

Эффективность фотосенсибилизированной модификации крови в лечении герпесвирусной инфекции при привычном невынашивании беременности

А.З.Хашукоева¹, О.А.Свитич², Э.А.Маркова¹, С.А.Хлынова¹, М.Р.Нариманова¹, Т.Н.Сухова³

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра акушерства и гинекологии лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. Ю.Э.Доброхотова);

²НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова РАМН, лаборатория молекулярной иммунологии, Москва (зав. лабораторией — д.м.н. О.А.Свитич);

³Обособленное структурное подразделение Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова «Российский геронтологический научно-клинический центр», Москва (директор — С.Ф.Бутырина)

Цель работы — анализ экспрессии гена ФНО- α в мононуклеарных клетках крови и продукции цитокинов (ФНО- α , ИФН- α , ТФР- β 1) в сыворотке крови у пациенток с герпесвирусной инфекцией (ГВИ) и привычным невынашиванием беременности (ПНБ) в анамнезе, которым проводили фотомодификацию крови, сенсибилизированной фотодитазинем. Обследованы и пролечены 74 пациентки с ГВИ без ПНБ (1-я группа; 36 женщин) и с ПНБ в анамнезе (2-я группа; 38 женщин). Оценивали экспрессию гена ФНО- α и цитокиновый профиль до лечения, на фоне и после проводимой терапии. У пациенток 1-й группы выявлена достоверная динамика снижения экспрессии гена ФНО- α на фоне терапии, а также у 60% женщин отмечено снижение продукции ФНО- α . Во 2-й группе достоверная динамика снижения экспрессии гена ФНО- α и снижение продукции ФНО- α через 10 сут от начала лечения была выявлена у 62,5% пациенток. Установлен достоверный рост уровня ТФР- β 1 у пациенток 1-й группы на фоне терапии. Во 2-й группе выявлен опосредованный рост ТФР- β 1 к завершению курса лечения (18–20-е сутки), что является положительным эффектом и способствует торможению репликации вируса простого герпеса. Полученные результаты свидетельствуют о положительном эффекте фотосенсибилизированной модификации крови у пациенток с рецидивирующей ГВИ на фоне ПНБ.

Ключевые слова: цитокины, привычное невынашивание беременности, фотодинамическая терапия, герпесвирусная инфекция

Efficiency of Photosensitized Modification of Blood in the Treatment of Herpesvirus Infection in Recurrent Pregnancy Loss

A.Z.Khashukoeva¹, O.A.Svitich², E.A.Markova¹, S.A.Khlynova¹, M.R.Narimanova¹, T.N.Sukhova³

¹Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Obstetrics and Gynaecology of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. Yu.E.Dobrokhotova);

²I.I.Mechnikov Scientific Research Institute of Vaccines and Serums, Russian Academy of Medical Sciences, Laboratory of Molecular Immunology, Moscow (Head of the Laboratory — DMedSci O.A.Svitich);

³Separate Structural Division of Pirogov Russian National Research Medical University «Russian Gerontological Scientific Clinical Center», Moscow (Director — S.F.Butyrina)

The aim of the investigation was the analysis of TNF α gene expression in blood mononuclear cells and the production of cytokines (TNF α , IFN α , TGF β 1) in the serum of patients with herpesvirus infection (HVI) and recurrent pregnancy loss (RPL) in their anamnesis, who underwent blood photomodification sensitized by photodithazine. There were examined and treated 74 patients with herpesvirus infection without recurrent pregnancy loss (group 1 — 36 women), and with recurrent pregnancy loss in their anamnesis (group 2 — 38 women). There was evaluated TNF α gene expression and the cytokine profile before the treatment, during and after the therapy. Patients in group 1 revealed a significant reduction of the dynamics of TNF α gene expression during the therapy, and in 60% of the women there was marked the decrease of TNF α production. In group 2 the reliable reduction of the dynamics of TNF α gene expression and decreased production of TNF α in 10 days from the start of the treatment was detected in 62.5% of patients. There was established a significant increase of the TGF β 1 level in patients of group 1 during the therapy. In group 2 there was revealed a mediated increase of TGF β 1 by the end of the treatment (the 18th — 20th days), which is positive and contributes to the inhibition of the replication of herpes simplex virus. The results obtained indicate a positive effect of photosensitized modification of blood in patients with the relapsed HVI on the background of the RPL.

Key words: cytokines, recurrent pregnancy loss, photodynamic therapy, herpesvirus infection

Периконцепционная подготовка пациенток к беременности — актуальная и сложная задача для врачей акушеров-гинекологов, занимающихся проблемами репродуктивных потерь и привычным невынашиванием беременности (ПНБ). Несмотря на достигнутый в последние десятилетия прогресс в диагностике и лечении ПНБ, распространенность данной патологии остается высокой. По данным ВОЗ, частота ПНБ составляет 15–20% исходов всех беременностей [1].

Инфекционная патология и иммунные нарушения доминируют среди причин преждевременного прерывания беременности [2]. В последние годы среди инфекционных факторов на первый план выходят оппортунистические, которые реализуются на фоне дефектов иммунной системы [3]. Доказана этиологическая роль герпесвирусной инфекции (ГВИ), в частности обусловленной вирусом простого герпеса (ВПГ-2) и цитомегаловирусом (ЦМВ), в ПНБ [4]. По мнению ряда авторов, основным патогенетическим звеном самопроизвольных выкидышей являются ослабление иммунитета и активизация репликационной активности ВПГ и генерализация инфекции с поражением плаценты и плода [5]. Известно, что клеточные реакции противовирусного иммунитета осуществляют макрофаги, моноциты и Т-лимфоциты, продуцирующие большое число цитокинов в ответ на антигенную стимуляцию [4]. Поскольку ГВИ часто протекают в субклинических формах, их диагностика затруднительна, однако проведение противовирусного лечения необходимо.

В настоящее время существует целый ряд химиотерапевтических препаратов, обладающих противогерпетической активностью. Клинический опыт их применения показал, что они способны быстро и эффективно купировать острые проявления простого герпеса, не предотвращая при этом появление рецидива хронической ГВИ [6].

В связи с этим в последние годы внимание специалистов привлекают другие подходы в терапии хронической рецидивирующей ГВИ. Одна из таких методик — метод фотодинамической терапии (ФДТ), который нашел широкое применение в лечении как онкологических, так и других заболеваний [7]. Методика предусматривает фотомодификацию крови (ФМК) за счет взаимодействия оптического излучения и препарата фотосенсибилизатора [8]. При фотодинамическом воздействии в тканях происходит фотохимическая реакция с образованием активных форм кислорода — синглетного кислорода — сильного цитотоксического агента, который повреждает мембраны и органеллы патологических клеток, вызывая их гибель.

Недавно показано, что ФДТ воздействует на вирусные частицы [9]. Таким образом, потенциально ее можно использовать в терапии ГВИ. Учитывая, что одной из причин ПНБ является герпесвирусная инфекция, целесообразно проведение ФДТ в качестве прегравидарной подготовки к бе-

реженности. В доступной литературе нет данных о том, как ФДТ воздействует на иммунную систему. В настоящее время возрос интерес к изучению цитокинов при осложненной беременности [2, 10, 11]. Поэтому актуально изучить влияние метода ФМК, сенсibilизированной фотодитазинном, на цитокиновый профиль при ПНБ на фоне ГВИ.

При невынашивании беременности на фоне ГВИ большое значение имеет ряд цитокинов, выработка которых стимулируется инфекционными, в том числе и вирусными антигенами. Один из таких цитокинов — фактор некроза опухолей (ФНО- α) — мультипотентный модулятор иммунного ответа. Известно, что ФНО- α коррелирует с тяжестью течения инфекционного процесса [1, 2], что позволяет использовать его в качестве диагностического критерия, в том числе и при ГВИ. По данным ряда авторов, повышенная продукция ФНО- α — один из факторов, способствующих ПНБ [1, 5]. Оценка уровня ФНО- α у пациенток с ПНБ в ранние сроки беременности необходима, особенно при ГВИ, так как известно, что при апоптозе клеток плаценты уровень ФНО- α повышается [11].

Известно также, что при вирусной инфекции вырабатываются интерфероны I типа (ИФН- α и ИФН- β), которые являются противовирусными цитокинами [12]. G.Aboagye-Mathiesen и соавт. показали, что при беременности ИФН- α продуцируется тканями трофобласта и может приводить к гиперактивации иммунных механизмов, что служит причиной нарушения функционирования трофобласта и патологии беременности [13].

Среди других цитокинов, влияющих на функционирование трофобласта, выделяют трансформирующий фактор роста- β 1 (ТФР- β 1), который регулирует дифференцировку и функциональную активность клеток трофобласта [1, 4]. По данным J.Skrzypczak и соавт., продукция ТФР- β 1 играет важную роль в подготовке эндометрия к имплантации плодного яйца и способствует адгезии клеток трофобласта [14]. Снижение экспрессии ТФР- β 1 приводит к нарушению процесса имплантации [15, 16].

Представленные цитокины особенно интересны и актуальны для исследования поскольку служат маркерами осложнений беременности [17]. Цитокиновый профиль при ПНБ на фоне ГВИ и лечении ФМК, сенсibilизированной фотодитазинном, не изучен.

Цель исследования — анализ экспрессии гена ФНО- α мононуклеарными клетками крови и продукции цитокинов (ФНО- α , ИФН- α , ТФР- β 1) в сыворотке крови при фотосенсибилизированной модификации крови у пациенток с герпесвирусной инфекцией без привычного невынашивания беременности и с привычным невынашиванием беременности в анамнезе.

Пациенты и методы

Проведено комплексное обследование и лечение 74 пациенток с ПНБ и ГВИ в возрасте от 18 до 35 лет. После клинико-лабораторного обследования осуществляли фотосенсибилизированную модификацию крови 36 женщин с ГВИ без ПНБ в анамнезе (1-я группа) и 38 женщин с ПНБ вирусного генеза вне беременности (2-я группа). Группу сравнения составили условно здоровые женщины — доноры без носительства вирусной инфекции (ВПГ-2, ЦМВ).

Для корреспонденции:

Маркова Элеонора Александровна, ассистент кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (499) 187-2996

E-mail: markova.eleonora@mail.ru

Статья поступила 07.10.2014, принята к печати 10.11.2014

Критерии отбора в основную группу: исключение генетических, эндокринных, тромбофилических, анатомических причин ПНБ; неразвивающаяся беременность и ПНБ в анамнезе; пациентки, ранее не проходившие по программе вспомогательных репродуктивных технологий. В исследование были включены женщины преимущественно с непереносимостью и неэффективностью применения противовирусных препаратов в анамнезе.

Методика проведения фотосенсибилизированной модификации крови препаратом «Фотодитазин»: внутривенное струйное введение 1 мл (концентрация 0,5 мг/мл) препарата «Фотодитазин» («Вета-Гранд», РФ) в разведении на физиологическом растворе в затемненном помещении. Через 5–10 мин после инъекции проводили транскутанное 8-минутное облучение крови лазерным излучением. Облучение выполняли с помощью диодного лазерного аппарата «Аткус-2» («Полупроводниковые приборы», РФ). Доза лазерного облучения эмпирическая (длина волны 662 нм, плотность мощности на выходе 1,85–2 Вт). На фоне проводимой терапии осуществляли клиничко-лабораторный мониторинг всех пациенток в динамике для оценки влияния данного метода лечения на состояние всего организма. Курс проведения ФМК, сенсibilизированной фотодитазин, составил 8 процедур, которые проходили согласно графику 1 раз в 3 дня.

У всех пациенток для исследования иммунологических показателей производили забор периферической крови: до процедуры; через 1 ч после процедуры; через 1 сут после процедуры; после 3-й процедуры (9–10-е сутки) и после завершения курса лечения (18–20-е сутки).

Изучение уровня экспрессии гена ФНО- α проводили в несколько этапов. Вначале выделяли мононуклеарные клетки в модификации по методу *Boyum* (1968), основанному на седиментации в одноступенчатом градиенте плотности фиколл-урографина (Sigma Chemical Co, США). Затем из моноцитов периферической крови проводили выделение РНК с помощью набора для выделения мРНК «RNeasy Protect Cell Mini Kit» (Qiagen, Германия), строго соответствуя протоколу фирмы-производителя. Уровень экспрессии гена ФНО- α в мононуклеарных клетках периферической крови определяли методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Реакцию обратной транскрипции (на матрице РНК синтез кДНК) проводили с использованием «Набора реагентов для проведения реакции обратной транскрипции (ОТ)» (Синтол, РФ). Полученную кДНК хранили при -70°C .

Для постановки ПЦР-РВ использовали реактивы из «Набора для проведения ПЦР-РВ в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green I» (Синтол, РФ) согласно рекомендациям фирмы-производителя. Реакционная смесь содержала 10 мкл, праймеры по 1 мкл каждого (1 ОЕ/мкл), MgCl_2 25 мМ 1,5 мкл, образец ДНК 5 мкл. Общий объем реакции составлял 25 мкл. Пробирки помещали в амплификатор для ПЦР-РВ ДТ-96 («ДНК-технология», РФ), позволяющий анализировать образцы ДНК/РНК в динамическом диапазоне от 1 до 10^9 копий и одновременно детектировать четыре флуоресцентных красителя (FAM/SYBR Green, ROX, R6G, CY5) с заданной программой (95°C — 20 с, 62°C — 40 с) с числом циклов — 40. Изучение экспрессии гена проводили относительно экспрессии гена β -актина [18].

Иммунологические исследования цитокинового профиля (ФНО- α , ИНФ- α , ТФР- β 1) в сыворотке крови производили с использованием иммуноферментных наборов для количественного определения человеческого TNF α , IFN α , TGF β 1 в человеческой сыворотке, плазме, моче и супернатанте культур клеток (Bender MedSystems GmbH, Австрия) согласно протоколам для постановки иммуноферментного анализа от фирмы-производителя. Регистрировали результаты иммуноферментного анализа на аппарате-ридере «ELx800 Absorbance Reader» (BioTek, США).

Математико-статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программ «Microsoft Excel» и «Statistica for Windows v. 7.0». Результаты в работе представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение от среднего ($X \pm \sigma$). Для сравнения групп данных использовали непараметрические методы статистической обработки (критерий Манна–Уитни).

Результаты исследования и их обсуждение

Для изучения влияния фотосенсибилизированной модификации крови на динамику титра специфических антител мы первоначально провели анализ титров специфических иммуноглобулинов класса G против ВПГ-2 и ЦМВ. Было выявлено, что титры иммуноглобулинов IgG к ВПГ-2 и к ЦМВ на фоне проводимой терапии у пациенток обеих групп достоверно не менялись.

Чтобы исследовать воздействие проводимой терапии на иммунную систему, мы провели комплексное определение экспрессии гена ФНО- α в мононуклеарных клетках периферической крови, а также определение уровня провоспалительного цитокина ФНО- α в сыворотке крови.

Фоновый уровень экспрессии гена ФНО- α до проведения терапии у пациенток 1-й группы без ПНБ составил $(36,18 \pm 9,81) \times 10^5$ копий гена. Через 10 сут после начала терапии у пациенток в данной группе экспрессия гена ФНО- α достоверно снижалась у 60% женщин и составляла $(8,23 \pm 2,65) \times 10^5$ копий гена ($p < 0,05$) (рис. 1, А). У остальных 40% пациенток была другая динамика: через сутки от начала лечения отмечено недостоверное повышение экспрессии гена ФНО- α , что соответствовало $(36,99 \pm 13) \times 10^5$ копий гена, но на фоне проводимой терапии выявлено достоверное снижение экспрессии гена ФНО- α .

У 100% пациенток 1-й группы отмечена достоверная динамика снижения экспрессии гена ФНО- α на фоне терапии, которая после проведения всех процедур составила $(4,79 \pm 2,63) \times 10^5$ копий гена ($p < 0,05$). После завершения курса лечения тенденция снижения экспрессии гена ФНО- α в динамике у всех пациенток сохранялась.

Исследование экспрессии гена ФНО- α сопоставляли с уровнем продукции провоспалительного ФНО- α . Было получено, что у пациенток 1-й группы без ПНБ средний уровень ФНО- α до проведения терапии составил $6,16 \pm 4,1$ пг/мл. Анализ индивидуальных данных показал, что недостоверный рост продукции ФНО- α на фоне терапии был у 40% пациенток и составлял $10,03 \pm 2,8$ пг/мл после курса лечения. Следует отметить, что повышение продукции ФНО- α в сыворотке крови пациенток с хронической ГВИ является следствием того, что ФНО- α участвует в защите организма от ГВИ.

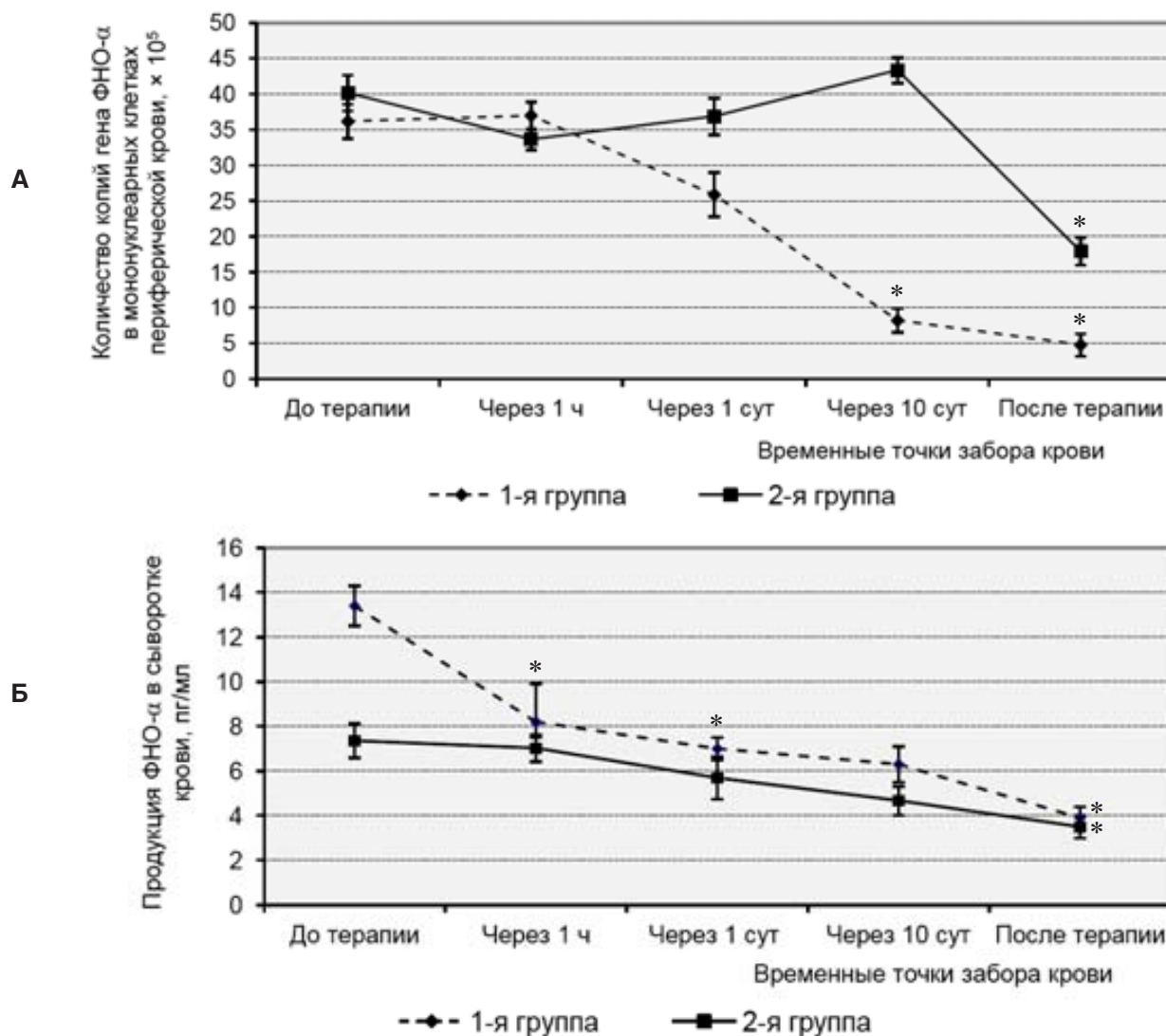


Рис. 1. Динамика экспрессии гена ФНО- α мононуклеарными клетками (А) и продукции ФНО- α в сыворотке крови (Б) у пациенток с ГВИ на фоне проведения фотосенсибилизированной модификации крови. * — достоверные различия с фоновым уровнем экспрессии гена ФНО- α ($p < 0,05$ по критерию Манна–Уитни).

У остальных 60% пациенток наблюдали снижение продукции ФНО- α на фоне терапии, что составило $3,9 \pm 1,6$ пг/мл после проведения курса процедур (рис. 1, Б).

У большинства пациенток с ГВИ и без ПНБ в анамнезе на фоне проводимой терапии динамика продукции ФНО- α повторяла динамику экспрессии гена ФНО- α . Таким образом, фотосенсибилизированная модификация крови приводила к нормализации показателей.

Полученные результаты продукции ФНО- α были сопоставлены с данными ретроспективного анализа в группе сравнения, где фоновый уровень ФНО- α в среднем составлял $2,4 \pm 0,8$ пг/мл [2], $3,3 \pm 0,25$ пг/мл [19] и был достоверно ниже в 2 раза фонового уровня продукции ФНО- α у пациенток 1-й группы.

Сопоставляя полученные данные со 2-й группой пациенток с ПНБ в анамнезе, было выявлено, что фоновый уровень экспрессии гена ФНО- α до проведения терапии составил $(40,18 \pm 10,0) \times 10^5$ копий гена ($p < 0,05$). У всех пациенток в этой группе уровень экспрессии ФНО- α до начала лечения был сопоставим со средними значениями данного показате-

ля у пациенток без ПНБ. На фоне терапии в данной группе женщин экспрессия гена ФНО- α уже через 1 ч после первой процедуры снизилась и составила $(33,64 \pm 7,72) \times 10^5$ копий гена ($p < 0,05$). Такую динамику наблюдали у 75% пациенток (см. рис. 1, А). Значения экспрессии гена ФНО- α через 10 дней после процедуры в среднем составляли $(43,35 \pm 14) \times 10^5$ копий гена ($p < 0,05$) — показатели экспрессии гена ФНО- α вновь вернулись на исходный уровень, как до проведения терапии, у 33,4% пациенток с динамикой снижения экспрессии гена ФНО- α через сутки после 1-й процедуры. Но, несмотря на такую неоднозначную динамику экспрессии гена ФНО- α на фоне терапии, после проведения курса процедур ФМК, сенсibilизированной фотодитазинном, снижение экспрессии гена ФНО- α было достоверным ($p < 0,05$) у 62,5% пациенток 2-й группы, и она составила $(17,93 \pm 10,5) \times 10^5$ копий гена.

У 25% пациенток 2-й группы на 10-е сутки от начала лечения отмечено повышение экспрессии гена ФНО- α , как стимулирующий эффект в ответ на фотосенсибилизированную модификацию крови. К завершению курса процедур наблюдалось понижение экспрессии гена ФНО- α . Данную дина-

мику можно объяснить изначально сниженным противогерпетическим иммунитетом. Проводимая терапия, возможно, способствовала стимуляции иммунного ответа на длительную персистенцию ВПГ, истощающего иммунную систему у данной категории пациенток.

Анализируя уровни продукции провоспалительного ФНО- α во 2-й группе пациенток с ПНБ в анамнезе, было выявлено, что концентрация сывороточного ФНО- α до начала терапии составляла $7,35 \pm 3,95$ пг/мл, что было достоверно выше ($p < 0,05$) нормальных показателей в группе сравнения [2], но сопоставимо со средними значениями у пациенток 1-й группы. Известно, что предрасположенность к гиперсекреции ФНО- α может служить одним из факторов, способствующих привычному выкидышу и бесплодию неясного генеза [11]. По мнению ряда авторов, у женщин с прервавшейся беременностью в анамнезе концентрация ФНО- α более чем в 2 раза превышает показатели пациенток с физиологически протекавшей и сохраненной беременностью. Снижение продукции ФНО- α наблюдали у 62,5% женщин, данный показатель достоверно не менялся (см. рис. 1, Б), при этом у 80% этих пациенток было повышение продукции ФНО- α в начале и середине курса процедур. В ответ на проводимую терапию повышение продукции ФНО- α наблюдали у 37,5% пациенток через 1 ч после 1-й процедуры. Но в итоге после проведенного курса лечения продукция ФНО- α у этих женщин достоверно снизилась. Концентрация сывороточного ФНО- α после завершения курса лечения у пациенток 2-й группы составляла $3,45 \pm 2,2$ пг/мл ($p < 0,05$), что достоверно различно со значениями, полученными до начала лечения, и недостоверно — с нормальными показателями в группе сравнения.

Был исследован еще один показатель — уровень ИФН- α , который определяли в динамике у пациенток на фоне проводимой терапии ФМК, сенсибилизированной фотодитазином.

Фоновый уровень сывороточного ИФН- α до проведения терапии у всех пациенток 1-й группы составлял $11,06 \pm 3,54$ пг/мл и был примерно на одном уровне у всех женщин. Данный показатель достоверно не отличался от значений, полученных у пациенток 2-й группы, — $12,85 \pm 1,96$ пг/мл. Сопоставление с нормальными популяционными показателями 20–120 пг/мл в группе сравнения выявило достоверно сниженный фоновый уровень ИФН- α у всех пациенток с ГВИ. На фоне проведения терапии у пациенток 1-й и 2-й групп отмечена недостоверная динамика подъема уровня ИФН- α . Таким образом, после проведения терапии уровень ИФН- α у всех пациенток вернулся к исходному значению. Показатели

продукции ИФН- α в сыворотке крови у пациенток с ГВИ представлены в таблице.

Нами также была проведена оценка уровней противовоспалительного цитокина ТФР- $\beta 1$ в сыворотке крови в динамике на фоне фотосенсибилизированной модификации крови. Установлено, что подобное выявление в динамике ТФР- $\beta 1$ у пациенток исследуемых групп может иметь определенное значение в оценке эффективности проводимой терапии.

При определении уровней ТФР- $\beta 1$ на фоне проведения ФМК, сенсибилизированной фотодитазином, у пациенток исследуемых групп было получено, что до проведения терапии в 1-й группе уровень исходного ТФР- $\beta 1$ составлял $140,94 \pm 39,9$ пг/мл и был достоверно ($p < 0,05$) ниже ретроспективно полученного значения концентрации ТФР- $\beta 1$ в сыворотке крови здоровых доноров — $243,0 \pm 6,5$ пг/мл [20]. В динамике на фоне терапии у пациенток данной группы отмечен достоверный рост уровня ТФР- $\beta 1$, который в конце курса лечения составлял $534,4 \pm 197,5$ пг/мл (рис. 2, А).

Анализируя уровни ТФР- $\beta 1$ в сыворотке крови на фоне проведения терапии у пациенток 2-й группы, мы получили, что исходный уровень ТФР- $\beta 1$ в данной группе составлял $391,86 \pm 48,1$ пг/мл и был в 1,6 раза выше, чем в группе сравнения. На фоне фотосенсибилизированной модификации крови отмечены две тенденции в динамике продукции ТФР- $\beta 1$. У 62,5% пациенток 2-й группы в начале лечения наблюдали недостоверное снижение продукции ТФР- $\beta 1$, но к середине (10-е сутки) и к завершению курса процедур (18–20-е сутки) продукция ТФР- $\beta 1$ имела тенденцию к нарастанию (рис. 2, Б). У остальных 37,5% женщин данной группы на фоне проводимой терапии в динамике отмечен достоверный рост ТФР- $\beta 1$ в сравнении с аналогичными показателями в 1-й группе, что способствует подготовке эндометрия к имплантации плодного яйца и адгезии клеток трофобласта. Данные динамики продукции ТФР- $\beta 1$ в сыворотке крови у пациенток с ГВИ на фоне фотосенсибилизированной модификации крови представлены в таблице.

Изучение влияния метода ФМК, сенсибилизированной фотодитазином, на цитокиновый профиль при ПНБ на фоне ГВИ является актуальным исследованием, учитывая повышение частоты самопроизвольных выкидышей. Проведенные исследования по оценке экспрессии гена ФНО- α и цитокинового профиля (ФНО- α , ИФН- α , ТФР- $\beta 1$) на фоне фотосенсибилизированной модификации крови показали, что наиболее достоверные показатели оценки эффективности проводимой терапии — это ФНО- α и ТФР- $\beta 1$.

Таблица. Показатели продукции ИФН- α и ТФР- $\beta 1$ в сыворотке крови у пациенток с ГВИ на фоне фотосенсибилизированной модификации крови, пг/мл

Время забора крови	ИФН- α		ТФР- $\beta 1$	
	1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа
До начала терапии	$11,06 \pm 3,54$	$12,85 \pm 1,96$	$140,94 \pm 39,9$	$391,86 \pm 48,1^{\#}$
Через 1 сут	$14,1 \pm 2,57$	$13,3 \pm 2,65$	$168,2 \pm 54,77$	$323,7 \pm 122,2^{\#}$
Через 10 сут	$14,3 \pm 2,58$	$12,63 \pm 1,89$	$302,1 \pm 158^*$	$287,8 \pm 165$
После терапии	$13,7 \pm 1,3$	$12,97 \pm 1,7$	$534,4 \pm 197,5^*$	$342,13 \pm 129,9^{\#}$

* — $p < 0,05$ при сравнении с показателями фонового уровня в группе сравнения;

[#] — $p < 0,05$ при сравнении с тем же показателем 1-й группы

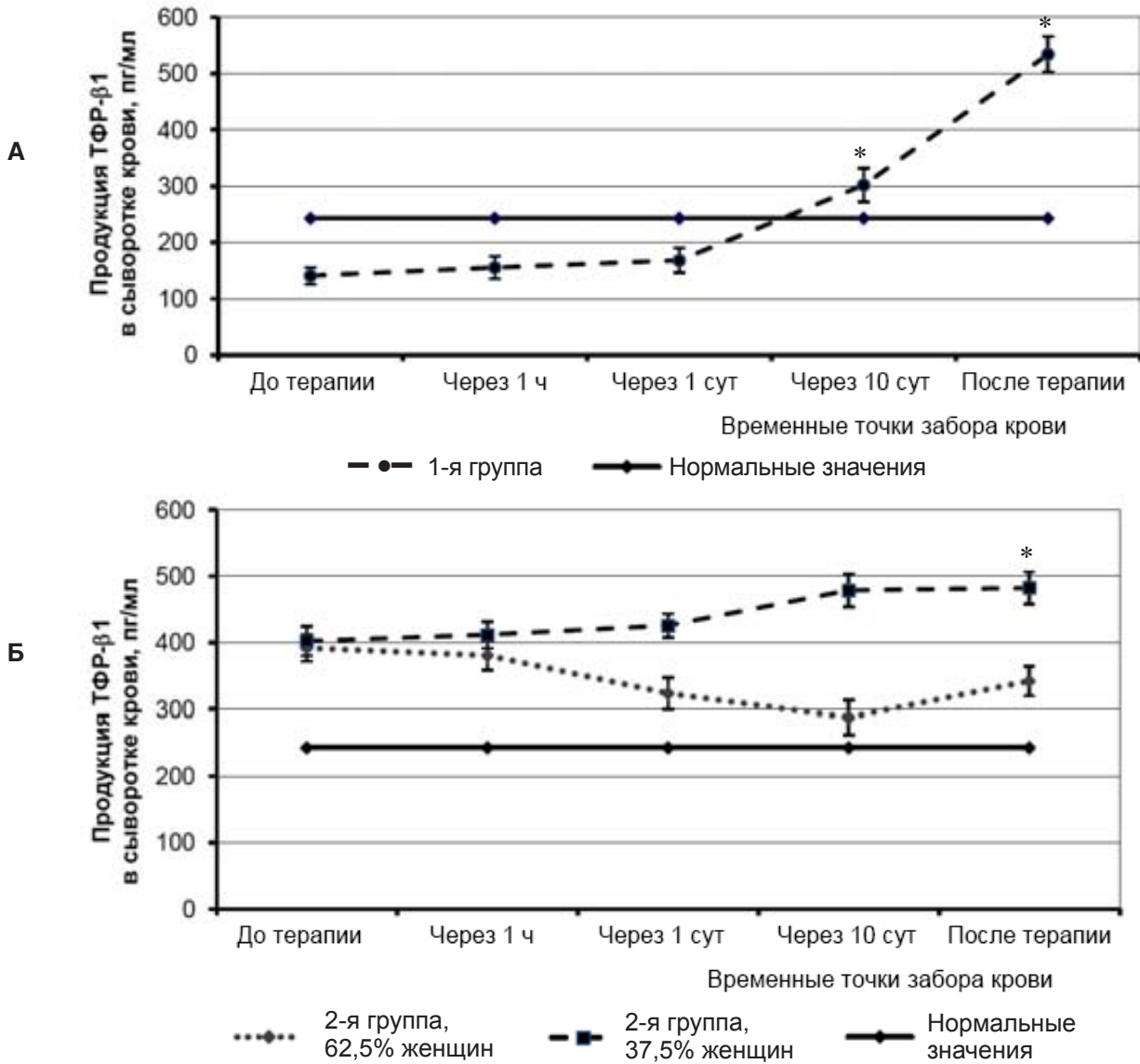


Рис. 2. Динамика продукции ТФР-β1 в сыворотке крови у пациенток с ГВИ без ПНБ (А) и с ПНБ (Б) в анамнезе на фоне проведения фотосенсибилизированной модификации крови. * — достоверные различия с фоновым уровнем продукции ТФР-β1 группы сравнения ($p < 0,05$ по критерию Манна–Уитни).

На основании вышеприведенных данных мы выявили, что у большинства пациенток с ГВИ без ПНБ в анамнезе динамика продукции ФНО-α повторяла динамику снижения экспрессии гена ФНО-α. В группе пациенток с ГВИ и ПНБ происходило снижение экспрессии гена ФНО-α и отсроченное до 10 сут снижение продукции ФНО-α. В данном случае, учитывая состояние иммунной дисфункции на фоне хронической ГВИ, отсроченная продукция ФНО-α, возможно, была индуцирована проводимой терапией.

При исследовании уровней ТФР-β1 на фоне проведения фотосенсибилизированной модификации крови у пациенток исследуемых групп отмечен преимущественный рост данного показателя. Поддержание высоких уровней ТФР-β1, возможно, способствует торможению репликации ВПГ, что благоприятно для планирования и вынашивания беременности. E.Vall и соавт. доказано, что ТФР-β1 и другие его изоформы не являются патологическими факторами роста в процессе формирования трофобласта, тем самым не могут способствовать привычному выкидышу [20]. Принимая во внимание

данный факт, можно сказать, что полученная нами положительная динамика роста данного показателя у пациенток с ГВИ и ПНБ в дальнейшем, возможно, благоприятно скажется на исходе последующей беременности.

Анализ титров специфических иммуноглобулинов класса G против ВПГ-2 и ЦМВ и реакции системы интерферонов (ИФН-α) на проведение фотосенсибилизированной модификации крови в нашем исследовании не был показательным. Было получено отсутствие динамики титров антител и уровня ИФН-α на фоне проведения терапии. По данным Ф.И.Ершова и соавт., при хронической герпесвирусной инфекции ИФН-статус характеризуется практически полным отсутствием ИФН-продуцирующей способности лейкоцитов [12, 17].

Таким образом, у пациенток всех исследуемых групп уровни сывороточного ИФН-α, несмотря на проведение фотосенсибилизированной модификации крови, оставались в пределах фоновых значений, что характеризует глубокое подавление интерферонгенеза, т.е. интерферондефицит-

ное состояние. ФМК, сенсибилизированной фотодитазином, не повлияла на показатели сывороточного ИФН- α , и нам не удалось продемонстрировать ее эффект на примере исследования уровней сывороточного ИФН- α . Отсутствие ответа на проводимую терапию со стороны системы интерферона требует проведения комбинированной терапии рецидивирующей ГВИ.

Изучение клинической эффективности метода фотосенсибилизированной модификации крови показало, что при дальнейшем динамическом наблюдении в течение 1 года за пролеченными пациентками эпизодов рецидива ГВИ не было зарегистрировано ни у одной пациентки. Беременность наступила у 7 (19,4%) женщин 1-й группы и у 24 (63,2%) — из 2-й. На момент проведения анализа 15 пациенток с ПНБ в анамнезе были во II триместре беременности. Рецидивов ГВИ во время беременности также зарегистрировано не было.

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод, что фотомодификация крови, сенсибилизированной фотодитазином, может стать эффективным самостоятельным методом прегравидарной подготовки или в составе комплексной противовирусной терапии у пациенток с герпесвирусной инфекцией и привычным невынашиванием беременности в анамнезе. Определение экспрессии гена ФНО- α и цитокинового профиля (ФНО- α , ТФР- β 1) позволяет отслеживать эффективность фотосенсибилизированной модификации крови и доказывает целесообразность ее применения. Проведение оценки изучаемых показателей возможно для определения эффективности других методов терапии герпесвирусной инфекции при привычном невынашивании беременности.

Литература

1. Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности. М.: Триада-Х, 2005. С.7–10, 64–67.
2. Гаджиева Ф.Г. Цитокины как патогенетические маркеры воспалительного процесса при невынашивании беременности инфекционного генеза // Пробл. репродукции. 2011. Т.17. №1. С.110–113.
3. Оппортунистические инфекции: проблемы и перспективы / Под ред. Ю.В.Редькина, О.А.Мирошник. Вып.2. Омск: Полиграфический центр, 2005. 245 с.
4. Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Генитальный герпес. М.: Миклош, 2010. 343 с.
5. Попова А.Ф., Пастушенков В.Л. Клинические и лабораторные аспекты герпетической инфекции у пациенток с невынашиванием беременности // Журн. акуш. и женск. бол. 2010. Т.59. №6. С.58–68.
6. Шульженко А.Е., Зуйкова И.Н. Подходы к иммунотерапии рецидивирующего простого герпеса // Эффектив. фармакотер. в акуш. и гин. 2010. №3. С.10–15.
7. Хашукоева А.З., Свитич О.А., Маркова Э.А. и др. Фотодинамическая терапия — противовирусная терапия? История вопроса. Перспективы применения // Лазер. мед. 2012. Т.16. №2. С.63–67.
8. Гейниц А.В., Сорокатый А.Е., Ягудаев Д.М., Трухманов Р.С. Фотодинамическая терапия. История создания метода и ее механизмы // Лазер. мед. 2007. Т.11. №3. С.42–46.
9. Kvacheva Z.B., Lobanok E.S., Votikov V.I. et al. Photodynamic inhibition of infection caused by herpes simplex virus type 1 in the cultured cells, by using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrins // Vopr Virusol. 2005. V.50 (4). P.44–47.

10. Бахарева И.В., Ганковская Л.В., Ковальчук Л.В. и др. Экспрессия генов молекул врожденного иммунитета (TLR2, TLR4, HBD1) при беременности с высоким риском реализации внутриутробной инфекции // Леч. и профил. 2012. Т.1. №2. С.44–50.
11. Carpentier P.A., Dingman A.L., Palmer T.D. Placental TNF- α signaling in illness-induced complications of pregnancy // Am J Pathol. 2011. V.178 (6). P.2802–2810.
12. Baron S., Tying S.K., Fleischmann W.R. Jr. et al. The interferons. Mechanisms of action and clinical applications // JAMA. 1991. V.266 (10). P.1375–1383.
13. Aboagy Mathiesen G., Tóth F.D., Zdravkovic M., Ebbesen P. Human trophoblast interferons: production and possible roles in early pregnancy // Early Pregnancy. 1995. V.1 (1). P.41–53.
14. Skrzypczak J., Wirstlein P., Mikołajczyk M. et al. TGF superfamily and MMP2, MMP9, TIMP1 genes expression in the endometrium of women with impaired reproduction // Folia Histochem Cytobiol. 2007. V.45. Suppl.1. P.143–148.
15. Ball E., Robson S.C., Ayis S. et al. Expression of TGF beta in the placental bed is not altered in sporadic miscarriage // Placenta. 2007. V.28 (8–9). P.965–971.
16. Gao M.Z., Zhao X.M., Lin Y. et al. Effects of EG-VEGF, VEGF and TGF- β 1 on pregnancy outcome in patients undergoing IVF-ET treatment // J Assist Reprod Genet. 2012. V.29 (10). P.1091–1096.
17. Макаров О.В., Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В. и др. Невынашивание беременности и врожденный иммунитет. М.: Гэотар-Медиа, 2007. 175 с.
18. Ганковская О.А., Бахарева И.В., Ганковская Л.В. и др. Исследование экспрессии генов TLR9, NF-kB, ФНО- α в клетках слизистой цервикального канала беременных с герпесвирусной инфекцией // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол. 2009. №2. С.61–65.
19. Гайдарова Н.Ф. Оценка метаболического резерва фагоцитов при привычном невынашивании у беременных с энтеровирусной инфекцией // Женск. консулт. 2012. №1. С.66–70.
20. Кубанова А.А., Бутарева М.М., Саватеева М.В., Маркушева Л.И. Динамика трансформирующего фактора роста- β при УФ-терапии с длиной волны 311 нм у больных псориазом // Вестн. дерматол. и венерол. 2006. №5. С.53–55.

Информация об авторах:

Хашукоева Асият Зульчиновна, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 187-2996
E-mail: azk05@mail.ru

Свитич Оксана Анатольевна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией молекулярной иммунологии НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова РАМН
Адрес: 105064, Москва, Малый Казенный пер., 5а
Телефон: (495) 674-5501
E-mail: svitichoa@yandex.ru

Хлынова Светлана Анатольевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 187-2996
E-mail: doc-khlinova@mail.ru

Нариманова Метанат Рафиговна, ассистент кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 187-2996
E-mail: safarovametanat@ya.ru

Сухова Татьяна Николаевна, врач акушер-гинеколог Российского геронтологического научно-клинического центра
Адрес: 129226, Москва, ул. 1-я Леонова, 16
Телефон: (499) 187-2996
E-mail: stn-doc@yandex.ru