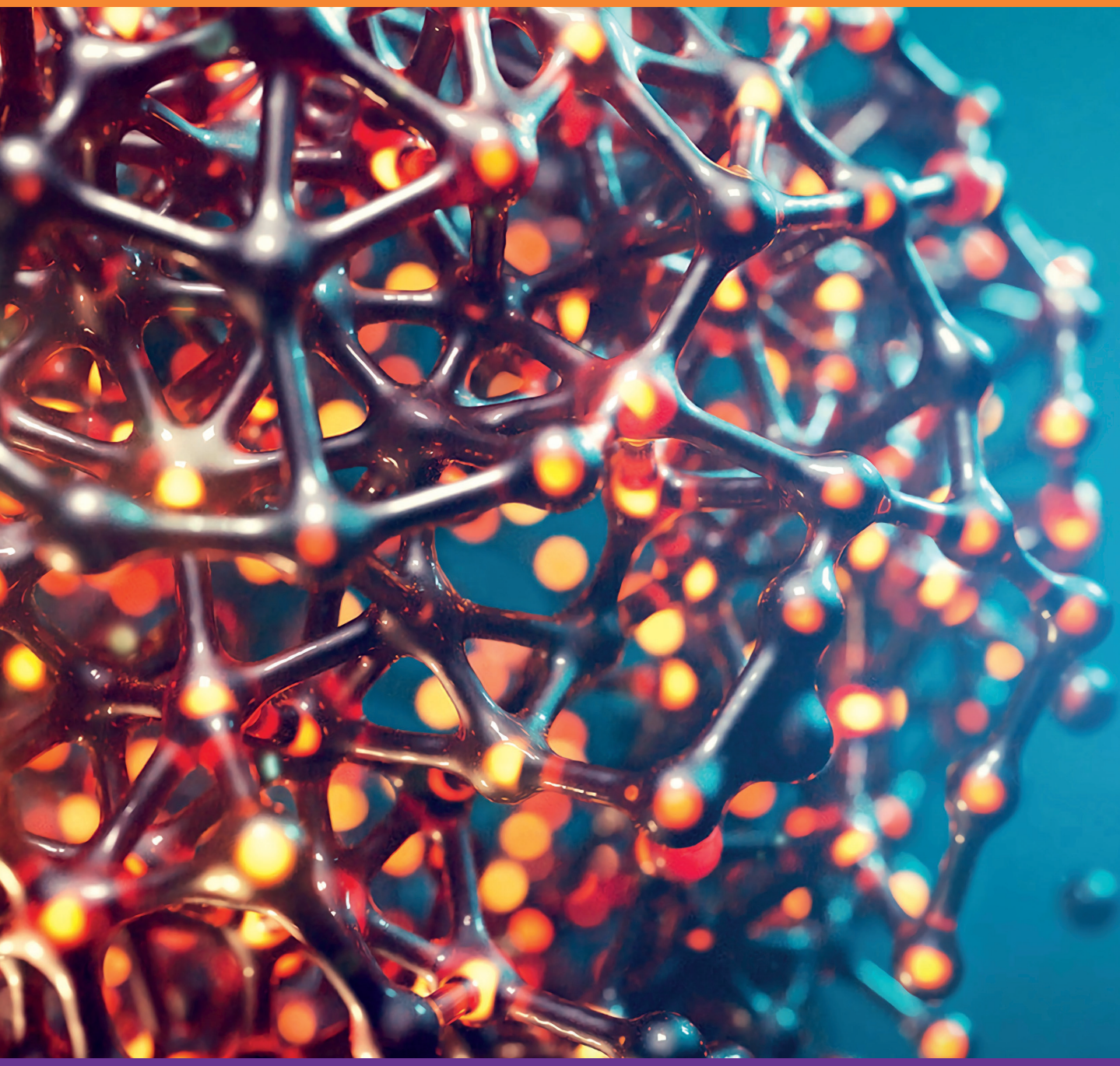
ISSN 2313-7347 (print)
ISSN 2500-3194 (online)

АКУШЕРСТВО ГИНЕКОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИЯ

Включен в перечень ведущих рецензируемых журналов и изданий ВАК

2021 • том 15 • № 1



OBSTETRICS, GYNECOLOGY AND REPRODUCTION

2021 Vol. 15 No 1

www.gynecology.su

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта http://www.gynecology.su. Не предназначено для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95, эл. почта: info@irbis-1.ru.

ISSN 2313-7347 (print)
ISSN 2500-3194 (online)

2021 • Vol. 15 • № 1
Obstetrics, Gynecology and Reproduction

(cc) BY-NC-SA Check for updates

https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2021.200

Диагностическая значимость натуральных киллеров периферической крови при привычном невынашивании беременности

К.Э. Гоциридзе[1], Н.П. Кинтрая[1,2]

[1]Клиника Чачава; Грузия, Тбилиси 0179, ул. Мераба Костава, д. 38;

[2]Тбилисский государственный медицинский университет; Грузия, 0171 Тбилиси, ул. Михаила Асатиани, д. 7

Для контактов: *Кетеван Элгуджевна Гоциридзе, k.gotsiridze@chachava.ge*

Резюме

Цель исследования: изучение содержания натуральных киллеров периферической крови (pNK) и определение их диагностической ценности у женщин с привычным невынашиванием беременности.

Материалы и методы. Обследовано 102 женщины: 28 небеременных (непосредственно после прерывания беременности, группа IA) и 34 беременных, имевших в анамнезе привычное невынашивание беременности (группа IB); группы контроля и сравнения представлены здоровыми женщинами, не имевшими в анамнезе невынашивание беременности: 20 небеременных (группа IIA) и 20 беременных (группа IIB). Всем женщинам кроме общеклинического обследования в периферической крови определено содержание токсического фенотипа pNK клеток CD16bright(+)CD56dim(-) методом флуоресцентной микроскопии, интерлейкинов IL-2, IL-6, IL-10, фактора некроза опухоли (TNF-α), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и интерферона гамма (IFN-γ) методом иммуноферментного анализа.

Результаты. Выявлена высокая активность цитотоксического фенотипа NK клеток (CD16+CD56-) в обеих основных группах: в группе IA – 36,5 % по сравнению с группой контроля IIA – 27,5 % ($p < 0,05$); в группе IB – 37,0 %, в группе сравнения IIB – 27,4 % ($p < 0,01$). Этот факт подтвердился динамикой других иммунологических параметров, индуцируемых NK клетками. Так, у небеременных и беременных с привычным невынашиванием беременности в анамнезе установлено достоверное повышение содержания IL-6: в группе IA – до 28,5 пг/мл по сравнению с контрольной группой IIA, где его содержание составило 14,0 пг/мл; в группе IB – до 16,7 пг/мл, в группе сравнения IIB – 12,2 пг/мл ($p < 0,01$). Содержание интерлейкинов IL-2 и IL-10 значимо не различалось во всех исследованных группах. Содержание TNF-α было повышено в обеих группах: в группе IA – 39,0 пг/мл, в контрольной группе IIA – 27,5 пг/мл ($p < 0,05$); в группе IB – 35,1 пг/мл, в группе сравнения IIB – 23,4 пг/мл ($p < 0,01$). Содержание VEGF у обследованных в возрасте 21–30 лет было повышено: до 548,5 пг/мл у небеременных (группа IA), в контрольной группе IIA – до 310,8 пг/мл ($p < 0,01$); у беременных (группа IB) – до 476,1 пг/мл, в группе сравнения IIB – до 381,5 пг/мл (различия несущественны, англ. non significant, NS). Для пациенток в возрасте 32–40 лет различия в содержании VEGF были несущественны (NS). Концентрация IFN-γ была увеличена в группе IA до 9,2 пг/мл, в контрольной группе IIA – до 8,64 пг/мл, в группе IB – до 8,36 пг/мл, в группе сравнения – до 7,56 пг/мл, т. е. различия в содержании IFN-γ во всех группах были несущественны (NS).

Заключение. Повышение в крови женщин с привычным невынашиванием беременности в анамнезе содержания натуральных киллеров с цитотоксическим фенотипом CD16+CD56- приводит к дисбалансу иммунологических параметров и находится в прямой корреляции с повышением активности интерлейкинов IL-2, IL-6 и TNF-α, что вызывает нарушение иммунологической толерантности по отношению к плоду и может явиться причиной прерывания беременности на ранних этапах. Это дает возможность использовать полученные параметры в качестве диагностического и прогностического критерия при привычном невынашивании беременности.

Ключевые слова: привычное невынашивание, натуральные киллеры CD16bright(+)CD56dim(-), интерлейкины, фактор некроза опухоли, TNF-α, сосудистый эндотелиальный фактор роста, VEGF, интерферон гамма, IFN-γ

Для цитирования: Гоциридзе К.Э., Кинтрая Н.П. Диагностическая значимость натуральных киллеров периферической крови при привычном невынашивании беременности. *Акушерство, Гинекология и Репродукция.* 2021;15(1):61–69. https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2021.200.

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта http://www.gynecology.su. Не предназначено для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95; эл. почта: info@irbis-1.ru.

2021 • Том 15 • № 1
Акушерство, Гинекология и Репродукция

Diagnostic significance of assessing peripheral natural killer cells in women with recurrent pregnancy loss

Ketevan E. Gotsiridze[1], Nikoloz P. Kintraya[1,2]

[1]Chachava Clinic; 38 Merab Kostava Str., Tbilisi 0179, Georgia;

[2]Tbilisi State Medical University; 7 Mikhail Asatiani Str., Tbilisi 0171, Georgia

Corresponding author: *Ketevan E. Gotsiridze, k.gotsiridze@chachava.ge*

Abstract

Aim: to assess peripheral blood NK cell (pNK) counts in women with recurrent pregnancy loss.

Materials and Methods. There were examined 102 women: 28 non-pregnant (immediately after repeatedly terminated pregnancy, group IA) and 34 pregnant women with history of previous recurrent pregnancy loss (group IB). Control and comparison groups were consisted of healthy women lacking any recorded miscarriage: 20 non-pregnant (group IIA) and 20 pregnant women (group IIB), respectively. Along with assessing complete blood count range, all subjects were analyzed percentage of pNK cell CD16bright(+) CD56dim(-) cytotoxic phenotype by using fluorescence microscopy as well as level of cytokines IL-2, IL-6, IL-10, tumor necrosis factor (TNF-α), vascular endothelial growth factor (VEGF) and interferon-gamma (IFN-γ) using ELISA.

Results. It was found that the level of NK cell cytotoxic phenotype – percentage of CD16+CD56- was elevated in both groups: groups: group IA – 36.5 % compared with the control group IIA – 27.5% ($p < 0.05$); in group IB up to 37.0 %, in comparison group IIB – 27.4% ($p < 0.01$). It was further corroborated by increased level of serum cytokine IL-6 comprising in group IA vs. IIA – 28.5 pg/ml vs. 14.2 pg/ml ($p < 0.01$) as well as in group IB vs. IIB up to 16.7 pg/ml vs. 12.2 pg/ml ($p < 0.01$), respectively. However, level of serum IL-2 and IL-10 did not significantly differ in all groups examined. Interestingly, level of VEGF in subjects aged 21–30 years was elevated: in non-pregnant (group IA) vs. control (group IIA) – up to 548.5 pg/ml vs. 310.8 pg/ml ($p < 0.01$); pregnant women (IB) vs. comparison group (IIB) – insignificantly elevated up to 476.1 pg/ml vs. 381.5 pg/ml, respectively. In contrast, no significant changes were observed in 31–40-year group. Concentration of IFN-γ in group IA vs. control group (IIA) was increased up to 9.2 pg/ml vs.8.64 pg/ml; group IB vs. comparison group – up to 8.36 pg/ml vs. 7.56 pg/ml, respectively.

Conclusion. Elevated percentage of cytotoxic CD16+CD56- NK cells in peripheral blood results in imbalance of immune-related parameters that directly correlated with increased serum level of IL-2, IL-6, TNF-α that may alter maternal immune tolerance to the fetus and subsequently resulting in recurrent pregnancy loss. Hence, the aforementioned data may be used as diagnostic and prognostic criteria in recurrent pregnancy losses.

Keywords: recurrent pregnancy loss, CD16bright(+)CD56dim(-) NK cells, interleukins, tumor necrosis factor, TNF-α, vascular endothelial growth factor, VEGF, interferon-gamma, IFN-γ

For citation: Gotsiridze K.E., Kintraya N.P. Diagnostic significance of assessing peripheral natural killer cells in women with recurrent pregnancy loss. *Akusherstvo, Ginekologia i Reprodukcia = Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2021;15(1):61–69. (In Russ.). https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2021.200.

Введение / Introduction

Невынашивание беременности является одной из актуальных проблем акушерства и гинекологии. Частота невынашивания остается высокой и составляет 2–15 % от всех желанных беременностей, причем на долю I триместра приходится 30–40 % [1–2]. Прерывание беременности может быть вызвано различными факторами: нейроэндокринными нарушениями, хромосомными аномалиями, тромбофилиями, бактериально-вирусными инфекциями и др. В последние годы появились работы, доказывающие, что причиной прерывания беременности на ранних сроках могут быть иммунные нарушения [3–5]. Иммунная система является одной из наиболее важных систем организма, защищающих мать от воздействия факторов внешней среды и предотвращающих отторжение плода.

Особая роль в процессе имплантации и нормальном течении принадлежит натуральным киллерам периферической крови (англ. peripheral blood natural killer cells, pNK), которые во время беременности мигрируют в матку, где принимают участие в формировании и развитии плацентарной ткани [3, 4]. Эндометриальные uNK (англ. uterine natural killer cells) клетки играют существенную роль в процессе имплантации и децидуализации эндометрия [4, 5]. Они участвуют в сложных взаимоотношениях между клетками и их цитокинами в иммунной системе матери,

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта http://www.gynecology.su. Не предназначено для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95; эл. почта: info@irbis-1.ru.

2021 • Vol. 15 • № 1
Obstetrics, Gynecology and Reproduction

Основные моменты

Что уже известно об этой теме?

- Частота невынашивания беременности остается стабильной и составляет 2–15 %, из них на долю I триместра приходится 30–40 %. Причиной невынашивания беременности могут быть различные факторы, одним из которых являются иммунные нарушения.
- Особую роль в нормальном течении беременности играют натуральные киллеры периферической крови (pNK), которые участвуют в сложных взаимоотношениях между клетками и их цитокинами (TNF-α, IL-2, IL-6, IL-10, VEGF), нарушение баланса которых способно приводить к патологии беременности.
- По данным литературы, pNK клеткам придается существенная роль в генезе привычного невынашивания беременности. Существует также противоположное мнение, что активность pNK клеток при привычном невынашивании не имеет клинического значения.

Что нового дает статья?

- Приведены данные анализа иммунологических параметров (pNK, CD16+CD56-, TNF-α, IL-2, IL-6, IL-10, VEGF, IFN-γ) у женщин с привычным невынашиванием беременности: у небеременных женщин непосредственно после очередного прерывания беременности и у беременных с прогрессирующей беременностью до 12 нед.
- Выявлено повышение активности цитотоксического фенотипа pNK CD16+CD56- у женщин с привычным невынашиванием, а также повышение содержания TNF-α, IL-6 и снижение содержания IL-2, IL-6, IFN-γ.
- Вышеуказанное подтверждает дисрегуляцию иммунной системы матери, что вызывает нарушение иммунологической толерантности по отношению к плоду и может явиться причиной прерывания беременности на ранних сроках.

Как это может повлиять на клиническую практику в обозримом будущем?

- Прегравидарная подготовка и ведение беременности женщин с привычным невынашиванием включает общеклиническое и лабораторное обследование с целью выявления причины невынашивания: нейроэндокринные нарушения, бактериально-вирусные инфекции, хромосомные аномалии, тромбофилии, аномалия развития половых органов и др.
- Полученные результаты дают возможность использования иммунологических параметров в качестве диагностического и прогностического критерия, а также включения исследования pNK CD16+CD56- клеток, TNF-α, IL-6 в программу прегравидарной подготовки.
- Исследование иммунологических параметров у женщин с невыясненной причиной привычного невынашивания, дает возможность выявления иммунного генеза невынашивания и своевременного включения иммуннотерапии, что приведет к уменьшению показателя невынашивания.

Highlights

What is already known about this subject?

- Incidence rate of recurrent pregnancy loss (RPL) remains stable and comprises 2–15 % of cases, 30–40 % of which are recorded in the first trimester. RPL may be caused by diverse factors including immune-related disturbances.
- Peripheral blood NK cells (pNK) play a special role in the normal course of pregnancy being involved in multi-layered interplay with various cell types and related cytokines (TNF-α, IL-2, IL-6, IL-10, VEGF), which imbalance is able to lead to miscarriage.
- Published data highlight about a substantial role for pNK cells in the pathophysiology of recurrent miscarriage. On the contrary, pNK cell activity in RPL may not exert clinically relevant importance.

What are the new findings?

- Here, we present the data on analyzing immunological parameters (CD16+CD56- pNK count, serum level of TNF-α, IL-2, IL-6, IL-10, VEGF, IFN-γ) in women with recurrent miscarriage: non-pregnant women immediately after repeatedly terminated pregnancy and women with pregnancy progressing up to 12 weeks of gestation.
- Elevated percentage of cytotoxic CD16+CD56- pNK was revealed in women with recurrent miscarriage paralleled with increased level of serum TNF-α, IL-6, but lowered level of IL-2, IL-6, and IFN-γ.
- The data noted above confirm dysregulation in maternal immune system that causes impaired immunological tolerance to the fetus and may result in early termination of pregnancy.

How might it impact on clinical practice in the foreseeable future?

- Prenatal preparation and management of pregnancy of women with recurrent miscarriage includes general clinical and laboratory examination for identifying causes of miscarriage such as neuroendocrine disorders, bacterial-viral infection, chromosomal abnormalities, thrombophilia, genital anomaly, etc.
- The data obtained provide an opportunity for applying immunological parameters as diagnostic and prognostic criteria, as well as for measuring percentage of CD16+CD56- pNK cells and serum level of TNF-α and IL-6 as a part of the prenatal preparation.
- Assessing immunological parameters in women with unknown cause of recurrent miscarriage provides an opportunity to reveal immune-related basis of miscarriage and timely applied immunotherapy that will result in lowered rate of miscarriage.

нарушение баланса которых способно приводить к патологии беременности. К таким цитокинам, кроме интерлейкинов (англ. interleukins, IL), относятся интерфероны (англ. interferon, IFN), продукция которых и их действие составляют важнейший механизм врожденного иммунитета. Особо отметим, что такие клетки

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта http://www.gynecology.su. Не предназначено для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95; эл. почта: info@irbis-1.ru.

иммунной системы, как Т-лимфоциты, моноциты/макрофаги способны синтезировать интерферон гамма (IFN-γ) [6]. На ранних этапах беременности uNK клетки выделяют фактор роста эндотелия сосудов (англ. vascular endothelial growth factor, VEGF), который является основным фактором регуляции ангиогенеза [7]. NK клетки уменьшают продукцию фактора некроза опухоли (англ. tumor necrosis factor, TNF-α), продукцию IL-2 и IFN-γ Т-лимфоцитами, а также уменьшают продукцию IL-12 макрофагами, что способствует индукции иммунной толерантности по отношению к плоду [3]. По данным литературы, в генезе ранних потерь привычного невынашивания беременности существенная роль придается высокому уровню натуральных киллеров периферической крови pNK [2, 8–16]. В настоящее время не выяснена причина повышения активности цитотоксических NK клеток, которая может привести к прерыванию беременности на ранних сроках [1, 17–20].

Цель исследования: изучение содержания натуральных киллеров (pNK) периферической крови и определение их диагностической ценности у женщин с привычным невынашиванием беременности.

Материалы и методы / Materials and Methods

Группы обследованных / Study groups

В проспективное исследование были включены 102 женщины, которые были разделены следующим образом: группа I – 62 женщины, у которых в анамнезе имело место привычное невынашивание беременности, из них группа IA – 28 небеременных, которым обследование проводилось непосредственно после очередного прерывания беременности; группа IB – 34 женщины с прогрессирующей беременностью, которым обследование проведено в I триместре беременности. Группу II составили 40 женщин, у которых в анамнезе не было прерывания беременности: из них группа IIA (контрольная) – 20 здоровых небеременных и группа IIB (группа сравнения) – 20 беременных, не имевших в анамнезе привычного невынашивания, которым обследование проведено в I триместре беременности.

Критерии включения и исключения / Inclusion and exclusion criteria

Критерии включения в основную группу: женщины репродуктивного возраста, имевшие в анамнезе привычное невынашивание беременности невыясненной этиологии, без экстрагенитальной патологии.

Критерии исключения: выясненная причина невынашивания беременности (аномалия развития половых органов, хромосомные аномалии, тромбофилии, эндогенные нарушения, бактериально-вирусные инфекции и др.).

Этические аспекты / Ethical aspects

Все обследованные женщины дали письменное информированное согласие на проведение исследования иммунологических параметров в периферической крови. Была составлена индивидуальная карта, содержащая анкетные и анамнестические данные и результаты клинико-лабораторного исследования. Исследование полностью соответствует этическим нормам и одобрено этическим комитетом Тбилисского государственного медицинского университета, протокол заседания № 72 от 27.02.2019.

Методы исследования / Study methods

Всем женщинам в периферической крови определено содержание натуральных киллеров pNK-клеток – цитотоксический фенотип CD16brightCD16dim и регуляторный фенотип CD16dimCD56bright методом флуоресцентной микроскопии на микроскопе Leica DM 750 (Leica, Германия). Содержание IL-2, IL-6, IL-10, TNF-α, VEGF и INF-γ исследовали методом иммуноферментного анализа (ИФА) с применением микропланшетного фотометра для ИФА StatFax 4200 (AwarenessTechnology, США).

Методы статистического анализа / Statistical analysis

Статистический анализ полученных результатов выполнен с помощью компьютерной программы Statistic for Windows 6.0. (StatSoft Inc., США). Сравнительный анализ данных между группами проводили с помощью непараметрического критерия (Mann–Whitney U-test). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение / Results and Discussion

Обследованные группы были сопоставимы по возрасту, все женщины были репродуктивного возраста, средний возраст составил 29,0 ± 1,5 года.

В группе IA беременность была прервана 2 раза у 18 (64,3 %), 3 раза – у 7 (25 %), 4 раза – у 3 (10,7 %) женщин. В группе IB (прогрессирующая беременность) 2 раза беременность была прервана у 21 (61,7 %), 3 раза – у 11 (32,4 %), у двух женщин беременность прервалась 4 и 5 раз (5,9 %).

Анализ иммунологических параметров выявил прямую корреляцию между привычным невынашиванием беременности и количеством натуральных киллеров периферической крови pNK (**табл. 1**). Так, у небеременных группы IA непосредственно после прерывания беременности выявлена высокая активность токсического фенотипа pNK (CD16+CD56-) – 36,5 %, в контрольной группе IIA – 27,5 % ($p < 0,05$). В группе IB (беременные с привычным невынашиванием прогресирующей беременности) содержание pNK (CD16+CD56-) составило 37,0 %, в группе сравне-

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта http://www.gynecology.su. Не предназначено для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95; эл. почта: info@irbis-1.ru.

2021 • Vol. 15 • № 1
Obstetrics, Gynecology and Reproduction

Таблица 1. Иммунологические и биохимические показатели в сыворотке крови обследованных женщин.

Table 1. Immunological and biochemical serum parameters of women examined.

Показатель Parameter	Результат положительный Positive result	Небеременные Non-pregnant women			Беременные Pregnant women		
		Средняя / Mean 95 % ДИ / 95 % CI		U-test p = 0,05	Средняя / Mean 95 % ДИ / 95 % CI		U-test p = 0,05
		Группа IA Group IA (n = 28)	Группа IIA Group IIA (n = 20)		Группа IB Group IB (n = 34)	Группа IIB Group IIB (n = 20)	
CD16bright CD56dim, %	Да / Yes	36,5	27,5	< 0,05	37,0	27,4	< 0,01
		36,1 – 36,8	27,3 – 27,7		36,6 – 37,3	27,2 – 27,7	
	Нет / No	24,0	20,4		23,0	20,0	
		23,8 – 24,2	20,2 – 20,5		22,8 – 23,2	19,8 – 20,2	
CD16bdim CD56bright, %	Да / Yes	0,0	0,0	NS	0,0	0,0	NS
		0,0 – 0,0	0,0 – 0,0				
	Нет / No	1,63	2,80		1,68	1,11	
		1,61 – 1,64	2,78 – 2,82		1,67 – 1,70	1,10 – 1,12	
TNF-α, пг/мл	Да / Yes	39,0	27,5	< 0,05	35,1	23,4	< 0,01
		38,7 – 39,3	27,3 – 27,7		34,8 – 35,4	23,2 – 23,6	
	Нет / No	11,6	11,3		13,7	12,2	
		11,5 – 11,7	11,2 – 11,4		13,6 – 13,8	12,1 – 12,3	
IFN-γ, пг/мл	Да / Yes	9,24	8,64	NS	8,36	7,56	NS
		9,16 – 9,32	8,57 – 8,72		8,29 – 8,43	7,49 – 7,62	
	Нет / No	4,00	2,35		3,44	4,55	
		3,97 – 4,03	2,33 – 2,37		3,41 – 3,47	4,51 – 4,59	
VEGF, пг/мл (21–30 лет)	Да / Yes	548,3	310,8	< 0,01	476,1	381,5	NS
		543,6 – 553,0	308,1 – 313,5		472,1 – 480,2	378,2 – 384,7	
	Нет / No	0,0	0,0		0,0	0,0	
VEGF, пг/мл (31–40 лет)	Да / Yes	641,1	558,0	NS	489,7	558,0	NS
		635,6 – 646,6	553,2 – 562,8		485,5 – 493,9	553,2 – 562,8	
	Нет / No	408,5	401,2		374,3	384,2	
		405,0 – 412,0	397,8 – 404,6		371,1 – 377,5	380,9 – 387,5	
IL-2, пг/мл	Да / Yes	14,2	11,7	NS	13,7	11,0	NS
		14,1 – 14,3	11,6 – 11,8		13,5 – 13,8	10,9 – 11,1	
	Нет / No	7,47	8,33		4,30	7,91	
		7,41 – 7,54	8,23 – 8,40		4,27 – 4,34	7,81 – 7,97	
IL-6, пг/мл	Да / Yes	28,5	14,0	< 0,01	16,7	12,2	< 0,01
		28,2 – 28,7	13,8 – 14,1		16,5 – 16,8	12,1 – 12,3	
	Нет / No	7,70	7,45		6,57	7,37	
		7,63 – 7,77	7,39 – 7,51		6,51 – 6,63	7,31 – 7,43	
IL-10, пг/мл	Да / Yes	36,4	36,0	–	34,1	0,0	–
		36,1 – 36,7	35,7 – 36,3		33,8 – 34,3		
	Нет / No	10,8	33,9		16,4	14,0	
		10,7 – 10,9	33,6 – 34,2		16,2 – 16,5	13,9 – 14,1	

Примечание: *NS – различия несущественны; p < 0,01, p < 0,05 – различия статистически значимы; различия между группами устанавливались U-тестом Манна–Уитни.*

Note: *NS – non-significant differences; p < 0.01, p < 0.05 – significant differences with varying strength; Mann–Whitney U-test was used for assessing significance value between groups.*

ния IIB – 27,4 % (p < 0,01), предельно допустимая норма – 4–26 %.

Мы провели сравнительный анализ данных по всем изученным иммунологическим параметрам как между группами IA и IIA (обе группы представлены небеременными): IA – женщины с привычным невынашиванием, IIA – женщины, не имевшие в анамнезе невынашивание, так и между группами IB и IIB (обе группы

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта http://www.gynecology.su. Не предназначено для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95; эл. почта: info@irbis-1.ru.

представлены беременными): IB – беременные с привычным невынашиванием и IIB – беременные без привычного невынашивания в анамнезе.

Надо отметить, что наши данные согласуются с данными литературы, указывающими, что повышение содержания натуральных киллеров в крови может быть причиной прерывания беременности [21–23]. Что касается активности регуляторного фенотипа CD16+CD56-, то по нашим данным, его активность была в пределах допустимой нормы (1–13 %) и составила в группе IA 1,6 %, в группе IIA – 1,68 %.

Как известно, NK клетки уменьшают продукцию фактора некроза опухоли TNF-α [3, 24], что способствует нормальному развитию беременности. По нашим данным, в группе IA количество TNF-α было увеличено до 39,0 пг/мл по сравнению с контрольной группой IIA, где его содержание составило 27,5 пг/мл ($p < 0,05$). В группе IB содержание TNF-α было увеличено до 35,1 пг/мл, а в группе сравнения IIB его содержание составило 23,4 пг/мл ($p < 0,01$) при допустимой норме < 20 пг/мл. Увеличение содержания TNF-α могло быть одним из факторов, приводящих к прерыванию беременности, и связано с предоминантной цитотоксичностью иммунной системы матери [25].

В группе IA (небеременные непосредственно после прерывания беременности) установлено повышение содержания IL-6 до 28,5 пг/мл по сравнению с группой контроля IIA, где его содержание составило 14,0 пг/мл ($p < 0,01$) при допустимой норме 3,7–10,0 пг/мл. В группе IIB (прогрессируюшая беременность до 12 нед у женщин с привычным невынашиванием в анамнезе) также отмечалось повышение содержания IL-6 до 16,7 пг/мл, в группе сравнения IIB его содержание составило 12,2 пг/мл ($p < 0,01$). Концентрация IL-2 была несущественно (англ. non significant, NS) повышена до 14,2 пг/мл в группе IA по сравнению с группой контроля IIA – 11,7 пг/мл при допустимой норме 0–10 пг/мл. Такое же незначительное повышение отмечалось и в содержании IL-10: в группе IA – до 36,4 пг/мл по сравнению с контрольной группой IIA – 36,0 пг/мл (NS) при допустимой норме 0–31 пг/мл.

По литературным данным, NK клетки уменьшают продукцию интерлейкинов. Выявленная нами повышенная активность цитотоксического фенотипа CD16+CD56- привела к дизрегуляции иммунной системы, что вызвало не уменьшение, а наоборот, увеличение продукции цитокинов, особенно у женщин непосредственно после очередного прерывания беременности [26, 27].

Содержание INF-γ было повышено в обеих группах небеременных: в группе IA до 9,24 пг/мл по сравнению с контрольной группой IIA – 8,64 пг/мл и в группе IB – до 8,36 пг/мл, в группе сравнения IIB – 7,5 пг/мл (допустимая норма 0–5 пг/мл). Различия между группами были несущественными (NS).

Эндотелиальный фактор роста VEGF у женщин в возрасте 21–30 лет был повышен во всех группах, составляя в группе IA 548,3 пг/мл, в контрольной группе – 310,8 пг/мл ($p < 0,01$), в группе IB – 490,5 пг/мл, в группе сравнения IIB – 381,5 пг/мл (NS) при предельно допустимой норме 130–180 пг/мл. В возрасте 31–40 лет особых изменений не отмечалось: в группе IA содержание VEGF составляло 641,1 пг/мл, в группе IB – 489,7 пг/мл (допустимая норма – 280–500 пг/мл), хотя непосредственно после выкидыша его содержание было несколько увеличено. Очевидно, повышение активности NK клеток повлекло за собой увеличение содержания VEGF, особенно выраженное у женщин в возрасте 21–30 лет.

Необходимо отметить, что в группах контроля (IIA) и сравнения (IIB) отмечалось некоторое повышение иммунологических параметров в периферической крови по сравнению с предельно допустимыми нормами, но это повышение было незначимым (NS). При этом у пациенток после прерывания беременности (группа IA) и пациенток с прогрессирующей беременностью до 12 нед с невынашиванием в анамнезе (группа IB) по сравнению с группой контроля (IIA) и группой сравнения (IIB) выявлено достоверное повышение трех из восьми изученных нами иммунологических параметров: CD16+CD56-, TNF-α, IL-6 и недостоверное снижение содержания IL-2, IL-10, IFN-γ.

Заключение / Conclusion

Наше исследование выявило повышение активности натуральных киллеров периферической крови, а именно, их цитотоксического фенотипа CD16brightCD5dim у женщин с привычным невынашиванием беременности, что подтверждает роль иммунного генеза прерывания беременности на ранних сроках и согласуется с данными многих авторов. В свою очередь повышение активности цитотоксических pNK клеток приводит к дисрегуляции иммунной системы, которая выражается не в уменьшении, а в увеличении продукции цитокинов TNF-α, IL-2, IL-6, IL-10, IFN-γ и VEGF, что сопровождается дисрегуляцией иммунокомпетентности организма, вызывает нарушение иммунологической толерантности по отношению к плоду и может явиться причиной прерывания беременности на ранних этапах. Полученные данные дают возможность использовать иммунологические параметры в качестве диагностического и прогностического критерия при привычном невынашивании беременности.

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта http://www.gynecology.su. Не предназначено для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95; эл. почта: info@irbis-1.ru.

2021 • Vol. 15 • № 1
Obstetrics, Gynecology and Reproduction

ИНФОРМАЦИЯ О СТАТЬЕ	ARTICLE INFORMATION
Поступила: 28.12.2020. **В доработанном виде:** 18.01.2021.	**Received:** 28.12.2020. **Revision received:** 18.01.2021.
Принята к печати: 25.02.2021. **Опубликована:** 28.02.2021.	**Accepted:** 25.02.2021. **Published:** 28.02.2021.
Вклад авторов	**Author's contribution**
Все авторы принимали равное участие в сборе, анализе и интерпретации данных.	All authors participated equally in the collection, analysis and interpretation of the data.
Все авторы прочитали и утвердили окончательный вариант рукописи.	All authors have read and approved the final version of the manuscript.
Конфликт интересов	**Conflict of interests**
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interests.
Финансирование	**Funding**
Авторы заявляют об отсутствии необходимости раскрытия финансовой поддержки.	The authors declare they have nothing to disclose regarding the funding.
Согласие пациентов	**Patient consent**
Получено.	Obtained.
Одобрение этического комитета	**Ethics approval**
Исследование одобрено этическим комитетом Тбилисского государственного медицинского университета, протокол № 72 от 27.02.2019.	Approved by the Ethics Committee of Tbilisi State Medical University, protocol № 72 dated of 27.02.2019.
Политика раскрытия данных	**Clinical Trials Disclosure Policy**
Принципы анализа и данные об отдельных участниках после деидентификации (текст, таблицы) будут доступны по запросу исследователей спустя 3 мес и до 5 лет после публикации статьи. Предложения должны быть направлены на почтовый ящик k.gotsiridze@chachava.ge. Чтобы получить доступ, лица, запрашивающие данные, должны будут подписать соглашение о доступе к данным.	Analysis principles and data on individual participants after deidentification (text, tables) will be available at the request of researchers 3 months later and 5 years after the publication of the article. Proposals should be directed to k.gotsiridze@chachava.ge. To gain access, data requestors will need to sign a data access agreement.
Происхождение статьи и рецензирование	**Provenance and peer review**
Журнал не заказывал статью; внешнее рецензирование.	Not commissioned; externally peer reviewed.

Литература:

1. Сидельникова В.М., Сухих Г.Т. Невынашивание беременности. *М.: МИА,* 2010. 534 с.
2. Radovic Janoevic D., Popovic J., Kkrstic M. et al. The structure of immunocompetent decidual cells in recurrent missed abortions. *Vojnosanit Pregl*. 2016;73(4):306–11. https://doi.org/10.2298/VSP141226018R.
3. Sharma S. Natural killer cells and regulatory T cells in early pregnancy loss. *Int J Der Biol*. 2014;58:219–29. https://doi.org/10.1387/ijdb.140109ss.
4. Kuon R.J., Vomstein K., Weber M et al. The "killer cell story" in recurrent miscarriage: association between activated peripheral lymphocytes and uterine natural killer cells. *J Reprod Immunol*. 2017;119:9–14. https://doi.org/10.1016/j.jri.2016.11.002.
5. Fukuli A., Finamizu A., Fikuhara R., Shibahara H. Expression of natural cytotoxicity receptors and cytokine production on endometrial natural killer cells in women with recurrent pregnancy loss or implantation failure and the expression of natural cytotoxicity receptors on peripheral blood natural killer in pregnant women with history of recurrent pregnancy loss. *J Obstret Gynaecol Res*. 2017;43(11):1678–86. https://doi.org/10.1111/jog13448.
6. Carayannopolos L., Barks J.L., Yokoyama W.M., Riley J.K. Murine trophoblast cells induce NK cell interferon-gamma production through KLRK1. *Biol Reprod*. 2010;83(3):404–14. https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.084509.
7. Ratsep M.T., Felker A.M., Kay V.R. et al. Uterine natural killer cells; supervisors of vasculature construction in early delidua basalis. *Reproduction*. 2015;149(2):R91–102. https://doi.org/10.1530/REP-14-0271.
8. Абакушина Е.В., Кузьмина Е.Г., Коваленко Е.И. Основные свойства и функции NK-клеток человека. *Иммунология*. 2012;33(4):220–4.
9. Prado-Draver A., Teppa J., Sonshez P., Cameio M.I. Immunophenotype of peripheral T lymphocytes, NK cells and expression of CD69 activation marker in patients with recurrent spontaneous abortions, during the mid-luteal phase. *Am J Reprod Immunol*. 2008;60(1):66–74. https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2008.00591.x.
10. Ebina Y., Nishino Y., Deguchi M. et al. Natural killer cell activity in women with recurrent miscarriage: etiology and pregnancy outcome. *J Reprod Immunol*. 2017;120:42–77. https://doi.org/10.1016/j.jri.2017.04.005.
11. Seshardi S., Sunkara S.K. Natural killer cells in female infertility and recurrent miscarriage: asystematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2014;20(3):429–38. https://doi.org/10.1093/humupd/dmt056.
12. Vargas R.G., Bompeixe E.P., Fransa P.P. et al. Activating killer cell immunoglobulin-like receptor genes association with recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol*. 2009;62(1):34–43. https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2009.00709.x.
13. Sacks G., Yang Y, Gowen E. et al. Detailed analysis of peripheral blood natural killer cells in women with repeated IVF failure. *Am J Reprod Immunol*. 2012;67(5):434–43. https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2009.00709.x.
14. Hadinedoushan H., Mirahmadian M., Aflatonian A. Increased natural killer cell cytotoxicity and IL-2 production in recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol*. 2007;58(5):409–14. https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2007.00524.x.
15. Ivanov P., Lukanov T., Konova E. et al. Activation of peripheral natural killer cells in women with repeated early pregnancy loss. *Akush Ginekol (Sofia)*. 2015;54(8):3–7. [Article in Bulgarian].
16. Saito S., Nakashima A., Shima T. Future directions of studies for recurrent miscarriage associated with immunol etiologies. *J Reprod Immunol*. 2011;90(1):91–5. https://doi.org/10.1016/j.jri.2011.03.003.
17. Yoo J.H., Kwak-Kim J., Han A.R. et al. Peripheral blood NK cell cytotoxicities are negatively correlated with CD8(+) T cells in fertile women, but not in women with a history of recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol*. 2012;68(1):38–46. https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2012.01133.x.
18. Tang A.W., Alfirevic Z., Quenby S. Natural killer cells and pregnancy outcomes in women with recurrent miscarriage and infertility: a systematic review. *Hum Reprod*. 2011;26(8):1971–80. https://doi.org/10.1093/humrep/der164.

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта http://www.gynecology.su. Не предназначено для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95; эл. почта: info@irbis-1.ru.

19. Katano K., Suzuki S., Ozaki Y. et al. Peripheral natural killer cell activity as predictor of recurrent pregnancy loss: a large cohort study. *Fertil Steril.* 2013;100(6):1629–34. https://doi.org/10.1016/j.fertnstent.2013.07.1996.
20. Ozcimen E.E., Kiyiei H., Ucknyu A., Yanik F.E. Are CD57+ Natural Killer cells really important in early pregnancy failure? *Arch Gynecol Obstet.* 2009;279(4):493–7. https://doi.org/10.1007/s00404-008-0736-y.
21. Yen C.-C., Horng H.-C., Wang P.-H. Recurrent miscarriage: are NK cell subsets a good predictor ? *J Chin Med Assoc*. 2019;82:443. https://doi.org/10.1097/JCMA.0000000000000097.
22. Hossein S., Zarnani A.-H., Asgarian-Omran H. et al. Comparative analysis of NK cell subsets in menstrual and peripheral blood of patients with unexplained recurrent spontaneous abortion and fertile subjects. *J Reprod Immunol*. 2014;103:9–17. https://doi.org/10.1016/j.jri.2014.03.002.
23. Giuliani E., Parkin K.L., Lessey B.A. et al. Characterization of uterine NK cell in women with infertility or recurrent pregnancy loss and associated endometriosis. *Am J Reprod Immunol*. 2014;72(3):262–9. https://doi.org/1111/aji.12259.
24. Zhao X., Jiang Y., Ping Y. et al. Associations between tumor necrosis factor-α and interleukin-6 polymorphisms and unexplained recurrent spontaneous abortion risk: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(46):e17919. https://doi.org/10.1097/MD.0000000000017919.
25. Eskicioglu F., Ozdemir A.T., Ozdemir R.B. et al. The association of HLA-G and immune markers in recurrent miscarriage. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2016;29(18):3056–60. https://doi.org/10.3109/14767058.2015.1114085.
26. Gao Y., Wang P.L. Increased CD56 (+) cells and enhanced Th1 responses in human unexplained recurrent spontaneous abortion. *Genet Mol Res*. 2015;14(4):18103–9. https://doi.org/10.4238/2015.December.22.36.
27. Fukui A., Kwak-Kim J., Ntrivallas E. et al. Intracellular cytokine expression of peripheral blood natural killer cell subsets in women with recurrent spontaneous abortions and implantation failures. *Fertil Steril*. 2008;89(1):157–65. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.02.12.

References:

1. Sidelnikova V.M., Sukhikh G.T. Miscarriage. Guideline. [Nevynashivanie beremennosti]. *Moscow: MIA,* 2010. 534 p. (In Russ.).
2. Radovic Janoevic D., Popovic J., Kkrstic M. et al. The structure of immunocompetent decidual cells in recurrent missed abortions. *Vojnosanit Pregl*. 2016;73(4):306–11. https://doi.org/10.2298/VSP141226018R.
3. Sharma S. Natural killer cells and regulatory T cells in early pregnancy loss. *Int J Der Biol*. 2014;58:219–29. https://doi.org/10.1387/ijdb.140109ss.
4. Kuon R.J., Vomstein K., Weber M et al. The "killer cell story" in recurrent miscarriage: association between activated peripheral lymphocytes and uterine natural killer cells. *J Reprod Immunol*. 2017;119:9–14. https://doi.org/10.1016/j.jri.2016.11.002.
5. Fukuli A., Finamizu A., Fikuhara R., Shibahara H. Expression of natural cytotoxicity receptors and cytokine production on endometrial natural killer cells in women with recurrent pregnancy loss or implantation failure and the expression of natural cytotoxicity receptors on peripheral blood natural killer in pregnant women with history of recurrent pregnancy loss. *J Obstret Gynaecol Res*. 2017;43(11):1678–86. https://doi.org/10.1111/jog13448.
6. Carayannopolos L., Barks J.L., Yokoyama W.M., Riley J.K. Murine trophoblast cells induce NK cell interferon-gamma production through KLRK1. *Biol Reprod*. 2010;83(3):404–14. https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.084509.
7. Ratsep M.T., Felker A.M., Kay V.R. et al. Uterine natural killer cells; supervisors of vasculature construction in early delidua basalis. *Reproduction*. 2015;149(2):R91–102. https://doi.org/10.1530/REP-14-0271.
8. Abakushina E.V., Kuzmina E.G., Kovalenko E.I. The maim characteristics of human natural killer cells. [Osnovnye svojstva i funkcii NK kletok cheloveka]. *Immunologiya*. 2012;33(4):220–4. (In Russ.).
9. Prado-Draver A., Teppa J., Sonshez P., Cameio M.I. Immunophenotype of peripheral T lymphocytes, NK cells and expression of CD69 activation marker in patients with recurrent spontaneous abortions, during the mid-luteal phase. *Am J Reprod Immunol*. 2008;60(1):66–74. https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2008.00591.x.
10. Ebina Y., Nishino Y., Deguchi M. et al. Natural killer cell activity in women with recurrent miscarriage: etiology and pregnancy outcome. J Reprod Immunol. 2017;120:42–77. https://doi.org/10.1016/j.jri.2017.04.005.
11. Seshardi S., Sunkara S.K. Natural killer cells in female infertility and recurrent miscarriage: asystematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2014;20(3):429–38. https://doi.org/10.1093/humupd/dmt056.
12. Vargas R.G., Bompeixe E.P., Fransa P.P. et al. Activating killer cell immunoglobulin-like receptor genes association with recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol*. 2009;62(1):34–43. https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2009.00709.x.
13. Sacks G., Yang Y, Gowen E. et al. Detailed analysis of peripheral blood natural killer cells in women with repeated IVF failure. *Am J Reprod Immunol*. 2012;67(5):434–43. https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2009.00709.x.
14. Hadinedoushan H., Mirahmadian M., Aflatonian A. Increased natural killer cell cytotoxicity and IL-2 production in recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol*. 2007;58(5):409–14. https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2007.00524.x.
15. Ivanov P., Lukanov T., Konova E. et al. Activation of peripheral natural killer cells in women with repeated early pregnancy loss. *Akush Ginekol (Sofia)*. 2015;54(8):3–7. [Article in Bulgarian].
16. Saito S., Nakashima A., Shima T. Future directions of studies for recurrent miscarriage associated with immunol etiologies. *J Reprod Immunol*. 2011;90(1):91–5. https://doi.org/10.1016/j.jri.2011.03.003.
17. Yoo J.H., Kwak-Kim J., Han A.R. et al. Peripheral blood NK cell cytotoxicities are negatively correlated with CD8(+) T cells in fertile women, but not in women with a history of recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol*. 2012;68(1):38–46. https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2012.01133.x.
18. Tang A.W., Alfirevic Z., Quenby S. Natural killer cells and pregnancy outcomes in women with recurrent miscarriage and infertility: a systematic review. *Hum Reprod*. 2011;26(8):1971–80. https://doi.org/10.1093/humrep/der164.
19. Katano K., Suzuki S., Ozaki Y. et al. Peripheral natural killer cell activity as predictor of recurrent pregnancy loss: a large cohort study. *Fertil Steril.* 2013;100(6):1629–34. https://doi.org/10.1016/j.fertnstent.2013.07.1996.
20. Ozcimen E.E., Kiyiei H., Ucknyu A., Yanik F.E. Are CD57+ Natural Killer cells really important in early pregnancy failure? Arch Gynecol Obstet. 2009;279(4):493–7. https://doi.org/10.1007/s00404-008-0736-y.
21. Yen C.-C., Horng H.-C., Wang P.-H. Recurrent miscarriage: are NK cell subsets a good predictor ? *J Chin Med Assoc*. 2019;82:443. https://doi.org/10.1097/JCMA.0000000000000097.
22. Hossein S., Zarnani A.-H., Asgarian-Omran H. et al. Comparative analysis of NK cell subsets in menstrual and peripheral blood of patients with unexplained recurrent spontaneous abortion and fertile subjects. *J Reprod Immunol*. 2014;103:9–17. https://doi.org/10.1016/j.jri.2014.03.002.
23. Giuliani E., Parkin K.L., Lessey B.A. et al. Characterization of uterine NK cell in women with infertility or recurrent pregnancy loss and associated endometriosis. *Am J Reprod Immunol*. 2014;72(3):262–9. https://doi.org/1111/aji.12259.
24. Zhao X., Jiang Y., Ping Y. et al. Associations between tumor necrosis factor-α and interleukin-6 polymorphisms and unexplained recurrent spontaneous abortion risk: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(46):e17919. https://doi.org/10.1097/MD.0000000000017919.
25. Eskicioglu F., Ozdemir A.T., Ozdemir R.B. et al. The association of HLA-G and immune markers in recurrent miscarriage. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2016;29(18):3056–60. https://doi.org/10.3109/14767058.2015.1114085.
26. Gao Y., Wang P.L. Increased CD56 (+) cells and enhanced Th1 responses in human unexplained recurrent spontaneous abortion. *Genet Mol Res*. 2015;14(4):18103–9. https://doi.org/10.4238/2015.December.22.36.
27. Fukui A., Kwak-Kim J., Ntrivallas E. et al. Intracellular cytokine expression of peripheral blood natural killer cell subsets in women with recurrent spontaneous abortions and implantation failures. *Fertil Steril*. 2008;89(1):157–65. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.02.12.

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта http://www.gynecology.su. Не предназначено для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95; эл. почта: info@irbis-1.ru.

Сведения об авторах:
Гоциридзе Кетеван Элгуджевна – врач акушер-гинеколог, руководитель Центра репродуктивного здоровья «Клиники Чачава», Тбилиси, Грузия. E-mail: k.gotsiridze@chachava.ge.
Кинтрая Николоз Паликоевич – д.м.н., профессор, академик АМН Грузии, президент Ассоциации акушеров-гинекологов и перинатологов Грузии, зав. кафедрой акушерства и гинекологии Тбилисского государственного медицинского университета, Тбилиси, Грузия; руководитель гинекологического сектора «Клиники Чачава», Тбилиси, Грузия.

About the authors:
Ketevan E. Gotsiridze – MD, Obstetrician-Gynecologist, Head of the Center for Reproductive Health, Chachava Clinic, Tbilisi, Georgia. E-mail: k.gotsiridze@chachava.ge.
Nikoloz P. Kintraya – MD, Dr Sci Med, Academician of the Georgian Academy of Medical Sciences, President of the Association of Obstetricians-Gynecologists and Perinatologists of Georgia, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Tbilisi State Medical University, Tbilisi, Georgia; Head of the Gynecological Sector, Chachava Clinic, Tbilisi, Georgia.

2021 • Vol. 15 • № 1
Obstetrics, Gynecology and Reproduction

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта http://www.gynecology.su. Не предназначено для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95; эл. почта: info@irbis-1.ru.