

В. П. Чернышов¹, И. А. Судомы^{2,3}, Б. В. Донской¹, Я. А. Гончарова²

¹Государственное учреждение “Институт педиатрии, акушерства и гинекологии
НАМН Украины”, 04050 Киев

²Клиника “Надя”, 03037 Киев

³Национальная медицинская академия последилового образования им. П. Л. Шупика
МЗ Украины, 04112 Киев

МНОЖЕСТВЕННЫЕ ИММУННЫЕ АКЦЕНТУАЦИИ ПРИ НЕУДАЧАХ ИМПЛАНТАЦИИ В ЦИКЛАХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ВНУТРИВЕННОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА

(Представлено акад. НАМН Украины Ю. Г. Антипкиным)

Обследовано 238 женщин в возрасте 23-35 лет с многократными неудачами имплантации в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), распределенных на две группы: 1 — 123 пациентки не получали внутривенного иммуноглобулина (ВИГ), 2 — 115 пациенток получали внутривенную инфузию 300-400 мг/кг ВИГ непосредственно перед проведением ЭКО-процедуры. Определены иммунные акцентуации (отклонения) как факторы риска для ЭКО-неудачи: повышенная экспрессия *CD56* и *CD158a* на *T*-лимфоцитах, сниженный уровень *CD4* и повышенный уровень *CD8 T*-лимфоцитов, повышенная экспрессия *HLA DR* на *CD8 T*- и *NK*-клетках, повышенный уровень *NK*-клеток и *NK*-цитотоксичности, сниженная экспрессия *CD158a* и *CD8* на *NK*-клетках. В группе женщин с 3 и более иммунными акцентуациями применение иммуноглобулина увеличивало процент имплантации эмбриона (с применением ВИГ — 43,4 %, без применения — 21,4 %), а также репродуктивный успех рождения живого ребенка (с применением ВИГ — 30,4 %, без применения — 9,5 %). При отсутствии или наличии 1-2 иммунных акцентуаций существенного влияния ВИГ на процент имплантации и репродуктивного успеха не отмечено (процент имплантации без применения ВИГ — соответственно, 50,9 % и 42,8 %, с применением ВИГ — 45,7 % и 44 %; репродуктивный успех без применения ВИГ — 33,9 % и 28,5 %, с применением ВИГ — 37,1 % и 32,3 %). При ЭКО-неудачах применение ВИГ показано пациенткам с множественными иммунными акцентуациями.

Ключевые слова: неудачи ЭКО, множественные иммунные акцентуации, показания к применению внутривенного иммуноглобулина.

ГУ “Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины”

Лаборатория иммунологии

В. П. Чернышов — зав. лаборатории, д.м.н., профессор (chernyshov@ukr.net)

Б. В. Донской — н.с., к.б.н.

Клиника “Надя”

Я. А. Гончарова — врач акушер-гинеколог отделения гинекологии, к.м.н.

Национальная медицинская академия последилового образования им. П. Л. Шупика МЗ Украины

И. А. Судомы — профессор кафедры акушерства, гинекологии и репродуктологии, д.м.н., профессор

© В. П. Чернышов, И. А. Судомы, Б. В. Донской, Я. А. Гончарова, 2013.

Открытие и широкое внедрение экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) положительно решило многие вопросы бесплодия. Однако при этом накапливается число женщин с ЭКО-неудачами, у которых применение стандартной процедуры ЭКО не способствовало желаемой беременности. Внутривенный иммуноглобулин (ВИГ) при ЭКО-неудачах применяется уже около двух десятилетий. Результаты первых наблюдений с применением ВИГ при относительно малом числе случаев обнадеживали [7], и это дало импульс к дальнейшим исследованиям, однако до настоящего времени результаты применения ВИГ при ЭКО-неудачах остаются противоречивыми и характеризуются разными авторами от успешных до сомнительных [4, 19, 20, 22]. У многих женщин с ЭКО-неудачами выявлялись различные отклонения в значениях показателей иммунной системы. Наиболее часто наблюдаются наличие антифосфолипидных антител (АФА), повышенный уровень и повышенная активность естественных киллеров (NK-клеток) [14]. Наступление беременности сопровождается усилением дифференцировки *Th0*-лимфоцитов в сторону *Th2*-клеток с одновременным подавлением активности провоспалительных реакций типа *Th1*, которые потенциально опасны для плода [16]. Организм женщины должен быть готов к переходу на *Th2*-тип иммунного ответа с возникновением беременности. Усиленное доминирование *Th1* в иммунном ответе наблюдается при многократных ЭКО-неудачах.

Повышение активации *T*-лимфоцитов периферической крови в виде усиления на них экспрессии активационных маркеров, а также повышения продуцирующими *CD4*⁺ *T*-лимфоцитами уровня *TNF-α* наблюдается с увеличением числа ЭКО-неудач [13]. Особое значение для ЭКО-неудач имеет система NK-клеток, причем отмечается повышение их уровня и цитотоксичности, определяемое специальным тестом [8]. Рецепторы NK-клеток (*KIR*-рецепторы) супрессируют их активность путем баланса между активирующими и ингибирующими рецепторами. Наблюдается нарушение данного баланса при спонтанных абортах и бесплодии [9]. Среди *KIR*-рецепторов наиболее подходящим является *CD158a*, так как его экспрессия не ассоциируется с индивидуальным *HLA*-типом. Как было показано нами ранее, помимо повышенной цитотоксичности NK-клеток ЭКО-неудачи ассоциировались еще и с более высокой экспрессией *CD8*, *CD158a* и *HLA DR* на NK-клетках, причем для ЭКО-неудачи характерны множественные отклонения а одиночный показатель даже повышенной цитотоксичности NK-клеток без подключения других измененных показателей существенно не влиял на успех ЭКО [1, 3].

Учитывая нестабильность эффекта ВИГ при ЭКО-неудачах и очевидность того, что ВИГ эффективен не у всех пациенток, на современном этапе изучается вопрос: кому показан ВИГ и при каких изменениях в организме пациентки этот препарат наиболее эффективен. При исходном повышенном уровне *CD56*⁺-лимфоцитов применение ВИГ повышало процент беременности после ЭКО [6]. Изучению подверглась более четко очерченная популяция NK-клеток (*CD3*⁻*CD56*⁺*CD16*⁺), и благоприятный результат при исходном повышенном уровне NK-клеток после применения ВИГ в отношении наступления беременности и рождения ребенка был подтвержден [10].

Наблюдение за 78 женщинами показало, что при повышенном соотношении внутриклеточной продукции *TNF-α* и *IL-10* (*TNF-α/IL-10*) применение ВИГ нормализовало это соотношение и улучшало результаты ЭКО [23]. На следующем этапе эти же авторы избрали как иммунологические признаки отклонения от нормального статуса повышенное соотношение *Th1/Th2* и/или повышенный уровень *CD56*⁺*CD16*⁺, то есть несколько расширили критерии включения; при этом повышенный уровень NK-клеток не являлся обязательным для критериев их включения в исследование, что, видимо, связано с недостаточно частой встречаемостью повышенного уровня NK-клеток у женщин с ЭКО-неудачами. При таких условиях исследования применение ВИГ в 62 циклах ЭКО способствовало развитию беременности в 61 % случаев и рождению ребенка в 58 % случаев, в то время как без применения ВИГ в 27 циклах значения этих показателей составляли 26 % и 22 %, соответственно. При применении ВИГ у женщин с нормальными иммунологическими показателями положительный эффект не был отмечен [24].

Проведенные работы показали, что изменения значений иммунологических показателей у женщин с ЭКО-неудачами могут быть различными и множественными, а эффект ВИГ наблюдается в группах пациенток с отклонениями в иммунной системе. Обращает на себя внимание малое число наблюдений, что, видимо, связано с малой встречаемостью отдельных иммунологических отклонений, которые изучались авторами. Поэтому в данной работе мы расширили спектр иммунологических показателей, чтобы охватить более широкий контингент пациенток с ЭКО-неудачами и применением ВИГ.

Цель нашей работы — изучение эффективности введения ВИГ у женщин с ЭКО-неудачами, имеющих одиночные и множественные акцентуации (отклонения) в иммунной системе, а также не имеющих каких-либо отклонений в иммунной системе.

Обследуемые и методы. В клинике репродуктивной медицины “Надия” (Киев) обследовано 238 женщин в возрасте 23-35 лет с многократными неудачами имплантации в ЭКО-циклах (3 и более), с хорошим качеством эмбрионов и их количеством (2 эмбриона высокого качества для каждого переноса), подвергшихся очередному ЭКО-циклу. Из обследованных женщин 123 пациентки не получали дополнительного лечения, в том числе ВИГ (группа А), 115 пациенток получали внутривенную инфузию 300-400 мг/кг иммуноглобулина нормального (человека) непосредственно перед проведением ЭКО-процедуры (группа В). Длительность бесплодия в группе А составляла $(7,1 \pm 1,9)$ лет, в группе В — $(7,0 \pm 1,8)$ лет. Трубный фактор бесплодия в этих группах отмечен в 52 % и 53 % случаях, соответственно. У пациенток не было отмечено наличия аутоиммунных заболеваний при обследовании и в анамнезе. Они отрицали наличие детей и спонтанных аборт. Наличие хромосомных, эндокринных, инфекционных факторов и анатомических дефектов не отмечено. В исследование не включали женщин с мужским фактором бесплодия.

Использовали длинный лютеиновый протокол с а-GnRH (*Diferelin, Ipsen Pharma*, Франция) с контролем гиперстимуляции яичника с помощью рекомбинантного ФСГ (*Gonal-F, Merk-Serono S. A.*, Швейцария). Образцы периферической крови пациенток получали на 17-23-и сутки менструального цикла перед стимуляцией гонадотропином в ЭКО-процедуре и перед введением ВИГ.

Субпопуляции лимфоцитов изучали с помощью трехцветной проточной цитометрии в цельной крови и после обработки моноклональными антителами, конъюгированными с флуорохромами FITC, PE, PE-Cy 5; эритроциты лизировали с помощью лизирующего раствора фирмы *BD Biosciences* (США). Использовали следующие комбинации моноклональных антител (*BD Biosciences*): CD5/CD19/CD3, CD3/CD8/CD56, HLA DR/CD4/CD3, HLA DR/CD56/CD3+CD4, CD69/CD56/CD3+CD4, CD158a/CD56/CD3+CD4, CD25/CD127/CD4, TNF/IL-10/CD4, IFN- γ /IL-4/CD4. Образцы анализировали с помощью проточного цитометра *FACScan (BD Biosciences)*. Для подсчета и отделения лимфоцитов от гранулоцитов, моноцитов и посторонних частиц образцы цельной крови инкубировали с моноклональными антителами набора *LeucoGATE — CD45-FITC/CD14-PE (BD Biosciences)*. Для контроля использовали IgG1-FITC + IgG2-PE той же фирмы; при этом руководствовались параметрами, рекомендованными *BD Biosciences* [5].

Для определения цитотоксической активности периферических лимфоцитов использовали метод проточной цитофлюориметрии, используя проточ-

ный цитометр *FACScan (Becton Dickinson, США)*. Клетки мишени линия K562 метили флуоресцентной меткой CFDA (карбокси-2,7-дихлорофлуоресцеин ди-ацетат, *Mol Probes, США*). Эффекторы (моноклеарные клетки периферической крови) выделяли на градиенте плотности *Histopaque™-1077 (Sigma, США)*.

Клетки мишени инкубировали с эффекторами в соотношениях 1/10 и 1/20 4 часа в RPMI-1640 с 10 % телячьей сывороткой при 37 °C с 5 % CO₂ (*Revco, Швейцария*). Затем окрашивали клетки пропидием йодистым PI (*Sigma*), который метил мертвые (пермеабиллизированные) клетки. После определения уровня PI⁺CFDA⁺-клеток на проточном цитометре *FACScan (BD Biosciences)* рассчитывали индекс цитотоксичности для каждого соотношения эффектор/мишень по формуле

$$\% \text{ цитотоксичности} = \frac{\text{PI}^+\text{-клетки (мертвые клетки-мишени)}}{\text{CFDA}^+ \text{ (общее количество клеток-мишеней)}} \cdot 100.$$

Параметры значимых иммунных акцентуаций были выведены нами на основании отклонений от “границ ЭКО-фертильности”, установленных нами ранее, при использовании иммунологических показателей женщин, у которых беременность возникла, успешно протекала и завершилась рождением живого доношенного ребенка (актуально фертильные женщины) [11]. В данной работе наиболее простые и часто встречаемые иммунные акцентуации для более широкого охвата группы женщин с ЭКО-неудачами приведены в таблице.

Частота регистрации иммунных акцентуаций у женщин с ЭКО-неудачами

Показатель	%
CD56 ⁺ CD3 ⁺	>20
CD158 ⁺ CD3 ⁺	>5,5
CD4 ⁺ CD3 ⁺	<40
CD8 ⁺ CD3 ⁺	>30
HLA DR ⁺ CD8 ⁺ CD3 ⁺	>30
HLA DR ⁺ CD56 ⁺ CD3 ⁻	>25
CD56 ⁺ CD3 ⁻	>18
CD158a ⁺ CD56 ⁺ CD3 ⁻	<20
CD8 ⁺ CD56 ⁺ CD3 ⁻	>60
CD8 ⁺ CD56 ⁺ CD3 ⁻	<40
Цитотоксичность естественных киллеров	
лизис 1:10	>30
лизис 1:20	>40

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы *In Stat для Windows* (версия 3.0, *Graph Pad Software*

Ис., Сан-Диего, США). Достоверность различий устанавливали по тесту Вилкоксона — Манна — Уитни (непарный, непараметрический, двухсторонний), используя аппроксимирование Вульфа для коэффициента несогласия (*Odds Ratio, OR*) и доверительного интервала (*Confidence Interval, CI*).

Результаты и их обсуждение. Среди 123 пациенток, которым не применяли ВИГ (группа А), в результате процедуры ЭКО беременность развилась у 48 (39 %) женщин. В группе 115 женщин, которым вводили ВИГ (группа В), беременность состоялась у 51 (44,3 %) пациентки (различия недостоверны). Женщины группы В после применения ВИГ имели меньше случаев невынашивания в первом триместре беременности — 27,4 % (14/51) — по сравнению с пациентками группы А, которым не применяли коррекцию с помощью ВИГ — 37,5 % (18/48); различия не достоверны.

Значение иммунных акцентуаций. Для проведения анализа значения иммунных акцентуаций, женщины, которым не применяли ВИГ (группа А) были подразделены на три подгруппы: в подгруппу А1 вошли пациентки, у которых не выявили или выявили лишь один акцентированный параметр ($n = 53$), в подгруппу А2 — у которых были обнаружены два акцентированных параметра ($n = 28$), подгруппу А3 — у которых зарегистрированы три и более иммунных акцентуаций ($n = 42$). Частота имплантации эмбриона у пациенток подгруппы А3 была существенно сниженной и составляла лишь 21,4 % (9/42) по сравнению с подгруппами А1 и А2, у которых частота имплантации была, соответственно, на уровне 50,9 % (27/52, $P < 0,01$) и 42,8 % (12/28, $P = 0,05$). Следовательно, множественные иммунные акцентуации являются значительным негативным прогностическим фактором риска относительным имплантации ($OR = 3,8$ $CI: 1,52-9,48$), если сравнивать с подгруппой А1. Еще более выражено множественные иммунные акцентуации влияли на общий показатель репродуктивного успеха ЭКО, то есть на рождение живого ребенка на цикл. Пациентки подгруппы А3 имели лишь 9,5 % репродуктивного успеха на цикл (рождение живого ребенка), что достоверно ниже по сравнению с подгруппами А1 и А2 (33,9 %, $P < 0,01$ и 28,5 %, $P < 0,05$). Множественные иммунные акцентуации проявили себя как существенный негативный прогностический фактор риска относительно общего репродуктивного успеха: $OR = 4,8$, $CI: 1,52-15,8$ по сравнению с пациентками подгруппы А1. Таким образом, наличие множественных иммунных акцентуаций ухудшало как имплантацию эмбриона так и протекание беременности в первом триместре, снижало репродуктив-

ный успех ЭКО и, в конечном счете, уменьшало возможность рождения здорового ребенка.

Влияние внутривенной иммуноглобулинотерапии. Показатель имплантации эмбриона в подгруппах В1 и В2 (45,7 % и 44,0 %), в которых применяли терапию с помощью ВИГ, несущественно отличался от показателей в подгруппах А1 и А2 (50,9 % и 42,8 %), в которых такая терапия не проводилась. В подгруппе В3, в которой применялся ВИГ, значения показателя имплантации эмбриона были существенно выше по сравнению с подгруппой А3, где ВИГ не применялся (43,4 % и 21,4 %, соответственно; $P < 0,01$) (рис. 1).

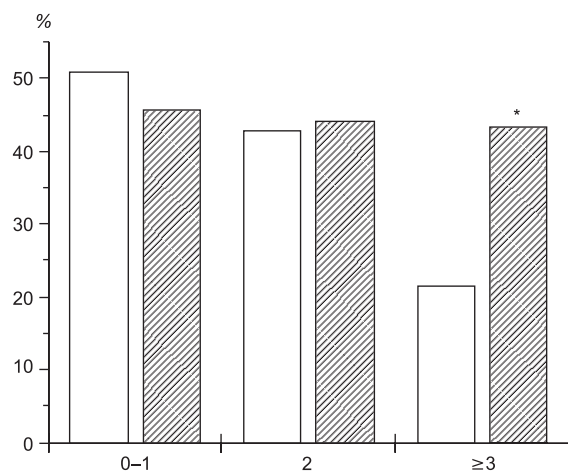


Рис. 1. Частота имплантации эмбриона в зависимости от числа иммунных акцентуаций (отклонений) без применения (светлые столбики) и с применением (заштрихованные столбики) ВИГ; здесь и на рис. 2: * — $P < 0,01$ по сравнению с без ВИГ.

Значения показателя репродуктивного успеха (то есть рождения ребенка) в подгруппах В1 и В2 (37,1 % и 32,3 %), в которых применяли ВИГ, были несколько выше, чем в подгруппах А1 и А2 (33,9 % и 28,5 %), однако несущественно. В подгруппе В3, в которой был применен ВИГ, значения этого показателя были существенно выше по сравнению с подгруппой А3, в которой ВИГ не применяли (30,4 % и 9,5 %, соответственно; $P < 0,01$) (рис. 2).

Пять подгрупп (А1, А2, В1, В2, В3) обследованных женщин были фактически однозначны по значениям имплантации эмбриона и репродуктивного успеха. Лишь в подгруппе А3, где обнаружены множественные иммунные акцентуации, существенно снижены значения показателей имплантации эмбриона и репродуктивного успеха. Поэтому применение ВИГ показано женщинам с ЭКО-неудачами, у которых имеются множественные иммунные акцентуации. В остальных подгруппах, по-видимому, имеются другие, возможно, не иммунологические факторы

(на которые следует обращать внимание), или произошла коррекция после применения ВИГ.

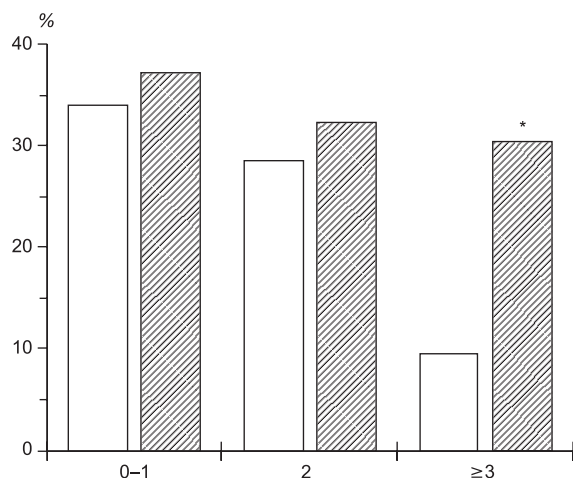


Рис. 2. Частота репродуктивного успеха (рождение ребенка) в зависимости от числа иммунных акцентуаций (отклонений) без применения (светлые столбики) и с применением (заштрихованные столбики) ВИГ.

Несмотря на более чем 20-летний опыт применения ВИГ с целью регуляции иммунных нарушений, полностью механизмы его действия еще не раскрыты и, учитывая его возможную эффективность при различных состояниях, можно предположить различные механизмы его действия. В первую очередь, под влиянием ВИГ предполагали блокаду рецепторов для *IgG* (*FcγR*), за счет чего и снижался уровень АФА [12]. Затем предположили, что блокада рецепторов *FcγR* необязательна, а действие ВИГ опосредовано насыщением транспортного рецептора *IgG*, что приводит к ускоренному катаболизму патогенных АФА [18]. В последующем предположили, что ВИГ формирует растворимые иммунные комплексы в организме, которые активируют *FcγR* на дендритных клетках и таким образом примируют их регуляторную активность [21]. Имеется предположение, что противовоспалительное действие ВИГ опосредовано минорными молекулами *IgG*, у которых гликаны, связанные с *Fc*-рецепторами, модифицированы сиаловыми кислотами, и эти *IgG* включают уникальный рецептор на макрофагах, что приводит к повышению активности ингибиторного *FcγR*, который и защищает от аутоантитело-опосредованной патологии [17]. Была показана возможность участия антиидиотипической регуляции в действии ВИГ [11, 15]. Ранее нами показано участие содержащихся в ВИГ антиидиотипических антител в подавлении кофакторнезависимых АФА [3]. Обоснование различных

гипотез подтверждает многообразие в механизмах действия ВИГ, в основе которых лежат его природные свойства как универсального регулятора, суммированные за счет самой технологии приготовления данного препарата, так как при его приготовлении используются образцы плазмы крови не менее чем одной тысячи доноров.

Из предполагаемых различных точек приложения в его механизмах действия вытекает и многообразие различных иммунологических параметров, которые могут служить как показатели для обоснованного применения препарата ВИГ при частых ЭКО-неудачах. Коррекция системного иммунитета с помощью ВИГ способствует положительным изменениям и в репродуктивной системе: улучшается функционирование иммунной системы в целом, то есть корректируются, а также качественно и количественно улучшаются процессы миграции иммунокомпетентных клеток (в частности, *NK*-клеток) в органы репродуктивной системы на фоне оптимизированной цитокиновой регуляции, что и создает оптимальные условия для относительно автономной регуляции в пределах репродуктивной системы. Предложенные нами параметры являются наиболее часто встречаемыми как иммунные акцентуации и доступными для исполнения, поэтому позволяют охватить более широкий контингент женщин с ЭКО-неудачами.

Итак, в нашей работе при оценке эффекта ВИГ без учета наличия у пациенток иммунных акцентуаций, как указано выше, достоверного улучшения значений показателей имплантации и репродуктивного успеха не наблюдалось, что произошло вследствие отсутствия или недостаточного эффекта ВИГ у женщин подгрупп *B1* и *B2*, у которых не были зафиксированы множественные иммунные акцентуации. Пациентки в этих подгруппах уже имели достаточно высокие значения показателей имплантации и репродуктивного успеха, а существенного дополнительного их улучшения не произошло. И лишь среди пациенток с множественными иммунными акцентуациями (подгруппа *B3*) терапия с помощью ВИГ имела высокую клиническую эффективность и в два раза увеличила их шансы на имплантацию эмбриона и втрое увеличила возможность рождения живого ребенка. Результаты проведенного исследования объясняют отсутствие существенного успеха иммуноглобулинотерапии в случаях, когда это лечение назначалось на основании общих клинических и анамнестических признаков. Лишь применение ВИГ у женщин с множественными иммунными акцентуациями существенно улучшало значения показателей имплантации эмбриона и рождения ребенка. Полученные результаты дают возможность обосновать создание

лабораторно-диагностического подхода для выявления контингента женщин с высоким риском

ЭКО-неудачи, у которых можно с высоким успехом применять внутривенный иммуноглобулин.

Список использованной литературы

1. Чернышов В. П., Судома И. А., Донской Б. В. и др. Значение повышенной цитотоксичности естественных киллеров при многократных неудачах экстракорпорального оплодотворения // Журн АМН України. — 2010. — 16. — С. 288-298.
2. Chernyshov V., Dons'koi B., Vodyanik M. Anti-idiotypic regulation of cofactor-independent antiphospholipid antibodies // Central Europ. J. Immunol. — 2011. — 36, № 4. — P. 220-225.
3. Chernyshov V. P., Sudoma I. O., Dons'koi B. V. et al. Elevated NK cell cytotoxicity, CD158a expression in NK cells and activated T lymphocytes in peripheral blood of women with IVF failures // Am. J. Reprod. Immunol. — 2010. — 64. — P. 58-67.
4. Clark D. A., Coulam C. B., Stricker R. B. Is intravenous immunoglobulin (IVIG) efficacious in early pregnancy failure? A critical review and meta-analysis for patients who fail in vitro fertilization and embryo transfer (IVF) // J. Assist. Reprod. Genet. — 2006. — 23, № 1. — P. 1-13.
5. Comans-Bitter W. M., Groot R., Beemed R. et al. Reference values for lymphocyte subpopulations // J. Pediatr. — 1997. — 130. — P. 388-393.
6. Coulam C. B., Goodman C. Increased pregnancy rates after IVF/ET with intravenous immunoglobulin treatment in women with elevated circulating CD56⁺ cells // Early Pregnancy. — 2000. — 4, № 2. — P. 90-98.
7. Coulam C. B., Krysa L. W., Bustillo M. Intravenous immunoglobulin for *in vitro* fertilization failure // Hum. Reprod. — 1994. — 9, № 12. — P. 2265-2269.
8. Coulam C. B., Roussev R. G. Correlation of NK cell activation and inhibition markers with NK cytotoxicity among women experiencing immunologic implantation failure after in vitro fertilization and embryo transfer // J. Assist. Reprod. Genet. — 2003. — 20. — P. 58-62.
9. Fukui F., Kwak-Kim J., Ntrivalas 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. — P. 157-165.
10. Heilmann L., Schorsch M., Hahn T. CD3-CD56+CD16+ natural killer cells and improvement of pregnancy outcome in IVF/ICSI failure after additional IVIG-treatment // Am. J. Reprod. Immunol. — 2010. — 63, № 3. — P. 263-265.
11. Karlsson M. C., Wernersson S., Diaz de Ståhl T. et al. Efficient IgG-mediated suppression of primary anti-body responses in Fcγ receptor-deficient mice // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1999. — 96. — P. 2244-2249.
12. Kornberg A., Blank M., Kaufman S., Shoenfeld Y. Induction of tissue factor-like activity in monocytes by anti-cardiolipin antibodies // J. Immunol. — 1994. — 153. — P. 1328-1332.
13. Kwak-Kim J. Y. H., Chung-Bang H. S., Ng S. C. et al. Increased T helper 1 cytokines responses by circulated T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with implantation failures after IVF // Hum. Reprod. — 2003. — 18. — P. 767-773.
14. Kwak-Kim J., Gilman-Sachs A. Clinical implication of natural killer cells and reproduction // Am. J. Reprod. Immunol. — 2008. — 59. — P. 388-400.
15. Lacroix-Desmazes S., Mouthon L., Spalter S. H. et al. Immunoglobulins and the regulation of autoimmunity through the immune network // Clin. Exp. Rheumatol. — 1996. — 14, Suppl. 15. — P. 9-15.
16. Ng S. C., Gilman-Sachs A., Thaker P. et al. Expression of intracellular Th1 and Th2 cytokines in women with recurrent spontaneous abortion, implantation failure after IVF/ET or normal pregnancy // Am. J. Reprod. Immunol. — 2002. — 48. — P. 77-86.
17. Nimmerjahn F., Ravetch J. V. The inflammatory activity of IgG: the intravenous IgG paradox // J. Exp. Med. — 2007. — 204, № 1. — P. 11-15.
18. Pierangeli S. S., Espinola R., Liu X. et al. Identification of an Fc gamma receptor-independent mechanism by which intravenous immunoglobulin ameliorates antiphospholipid antibody-induced thrombotic phenotype // Arthritis Rheum. — 2001. — 44, № 4. — P. 876-883.
19. Sher G., Maassarani G., Zouves C. et al. The use of combined heparin/aspirin and immunoglobulin G therapy in the treatment of in vitro fertilization patients with antithyroid antibodies // Am. J. Reprod. Immunol. — 1998. — 39, № 4. — P. 223-225.
20. Sher G., Zouves C., Feinman M. et al. A rational basis for the use of combined heparin/aspirin and IVIG immunotherapy in the treatment of recurrent IVF failure associated with antiphospholipid antibodies // Am. J. Reprod. Immunol. — 1998. — 39, № 6. — P. 391-394.
21. Siragam V., Crow A. R., Brinc D. et al. Intravenous immunoglobulin ameliorates ITP via activating Fc gamma receptors on dendritic cells // Nat. Med. — 2006. — 12. — P. 688-692.
22. Stephenson M. D., Fluker M. R. Treatment of repeated unexplained failure with intravenous immunoglobulin: a randomized, placebo-controlled Canadian trial // Fertil Steril. — 2000. — 74, № 6. — P. 1108-1113.
23. Winger E. E., Reed J. L., Ashoush S. et al. Degree of TNF-α/IL-10 cytokine elevation correlates with IVF success rates in women undergoing treatment with Adalimumab (Humira) and IVIG // Am. J. Reprod. Immunol. — 2011. — 65. — P. 610-618.
24. Winger E. E., Reed J. L., Ashoush S. et al. Elevated preconception CD56+16+and/or Th1:Th2 levels predict benefit from IVIG therapy in subfertile women undergoing IVF // Am. J. Reprod. Immunol. — 2011. — 66, № 5. — P. 394-403.

Получено 23.03.2013

МНОЖИННІ ІМУННІ АКЦЕНТУАЦІЇ ПРИ НЕВДАЧАХ ІМПЛАНТАЦІЇ У ЦИКЛАХ ЕКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ЗАПЛІДНЕННЯ ТА ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ВНУТРІШНЬОВЕННОГО ІМУНОГЛОБУЛІНУ

В. П. Чернышов¹, І. О. Судома^{2,3}, Б. В. Донской¹, Л. О. Гончарова²

¹Державна установа "Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України", 04050 Київ

²Клиника "Надія", 03037 Київ

³Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика МОЗ України, 04112 Київ

Обстежено було 238 жінок віком 23-35 років із множинними невдачами імплантації в циклах екстракорпорального запліднення (ЕКЗ), яких було розподілено на дві групи: 1 — 123 пацієнтки не отримували внутрішньовенного імуноглобуліну (ВІГ), 2 — 115 пацієнток отримували внутрішньовенну інфузію 300-400 мг/кг ВІГ безпосередньо перед проведенням ЕКЗ-процедури. Визначені імунні акцентуації (відхилення) як чинники ризику для ЕКЗ-невдачі: підвищена експресія CD56 і CD158a на T-лімфоцитах, знижений рівень CD4 і підвищений рівень CD8 T-лімфоцитів, підвищена експресія HLA DR на CD8 T- і NK-клітинах, підвищений рівень NK-клітин і NK-цитотоксичності, знижена експресія CD158a і CD8 на NK-клітинах. У групі жінок із 3 та більше імунними акцентуаціями застосування імуноглобуліну збільшувало відсоток імплантації ембріону (із застосуванням ВІГ — 43,4 %, без застосування — 21,4), а також репродуктивний успіх народження живої дитини (із застосуванням ВІГ — 30,4 %, без застосування — 9,5 %). За відсутністю або наявності 1-2 імунних акцентуацій істотного впливу ВІГ на відсоток імплантації і репродуктивного успіху відзначено не було (відсоток імплантації без застосування ВІГ — відповідно, 50,9 % і 42,8 %, із застосуванням — 45,7 % і 44 %; репродуктивний успіх без застосування ВІГ — 33,9 % і 28,5 %, із застосуванням — 37,1 % і 32,3 %). При ЕКЗ-невдачах застосування ВІГ показане пацієнткам із множинними імунними акцентуаціями.

MULTIPLE IMMUNE ACCENTUATIONS IN WOMEN WITH IVF FAILURES AND EFFICACY OF INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN ADMINISTRATION

V. P. Chernyshov¹, I. A. Sudoma^{2,3}, B. V. Dons'koy¹, Y. A. Goncharova²

¹State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology NAMS Ukraine", 04050 Kyiv

²"Nadiia" Clinic, 03037 Kyiv

³P. L. Shupik National Medical Academy of Postgraduate Education Ministry of Health Ukraine, 04112 Kyiv

Investigated were 238 women (aged 25-35) with numerous implantation failures in *in vitro* fertilization (IVF) cycles divided in two groups: group 1 — 123 patients did not received intravenous immunoglobulin (IVIg), group 2 — 115 patients received intravenous IVIg infusion (300 mg/kg) directly before IVF procedure. Immune accentuations (IA) were found to be risk factors for IVF failure, such as enhanced expression of CD56 and CD158a on T-lymphocytes, decreased level of CD4 and increased level of CD8 cells, increased expression of HLA DR on CD8 T and NK cells, increased levels of NK cells and NK cytotoxicity, and decreased expression of CD158a and CD8 on NK cells. Administration of IVIg led to growth of percentage of embryo implantation (with IVIg — 43.4 %, without IVIg — 21.4 %, $P < 0.01$) and to increasing reproductive success – alive child delivery (with IVIg — 30.4 %, without IVIG — 9.5 %, $P < 0.01$) in group of women having 3 or more IA. In the absence or presence of 1-2 immune accentuations there was no significant IVIg effect on the share of implantation and reproductive success (percentage of implantation without IVIg — 50.9 % and 42.8 %, with IVIg — 45.7 % and 44 %; reproductive success without IVIg being 33.9 % and 28.5 %, and with IVIg — 37.1 % and 32.3 %). IVIg administration is necessary for patients with multiple immune accentuations having IVF failures.