроля – p_2 , основной группы и группы сравнения – p_3 .

Беременность женщин с привычным невынашиванием завершилась самопроизвольным прерыванием до 22 недель в 18,5% случаев: у 4,6% - самопроизвольным выкидышем, у 13,9% - неразвивающейся беременностью (табл 3.2.5.). Преждевременные роды в основной группе произошли в 13,5% случаев, из них «ранние» составили 7,7%, в срок 34-36 недель 6 дней – 5,8%. Своевременные роды произошли в 69,2% случаев. 46,1% женщин с привычным невынашиванием были родоразрешены через естественные родовые пути, 53,9% - путем операции кесарева сечения. Родовая деятельность женщин с привычным невынашиванием беременности наиболее часто осложнялась дородовым излитием околоплодных вод (в 21,25% случаев). Аномалии сократительной деятельности матки в виде слабости родовой деятельности осложнили течение родов 1 женщины основной группы.

Показаниями к плановому оперативному родоразрешению наиболее часто являлись отягощенный акушерско-гинекологический анамнез (ОАГА) (46,2%), рубец на матке (9,6%), возраст (7,7%), косое положение и тазовое предлежание плода (5,8%), фето-плацентарная недостаточность (5,8%). Показаниями к экстренному родоразрешению были: дистресс плода (11,5%), ПОНРП (3,9%), клинический узкий таз (5,8%), некорректируемые аномалии родовой деятельности (1,9%).

Беременность женщин группы сравнения завершилась в 5,6% случаев самопроизвольным выкидышем, в 22,2% - неразвивающейся беременностью, в 72,2% - родами в срок. Родоразрешение через естественные родовые пути было у 73,1% первобеременных с угрозой прерывания, что превышало значения данного параметра в основной группе ($p=0,018$), путем операции кесарева сечения у 26,9%. Показаниями к оперативному родоразрешению у первобеременных явились: некорректируемые аномалии родовой деятельности (11,5%), отягощенный ОАГА (7,7%), фетоплацентарная недостаточность (7,7%) клинический узкий таз (3,9%), тазовое предлежание плода (3,9%), симфизит (3,9%).

Беременность женщин группы контроля завершилась в 100% случаев срочными родами, что достоверно 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.

Таблица 3.2.5.

Исходы беременностей и осложнения родов у женщин обследуемых групп

Показатель	Контрольная группа (n = 35)	Основная группа (n = 65)	Группа сравнения (n = 36)
Неразвивающаяся беременность, абс. (%)	-	9 (13,85%)	8 (22,22%)
Самопроизвольный выкидыш, абс. (%)	-	3 (4,62%)	2 (5,56%)
Преждевременные роды, в т.ч.:	-	7 (13,46%)	-
Ранние преждевременные роды (28–30 недель 6 дней), абс. (%)	-	4 (7,69%)	-
Поздние преждевременные роды (34–36 недель 6 дней), абс. (%)	-	3 (5,77%)	-
Своевременные роды, абс. (%)	35 (100%)	45 (69,23%) $p_1=0,001$	26 (72,22%) $p_2=0,000$
Дородовое излитие околоплодных	6 (17,14%)	11 (21,25%)	2 (7,69%)
Слабость родовой деятельности		1 (1,92%)	1 (3,85%)
Чрезмерная родовая деятельность, абс. (%)	-	-	1 (3,85%)
Клинически узкий таз, абс. (%)	3 (8,57%)	3 (5,77%)	1 (4%)
Роды через естественные родовые пути, абс. (%)	21 (60%)	24 (46,15%)	19 (73,08%)
Роды путем операции кесарева сечения, абс. (%)	14 (40%)	28 (53,85%)	7 (26,92%)

Примечание. Статистическая значимость различий основной и контрольной групп - p_1 , группы сравнения и группы контроля - p_2 .

При сопоставлении исходов беременности с наличием маркеров 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 различных классов к исследуемым инфекционным агентам ($p > 0,05$ во всех случаях) (табл.3.2.6.). Характер инфицирования беременных также не имел значимых различий ($p > 0,05$ во всех случаях).

Таблица 3.2.6.

Частота выявления маркеров вирусно-бактериального инфицирования на системном уровне в зависимости от исходов беременности обследуемых женщин

Показатель, %	Контроль ная группа n=31	Основная группа n=60		Группа сравнения n=29	
		Самопроизвольное прерывание до 22 недель n=9	Роды n=51	Самопроизвольное прерывание до 22 недель n=7	Роды n=22
HSV 1, 2 IgM	1(3,2)	2 (22,2)	12 (23,5)	1 (14,3)	1 (4,5)
CMV IgM	1 (3,2)	3 (5,9)	1 (11,1)	-	3 (13,6)
Chlamydia trachomatis IgA, IgM, IgG	9 (29,0)	6 (66,7)	27 (53,4)	6 (85,7)	8 (37,3)
Ureaplasma urealyticum IgA, IgG	10 (32,2)	3 (33,3)	19 (37,3)	1 (14,3)	5 (24,2)
Mycoplasma hominis IgA, IgG	17 (54,8)	2 (22,2)	33 (65,1)	2 (28,6)	13 (62,7)
Активная вирусная инфекция	2 (6,5)	2 (22,2)	6 (11,8)	-	2 (9,1)

Продолжение таблицы 3.2.6.

Показатель, %	Контрольная группа n=31	Основная группа n=60		Группа сравнения n=29	
		Самопроизвольное прерывание до 22 недель n=9	Роды n=51	Самопроизвольное прерывание до 22 недель n=7	Роды n=22
Активная бактериальная инфекция	4 (27)	-	1 (1,7)	1 (14,3)	3 (13,6)
Активная вирусно- бактериальная инфекция	-	1 (11,1)	8 (15,7)	1 (14,3)	1 (4,5)
Хроническая и активная бактериальная инфекция	5 (16,1)	2 (22,2)	10 (19,6)	-	6 (27,3)
Хроническая бактериальная инфекция	13 (41,9)	5 (55,6)	19 (37,3)	4 (57,1)	8 (36,4)

Особенности состояния новорожденных среди женщин обследуемых групп представлены в таблице 3.2.7. 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 достоверно отличалось от более высоких значений группы контроля ($51,89 \pm 2,83$ см и $3404 \pm 429,17$ соответственно) и сравнения ($50,88 \pm 2,01$ см и $3158,38 \pm 381,49$ г соответственно) ($p < 0,05$ во всех случаях). Средние массо-ростовые показатели новорожденных групп сравнения и контроля значимых различий не имели ($p > 0,05$).

Характеристика состояния новорожденных среди женщин обследуемых групп

Показатель	Контрольная группа (n = 35)	Основная группа (n = 65)	Группа сравнения (n = 36)
Средняя длина тела новорожденных, см, (M±SD)	51,89±2,83	50,19±3,91 p1=0,021	50,88±2,01
Средняя масса тела новорожденных, г, (M±SD)	3404±429,17	3104,23±592,51 p=0,008	3258,38±381,49
Средняя оценка новорожденных по шкале Апгар на 1 минуте, (M±SD)	7,65±0,60	7,73±0,86	7,54±0,71
Средняя оценка новорожденных по шкале Апгар на 5 минуте, (M±SD)	8,71±0,87	8,65±0,60	8,50±0,86
Без признаков асфиксии (Апгар 7–10 баллов), абс. (%)	47 (94%)	34 (97,14%)	25 (96,15%)
В состоянии умеренной асфиксии (Апгар 4–6 баллов), абс. (%)	1 (2,86%)	3 (6%)	1 (3,85%)
Умерло в антенатальном периоде, абс. (%)	-	1 (1,92%)	-
Переведены в детскую реанимацию, абс (%)	1 (2,91%)	7 (13,73%)	1 (3,85%)

Примечание. Статистическая значимость различий основной и контрольной групп – p

Средние оценки новорожденных по шкале Апгар на 1 и 5 минуте были сопоставимы. В основной группе без признаков асфиксии родилось 97,1% новорожденных, в группе сравнения – 96,2%, в контрольной группе – 94%. В состоянии умеренной асфиксии (оценка по Апгар 4–6 баллов) родились по 1 новорожденному групп контроля и сравнения и 3 новорожденных основной группы. 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 достоверно чаще встречалась конъюгационная желтуха (22%) (табл. 3.2.8). Повышенная встречаемость у новорожденных основной группы по сравнению с остальными обследуемыми врожденной пневмонии, перинатального поражения центральной нервной системы, церебральной ишемии, желудочно-кишечного кровотечения, энтероколита носило характер тенденции ($p > 0,05$).

Таблица 3.2.8.

Анализ заболеваний у новорожденных от женщин обследуемых групп

Показатель		Контрольная группа (n = 34)	Основная группа (n = 65)	Группа сравнения (n = 36)
Число случаев, абс. (%)	Респираторный дистресс-синдром	-	1 (2%)	1 (3,85%)
	Врожденная пневмония	2 (5,71%)	10 (20%)	3 (11,54%)
	Перинатальное поражение центральной нервной системы	1 (2,86%)	5 (10%)	-
	Конъюгационная желтуха	-	11 (22%) $p_1=0,008$	4 (15,38%)
	Кефалогематома	-	-	2 (7,69%)
	Маловесные к сроку гестации	-	2 (4,0%)	1 (4,17%)
	Желудочно-кишечное кровотечение,	-	1 (2%)	-
	Энтероколит	-	1 (2%)	-
Выписка из родильного дома, сутки		5±0,82	5,04±1,09	5,19±1,06
- домой		33 (94,29%)	39 (78%)	25 (96,15%) $p_2=0,030$
- на 2 этап выхаживания		1 (2,86%)	7 (14%)	-
- в детскую больницу		1 (2,86%)	4 (8%)	1 (3,85%)

Примечание. Статистическая значимость различий основной и контрольной групп – p_1 , основной группы и группы сравнения – p_2 .

Респираторный дистресс-синдром, маловесность к гестационному сроку диагностировались с одинаковой частотой у новорожденных от женщин основной группы и группы сравнения. Кефалогематома встречалась только у 2 детей, рожденных от женщин группы сравнения.

Средний срок пребывания в стационаре новорожденных 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 групп контроля и сравнения выписаны домой (94,3% и 96,2%, соответственно). 1 новорожденный 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% ($p < 0,05$).

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. Так, риск развития угрожающего самопроизвольного выкидыша в ранние сроки беременности 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, олигоменорею – в 5,8 раз, ИППП в анамнезе – в 8,6 раз, с хроническим эндометритом – в 20,2 раза, имеющих в анамнезе неразвивающиеся беременности – в 25,8 раз, подвергавшихся выскабливаниям полости матки – в 58 раз, являющихся носителем маркеров активной герпетической инфекции на момент обследования – в 9,1 раз.

Течение беременности женщин с привычным невынашиванием осложнилось по сравнению с остальными обследуемыми угрозой позднего самопроизвольного выкидыша, угрозой преждевременных родов, истмико-

цервикальной недостаточностью. Новорожденные основной группы имели более низкие массо-ростовые показатели и повышенную заболеваемость конъюгационной желтухой.

Глава 4. Особенности содержания, дифференцировки и функциональной активности В-лимфоцитов на системном уровне при беременности у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием беременности.

4.1. Характер содержания и дифференцировки периферических В-лимфоцитов у женщин с угрозой прерывания беременности и привычным невынашиванием

В-лимфоциты являются ключевыми участниками адаптивного иммунного ответа. Важнейшей функцией В-клеток является защита организма от антигенов благодаря способности к антителообразованию и регуляции иммунных реакций посредством синтеза цитокинов [66, 73]. Учитывая тот факт, что при беременности, особенно, при ее патологическом течении, материнская иммунная система стимулируется антигенами плодового происхождения (частицами синцитиотрофобласта, экстраклеточными везикулами, микроворсинками) [37, 61], исследование особенностей дифференцировки В-лимфоцитов у женщин с ПНБ представляет несомненный интерес.

Фракция периферических В-лимфоцитов неоднородна и состоит из клеток различных стадий дифференцировки. По способности к экспрессии CD5 в пуле В-лимфоцитов выделяют CD5 позитивные В1-клетки и В2-клетки, не несущие на своей поверхности CD5. При определении уровня периферических В-клеток в CD20+ лимфоцитарном гейте среди обследуемых нами было выявлено, что у женщин с привычным невынашиванием имелось повышение относительного содержания В-лимфоцитов по сравнению с остальными обследуемыми ($p < 0,05$) (табл. 4.1.1). Значимых различий в соотношении субпопуляций В1 – и В2–лимфоцитов среди женщин основной группы по сравнению с контролем зарегистрировано не было ($p > 0,05$), однако, содержание клеток с фенотипом CD20+CD5- превышало значение

данного параметра в группе сравнения ($p < 0,05$), а CD20+CD5+ В-лимфоцитов, напротив, было меньше ($p < 0,05$). При определении относительного содержания В-клеток в CD19+ лимфоцитарном гейте значимых различий не отмечалось, однако имелась выраженная тенденция к повышению CD19+ клеток в основной группе.

Таблица 4.1.1.

Особенности содержания В-лимфоцитов в периферической крови женщин обследуемых групп

Показатель, % (M ± SD)	Контрольная группа (n=35)	Основная группа (n=65)	Группа сравнения (n=36)
CD19+	4,91±2,21	5,40±2,72	5,07±4,29
CD20+	5,31±2,60	6,84±3,51 p₁=0,020 p₂=0,044	5,26±3,95
CD20+CD5+ в популяции CD20+ клеток	8,74±4,92	8,04±5,91 p₂=0,045	11,19±6,98
CD20+CD5- в популяции CD20+ клеток	91,30±4,91	92,0±5,93 p₂=0,046	88,77±5,07

p₁ - уровень статистической значимости различий показателей женщин с ПНБ по сравнению с показателями группы контроля, p₂ - уровень статистической значимости различий показателей женщин с ПНБ и группой сравнения

После выхода из костного мозга незрелые В-лимфоциты, экспрессирующие IgM, проходят несколько стадий транзиторных В-клеток, после чего в выживших клонах В – клеток, в ходе дальнейшего созревания, происходит переключение изотипов иммуноглобулинов на IgG, IgA, IgE [66, 73]. Экспрессия маркера зрелости В-клеточного звена IgD приобретает во вторичных лимфоидных органах, по мере созревания В-лимфоцитов [73]. Переключение изотипов иммуноглобулинов, полноценная аффинность рецепторов обеспечивают достаточную эффективность реакций гуморального иммунитета в ответ на антигенную стимуляцию.

При анализе относительного содержания периферических В-лимфоцитов, экспрессирующих на своей мембране IgM и IgG у женщин с угрозой прерывания настоящей беременности и привычным невынашиванием было выявлено значимое повышение циркулирующих клеток с фенотипом CD20+IgM+ по сравнению с группой контроля ($p<0,05$) (табл. 4.1.2.). Значение данного параметра у первобеременных с угрозой прерывания не имело статистически значимых различий по сравнению с женщинами основной и контрольной групп. Также отмечалась выраженная тенденция к снижению относительного содержания зрелых CD20+IgG+ В-лимфоцитов в основной группе по сравнению с контролем ($p>0,05$). Содержание зрелых В-лимфоцитов, оцениваемых по экспрессии IgD, не имело значимых различий между группами.

Таблица 4.1.2.

Особенности содержания CD20+IgM+, CD20+IgG+ и CD19+IgD+ В-лимфоцитов в периферической крови у женщин обследуемых групп

Показатель, % (M ± SD)	Контрольная группа (n=24)	Основная группа (n=52)	Группа сравнения (n=27)
CD20+IgM+ в популяции CD20+ клеток	29,50±13,53	40,42±17,72 p=0,035	36,77±14,95
CD20+IgG+ в популяции CD20+ клеток	8,0±6,64	5,04±3,81 p=0,08	6,01±3,21
CD19+IgD+ в популяции CD19+ клеток	74,30±5,54	73,21±8,78	68,97±10,80

p – уровень статистической значимости различий показателей женщин с ПНБ по сравнению с показателями группы контроля.

Зрелые наивные В-лимфоциты, имеющие нормальную экспрессию рецепторов к BAFF и APRIL, являются первой линией защиты организма от патогенов [73]. Анализ относительного содержания периферических зрелых наивных IgD+CD27- В-клеток в пуле CD19+ показал, что в группах женщин с угрозой прерывания беременности значения исследуемого показателя было

значимо ниже аналогичных показателей группы контроля ($p < 0,05$) (табл.4.1.3).

В-клетки памяти предназначены для распознавания и иммунного реагирования при повторном контакте с антигеном, после чего происходит дифференцировка их в плазмоциты. Относительное содержание периферических клеток памяти, оцениваемое по экспрессии CD27, было выше среди женщин с угрозой прерывания беременности по сравнению с контролем, как в основной группе, так и в группе сравнения ($p < 0,05$).

В пуле CD19+ CD27+ клеток мы оценили соотношение переключенных и непереключенных клеток памяти по различной экспрессии IgD: Нами было выявлено значимое повышение CD19+ CD27+ IgD+ В-лимфоцитов у женщин с привычным невынашиванием и первобеременных с угрозой прерывания по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$). Количество переключенных В-клеток памяти (CD19+CD27+IgD-) в исследуемых группах значимых различий не имело ($p > 0,05$ во всех случаях).

Таблица 4.1.3.

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 в популяции CD19+ клеток	62,71±6,83	45,70±13,84 p₁=0,04	51,18±9,69 p₂=0,014
CD19+IgD±CD27+ Клетки памяти в популяции CD19+ клеток	32,67±6,05	47,21±15,24 p₁=0,047	43,99±7,99 p₂=0,006
CD19+IgD+CD27+ Непереключенные клетки памяти в популяции CD19+ клеток	11,53±2,9	24,62±14,37 p₁=0,044	17,79±7,22 p₂=0,038
CD19+IgD-CD27+ переключенные клетки памяти в популяции CD19+ клеток	21,18±4,53	22,60±6,74	26,21±8,61

p_1 - уровень статистической значимости различий показателей женщин с ПНБ по сравнению с показателями группы контроля, p_2 - уровень статистической значимости различий показателей женщин с группы сравнения по сравнению с контролем

Плазмоциты являются зрелыми высокоэффекторными клетками адаптивного иммунитета, основной функцией которых является выработка антител. Анализ данных, характеризующих особенности дифференцировки периферических плазмоцитов показал, что относительное содержание клеток с фенотипом CD19+CD20-CD38+ клеток у женщин с угрозой прерывания беременности и привычным невынашиванием было значительно ниже по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы и группы сравнения ($p < 0,05$ в обоих случаях) (табл. 4.1.4). В то же время, содержание плазматических клеток у первобеременных с угрозой прерывания в 2 раза превышало значения данного параметра в контрольной группе ($p < 0,05$).

Таблица 4.1.4.

Характер содержания CD19+CD20- CD38+ плазматических В-лимфоцитов в периферической крови женщин обследуемых групп

Показатель,% (M ± SD)	Контрольная группа (n=30)	Основная группа (n=56)	Группа сравнения (n=31)
CD19+ CD20-CD38+ в популяции CD19+ клеток	3,06±2,23	2,08±1,51 $p_1=0,046$ $p_2=0,018$	6,23±7,74 $p_3=0,006$

p_1 - уровень статистической значимости различий показателей женщин с ПНБ по сравнению с показателями группы контроля, p_2 - уровень статистической значимости различий показателей женщин с ПНБ и группы сравнения, p_3 - уровень статистической значимости различий показателей женщин группы сравнения и контроля

Таким образом, у женщин с угрожающим самопроизвольным выкидышем на момент обследования и привычным невынашиванием были зарегистрированы выраженные изменения дифференцировки В-лимфоцитов на системном уровне по сравнению с контролем: относительный В-клеточный лимфоцитоз за счет равномерного увеличения фракций В1- и В2-

клеток, преобладание незрелых форм В-лимфоцитов, выраженный дефицит плазматических и наивных клеток наряду с увеличением содержания клеток памяти за счет субпопуляции непереключенных клеток памяти.

Схожие изменения периферической дифференцировки В-клеточного звена по сравнению с контролем наблюдались и у женщин с угрожающим самопроизвольным выкидышем при первой беременности: уменьшение наивных В-клеток, увеличение фракции В1-лимфоцитов, увеличение содержания В-клеток памяти за счет непереключенной фракции и увеличение пула плазмоцитов при сопоставимым с контролем относительном содержании В-лимфоцитов.

4.2. Характеристика функциональных особенностей периферических В-лимфоцитов у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием беременности.

4.2.1. Особенности внутриклеточной продукции ИЛ-4, ИЛ-6 и ИЛ-10 В-лимфоцитами у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием беременности.

Важнейшими цитокинами В-звена иммунитета, являются ИЛ-4, ИЛ-6 и ИЛ-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 [150, 169].

При оценке содержания В-клеток с внутриклеточной продукцией ИЛ-4, ИЛ-6 и ИЛ-10 было выявлено, что количество ИЛ-4–продуцирующих В-лимфоцитов было сопоставимо во всех обследуемых ($p > 0,05$) (табл.4.2.1.). Анализ содержания ИЛ-6–продуцирующих В-лимфоцитов показал значимое снижение уровня клеток с фенотипом CD20+ИЛ-6+ среди женщин с угрозой

прерывания беременности, как у первобеременных, так и у женщин с привычным невынашиванием по сравнению с контролем ($p < 0,05$ во всех случаях).

Таблица 4.2.1.

Содержание IL4+, IL6+ и IL10+ клеток 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)
IL-4+ в популяции CD20+	3,23±1,02	3,24±1,04	3,59±1,34
IL-6+ в популяции CD20+	8,59±4,34	5,97±2,44 p₁=0,015	5,12±2,02 p₂=0,004
IL-10+ в популяции CD20+	10,77±6,01	5,43±2,83 p₁=0,002	7,13±3,72 p₂=0,044

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

Наиболее значимые изменения во внутриклеточной продукции цитокинов у женщин с угрозой прерывания беременности были выявлены при оценке содержания IL-10 продуцирующих В-клеток. Так, в группе женщин с привычным невынашиванием относительное содержание клеток с фенотипом CD20+IL-10+ было в 2 раза ниже значений данного показателя в группе контроля, аналогично данный показатель был значительно снижен и у первобеременных с угрозой прерывания ($p > 0,05$ во всех случаях).

По данным ретроспективного анализа исходов беременностей в обследуемых группах, было установлено, что женщины основной группы, с самопроизвольным прерыванием беременности до 22 недель имели выраженный дефицит клеток с фенотипом CD20+IL-10+ в периферической крови. Так, у женщин основной группы, чья беременность завершилась самопроизвольным выкидышем или неразвивающейся беременностью,

относительное содержание IL-10+ продуцирующих В-лимфоцитов составило $3,84 \pm 0,71$, что в 1,5 раза ниже значений данного параметра среди женщин, завершивших беременность родами ($p < 0,05$).

На основании полученных данных был разработан способ прогнозирования репродуктивных потерь в сроке до 22 недель беременности у женщин с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием в анамнезе (Патент РФ № 2746033 от 06.04.2021). Способ основан на определении уровня IL-10+ в пуле CD20+ В-лимфоцитов у женщин с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием в анамнезе. При относительном содержании IL-10+ клеток в пуле CD20+В-лимфоцитов равном или менее 4,5%, определенном в периферической крови в момент госпитализации в сроке 5-12 недель беременности, прогнозируется самопроизвольный выкидыш или неразвивающаяся беременность до 22 недель. Способ отличается высокой точностью - 87,9%, чувствительностью - 100% и специфичностью - 82,6%. AUC 0,961 (рис.1).

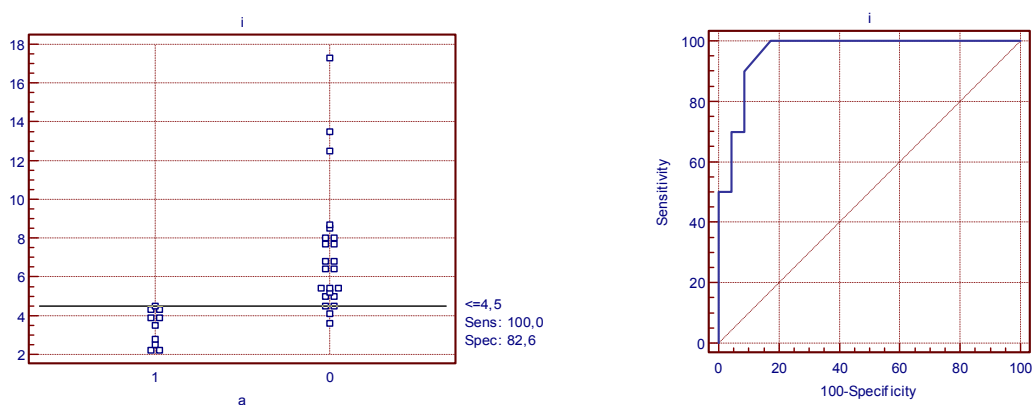


Рисунок 1. ROC-кривая чувствительности и специфичности показателя уровня IL-10 + клеток в пуле CD20+ В-лимфоцитов в периферической крови беременных женщин с ПНБ при самопроизвольном прерывании беременности.

Анализ относительного содержания секретирующих IL-10+ В-лимфоцитов среди первобеременных с угрозой прерывания в зависимости от исходов беременности не показал значимых различий ($p>0,05$).

4.2.2. Особенности антитело-продуцирующей и антиген-связывающей функций В-лимфоцитов у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием беременности

Выявленный нами ранее выраженный дефицит плазматических клеток у женщин с привычным невынашиванием позволяет предположить существенные нарушения иммуноглобулин-синтезирующей функции у данной категории женщин, и напротив, повышение плазмоцитов в группе первобеременных с угрозой прерывания, может свидетельствовать о повышенной готовности к антителообразованию. Для проверки этих гипотез мы оценили сывороточное содержание иммуноглобулинов классов А, М, G среди женщин обследуемых групп.

Анализ полученных данных показал, что в уровни IgA и IgM не имели значимых различий среди обследуемых во всех группах ($p>0,05$) (табл 4.2.2.), а повышение сывороточной концентрации IgG среди женщин основной группы по сравнению с контролем и группой сравнения носило лишь характер тенденции ($p=0,08$).

Таблица 4.2.2.

Особенности сывороточного содержания IgA, IgM, IgG у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием

Показатель, г/л (M ± SD)	Контрольная группа (n=26)	Основная группа (n=47)	Группа сравнения (n=29)
IgA	2,72±1,19	2,69±1,04	2,54±1,41
IgM	2,88±0,80	2,86±0,66	2,71±0,90
IgG	16,97±3,70	18,37±7,01	15,09±7,50

В соответствии с полученными нами данными, изменения относительного содержания плазмоцитов у женщин с привычным невынашиванием и первобеременных с угрозой прерывания не привело к изменению иммуноглобулин-синтезирующей функции на системном уровне.

При оценке способности связывания антигенов антителами с образованием циркулирующих иммунных комплексов, нами также не было выявлено статистически значимых различий в сывороточном содержании ЦИК среди женщин обследуемых групп ($p > 0,05$) (табл. 4.2.3.).

Таблица 4.2.3.

Содержание циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием

Показатель, % (M ± SD)	Контрольная группа (n=25)	Основная группа (n=46)	Группа сравнения (n=22)
ЦИК	4,63±2,43	4,89±2,15	3,74±2,09

Таким образом, угрожающий выкидыш у женщин с привычным невынашиванием беременности ассоциирован с недостатком аутокринного регулирующего влияния IL-6 и IL-10 на дифференцировку периферических В-клеток. Выраженный дефицит клеток с фенотипом CD20+IL-10+ (4,5% и менее) с высокой точностью прогнозирует самопроизвольной прерывание беременности до 22 недель у данной категории пациенток. У первобеременных с угрозой прерывания зарегистрированы схожие, однако менее выраженные изменения функциональной активности В-лимфоцитов. Иммуноглобулин-синтезирующая и антитело-связывающая способности В-клеток на системном уровне у женщин с угрозой прерывания не изменялась.

4.3. Особенности регуляции функциональной активности и дифференцировки периферических В-лимфоцитов у женщин с угрозой прерывания беременности и привычным невынашиванием

4.3.1. Особенности рецепции BAFF и сывороточного содержания BAFF и APRIL у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием

BAFF является ключевым лигандом для выживания, пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов, начиная с самых ранних этапов. После связывания с BAFF-R, BAFF активирует протеинкиназу В (АКТ) и киназу, регулирующую внеклеточными сигналами (Erk), в первичных В-клетках, тем самым способствуя выживанию В-лимфоцитов [106]. APRIL регулирует функциональную активность и контролирует выживаемость В-клеток после встречи с антигеном, а также участвует в образовании и выживании долгоживущих плазматических клеток в костном мозге [209].

При анализе экспрессии BAFFR 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 остальными обследуемыми ($p=0,04$) (табл. 4.3.1.1). Сывороточное содержание BAFF у женщин основной группы напротив, было значительно снижено (1,2420 [1,0685-1,3855]) по сравнению с группами контроля (1,4480 [1,3050-1,6010]) ($p=0,02$) и сравнения (1,5505 [1,2520-1,8260]) ($p=0,016$) (рис.2).

Таблица 4.3.1.1

Особенности рецепции BAFFCD19+ В-лимфоцитами у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием

Показатель, % (M ± SD)	Контрольная группа (n=34)	Основная группа (n=65)	Группа сравнения (n=36)
CD19+BAFFR+, %	95,81±1,90	97,91±1,48 p=0,040	95,53±1,01

Примечание: p - это уровень статистической значимости различий между основной и контрольной группами

У первобеременных с угрозой прерывания количество CD19+BAFFR+ В-лимфоцитов было близко к значениям группы контроля, а сывороточное содержание BAFF напротив, повышалось ($p < 0,05$). При оценке содержания APRIL на системном уровне значимых различий между обследуемыми группами зарегистрировано не было (рис.2), однако имелась тенденция к снижению данного параметра в группе женщин с привычным невынашиванием (0,2308 [0,2151-0,2505]) по сравнению с показателями контрольной группы (0,25 [0,2355-0,3280]), и группы сравнения (0,2507 [0,2258-0,3329]) ($p > 0,05$).

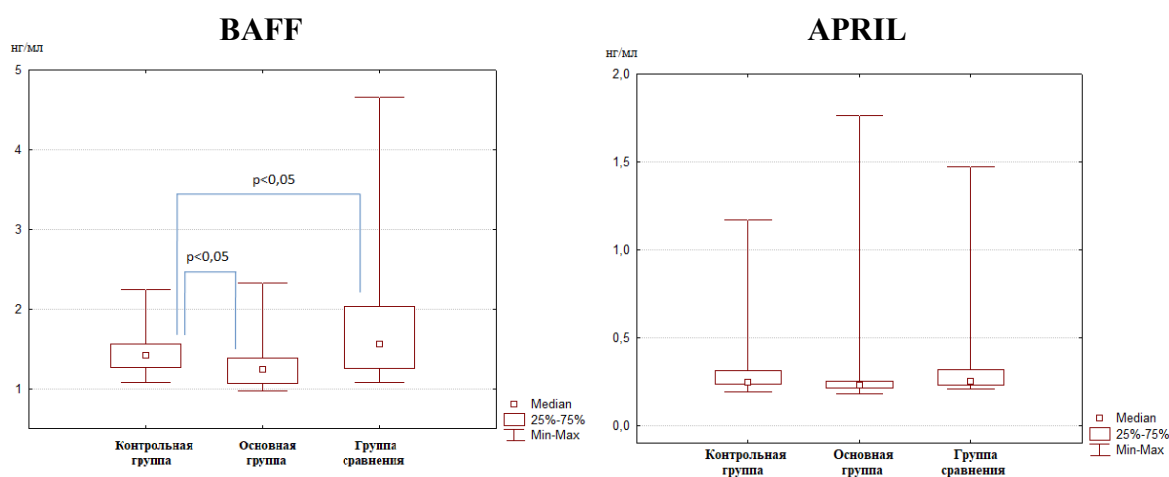


Рисунок 2. Особенности сывороточного содержания BAFF и APRIL у женщин обследуемых групп

4.3.2. Особенности экспрессии мРНК АКТ CD19+ В-лимфоцитами у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием

Уровень функциональной активности В-лимфоцитов, включая их пролиферацию, уход от апоптоза и синтез антител, можно оценить по включению внутриклеточного сигнального пути PI3K/АКТ/mTOR [106, 194].

При количественном анализе экспрессии мРНК АКТ в периферических В-клетках было установлено, что для женщин с угрожающим выкидышем, как у первобеременных, так и с привычным невынашиванием в анамнезе, характерно выраженное усиление синтеза АКТ по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Значимых различий в уровне экспрессии мРНК АКТ CD19+ лимфоцитами между группами с угрожающим самопроизвольным выкидышем не было ($p > 0,05$).

Таблица 4.3.2.1

Характеристика экспрессии мРНК АКТ в периферических CD19+ лимфоцитах у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием

Показатель, %	Контрольная группа (n=16)	Основная группа (n=16)	Группа сравнения (n=16)
мРНК АКТ, норм. кол-во копий пар нукл. *10 ⁴	0,006 [0,000-0,080]	0,093 [0,006-0,330] p₁=0,048	0,157 [0,141-0,375] p₂=0,011

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

При ретроспективном анализе исходов беременности среди женщин основной группы было выявлено, что уровень экспрессии мРНК АКТ в CD19+ В-лимфоцитах у женщин основной группы с самопроизвольным прерыванием беременности до 22 недель был резко снижен ($p < 0,05$). На основании полученных данных был выявлен дополнительный прогностический критерий, основанный на оценке уровня экспрессии мРНК АКТ в периферических CD19+ В-лимфоцитах у женщин с привычным невынашиванием в сроке 5-12 недель беременности. При ее значении равном или менее 0,0106 копий пар нуклеотидов*10⁴ прогнозировали

самопроизвольное прерывание беременности (самопроизвольный выкидыш и неразвивающуюся беременность) до 22 недель. Метод отличается высокой точностью – 83,3%, чувствительностью – 78,6%, специфичностью - 100%, AUC=0,839. Полученные данные представлены на рисунке 3.

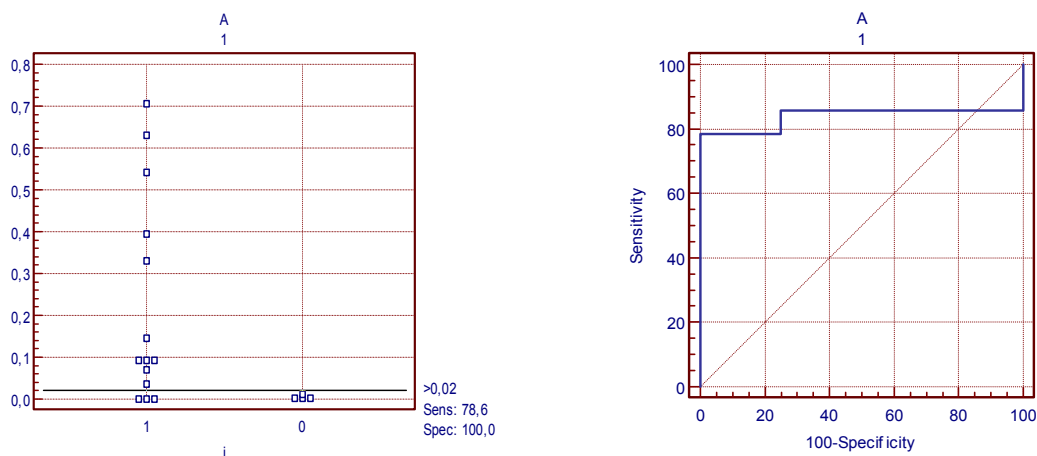


Рисунок 3. Особенности уровня экспрессии мРНК АКТ в CD19+ В-лимфоцитах у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием

Уровни экспрессии мРНК 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 непереклоченных клеток памяти наряду с увеличением циркулирующих незрелых форм В-лимфоцитов, а с другой стороны, выраженным дефицитом плазмоцитов, наивных клеток и В-лимфоцитов, внутриклеточно продуцирующих IL-6 и IL-10, на фоне снижения стимулирующего влияния BAFF и APRIL и в то же время, с повышенным уровнем синтеза АКТ и рецепции BAFF периферическими В-клетками.

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 уровня ВАFF и экспрессии мРНК АКТ в В-лимфоцитах.

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Привычное невынашивание беременности, несмотря на пристальное внимание ученых, по-прежнему является актуальной проблемой на современном этапе [48]. По данным различных авторов, в структуре невынашивания частота привычного невынашивания составляет от 5 до 20% [11, 43, 63, 77.]. Установлено, что риск потери желанной беременности после двух предшествующих самопроизвольных прерываний беременности возрастает более чем в 2 раза, а вероятность 3-го самопроизвольного выкидыша достигает 40-45 % [22, 77]. Женщины, страдающие от повторных репродуктивных потерь, представляют собой группу риска по развитию различных осложнений беременности, таких как плацентарная недостаточность, синдром задержки роста плода и хроническая гипоксия плода [67]. Каждая прервавшаяся беременность у пациенток с ПНБ негативно сказывается не только на состоянии репродуктивной системы женщины, но также наносит психологическую травму [54]. С каждой неудачной попыткой беременности усугубляются патологические процессы, приводящие к невынашиванию, что все больше затрудняет решение этой проблемы [54]. Механизмы ПНБ остаются не до конца ясными, хотя известно, что иммунологические факторы играют важную роль [24, 47, 60, 63, 115, 132, 168]. Известно, что В-клетки принимают активное участие в регуляции материнского иммунного ответа, но их роль при ПНБ изучена недостаточно.

Таким образом, уточнение особенностей дифференцировки и функциональной активности периферических В-лимфоцитов и их роли в иммунорегуляторных процессах при угрожающем выкидыше при ПНБ является актуальным, поскольку позволит раскрыть патогенез данного состояния и позволит разработать критерии прогноза исхода настоящей беременности.

На базах ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и ОБУЗ «Городская клиническая больница № 8» г. Иваново в 2018-2021г. было произведено полное клинико-лабораторное обследование 136 женщин в сроке беременности 5-12 недель. Выделены следующие группы:

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

Забор крови у женщин с угрозой прерывания беременности для иммунологических и общеклинических исследований производился в момент госпитализации до назначения сохраняющей терапии.

Критерии включения в исследование: пациентки с диагнозом привычный выкидыш: имеющие в анамнезе 2 и более самопроизвольных выкидыша (код по МКБ-Х: O26.2) и угрозой прерывания ранних сроков (код по МКБ-Х: O20.0); имеющие прогрессирующую одноплодную 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 активной инфекцией на момент

обследования; женщины с тяжелой экстрагенитальной патологией; выраженные аллергические реакции на момент обследования; женщины с аутоиммунными заболеваниями.

Женщины с привычным невынашиванием имели более старший средний возраст по сравнению с группами контроля и сравнения. Среди обследуемых основной группы встречалось больше женщин позднего репродуктивного возраста ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Кроме того, женщины с ПНБ имели супруга более старшего возраста по сравнению с контролем. Известно, что беременность, наступившая в позднем репродуктивном периоде, сама по себе является беременностью высокого риска и ассоциирована с высокими рисками развития не только хромосомных аномалий эмбриона, но также с осложнениями беременности, частота которых увеличивается пропорционально возрасту беременной [5, 32, 48]. С другой стороны, женщины основной группы имели более насыщенный репродуктивный анамнез, что может быть объяснением различий в возрасте.

Анализ анамнестических данных показал, что женщины с привычным невынашиванием достоверно чаще болели ветряной оспой в детстве по сравнению с остальными обследуемыми. Известно, что действие инфекционного фактора может приводить к неадекватному иммунному ответу материнского организма на имплантацию плодного яйца [63]. Все вирусы семейства *Herpesviridae* обладают выраженными иммуносупрессорным и онкогенным эффектами и способны к пожизненной персистенции в организме человека [44, 64]. Вирусная инфекция, вызванная *Varicella zoster*, могла оказать влияние на становление иммунитета в детстве, и привести впоследствии к неадекватному реагированию иммунокомпетентных клеток на патогены во взрослом возрасте и способствовать развитию вторичных иммунодефицитных состояний [16]. Таким образом, можно говорить о компрометации иммунитета женщин с ПНБ вирусным инфицированием.

В структуре экстрагенитальной патологии среди женщин с ПНБ преобладали заболевания щитовидной железы, связанные с ее гипо- и гиперфункцией, а также хронический цистит ($p < 0,05$ во всех случаях), что согласуется с данными литературы [6, 67, 89]. Нарушения в работе щитовидной железы могли в значительной степени влиять на наличие овуляции, менструальный ритм, фертильность и вынашивание беременности [89]. Нарушение менструальной функции по типу олигоменореи у женщин основной группы является возможным отражением нарушения функционирования щитовидной железы у данной категории пациенток.

Женщины с привычным невынашиванием чаще указывали на ИППП в анамнезе, хронический эндометрит, а также чаще страдали хроническим циститом. Таким образом, наши данные согласуются с установленным фактором риска инфекционного генеза ПНБ [33, 79, 87]. Длительная персистенции 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 предпосылки для возникновения первичной плацентарной недостаточности и прерыванию беременности [42, 72]. Кроме того, по данным ряда исследователей, хронический эндометрит создает предпосылки для развития недостаточности лютеиновой фазы менструального цикла [16, 18], что также косвенно могло отразиться на развитии нарушений менструального цикла по типу олигоменореи у женщин с ПНБ.

Частота выскабливаний полости матки в анамнезе у женщин основной группы составила 92,31% и была достоверно выше, чем у остальных обследуемых. Abrasio cavi uteri является инвазивной высокотравматичной манипуляцией и сопряжена с высоким риском осложнений, а также формированием и усугублением воспалительного процесса в эндометрии

[22]. Частота оперативных вмешательств на органах репродуктивной системы хоть и не имела достоверных различий между группами, однако в основной группе составила 33,9%, что превышает значения данного параметра в группе контроля в 2 раза, а группе сравнения в 6 раз. Вмешательства на органах брюшной полости и малого таза являются установленными фактором риска развития хронического эндометрита [17, 90], в связи с чем, роль травматического фактора на течение воспалительного процесса в репродуктивной системе не вызывает сомнений.

В соответствии с имеющимися данными, риск самопроизвольного прерывания существенно повышается после предшествующей потери беременности на раннем сроке [13]. Анализ репродуктивной функции показал, что женщины с ПНБ чаще имели в анамнезе неразвивающиеся беременности (70,77%) и самопроизвольные выкидыши (67,69%) по сравнению с остальными обследуемыми ($p < 0,05$ во всех случаях), что согласуется с данными многих авторов [7, 77].

Пациентки с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием в анамнезе 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.

Дискуссии в отношении инфекционного фактора в генезе невынашивания беременности не утихают по настоящее время [10]. Нет единого мнения о ключевой роли инфекционных агентов как при спорадическом невынашивании беременности, так и при привычном [33, 34, 45, 46, 57, 68, 79]. Нами не было установлено значимых различий в присутствии различных вариантов моно - и микст - вирусно-бактериального инфицирования на момент обследования и связи с исходом беременности среди обследуемых женщин. Однако, наличие IgM к ВПГ в сыворотке

периферической крови встречалось у 23,3% женщин основной группы, что явилось значимым фактором риска развития угрозы невынашивания по отношению к остальным обследуемым. Циркуляция антител к вирусным агентам в организме матери, в том числе и ВПГ, приводит к гиперкоагуляционным изменениям 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 [42]. ВПГ является причиной потери беременности в 10-13% случаев и выявляется в гистологическом исследовании последа и погибшего плода [51].

Активная герпетическая инфекция при беременности способствует сдвигу иммунного ответа в сторону Th 1, преобладанию провоспалительных цитокинов, в т.ч. ФНО- α и IFN γ , активации цитотоксических реакций в организме матери, следствием чего является апоптоз клеток трофобласта и тромбоз его сосудов за счет активации коагуляционных механизмов. Кроме того, повышенное количество ФНО- α , способствует усилению продукции простагландинов в амнионе и децидуальной оболочке, приводящее к маточным сокращениям [64].

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. Так, 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. Течение беременности женщин с ПНБ осложнилось угрожающим поздним

выкидышем (62,96%), угрозой преждевременных родов (30,77%) и развитием истмико-цервикальной недостаточности (17,31%), что может быть связано с действием инфекционного и травматического факторов.

Беременность женщин с привычным невынашиванием завершилась самопроизвольным прерыванием до 22 недель в 18,5% случаев: у 4,6% - самопроизвольным выкидышем, у 13,9% - неразвивающейся беременностью. Преждевременные роды в основной группе произошли в 13,5% случаев, из них «ранние» составили 7,7%, в срок 34-36 недель 6 дней – 5,7%. Своевременные роды произошли в 69,2% случаев. 46,1% женщин с привычным невынашиванием были родоразрешены через естественные родовые пути, 53,9% - путем операции кесарева сечения. Способ родоразрешения и показания к оперативному разрешению не отличались от таковых по сравнению с женщинами других групп. Роды женщин с ПНБ наиболее часто осложняло дородовое излитие околоплодных вод (в 21,25% случаев).

Средние длина и масса тела новорожденных в основной группе составила $50,19 \pm 3,91$ см и $3104,23 \pm 592,51$ г, соответственно, что достоверно отличалось от более высоких значений группы контроля ($p < 0,05$ во всех случаях) и обусловлено наличием преждевременных родов в данной группе. Средние оценки новорожденных от женщин всех исследуемых группы по шкале Апгар на 1 и 5 минуте были сопоставимы. Новорожденные от женщин с ПНБ чаще имели конъюгационную желтуху по сравнению с новорожденными группы контроля (22%).

Группа сравнения состояла из первобеременных женщин с угрозой прерывания беременности на момент осмотра и была набрана с целью уточнения патогенеза угрожающего выкидыша. В исследовании преобладали женщины до 25 лет (44,44%), реже относящихся к категории замужних по сравнению с остальными обследуемыми. Оценка соматического статуса и генитальной патологии достоверно не отличались от других групп. Женщины группы сравнения не имели выскабливаний полости матки в анамнезе.

Признаки угрозы прерывания беременности по данным клинико-инструментального обследования у женщин группы сравнения и пациенток с ПНБ были сопоставимы. Течение беременности женщин группы сравнения не отличалось по наличию осложнений от группы контроля.

Беременность женщин группы сравнения завершилась в 5,6% самопроизвольным выкидышем, в 22,2% - неразвивающейся беременностью, в 72,2% - родами в срок. Родоразрешение через естественные родовые пути было у 73,1% первобеременных с угрозой прерывания, что превышало значения данного параметра в основной группе ($p=0,018$), путем операции кесарева сечения у 26,9%. Показаниями к оперативному родоразрешению у первобеременных явились: некорригируемые аномалии родовой деятельности (11,5%), отягощенный ОАГА (7,7%), фетоплацентарная недостаточность (7,7%) клинический узкий таз (3,9%), тазовое предлежание плода (3,9%), симфизит (3,9%).

Частота маркеров вирусно-бактериального инфицирования у первобеременных с угрожающим выкидышем на момент обследования и в зависимости от исходов беременности не имела значимых различий по сравнению с другими группами. Состояние новорожденных при рождении и заболеваемость в группе сравнения достоверно не отличалось по сравнению с новорожденными других групп, однако частота выписки домой из родильного дома по сравнению с основной группой была больше и составляла 96,15% против 78%.

Беременность – уникальное состояние иммунологической толерантности материнского организма к отцовским антигенам плода. Для обеспечения реакций, сопровождающих процесс зачатия, имплантации, плацентации, роста плода, а также защиты его от патогенов требуется значительная адаптация материнской иммунной системы [26].

В-лимфоциты являются ключевыми участниками адаптивного иммунного ответа посредством синтезируемых антител и секретируемых цитокинов. В литературе имеются единичные данные об изменении общего

количества и субпопуляционного состава В-клеток у женщин с рецидивирующей потерей беременности. Известно, что при ПНБ отмечается аномальное увеличение относительного и абсолютного числа CD19+ В-клеток за счет фракции В1-лимфоцитов, во многом определяющих развитие аутоиммунных реакций [172, 207]. В то время как при физиологической беременности абсолютное число и доля циркулирующих CD5+ В-клеток значительно снижаются по сравнению с состоянием вне беременности [155, 204]. Эти данные свидетельствуют о том, что В-лимфоциты играют важную роль в иммунологической реактивности организма женщины в ответ на полуаллогенный трансплантат [114, 177], 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 оценке содержания лимфоцитов периферической крови было выявлено, что обследуемые женщины всех групп не имели отклонений от лабораторных референсных значений, однако относительное содержание лимфоцитов в основной группе достоверно превышало значения в группах контроля и сравнения ($p < 0,05$ во всех случаях).

При анализе относительного содержания В-лимфоцитов было установлено, что у женщин с ПНБ было увеличено содержание периферических В-клеток за счет равномерного увеличения как В1-, так и В2-субпопуляции, что может 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 [44]. Выявленное нами равномерное

увеличение В1- и В2 - не согласуется с имеющимися данными [172, 207], и возможно, обусловлено критерием исключения из нашего исследования женщин с аутоиммунной патологией.

При оценке относительного содержания В-клеток по степени зрелости нами было выявлено преобладание незрелых CD20+IgM+ клеток среди женщин с ПНБ по сравнению с таковым в контроле. Относительное содержание наивных клеток и плазмочитов было также значительно снижено. В то же время, наблюдались выраженные изменения в соотношении субпопуляций клеток памяти: относительное содержание клеток памяти в группе женщин с ПНБ увеличивалось за счет фракции непереключенных В-лимфоцитов, что согласуется с данными литературы [95]. Уровень переключенных клеток памяти значимых различий по сравнению с остальными обследуемыми не имел.

Плазмочиты являются зрелыми высокоэффекторными формами В-лимфоцитов, основной функцией которых является синтез антител. Формирование плазматических клеток происходит на этапе герминативного В-клеточного созревания. Непереключенные клетки памяти при повторном контакте с антигеном проходят этапы «дозревания» в зародышевых центрах, в результате чего происходит образование долгоживущих плазмочитов и переключенных клеток памяти [159, 185]. Преобладание незрелых форм В-лимфоцитов, выраженный дефицит плазматических клеток и повышенное содержание непереключенных В-клеток памяти на системном уровне 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 IgA, М и G антител, а также антиген-связывающей функции по наличию ЦИК среднего размера у женщин с ПНБ нами не было выявлено значимых различий между обследуемыми группами.

Анализ факторов регуляции дифференцировки и функциональной активности В-лимфоцитов показал, что у женщин с ПНБ было

зарегистрировано снижение сывороточной концентрации BAFF, а также относительного содержания CD20+IL-6+, CD20+IL-10+ клеток. BAFF способствует выживанию и созреванию В-клеток, в частности плазмоцитов [104-109]. Однако данные литературы свидетельствуют о развитии реакций аутоиммунитета за счет высокого уровня BAFF, дальнейшей избыточной активации В-клеток и, как следствие, повышенного образования плазмоцитов [105]. Данные о содержании BAFF при ПНБ носят единичный характер: установлено, что у пациенток с повторным самопроизвольным выкидышем уровень BAFF в децидуальной оболочке и трофобласте был существенно снижен по сравнению с параметрами здоровых беременных [133]. Выявленный нами дефицит BAFF на системном уровне может являться причиной нарушения дифференцировки плазмоцитов у женщин с ПНБ. Одновременное повышение экспрессии BAFFR+ на В-лимфоцитах у женщин с ПНБ может, с одной стороны, являться отражением реакций компенсации на сниженный уровень BAFF, а с другой – ускоренной его утилизацией.

Взаимодействие BAFF / BAFF-R активирует сигнальный путь PI3K-АКТ, что в последнее время привлекает к себе все большее внимание исследователей, поскольку он играет решающую роль в регуляции различных клеточных функций, включая метаболизм, рост, пролиферацию, выживание, транскрипцию и синтез белка [106,194]. PI3K / АКТ / mTOR - один из наиболее часто изменяемых путей, связанных со злокачественными новообразованиями человека, а также с реакциями отторжения аллотрансплантата [107]. Выявленная нами повышенная экспрессия мРНК АКТ в периферических CD19+ В-лимфоцитах у женщин с ПНБ может быть обусловлена активацией и повышенной готовностью к изменениям дифференцировки и функциональной активности В-клеток. Уровень экспрессии мРНК АКТ в CD19+ В-клетках у женщин с ПНБ, чья беременность завершилась самопроизвольным прерыванием, был резко снижен ($p < 0,05$), что может свидетельствовать о нарушении процессов

активации и выражаться в угнетении выработки антител и выживаемости В-клеток у данной категории пациенток.

На основании проведенного ROC-анализа был выявлен дополнительный прогностический критерий неблагоприятного исхода беременности в сроке до 22 недель у женщин с ПНБ: при пороговом значении уровня экспрессии мРНК АКТ в периферических CD19+ В-лимфоцитах 0,0106 или менее копий пар нуклеотидов* 10^4 прогнозировали самопроизвольный выкидыш и неразвивающуюся беременность до 22 недель. Метод отличается высокой точностью – 83,3 %, чувствительностью – 78,6%, специфичностью - 100%.

Важнейшими цитокинами В-звена иммунитета, оказывающими аутокринное регулирующее влияние на дифференцировку В-клеток, являются IL-6 и IL-10. Действие IL-6 направлено на активацию пролиферации активированных антигеном В-лимфоцитов, стимуляцию переключения изотипов иммуноглобулинов и синтез антител [102, 108]. IL-10 способствует процессу созревания плазматических клеток, предотвращает апоптоз В-лимфоцитов [105, 169]. Снижение В-клеток, внутриклеточно продуцирующих IL-6 и IL-10 у женщин с ПНБ, могло негативным образом сказаться на образовании плазмоцитов.

В литературе накапливается все больше данных о влиянии Breg на иммунный ответ у женщин с ПНБ. Клетки Breg представляют собой субпопуляцию иммуносупрессивных В-клеток, регулирующих чрезмерное воспаление за счет высвобождения IL-10, который, в свою очередь, индуцирует дифференцировку регуляторных Т-клеток, ингибирует провоспалительные реакции и увеличивает выработку IgG4, а также подавляет активацию тучных клеток и выработку цитокинов [103]. Имеются данные, что количество Breg увеличивается в первом триместре беременности, подавляя тем самым нежелательные иммунные ответы материнских эффекторных Т-клеток. В то время как было выявлено, что у женщин, перенесших самопроизвольный выкидыш, имелось значительно

более низкое содержание Vreg по сравнению с женщинами, имеющими неосложненную беременность в первом триместре [103]. Фенотипы Vreg различны, однако данные ряда авторов свидетельствуют о Vreg как о IL-10 - продуцирующих В-лимфоцитах [147]. Установленное нами снижение уровня CD20+IL-10+, по-видимому, обусловило снижение содержания IL-10 у женщин с ПНБ, что могло ослабить супрессорное действие IL-10 на выраженность цитотоксических реакций материнского иммунитета на продукты зачатия. При анализе исходов беременностей у женщин обследуемых групп мы выявили, что у женщин с ПНБ, беременность которых завершилась самопроизвольным прерыванием до 22 недель, содержание CD20+IL-10+ в периферической крови было ниже среднего по группе в 1,5 раза.

Проведенный ROC-анализ позволил выявить у женщин с ПНБ пороговые значения содержания В-клеток, внутриклеточно продуцирующих IL-10. При значении показателя, равном или менее 4,5 %, прогнозируется самопроизвольное прерывание беременности до 22 недель с высокой точностью - 87,9%, чувствительностью - 100% и специфичностью - 82,6%. (Патент РФ № 2746033, 06.04.2021, Способ прогнозирования репродуктивных потерь в сроке до 22 недель беременности у женщин с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием в анамнезе).

В литературе имеются данные о том, что персистенция герпетической инфекции способна резко подавлять антиген-презентирующую способность В-лимфоцитов, и, как следствие, приводить к недостатку полноценной активации В2-лимфоцитов [127]. Также имеются данные об индукции апоптоза В-клеточного звена, обусловленной цитопатическим действием вируса простого герпеса [140]. Мы предполагаем, что рецидивирующая герпетическая инфекция у женщин с ПНБ может быть ассоциирована с нарушениями дифференцировки В-лимфоцитов, а также с реализацией патогенных свойств ВПГ на фоне сниженной иммунной защиты материнского организма.

При анализе дифференцировки периферических В-лимфоцитов у первобеременных с угрозой прерывания относительное содержание В-лимфоцитов было сопоставимым по сравнению с контролем, однако регистрировалось повышенное содержание В1-субпопуляции, что согласуется с данными литературы [207], и позволяет предположить наличие аутоиммунного компонента в генезе угрозы прерывания у данной категории пациенток. У первобеременных с угрожающим выкидышем были отмечены сходные с пациентками основной группы по сравнению с контролем изменения дифференцировки В-клеточного звена в виде уменьшения количества наивных В-клеток, увеличение В-клеток памяти за счет непереключенной фракции, а также клеток с фенотипом CD20+IL-6+ и CD20+IL-10+. Полученные данные могут свидетельствовать о наличии сходства в патогенезе угрозы прерывания, как у женщин с ПНБ, так и при угрозе спорадического выкидыша.

Вместе с тем, в группе сравнения относительное содержание плазмоцитов значительно превышало значения данного параметра как в основной группе, так и в контрольной. В то же время, сывороточный уровень BAFF также был существенно повышен в группе сравнения, по сравнению с обследуемыми других групп. Мы предполагаем, что угроза прерывания беременности у первобеременных была ассоциирована с усиленной дифференцировкой плазмоцитов за счет избыточного стимулирующего влияния BAFF, что могло привести к избыточному воспалительному иммунному ответу со стороны материнского организма на эмбриональные антигены. Кроме того, выявленный нами недостаток В-лимфоцитов с регуляторными свойствами может приводить к ослаблению иммуносупрессорного влияния на нежелательные реакции эффекторных Т-лимфоцитов материнского организма на продукты зачатия.

Выявленное увеличение синтеза АКГ в периферических CD19+ лимфоцитах у первобеременных с угрозой прерывания по сравнению с контролем также может объясняться повышенной готовностью к

дифференцировке В-клеточного звена и, возможно усилением реакций отторжения [107]. Кроме того, нами не было отмечено действия инфекционного фактора на течение беременности у женщин группы сравнения.

Суммируя полученные данные, можно сделать вывод, что механизм развития угрозы прерывания при первой беременности и у женщин с ПНБ хоть и имеет общие черты, различен, и связан с более выраженными изменениями характера дифференцировки В-лимфоцитов на системном уровне у женщин с ПНБ (см. рис.4). Сходные изменения в субпопуляционном составе и функциональной активности периферических В-лимфоцитов среди женщин с угрозой прерывания беременности заключаются в снижении наивных клеток, IL-6 и IL-10 продуцирующих лимфоцитов наряду с увеличением клеток памяти за счет непереключенной фракции и повышенной экспрессии мРНК АКТ.

У женщин с угрожающим выкидышем на момент обследования и ПНБ в анамнезе наблюдались относительный В-клеточный лимфоцитоз с преобладанием незрелых форм В-клеток наряду с выраженным дефицитом высокоэффекторных субпопуляций В-клеток. Отмеченные изменения могут быть обусловлены нарушениями в герминативном В-клеточном созревании и дефицитом стимулирующих влияний на дифференцировку плазмоцитов со стороны IL-6, IL-10 и BAFF на системном уровне. Отягчающим моментом на дифференцировку В-лимфоцитов выступает действие инфекционного фактора у женщин с ПНБ: хронический системный и локальный воспалительный процесс могли обуславливать еще больший сдвиг в сторону провоспалительных реакций материнского организма в ответ на эмбриональные антигены, обострение герпетической инфекции могло способствовать усилению проапоптотических реакций в отношении В-клеток. Преобладание незрелых форм, недостаток плазмоцитов и В-лимфоцитов с регуляторными свойствами могли привести к неадекватному иммунному реагированию иммунной системы материнского организма на

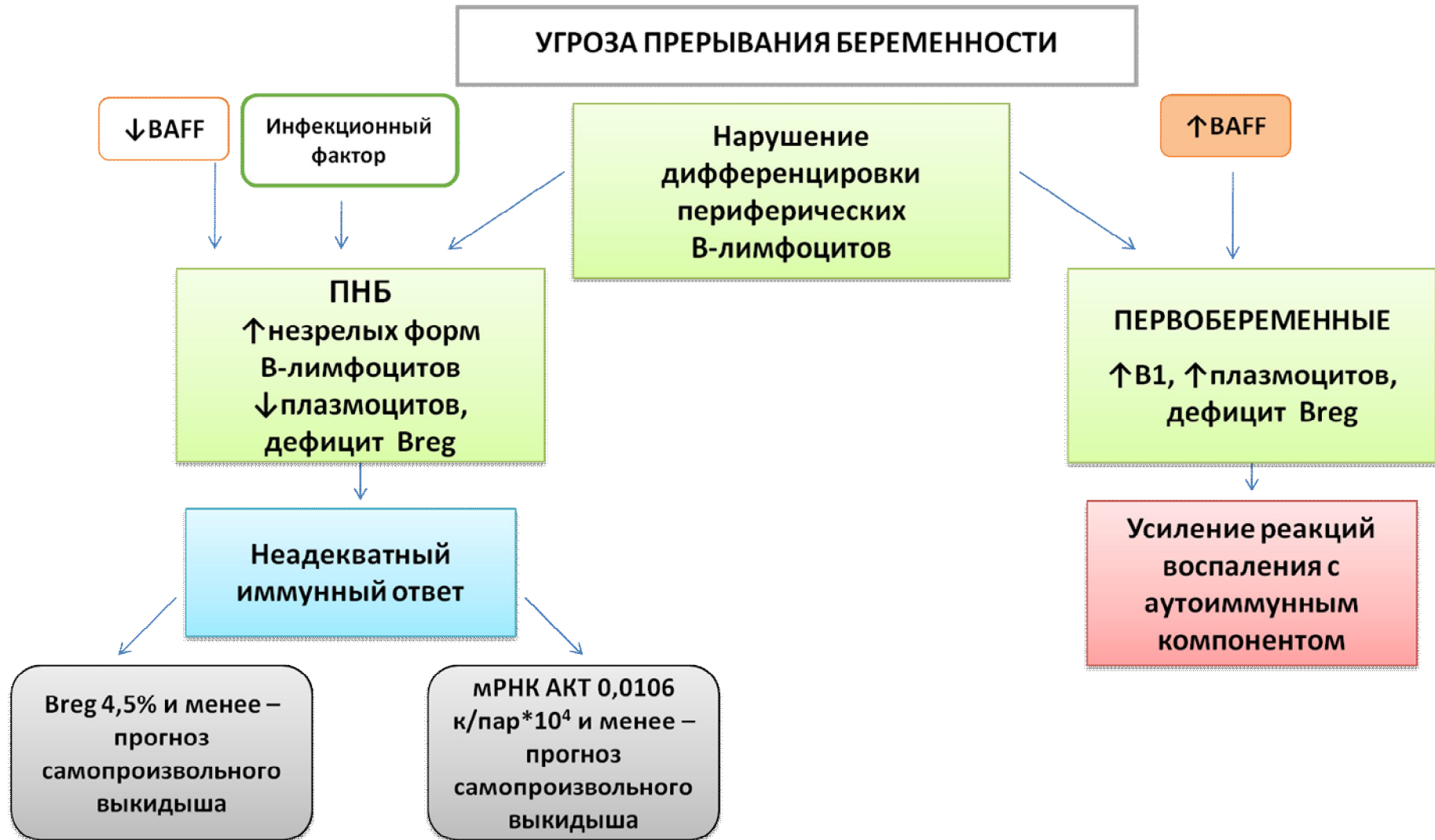
полуалогенный плод, а при выраженном дефиците CD20+IL-10+ и резком снижении экспрессии мРНК АКТ - к крайней степени декомпенсации и самопроизвольному выкидышу у женщин с ПНБ.

По нашим данным, женщины с ПНБ представляют собой особую категорию женщин, иммунная система которых с детства подвергалась компрометации вирусных инфекционных агентов, и по мере взросления стимулировалась персистенцией системного и локального воспаления. Эти факторы могли привести к неадекватному иммунному ответу женщин основной группы на продукты зачатия.

Отличительными чертами изменений дифференцировки В-клеточного звена у первобеременных с угрожающим выкидышем явились: увеличение В1-субпопуляции, а также сдвиг дифференцировки В-клеточного звена иммунитета в сторону зрелых высокоэффекторных форм, предположительно обусловленный дифференцировкой плазмоцитов «напрямую», за счет стимулирующего влияния BAFF, не затрагивая герминативные этапы развития. Выявленные изменения предполагают в качестве механизма угрожающего выкидыша усиление системных воспалительных реакций материнского организма на продукты зачатия с выраженным аутоиммунным компонентом.

Таким образом, природа иммунных механизмов при угрозе прерывания беременности отличается у женщин с ПНБ и у первобеременных. В первом случае отмечается неадекватный иммунный ответ, а во втором усиленное развитие воспалительных реакций с аутоиммунным компонентом.

Рисунок 4. Схема возможных патогенетических механизмов невынашивания беременности у женщин с ПНБ и при первой беременности



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 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 неблагоприятного исхода 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 $0,0106 \text{ к/пар} \cdot 10^4$ 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 ведении данной категории пациентов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФС – антифосфолипидный синдром

ВПГ – вирус простого герпеса

ВУИ – внутриутробное инфицирование

ЗРП – задержка роста плода

ИППП – инфекции, передающиеся преимущественно половым путем

мАТ – моноклональное антитело

ПНБ – привычное невынашивание беременности

ПОНРП – преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты

РНК – рибонуклеиновая кислота

ФДК – фолликулярные дендритные клетки

ФНО – фактор некроза опухоли

ХЭ – хронический эндометрит

ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы

ЦМВ – цитомегаловирус

АКТ – протеинкиназа В

APRIL – лиганд, индуцирующий пролиферацию

BAFF – фактор активации В-лимфоцитов

BAFFR – рецептор фактора активации В-лимфоцитов

BCR – В-клеточный рецептор

Breg – регуляторные В-лимфоциты

CD – кластер дифференцировки

HLA – человеческий лейкоцитарный антиген

IFN – интерферон

Ig – иммуноглобулин

IL – интерлейкин

MHC – главный комплекс гистосовместимости

MZB – В-клетки маргинальной зоны

NK-клетки – естественные киллерные клетки

PI3K/AKT/mTOR – внутриклеточный сигнальный путь

Tfh – фолликулярные Т-хелперы

Th – Т-хелпер

TNF – фактор некроза опухолей

Treg – регуляторные Т-клетки

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллаева, Л. Х. Роль В-лимфоцитов и аутоантител в развитии наружного генитального эндометриоза и связанного с ним бесплодия: авторефер. дис. ... к-та мед.наук / Абдуллаева Лейла Хосровна. – Иваново, 2018. – 22 с.
2. Абусуева, З. А. Реабилитация после прерывания неразвивающейся беременности: изменение цитокинового статуса в динамике различных методов терапии / З. А. Абусуева, М. И. Омарпашаева, Т. Х. Хашаева // Безопасность здоровья человека. – 2018. – № 1. – С. 6–17.
3. Агабабян, Л. Р. Основные причины привычной потери беременности /Л. Р. Агабабян, Л. М.Абдуллаева, Д. С. Султанова //International scientific review. – 2020. – №. LXX.
4. Аномалии развития половых органов и беременность / Н. А. Воронцова [и др.] // Глобус. – 2020. – № 2(48). – С. 8–11.
5. Баландина, А. О. Сравнительная характеристика клинических показателей течения беременности у несовершеннолетних и женщин позднего репродуктивного возраста в перинатальном центре оренбургской областной клинической больницы № 2 / А. О. Баландина, Ю. Ю. Иванова, Н. А. Воронцова // Прорывные научные исследования как двигатель науки: сборник статей Международной научно-практической конференции (20 апреля 2018 г, г. Тюмень). Ч. 2. – Уфа: АЭТЕРНА, 2018. – С. 184–187.
6. Бахарева, И. В. Заболевания щитовидной железы и их влияние на течение беременности / И. В. Бахарева // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2013. – Т. 13, № 4. – С. 38–44.
7. Беляева, М. А. Клинико-иммунологические взаимосвязи при привычном невынашивании беременности и методы их коррекции (обзор) / М. А. Беляева, С. А. Бобров, С. В. Лапин // Вестник Северо-Западного

- государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2015. – № 7(3). – С. 118–123.
8. Биржанова, Г. Т. Мировые тренды в обследовании и терапии привычного невынашивания беременности / Г. Т. Биржанова, Х. М. Бикташева // Репродуктивная медицина. – 2018. – № 3. – С. 46–50.
9. Бойко, В. И. Профилактика невынашивания беременности у женщин с врожденными аномалиями развития матки / В. И. Бойко, Ю. С. Волина-Стаخورная // Здоровье женщины. – 2017. – № 7(123). – С. 93.
10. Бондаренко, К. Р. Современные аспекты лечения отдельных урогенитальных инфекций при беременности / К. Р. Бондаренко, Ю. Э. Доброхотова // РМЖ. Мать и дитя. – 2019. – Т. 2. – № 3. – С. 168-172. – DOI 10.32364/2618-8430-2019-2-3-168-172.
11. Борзова, Н. Ю. Привычный выкидыш: новые подходы в лечении / Н. Ю. Борзова, Н. И. Иваненкова, А. И. Малышкина // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2016. – Т. 16, № 5. – С. 42–45.
12. Волков, В. Г. Структура невынашивания беременности ранних сроков / В. Г. Волков, Л. В. Пичугина // Исследования и практика в медицине. – 2017. – Т. 4. – № S2. – С. 37.
13. Выкидыш в ранние сроки беременности: диагностика и тактика ведения / Л. В. Адамян, Н. В. Артымук, Т. Е. Белокриницкая [и др.] // Проблемы репродукции. – 2018. – Т. 24. – № S6. – С. 338-357.
14. Генетические аспекты идиопатической формы привычного невынашивания беременности. Обзор литературы / Г. С. Святова [и др.] // Наука и здравоохранение. – 2019. – № 4. – С. 37–49.
15. Гинекология: национальное руководство. 2-е изд. / под ред. Г. М. Савельевой, Г. Т. Сухих, В. Н. Серова, И. Б. Манухина, В. Е. Радзинского. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 1048 с.
16. Данусевич, И. Н. Состояние эндокринной и иммунной систем у женщин с хроническим эндометритом и репродуктивными нарушениями / И. Н.

Данусевич // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – № 8-3. – С. 108-111.

17. Данусевич, И. Н. Факторы риска развития хронического эндометрита у женщин с репродуктивными нарушениями / И. Н. Данусевич // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2013. – № 4(92). – С. 111-114.

18. Данусевич, И. Н. Цитокино-гормональные взаимодействия при хроническом эндометрите у женщин с репродуктивными нарушениями / И. Н. Данусевич // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2015. – Т. 14. – № 4. – С. 42-48.

19. Ди Ренцо, Дж. К. Прерывание беременности: что мы можем сделать для профилактики? / Д. К. Ди Ренцо, Ю. Э. Доброхотова, Э. А. Маркова // РМЖ. Мать и дитя. – 2020. – Т. 3. – № 4. – С. 267-274.

20. Динамика субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у пациенток с привычным выкидышем аллоиммунного генеза в течение беременности / Н. К. Тетруашвили, Л. В. Кречетова, В. А. Сарибегова [и др.] // Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение. – 2017. – № 4(18). – С. 28-36.

21. Дифференцировка В-лимфоцитов и продукция аутоантител при эндометриозе / Ю. С. Анциферова, А. И. Малышкина, Л. Х. Абдуллаева, А. К. Красильникова // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19. – № 5. – С. 251.

22. Доброхотова, Ю. Э. Безопасное опорожнение матки при неразвивающейся беременности. Наши возможности сегодня / Ю. Э. Доброхотова, И. Ю. Ильина, Д. А. Михнева // РМЖ. Мать и дитя. – 2017. – Т. 25. – № 26. – С. 1983-1985.

23. Захаров, С. М. Гиперкоагуляционные состояния и беременность / С. М. Захаров, М. А. Чечнева, Т. С. Будыкина // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2019. – Т. 19. – № 1. – С. 33-37.

24. Значимость оценки экспрессии CD69 лимфоцитами периферической крови для прогноза исходов беременности у женщин с привычным выкидышем / Л. В. Кречетова, В. В. Вторушина, Л. В. Ванько [и др.] // Биомедицинская химия. – 2020. – Т. 66. – № 6. – С. 477-484.
25. Иванова, И. А. Анализ факторов риска развития герпетической инфекции у беременных / И. А. Иванова // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2012. – Т. 2. – № 11. – С. 839.
26. Иммунологическая загадка беременности / Н. Ю. Сотникова [и др.]; под ред. Н. Ю. Сотниковой. – Иваново: Изд-во МИК, 2005. – 276 с
27. Иммуноterapia при привычном выкидыше, обусловленном аллоиммунными причинами / В. А. Сарибегова, Н. К. Тетруашвили, Л. В. Кречетова, А. А. Агаджанова // Гинекология. – 2017. – Т. 19. – № 1. – С. 51-55.
28. Каусова, Г. К. К проблеме невынашивания беременности у женщин / Г. К. Гаусова, Т. М. Файзрахманова // Вестник Казахского Национального медицинского университета. – 2017. – № 4. – С. 1–3.
29. Козырева, Е. В. Хронический эндометрит в аспекте бесплодия и невынашивания беременности / Е. В. Козырева, Л. Ю. Давидян, В. В. Кометова // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2017. – № 2. – С. 56–62.
30. Комилжанова, Д. К. Роль антифосфолипидного синдрома в профилактике невынашивания беременности / Д. К. Комилжанова // Биология и интегративная медицина. – 2017. – №5. – С. 21–27.
31. Левкович, М. А. Иммунологические предикторы невынашивания беременности в I триместре / М. А. Левкович, Д. Д. Нефедова, Т. Г. Плахотя // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. LXVI, спецвыпуск. – С. 38–39.
32. Мазин, П. В. Медико-логические аспекты современных технологий контроля рождаемости / П. В. Мазин // Евразийский Союз Ученых. – 2018. – № 2-2 (47). – С. 26–30.

33. Макаров, И. О. Особенности прегравидарной подготовки у женщин с инфекционным генезом невынашивания беременности / И. О. Макаров, Н. А. Шешукова, Т. В. Овсянникова // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2011. – № 5(1). – С. 5–8.
34. Макаров, О. В. Значение исследования околоплодных вод в диагностике состояния плода при внутриутробной инфекции / О. В. Макаров, И. В. Бахарева, Л. С. Идрисова // Рос. вестник акуш.-гинекол. – 2004. – № 4. – С. 24-29.
35. Мамедалиева, Н. М. К вопросам прегравидарной подготовки у женщин с инфекционным генезом невынашивания беременности (обзор литературы) / Н. М. Мамедалиева, Г. Н. Мошкалова, З. Е. Ержан // Вестник Казахского Национального медицинского университета. – 2014. – № 2(2). – С. 13–15.
36. Менжинская, И. В. Характеристика аутоантител к прогестерону у женщин с ранней потерей беременности / И. В. Менжинская, Л. В. Ванько // Российский аллергологический журнал. – 2017. – Т.14, № 1S. – С. 90–93.
37. Милованов, А. П. Депортированный синцитиотрофобласт и плацентарные микрочастицы в организме матери при нормальной беременности и преэклампсии (28 лет спустя) / А. П. Милованов, И. Н. Волощук // Архив патологии. – 2017. – Т. 79. – № 1. – С. 61-67.
38. Мовсесян, М. Х. Взаимоотношения антител к тиреопероксидазе и тиреоглобулину с системой хорионического гонадотропина человека и их роль в невынашивании беременности / М. Х. Мовсесян, А. О. Торосян // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирёва. – 2017. – № 4(2). – С. 131–136.
39. Муртазалиева, А. В. Анализ частоты полиморфных вариантов генов иммунной системы, ассоциированных с идиопатической формой привычного невынашивания беременности, в казахской популяции / А. В. Муртазалиева, Г. С. Святова, Г. М. Березина // Медицинская генетика. – 2020. – Т. 19. – № 11(220). – С. 85-86.

40. Невынашивание беременности. Новый взгляд на проблему / Ж. А. Эльжорукаева, А. А. Михельсон, А. А. Григорянц, Е. А. Зосимова // Таврический медико-биологический вестник. – 2016. – Т. 19. – № 2. – С. 172–175.
41. Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)»: Приказ Министерства здравоохранения РФ N 572н от 1 ноября 2012 г. – URL: <https://base.garant.ru/70352632/>. (дата обращения: 05.04.2021).
42. Озолия, Л. А. Коррекция изменений гемостаза при привычном невынашивании беременности на фоне хронической вирусной инфекции / Л. А. Озолия, Н. Р. Овсепян // Медицинский совет. – 2017. – № 13. – С. 110–117.
43. Особенности гистологического строения трофобласта и ворсин хориона при рецидивирующей потере беременности у пациенток с тромбофилиями / А. И. Мирон, О. Н. Харкевич, О. Е. Голофаст, И. Б. Глуховец // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2017. – № 25(4). – С. 621–641.
44. Особенности иммунного статуса беременных с герпесвирусной инфекцией / Т. Н. Савченко [и др.] // Фарматека. – 2017. – № 12(345). – С. 46–50.
45. Особенности микрофлоры влагалища в первом триместре у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе / А. А. Синякова, Е. В. Шипицына, О. В. Будилова [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2018. – Т. 67. – № 5. – С. 32–41.
46. Особенности прегравидарной подготовки у женщин с привычным невынашиванием / О. В. Носкова, А. В. Чурилов, В. В. Свиридова [и др.] // Вестник гигиены и эпидемиологии №2 2018. – 2021. – Т. 25. – № 1. – С. 83–86.
47. Особенности регуляции Fas-зависимого апоптоза при привычном невынашивании беременности ранних сроков / Н. Ю. Сотникова, А. И.

Малышкина, Н. В. Крошкина, Н. В. Батрак // Российский иммунологический журнал. – 2017. – Т. 11(20), № 3. – С. 510–512.

48. Особенности течения раннего неонатального периода у новорождённых от матерей с угрозой прерывания беременности / И. И. Логвинова [и др.] // Многопрофильный стационар. – 2019. – Т. 6. – № 2. – С. 230-232.

49. Петропольская, С. А. Факторы формирования психологического состояния женщин с невынашиванием беременности / С. А. Петропольская, И. В. Завгородняя // Семья в современном мире: Сборник трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Курск: Курский государственный медицинский университет, 2017. – С. 303–307.

50. Полушкина, Е. С. Роль дидрогестерона в привычном невынашивании беременности / Е. С. Полушкина, Р. Г. Шмаков // Медицинский совет. – 2020. – № 3. – С. 74–77.

51. Попова, А. Ф. Клинические и лабораторные аспекты герпетической инфекции у пациенток с невынашиванием беременности / А. Ф. Попова, В. Л. Пастушенков // Журнал акушерства и женских болезней. – 2010. – Т. LIX, № 6. – С. 58–68.

52. Препараты магния в комплексном лечении невынашивания беременности / Ю. Э. Доброхотова, О. В. Кузнецова, Л. Е. Мезенцева, Л. В. Попова // РМЖ. Мать и дитя. – 2017. – Т. 25. – № 2. – С. 116-120.

53. Привычное невынашивание беременности в современном мире (обзор литературы) / А. Л. Унанян, Л. Г. Пивазян, А. А. Закарян [и др.] // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. – 2021. – Т. 8. – № 1. – С. 12-19.

54. Привычное невынашивание беременности: социальная проблема, медицинские решения / С. И. Михалевич, А. Н. Гришкевич, Т. В. Марковская, Л. Г. Гракович // Медицинские новости. – 2012. – № 2. – С. 12–18.

55. Применение антитромботических препаратов при беременности и лактации: взгляд кардиолога/ревматолога (обзор литературы) / А. Э. Багрий, О. А. Приколота, Е. В. Щукина [и др.] // Медицинский совет. – 2018. – № 6. – С. 19–25.
56. Проблемы организации предгравидарной подготовки и ведения беременности у женщин с привычным невынашиванием в структуре первичной медико-санитарной помощи / Э. А. Вартамян, О. В. Гриднев, А. В. Белостоцкий, Е. В. Песенникова // Исследования и практика в медицине. – 2016. – № 3(4). – С. 27–32.
57. Профилактика и лечение невынашивания беременности у женщин с воспалительными процессами гениталий в анамнезе / Т. В. Лисовская, Е. А. Захарченко, В. П. Ворона, А. П. Задорожня // Украинский морфологический альманах имени профессора В.Г. Ковешникова. – 2017. – Т. 15. – № 2. – С. 83–84.
58. Прохоренко, Н. Ф. Демографический вызов России: рациональные решения и готовность системы общественного здоровья / Н. Ф. Прохоренко, А. Б. Гинойн // ОРГЗДРАВ: новости, мнения, обучение. Вестник ВШОУЗ. – 2018. – № 4(14). – С. 28–52.
59. Расширенный анализ В-клеток у пациенток с привычным невынашиванием беременности / И. Л. Батурина, В. А. Маркова, Ю. В. Логинова [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2016. – Т. 10(19). – № 3. – С. 219–220.
60. Роль CD178+ мононуклеарных клеток в развитии угрожающего позднего выкидыша у женщин с угрозой прерывания беременности в I триместре и привычным невынашиванием в анамнезе / Н. В. Батрак, А. И. Малышкина, Н. Ю. Сотникова, Н. В. Крошкина // Акушерство и гинекология. – 2020. – № 5. – С. 70–77.
61. Роль взаимодействия экстраклеточных микровезикул трофобласта с клетками иммунной системы и эндотелия в патогенезе преэклампсии / Г. О.

- Керкешко, А. В. Корневский, Д. И. Соколов, С. А. Сельков // Медицинская иммунология. – 2018. – Т. 20. – № 4. – С. 485-514.
62. Роль естественных киллеров (NK-клеток) в репродуктивных потерях / А. О. Агнаева, О. Н. Беспалова, Д. И. Соколов [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66. – № 3. – С. 143–156.
63. Роль иммунных механизмов в патогенезе невынашивания беременности / Доброхотова Ю.Э., Бахарева И.В., Малушенко С.В [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2016. – №7. – С. 5-10.
64. Савченко, Т. Н. Особенности иммунопатогенеза герпесвирусных инфекций во время беременности (обзор литературы) / Т. Н. Савченко, М. И. Агаева, И. А. Дергачева // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2014. – № 4. – С. 18-21.
65. Самигуллина, А. Э. Невынашивание беременности: частота и тенденции / А. Э. Самигуллина, А. А. Бообокова, А. К. Кушубекова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2019. – № 1. – С. 87–92.
66. Семейство В-лимфоцитов и их функции / А. В. Москалев, Б. Ю. Гумилевский, А. В. Апчел, В. Н. Цыган // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2019. – № 3(67). – С. 189-194.
67. Сидельникова, В. М. Привычная потеря беременности / В. М. Сидельникова. – М.: Триада-Х, 2005. – 304 с.
68. Синякова, А. А. Современные представления о микробиоценозе влагалища и его влиянии на исходы беременности / А. А. Синякова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66. – №. 6.
69. Современные причины привычного невынашивания беременности / Н. В. Хворик, И. Б. Живолевская, С. С. Купрашевич, С. М. Лущик // Актуальные проблемы медицины: сборник материалов итоговой научно-практической конференции, 24 января 2020 г. / Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Учреждение образования "Гродненский государственный

- медицинский университет"; редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.), С. Б. Вольф, М. Н. Курбат. – Гродно, 2020. – С. 739–742.
70. Соловьева, А. Оценка состояния эндометрия у женщин с привычным невынашиванием / А. Соловьева, К. Ермоленко, О. Герасимова // Врач. – 2018. – № 29(1). – С. 48–51.
71. Соснова, Е. А. Патофизиологическая роль свободнорадикальных процессов при невынашивании беременности / Е. А. Соснова, С. Б. Болевич., М. Ш Покаленьева // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. – 2016. – № 3(3). – С. 136–140.
72. Сравнительная морфология ворсинчатого хориона 5-12 недель беременности при хроническом эндометрите, осложненном привычным невынашиванием, и искусственных абортах / Л. П. Перетятко, Н. В. Фатеева, Р. А. Кузнецов, А. И. Малышкина // Таврический медико-биологический вестник. – 2017. – Т. 20, № 2(2). – С. 98–103.
73. Субпопуляции В-лимфоцитов: функции и молекулярные маркеры / А. А. Лушова [и др.] // Иммунология. – 2019. – № 40(6). – С. 63–76.
74. Терапия привычного выкидыша микронизированным прогестероном (результаты многоцентрового исследования ТРИСТАН-1) / Г. М. Савельева [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2017. – № 11. – С. 44–55.
75. Тетруашвили, Н. К. Ведение пациенток с одно- и многоплодной беременностью и привычным выкидышем в анамнезе / Н. К. Тетруашвили, А. А. Агаджанова // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2018. – № 2(20). – С. 52–57.
76. Тетруашвили, Н. К. Дидрогестерон в лечении угрожающего и привычного выкидыша / Н. К. Тетруашвили, А. А. Агаджанова // Медицинский совет. – 2018. – № 13. – С. 68-72.
77. Тетруашвили, Н. К. Привычный выкидыш / Н. К. Тетруашвили // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2017. – № 4(18). – С. 70–87.

78. Течение и исходы беременности у женщин с идиопатическим привычным выкидышем при использовании иммуноцитотерапии / В. А. Сарибегова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2017. – № 8. – С. 68–73.
79. Тулупова, М. С. Роль урогенитальной инфекции в проблеме невынашивания беременности по Приморскому краю / М. С. Тулупова // Дальневосточный медицинский журнал. – 2008. – № 3. – С. 54–56.
80. Факторы риска и иммунологические механизмы угрозы прерывания беременности ранних сроков и привычного невынашивания / Н. В. Батрак, А. И. Малышкина, Н. Ю. Сотникова, Н. В. Крошкина. – Иваново: Акционерное общество «Ивановский издательский дом». – 2020. – 120 с.
81. Факторы, влияющие на развитие невынашивания беременности / Э. З. Иругова [и др.] // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. – 2019. – № 1. – С. 92–96.
82. Фримель, Г. Иммунологические методы / Г. Фримель. – М.: Медицина, 1987. – 472 с.
83. Фролова, М. В. Характеристика периферических В-лимфоцитов у женщин при беременности, осложненной задержкой роста плода: автореф. дис. ... к-та мед. наук / Фролова Мария Викторовна. – Иваново, 2017. – 24 с.
84. Фролова, М. В. Особенности продукции и рецепции BAFF при беременности, осложненной задержкой роста плода / М. В. Фролова // Российский иммунологический журнал. – 2016. – Т.10(19), №2(1). – С. 215–216.
85. Фролова, М. В. Характер дифференцировки В-лимфоцитов и особенности инфекционного статуса женщин с задержкой роста плода / М. В. Фролова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2016. – Т. 65. – № S1. – С. 29-30.
86. Хромосомные aberrации как причина привычного невынашивания беременности / И. Н. Фетисова [и др.] // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2019. – Т. 24, № 4. – С. 39–43.

87. Хронический эндометрит: состояние изученности проблемы / Ю. Э. Доброхотова, Е. И. Боровкова, В. С. Скальная, И. М. Боровков // Гинекология. – 2019. – Т. 21. – № 5. – С. 49-52.
88. Чешик, С. Г. Цитомегаловирусная инфекция и спонтанные аборт у женщин в I и II триместрах беременности / С. Г. Чешик, Л. Б. Кистенева // Вопросы вирусологии. – 2016. – № 61(2). – С. 74–78.
89. Щербаков, А. Ю. Роль тиреоидных гормонов в функционировании репродуктивной системы женщин / А. Ю. Щербаков, Т. А. Меликова, Д. Н. Шаповал // Міжнародний медичний журнал. – 2018. – Т. 24, № 1(93). – С. 51–54.
90. Юрасов И. В., Пестрикова Т. Ю. Воспалительные заболевания органов малого таза: современные аспекты тактики // Дальневосточный медицинский журнал. – 2013. – №. 1. – С. 130-133.
91. A defined metabolic state in pre B cells governs B-cell development and is counterbalanced by Swiprosin-2/EFhd1 / M. Stein [et al.] // Cell Death Differ. – 2017. – Vol. 24, № 7 – P. 1239-1252.
92. Alteration of BAFF and APRIL in the cerebrospinal fluid based on the therapeutic response in primary central nervous system B-cell lymphoma / J. Ikeda [et al.] // J Clin Neurosci. – 2020. – Vol. 81. – P. 72–75.
93. An APRIL-based chimeric antigen receptor for dual targeting of BCMA and TACI in multiple myeloma / L. Lee [et al.] // Blood. – 2018. – Vol. 131, № 7. – P. 746–758.
94. APRIL and BAFF: novel biomarkers for central nervous system lymphoma / M. Mulazzani [et al.] // Journal of hematology & oncology. 2019. – Vol. 12, № 1. – P. 102.
95. Are uterine natural killer and plasma cells in infertility patients associated with endometriosis, repeated implantation failure, or recurrent pregnancy loss? / N. Freitag [et al.] // Arch Gynecol Obstet. – 2020. – Vol. 302, № 6. – P. 1487–1494.

96. Association between HLA-E gene polymorphism and unexplained recurrent spontaneous abortion (RSA) in Iranian women / M. Fotoohi [et al.] // *Int J Reprod Biomed.* – 2016. – Vol. 14, № 7. – P. 477–482.
97. Association between Peripheral CD19+ B Cells and Reproductive Outcome in Women with Recurrent Implantation Failure / W. Tu [et al.] // *Clin Lab.* – 2020. – Vol. 66, № 1.
98. Association between polycystic ovary syndrome and the risk of pregnancy complications: A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis / H. F. Yu, H. S. Chen, D. P. Rao, J. Gong // *Medicine (Baltimore).* – 2016. – Vol. 95, № 51. – P. e4863.
99. Association of adiponectin gene variants with idiopathic recurrent miscarriage according to obesity status: a case-control study / M. Dendana [et al.] // *Journal of translational medicine.* – 2018. – Vol. 16, № 1. – P. 76.
100. B cell activation factor (BAFF) induces inflammation in the human fallopian tube leading to tubal pregnancy / J. Xu [et al.] // *BMC Pregnancy Childbirth.* – 2019. – Vol. 19, № 1. – P. 169.
101. B Cell Development and Maturation / Y. Wang, J. Liu, P. D. Burrows, J. Y. Wang // *Adv Exp Med Biol.* – 2020. – Vol. 1254. – P. 1–22.
102. B cell-derived IL-6 initiates spontaneous germinal center formation during systemic autoimmunity / T. Arkatkar [et al.] // *J Exp Med.* – 2017. – Vol. 214, № 11. – P. 3207–3217.
103. B Regulatory Cells: Players in Pregnancy and Early Life / A. Esteve-Solé [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2018. – Vol. 19, № 7. – P. 2099.
104. BAFF Expression is Modulated by Female Hormones in Human Immune Cells / M. N. Drehmer [et al.] // *Biochem Genet.* – 2016. – Vol. 54, № 5. – P. 722–730.
105. BAFF inhibition attenuates fibrosis in scleroderma by modulating the regulatory and effector B cell balance / T. Matsushita [et al.] // *Science advances.* – 2018. – Vol. 4, № 7. – P. eaas9944.

106. BAFF promotes proliferation of human mesangial cells through interaction with BAFF-R / N. Zheng [et al.] // *BMC Nephrol.* – 2015. – Vol. 16. – P.72.
107. BAFF promotes T cell activation through the BAFF-BAFF-R-PI3K-Akt signaling pathway / S. Hu [et al.] // *Biomed Pharmacother.* – 2019. – Vol. 114. – P. 108796.
108. BAFF, IL-4 and IL-21 separably program germinal center-like phenotype acquisition, BCL6 expression, proliferation and survival of CD40L-activated B cells in vitro / M. J. Robinson [et al.] // *Immunol Cell Biol.* – 2019. – Vol. 97, № 9. – P. 826–839.
109. BAFF/APRIL System Is Functional in B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia in a Disease Subtype Manner / E. Sevdali [et al.] // *Front Oncol.* – 2019. – Vol. 9. – P. 594.
110. Balancing Proliferation with Ig kappa Recombination during B-lymphopoiesis / K. M. Hamel, M. Mandal, S. Karki, M. R. Clark // *Front Immunol.* – 2014. – Vol. 5. – P. 139.
111. Boomsma, C. M. Pregnancy complications in women with polycystic ovary syndrome / C. M. Boomsma, B. C. Fauser, N. S. Macklon // *Semin. Reprod. Med.* – 2008. – Vol. 26. – P. 72–84.
112. Boots, C. Does obesity increase the risk of miscarriage in spontaneous conception: a systematic review / C. Boots, M. D. Stephenson // *Semin Reprod Med.* – 2011. – Vol. 29. – P. 507–513.
113. Boyum, A. A one-stage procedure for isolation of granulocytes and lymphocytes from human blood. General sedimentation properties of white blood cells in a 1g gravity field / A. Boyum // *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* – 1968. – Vol. 97. – P. 51–76.
114. Bulmer, J.N. Immune cells in the placental bed / J.N. Bulmer, P.J. Williams, G.E. Lash // *Int J Dev Biol.* – 2010. – Vol.54, № 2-3. – P. 281-94.
115. Causes of recurrent miscarriage after spontaneous pregnancy and after in vitro fertilization / J. P. Bilibio [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* – 2020. – Vol. 83, № 5. – P. e13226.

116. CD19⁺CD24^{hi}CD38^{hi} B cells maintain regulatory T cells while limiting TH1 and TH17 differentiation / F. Flores-Borja [et al.] // *Sci Transl Med.* – 2013. – Vol. 5, № 173. – P. 173ra23.
117. CD19⁺CD5⁺ cells as indicators of preeclampsia / F. Jensen[et al.] // *Hypertension.* – 2012. Vol.59, № 4. – P. 861-8.
118. Change of serum B-cell activating factor level in patients with positive antiphospholipid antibodies and previous adverse pregnancy outcomes and its significance / X. Y. Li, H. J. Duan, X. Y. Liu, X. L. Deng // *Chin Med J (Engl).* – 2020. – Vol. 133, № 19. – P. 2287–2294.
119. Characterization of murine amniotic fluid B cells in normal pregnancy and in preterm birth / I. Bommer[et al.] // *Reproduction.* – 2019. - Vol.158, №4.–P. 369-376.
120. Chomczynski, P. A single step method of RNA isolation by acid and guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction / P. Chomczynski, N. Sacchi // *Anal. Biochem.* – 1987. – № 162. – P. 156–159
121. Comparative incidence of pregnancy outcomes in treated obstetric antiphospholipid syndrome: the NOH-APS observational study / S. Bouvier [et al.] // *Blood.* – 2014. – Vol. 123. – P. 404–413.
122. Comparing the Frequency of CD4⁺T Cells in Recurrent Spontaneous Abortion Women with and without Anti-thyroid Peroxidase (TPO) / P. Basimi [et al.] // *Iran J Allergy Asthma Immunol.* – 2020. – Vol. 19, № 1. – P. 65–73.
123. Corey, L. Herpes simplex inhibits the capacity of lymphoblastoid B cell lines to stimulate CD4⁺ T cells / L. Corey // *J Immunol.* – 2001. – Vol. 166, № 10. – P. 6242–6249.
124. Decreased expression of the vitamin D receptor in women with recurrent pregnancy loss / X. Yan [et al.] // *Arch Biochem Biophys.* – 2016. – Vol. 606. – P. 128–133.
125. Decreased HLA-C1 alleles in couples of KIR2DL2 positive women with recurrent pregnancy loss / X. Yang [et al.] // *J Reprod Immunol.* – 2020. – Vol. 142. – P. 103186.

126. Dendritic cells and B cells maximize mucosal Th1 memory response to herpes simplex virus / N. Iijima [et al.] // *J Exp Med.* – 2008. – Vol. 205, № 13. – P. 3041–3052.
127. Differential roles of B cells and IFN- γ -secreting CD4⁺ T cells in innate and adaptive immune control of genital herpes simplex virus type 2 infection in mice / Harandi A. M. [et al.] // *Journal of General Virology.* – 2001. – T. 82. – №. 4. – C. 845-853.
128. Epidemiological features of chronic endometritis in reproductive age women with disorders of reproductive health / V. Sklyarova [et al.] // *Georgian Medical News.* – 2020. – Vol. 7-8 (304-305). – P. 27–32.
129. ESHRE Guideline Group on RPL et al. ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss // *Human reproduction open.* – 2018. – Vol. 2018, № 2. – C. hoy004.
130. Essential role for autophagy in the maintenance of immunological memory against influenza infection / M. Chen [et al.] // *Nat Med.* – 2014. – Vol. 20. – P. 503–510.
131. Evaluation of peripheral and uterine immune status of chronic endometritis in patients with recurrent reproductive failure / Y. Li [et al.] // *Fertil Steril.* – 2020. – Vol. 113, № 1. – P. 187–196.e1.
132. Evaluation of T cell cytokines and their role in recurrent miscarriage / S. Ali, S. Majid, M. Niamat Ali, S. Taing // *Int Immunopharmacol.* – 2020. – Vol. 82. – P. 106347.
133. Expression of BAFF in the trophoblast and decidua of normal early pregnant women and patients with recurrent spontaneous miscarriage / W. J. Guo [et al.] // *Chin Med J (Engl).* – 2008. – Vol. 121, № 4. – P. 309–315.
134. Fausses couches précoces récurrentes inexplicées :quelle est la place de l'immunomodulation ? [Unexplained recurrent early miscarriages: Role of immunomodulation?] / A. Mekinian [et al.] // *Rev Med Interne.* – 2017. – Vol. 38, № 4. – P. 264–268.

135. Functional Roles of the IgM Fc Receptor in the Immune System / H. Kubagawa [et al.] // *Front Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 945.
136. Genetic determinants of adiponectin regulation revealed by pregnancy / M. F. Hivert [et al.] // *Obesity.* – 2017. – Vol. 25. – P. 935–944.
137. Grimstad, F. Immunogenetic contributions to recurrent pregnancy loss / F. Grimstad, S. Krieg // *J Assist Reprod Genet.* – 2016. – Vol. 33(7). – P. 833–847.
138. Gsk3 is a metabolic checkpoint regulator in B cells / J. Jellusova [et al.] // *Nat Immunol.* – 2017. – Vol. 18. – P. 303–312.
139. Guzman-Genuino, R. M. Regulatory B Cells: Dark Horse in Pregnancy Immunotherapy? / R. M. Guzman-Genuino, J. D. Hayball, K. R. Diener // *J Mol Biol.* – 2021. – Vol. 433, № 1. – P. 166596.
140. Han J. Y. et al. Apoptosis and antigen receptor function in T and B cells following exposure to herpes simplex virus // *Virology.* – 2007. – T. 359. – №. 2. – C. 253-263.
141. Heizmann, B. Ikaros is absolutely required for pre-B cell differentiation by attenuating IL-7 signals / B. Heizmann, P. Kastner, S. Chan // *J Exp Med.* – 2013. – Vol. 210. – P. 2823–2832.
142. Hendricks, J. Heterogeneity of Memory Marginal Zone B Cells / J. Hendricks, N. A. Bos, F. Kroese // *Critical reviews in immunology.* – 2018. – Vol. 38, № 2. – P. 145–158.
143. Herzog, S. Regulation of B-cell proliferation and differentiation by pre-B-cell receptor signalling / S. Herzog, M. Reth, H. Jumaa // *Nat Rev Immunol.* – 2009. – Vol. 9. – P.195–205.
144. HLA class II polymorphisms and recurrent spontaneous abortion in a Southern Brazilian cohort / E. P. Bompeixe [et al.] // *Int J Immunogenet.* – 2013. – Vol. 40, № 3. – P. 186–191.
145. Hoffman, W. B Cells, Antibodies, and More / W. Hoffmann, F. G. Lakkis, G. Chalasani // *Clin J Am Soc Nephrol.* – 2016. – Vol. 11. – P. 137–154.

146. Human CD38^{hi}CD138⁺ plasma cells can be generated in vitro from CD40-activated switched-memory B lymphocytes / R. I. Maïga, G. Bonnaure, J. T. Rochette, S. Néron // *J Immunol Res.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 635108.
147. IL-10-producing B cells play important role in the pathogenesis of recurrent pregnancy loss / S. Danaii [et al.] // *International immunopharmacology.* – 2020. – Vol. 87. – P. 106806.
148. IL-10-producing regulatory B cells are decreased in patients with psoriasis / M. Hayashi [et al.] // *J Dermatol Sci.* – 2016. – Vol. 81, 2. – P. 93–100.
149. Implication of HLA-G 5' upstream regulatory region polymorphisms in idiopathic recurrent spontaneous abortions / D. Agrawal [et al.] // *Reprod Biomed Online.* – 2015. – Vol. 30, 1. – P. 82–91.
150. Interleukin types and its application / J. Arokiaraj J. [et al.] // *Indian Journal of Allergy, Asthma and Immunology.* – 2020. – T. 34. – №. 2. – C. 57.
151. Ionescu, L. Memory B Cells and Long-lived Plasma Cells / L. Ionescu, S. Urschel // *Transplantation.* – 2019. – Vol. 103(5). – P. 890–898.
152. Jellusova, J. The PI3K pathway in B cell metabolism / J. Jellusova, R. C. Rickert // *Crit Rev Biochem Mol Biol.* – 2016. – Vol. 51. – P. 359–378.
153. Lipid-antigen presentation by CD1d(+) B cells is essential for the maintenance of invariant natural killer T cells / A. Bosma [et al.] // *Immunity.* – 2012. – Vol. 36, № 3. – P. 477–490.
154. Liquid-based endometrial cytology using SurePath™ is not inferior to suction endometrial tissue biopsy for detecting endometrial malignancies: Midterm report of a multi-centre study advocated by Japan Association of Obstetricians and Gynecologists / Y. Hirai [et al.] // *Cytopathology.* – 2019. – Vol. 30. – P. 223.
155. Lymphocyte subpopulation frequency and presence of anti-cardiolipin and anti-nuclear antibodies in peripheral blood of Kuwaiti women experiencing recurrent pregnancy loss / F Mahmoud [et al.] // *J Obstet Gynaecol.* – 2001. Vol. 21. – P. 587–590.

156. Magliozzi, R. The BAFF / APRIL system as therapeutic target in multiple sclerosis / R. Magliozzi, D. Marastoni, M. Calabrese // *Expert Opin Ther Targets*. – 2020. – Vol. 24, 11. – P. 1135–1145.
157. Marchetti, T. Obstetrical antiphospholipid syndrome: from the pathogenesis to the clinical and therapeutic implications / T. Marchetti, M. Cohen, P. de Moerloose // *Clin. Dev. Immunol.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 159124.
158. Marginal zone B cells emerge as a critical component of pregnancy well-being / D. O. Muzzio [et al.] // *Reproduction*. – 2016. – Vol. 151, № 1. – P. 29–37.
159. Marginal-Zone B-Cells Are Main Producers of IgM in Humans, and Are Reduced in Patients With Autoimmune Vasculitis / D. Appelgren, P. Eriksson, J. Ernerudh, M. Segelmark // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 2242.
160. Maternal Immunological Adaptation During Normal Pregnancy / B. Abu-Raya, C. Michalski, M. Sadarangani, P. M. Lavoie // *Front Immunol.* – 2020. – Vol. 11. – P. 575197.
161. Maternal Serum B Cell activating factor in hypertensive and normotensive pregnancies / J. Tay [et al.] // *Pregnancy Hypertens.* – 2018. – Vol. 13. – P. 58–61.
162. Matjila, M. J. Medical conditions associated with recurrent miscarriage-Is BMI the tip of the iceberg? / M. J. Matjila, A. Hoffman, Z. M. van der Spuy // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2017. – Vol. 214. – P. 91–96.
163. Matsushita, T. Regulatory and effector B cells: Friends or foes? / T. Matsushita // *J Dermatol Sci.* – 2019. – Vol. 93, 1. – P. 2–7.
164. Metabolic Reprogramming Commits Differentiation of Human CD27+IgD+ B Cells to Plasmablasts or CD27-IgD- Cells / M. Torigoe [et al.] // *J Immunol.* – 2017. – Vol. 199, 2. – P. 425–434.
165. Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphisms and Risk of Recurrent Pregnancy Loss: a Case-Control Study / K.R. Hwang [et al.] // *J Korean Med Sci.* – 2017. Vol. 32, № 12. – P. 2029-2034.
166. MHC-dependent inhibition of uterine NK cells impedes fetal growth and decidual vascular remodelling / J. Kieckbusch, L. M. Gaynor, A. Moffett, F. Colucci // *Nat Commun.* – 2014. – Vol. 5. – P. 3359.

167. Minard-Colin, M. V. Regulatory B cell production of IL-10 inhibits lymphoma depletion during CD20 immunotherapy in mice / M. V. Minard-Colin, T. Matsushita, T. F. Tedder // *J Clin Invest.* – 2011. – Vol. 121. – P. 4268–4280.
168. Modulatory effect of intravenous immunoglobulin on Th17/Treg cell balance in women with unexplained recurrent spontaneous abortion / K. P. Muyayalo, Z. H. Li, G. Mor, A. H. Liao // *Am J Reprod Immunol.* – 2018. – Vol. 80, 4. – P. e13018.
169. Moens, L. Cytokine-Mediated Regulation of Plasma Cell Generation: IL-21 Takes Center Stage / L. Moens, S. G. Tangye // *Front Immunol.* – 2014. – Vol. 5. – P. 65.
170. MTHFR C677T Polymorphism and factor V Leiden mutation are not associated with recurrent spontaneous abortion of unexplained etiology in Japanese women/ G. Kobashi [et al.] // *Semin Thromb Hemost.* – 2005. Vol. 31, № 3. – P. 266-71.
171. Nancy, P. T cell behavior at the maternal-fetal interface / P. Nancy, A. Erlebacher // *Int J Dev Biol.* – 2014. – Vol. 58, № 2-4. – P. 189–198.
172. Nguyen, T.G. To B or not to B cells-mediate a healthy start to life / T.G. Nguyen, C.M. Ward, J.M. Morris // *Clin Exp Immunol.* – 2013. –Vol. 171, № 2. – P. 124-34.
173. Obesity and recurrent miscarriage: A systematic review and meta-analysis / M. B. Cavalcante [et al.] // *J Obstet Gynaecol Res.* – 2019. – Vol. 45, 1. – P. 30–38.
174. Obstetric and vascular antiphospholipid syndrome: same antibodies but different diseases? / P. L. Meroni [et al.] // *Nat. Rev. Rheumatol.* – 2018. – Vol. 14. – P. 433–440.
175. Orchestrating B cell lymphopoiesis through interplay of IL-7 receptor and pre-B cell receptor signalling / M. R. Clark, M. Mandal, K. Ochiai, H. Singh // *Nat Rev Immunol.* – 2014. – Vol. 14. – P. 69–80.

176. Paradoxical role of Breg-inducing cytokines in autoimmune diseases / F. N. Mohd Jaya [et al.] // *Journal of translational autoimmunity*. – 2019. – Vol. 2. – P. 100011.
177. Peripheral blood T- and B-cell immunophenotypic abnormalities in selected women with unexplained recurrent miscarriage / J. Carbone [et al.] // *J Reprod Immunol*. – 2016. – Vol. 113. – P. 50–53.
178. Peripheral regulatory cells immunophenotyping in Primary Sjögren's Syndrome: a cross-sectional study / J. Furuzawa-Carballeda [et al.] // *Arthritis Res Ther*. – 2013. – Vol.15. – P. R68.
179. Phenotypic and functional heterogeneity of human memory B cells / I. Sanz, C. Wei, F. Lee E-H., J. Anolik // *Semin. Immunol*. – 2008. – Vol. 20, № 1. – P. 67–82.
180. Plasma cell alloantigen 1 and IL-10 secretion define two distinct peritoneal B1a B cell subsets with opposite functions, PC1^{high} cells being protective and PC1^{low} cells harmful for the growing fetus / A. Schumacher [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1045.
181. Pregnancy complications in women with polycystic ovary syndrome / S. Palomba [et al.] // *Hum Reprod Update*. – 2015. – Vol. 21, № 5. – P. 575–592.
182. Pregnancy outcomes in women with chronic endometritis and recurrent pregnancy loss / D. B. McQueen, C. O. Perfetto, F. K. Hazard, R. B. Lathi // *Fertil Steril*. – 2015. – Vol. 104, № 4. – P. 927–931.
183. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy / E. Cicinelli [et al.] // *Hum Reprod*. – 2015. – Vol. 30, № 2. – P. 323–330.
184. Prieto, J. M. B. Development, phenotype, and function of non-conventional B cells / J. M. B. Prieto, M. J. B. Felipe // *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. – 2017. – Vol. 54. – P. 38–44.
185. Purification and Characterization of Murine MZ and T2-MZP Cells / M. M. Rosado [et al.] // *Methods Mol Biol*. – 2021. – Vol. 2270. – P. 3–25.

186. Recurrent pregnancy loss / E. Dimitriadis [et al.] // *Nat Rev Dis Primers*. – 2020. – Vol. 6, № 1. – P. 98.
187. Recurrent pregnancy loss and vitamin D: A review of the literature / D. R. Gonçalves, A. Braga, J. Braga, A. Marinho // *Am J Reprod Immunol*. – 2018. – Vol. 80, № 5. – P. e13022.
188. Reduced frequency and functional defects of CD4⁺CD25^{high}CD127^{low}/regulatory T cells in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion / L. Luo [et al.] // *Reprod Biol Endocrinol*. – 2020. – Vol. 18, № 1. – P. 62.
189. Regulation of Humoral Immune Responses and B Cell Tolerance by the IgM Fc Receptor (Fc μ R) / J. Liu [et al.] // *Adv Exp Med Biol*. – 2020. – Vol. 1254. – P. 75–86.
190. Regulatory B Cells Are Decreased and Impaired in Their Function in Peripheral Maternal Blood in Pre-term Birth / M. Busse [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 386.
191. Regulatory T and T helper 17 cells: Their roles in preeclampsia / A. Hosseini [et al.] // *J Cell Physiol*. – 2018. – Vol. 233, № 9. – P. 6561–6573.
192. Relationship of chronic endometritis with chronic deciduitis in cases of miscarriage / S. Kaku [et al.] // *BMC Womens Health*. – 2020. – Vol. 20, № 1. – P. 114.
193. Risk factors and outcomes of recurrent pregnancy loss in Japan / K. Morita [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Res*. – 2019. – Vol. 45. – P. 1997–2006.
194. Role of PI3K/AKT pathway in cancer: the framework of malignant behavior / N. Jiang [et al.] // *Mol Biol Rep*. – 2020. Vol.47, № 6. – P. 4587-4629.
195. Role of the IgM Fc Receptor in Immunity and Tolerance / J. Liu [et al.] // *Front Immunol*. – 2019. – Vol. 10. – P. 529.
196. Sakai, J. The Role of BAFF System Molecules in Host Response to Pathogens / J. Sakai, M. Akkoyunlu // *Clin Microbiol Rev*. – 2017. – Vol. 30, № 4. – P. 991–1014.

197. Sakkas, L. I. Regulatory B cells in autoimmune rheumatic diseases / L. I. Sakkas // *Mediterranean journal of rheumatology*. – 2017. – Vol. 28, № 2. – P. 75–79.
198. Salvi, M. B cells in Graves' Orbitopathy: more than just a source of antibodies? / M. Salvi, D. Covelli // *Eye (London, England)*. – 2019. – Vol. 33, № 2. – P. 230–234.
199. Sammaritano, L. R. Antiphospholipid syndrome / L. R. Sammaritano // *Best Pract Res Clin Rheumatol*. – 2020. – Vol. 34, № 1. – P. 101463.
200. Seifert, H. A. Regulatory B cells in experimental stroke / H. A. Seifert, A. A. Vandembark, H. Offner // *Immunology*. – 2018. – Vol. 154, № 2. – P. 169–177.
201. Seifert, M. Human memory B cells / M. Seifert, R. Küppers // *Leukemia*. – 2016. – Vol. 30, № 12. – P. 2283–2292.
202. Selective advantage of HLA matching in successful uncomplicated oocyte donation pregnancies / L. E. Lashley, G. W. Haasnoot, M. Spruyt-Gerritse, F. H. Claas // *J Reprod Immunol*. – 2015. – Vol. 112. – P. 29–33.
203. Smulski, C. R. BAFF and BAFF-Receptor in B Cell Selection and Survival / C/ R/ Smulski, H. Eibel // *Frontiers in immunology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 2285.
204. Spontaneous abortions with increased CD5 positive cells in the placental tissue during the first trimester of gestation / D. Tamiolakis [et al.] // *Clin Exp Obstet Gynecol*. - 2001. - Vol.28. - P. 261–265.
205. Subclinical hypothyroidism and thyroid autoimmunity in recurrent pregnancy loss: a systemic review and meta-analysis / A. C. Dong [et al.] // *Fertil. Steril*. – 2020. – Vol. 113. – P. 587–600.
206. Sugiura-Ogasawara, M. Recurrent pregnancy loss and obesity / M. Sugiura-Ogasawara // *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. – 2015. – Vol. 29, 4. – P. 489–497.
207. T and B lymphocyte subsets in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion: IVIG versus placebo treatment / B. Jablonowska [et al.] // *Am J Reprod Immunol*. –2002. Vol. 48, № 5. P. 312-318.

208. T helper (Th) cell profiles in pregnancy and recurrent pregnancy losses: Th1/Th2/Th9/Th17/Th22/Tfh Cells / W. Wang [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 2025.
209. Targeting BAFF and APRIL in systemic lupus erythematosus and other antibody-associated diseases / E. Samy [et al.] // *Int Rev Immunol*. – 2017. – Vol. 36, № 1. – P. 3–19.
210. The balance of the immune system between HLA-G and NK cells in unexplained recurrent spontaneous abortion and polymorphisms analysis / F. Arjmand, N. Ghasemi, S. A. Mirghanizadeh, M. Samadi // *Immunol Res*. – 2016. – Vol. 64, № 3. – P. 785–790.
211. The immunophenotype of patients with recurrent pregnancy loss / D. Darmochwal-Kolarz, B. Leszczynska-Gorzela, J. Rolinski, J. Oleszczuk // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. – 2002. – Vol. 103, № 1. – P. 53–57.
212. The involvement of inflammatory cytokines in the pathogenesis of recurrent miscarriage / S. R. Giannubilo [et al.] // *Cytokine*. – 2012. – Vol. 58, № 1. – P. 50–56.
213. The pathogenic role of autoantibodies in recurrent pregnancy loss / S. D'Ippolito [et al.] // *Am J Reprod Immunol*. – 2020. – Vol. 83, № 1. – P. e13200.
214. The regulatory B cell compartment expands transiently during childhood and is contracted in children with autoimmunity / I. Kalampokis [et al.] // *Arthritis Rheumatol*. – 2017. – Vol. 184. – P. 48–53.
215. The role and mechanism of vitamin D-mediated regulation of Treg/Th17 balance in recurrent pregnancy loss / J. Ji [et al.] // *Am J Reprod Immunol*. – 2019. – Vol. 81, № 6. – P. e13112.
216. The role of BAFF and APRIL in rheumatoid arthritis / A. G. Shabgah, Z. Shariati-Sarabi, J. Tavakkol-Afshari, M. Mohammadi // *J Cell Physiol*. – 2019. – Vol. 234, № 10. – P. 17050–17063.
217. Thyroid hormone facilitates in vitro decidualization of human endometrial stromal cells via thyroid hormone receptors / M. Kakita-Kobayashi [et al.] // *Endocrinology*. – 2020. – Vol. 161. – P. bqaa049.

218. Virro, M. R. Intravenous immunoglobulin for repeated IVF failure and unexplained infertility / M. R. Virro, E. E. Winger, J. L. Reed // *American Journal of Reproductive Immunology*. – 2012. – Vol. 68, № 3. – P. 218–225.
219. Vitamin D, autoimmunity and recurrent pregnancy loss: More than an association / K. Sharif [et al.] // *Am J Reprod Immunol*. – 2018. – Vol. 80, №3. – P. e12991.
220. VTE, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines / S. M. Bates [et al.] // *Chest*. – 2012. – Vol. 141. – P. e691S–e736S.
221. Yang, F. Dynamic Function and Composition Changes of Immune Cells During Normal and Pathological Pregnancy at the Maternal-Fetal Interface / F. Yang, Q. Zheng, L. Jin // *Front Immunol*. – 2019. – Vol. 10. – P. 2317.
222. Yang, X. Is there Role of Intravenous Immunoglobulin in Immunologic Recurrent Pregnancy Loss? / X. Yang, T. Meng // *J Immunol Res*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 6672865.