

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА CLINICAL MEDICINE



УДК 618.39-079.6:612.017.11

DOI: 10.18413/2658-6533-2019-5-3-0-8

О.П. Лебедева¹,
А.Н. Ивашкевич²

Экспрессия мРНК IL-2, IL-10, IL-12 и IL-23 в децидуальной ткани у пациенток с неразвивающейся беременностью и самопроизвольными выкидышами ранних сроков

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет»,
Университетская пл., д. 1, г. Воронеж, 394018, Российская Федерация

² Клиника «Гелиос» в Франкенвальде,
ул. Фриензер, д. 41, г. Кронах, 96317, Германия
Автор для переписки: О.П. Лебедева (safonova2@yandex.ru)

Аннотация

Актуальность: Невынашивание является одним из самых частых осложнений I триместра беременности и составляет около 15% среди всех диагностированных случаев беременности. Однако иммунные причины невынашивания изучены недостаточно. **Цель исследования:** Изучить особенности экспрессии мРНК IL-2, IL-10, IL-12 и IL-23, участвующих в дифференцировке Th1, Treg и Th17, в децидуальной ткани пациенток со спорадическим прерыванием беременности в I триместре (неразвивающейся беременностью и самопроизвольными выкидышами) на сроке 6-10 недель. **Материалы и методы:** 34 пациентки с неразвивающейся беременностью, 34 пациентки с самопроизвольными выкидышами и 57 пациенток с прогрессирующей беременностью (контрольная группа), поступивших для проведения медицинского аборта, были обследованы на сроке 6-10 недель беременности. Критериями исключения были: наличие тяжелых экстрагенитальных заболеваний, антифосфолипидного синдрома, эндокринных причин невынашивания, анатомических аномалий матки, подтвержденных хромосомных аномалий эмбриона и плода. Материалом для исследования являлась децидуальная ткань, полученная при выскабливании полости матки. Экспрессию мРНК IL-2, IL-10, IL-12 и IL-23 определяли с помощью обратнотранскриптазной количественной ПЦР. Статистический анализ проводили в программе Statistica 13.2 (Statsoft, USA) с использованием критерия Манна-Уитни. **Результаты:** Экспрессия мРНК IL-12 у пациенток с самопроизвольными выкидышами ранних сроков была достоверно выше, чем у пациенток контрольной группы. У пациенток с неразвивающейся беременностью экспрессия мРНК IL-12 достоверно не отличалась от контрольной группы. IL-12 обеспечивает дифференцировку Th1-лимфоцитов и стимулирует натуральные киллеры. Экспрессия мРНК IL-2, IL-10 и IL-23 в децидуальной ткани не имела достоверных различий с группой контроля как у пациенток с неразвивающейся беременностью, так и с самопроизвольными выкидышами ранних сроков. IL-2 обеспечивает дифференцировку регуляторных T-лимфоцитов (Treg). IL-10 является противовоспалительным цитокином, секретируемым преимущественно Th2-лимфоцитами и Treg, и ингибирующим дифференцировку Th17-лимфоцитов.

IL-23 обеспечивает дифференцировку Th17. **Заключение:** Таким образом, у пациенток с самопроизвольными выкидышами в децидуальной ткани наблюдается увеличение экспрессии мРНК IL-12, обеспечивающего дифференцировку Th1 лимфоцитов, по сравнению с контрольной группой. Так как и у пациенток с неразвивающейся беременностью, и с самопроизвольными выкидышами не было выявлено достоверных различий в экспрессии в децидуальной ткани мРНК IL-2, IL-10 и IL-23, регулирующих баланс Treg/Th17, необходимы дальнейшие исследования для оценки роли данных цитокинов в патогенезе невынашивания беременности.

Ключевые слова: невынашивание; неразвивающаяся беременность; самопроизвольный выкидыш; децидуальная ткань; эндометрий; мРНК; IL-2; IL-10; IL-12; IL-23

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ МД-2326.2017.7 «Разработка молекулярных методов индивидуального прогнозирования невынашивания беременности ранних сроков».

Для цитирования: Лебедева ОП, Ивашкевич АН. Экспрессия мРНК IL-2, IL-10, IL-12 и IL-23 в децидуальной ткани у пациенток с неразвивающейся беременностью и самопроизвольными выкидышами ранних сроков. Научные результаты биомедицинских исследований. 2019;5(3):71-81. DOI: 10.18413/2658-6533-2019-5-3-0-8

Olga P. Lebedeva¹,
Aliona N. Ivaschevici²

**IL-2, IL-10, IL-12 and IL-23 mRNA expression
in the decidual tissue in patients with missed
and spontaneous abortions in early pregnancy**

¹ Voronezh State University,

1 Universitetskaya Sq., Voronezh, 394018, Russia

² Helios Frankenwaldklinik Kronach,

41 Friesener St., Kronach, 96317, Germany

Corresponding author: Olga P. Lebedeva (safonova2@yandex.ru)

Abstract

Background: Miscarriages are one of the most common complications of the first term of pregnancy. The rate of early miscarriages is about 15% of all diagnosed cases. Meanwhile, immune causes of miscarriages are not well understood. **The aim of the study:** To study the expression of IL-2, IL-10, IL-12 and IL-23 mRNAs, participating in differentiation of Th1, Treg and Th17, in the decidua of patients with sporadic missed and spontaneous abortions at 6-10 weeks of gestation. **Materials and methods:** 34 patients with missed abortions, 34 patients with spontaneous abortions and 57 patients with progressive pregnancy (control group), admitted for medical abortion, were examined at 6-10 weeks of gestation. Patients with severe extragenital diseases, antiphospholipid syndrome, endocrine disorders, anatomic abnormalities of the uterus, chromosomal abnormalities of embryo and fetus were excluded from the research. The decidual tissue was obtained by uterine abrasion. IL-2, IL-10, IL-12 and IL-23 mRNA expression was detected by reverse-transcription qPCR. Statistical analysis was performed by Mann-Whitney test using Statistica 13.2 (Statsoft, USA). **Results:** The expression of IL-12 mRNA was significantly higher in the decidua of patients with spontaneous abortions compared with the control group. The expression of IL-12 in patients with missed abortions didn't have significant differences with the

control group. IL-12 provides differentiation of Th1-lymphocytes and stimulates NK-cells. The levels of IL-2, IL-10 and IL-23 in the decidua of patients with missed and spontaneous abortions had no significant differences compared with the control group. IL-2 provides differentiation of Treg. IL-10 is anti-inflammatory cytokine, secreted predominantly by Th2 and Treg, and inhibiting Th17 differentiation. IL-23 provides differentiation of Th17. **Conclusion:** Thus, patients with spontaneous abortions have higher expression of IL-12 mRNA, providing differentiation of Th1 lymphocytes, in the decidual tissue compared with the control group. As patients with missed and spontaneous abortions don't have significant differences with the control group in mRNA expression of IL-2, IL-10 and IL-23, regulating Treg/Th17 balance, further investigations should be performed for estimating the role of these cytokines in pathogenesis of miscarriages.

Keywords: miscarriage; missed abortion; spontaneous abortion; decidual tissue; endometrium; mRNA; IL-2; IL-10; IL-12; IL-23

Acknowledgements: This work was supported by the grant of the President of the Russian Federation MD-2326.2017.7 «Development of molecular methods for individual prediction of miscarriages in early pregnancy».

For citation: Lebedeva OP, Ivashevici AN. IL-2, IL-10, IL-12 and IL-23 mRNA expression in the decidual tissue in patients with missed and spontaneous abortions in early pregnancy. Research Results in Biomedicine. 2019;5(3):71-81. (In Russian) DOI: 10.18413/2658-6533-2019-5-3-0-8

Введение. Невынашивание является одним из самых частых осложнений I триместра, составляя около 15% среди всех диагностированных случаев беременности [1].

Известно, что в норме в децидуальной ткани основной субпопуляцией Т-лимфоцитов являются Th2, в то время как количество Th1 лимфоцитов, активирующих клеточное звено иммунитета, снижается. При невынашивании беременности происходит сдвиг соотношения Th1/Th2 в сторону Th1 лимфоцитов [1]. Роль Th17 лимфоцитов и регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) в невынашивании беременности ранних сроков изучена недостаточно [3].

Ранее мы показали, что у пациенток с неразвивающейся беременностью и самопроизвольными выкидышами ранних сроков в децидуальной ткани происходит увеличение экспрессии мРНК маркеров Th1, в то время как экспрессия маркера Th17 не отличается от группы контроля (женщин с прогрессирующей беременностью) [4]. В группе пациенток с самопроизвольными выкидышами ранних сроков также наблю-

дается увеличение экспрессии маркера Treg [4], что, по-видимому, происходит под влиянием простагландина E2 [5].

Целью работы было оценить экспрессию мРНК интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-10 (IL-10), интерлейкина-12 (IL-12) и интерлейкина-23 (IL-23), участвующих в дифференцировке Th1, Th17 и Treg, в децидуальной ткани у пациенток со спорадическим прерыванием беременности в I триместре (неразвивающейся беременностью и самопроизвольными выкидышами ранних сроков).

Материалы и методы исследования. В проспективном исследовании было обследовано 125 женщин. Основную группу составили 68 пациенток со спорадическим самопроизвольным прерыванием беременности на сроке 6-10 недель: с неразвивающейся беременностью – 34 женщины (I группа), с самопроизвольным выкидышем – 34 пациентки (II группа). В качестве группы контроля были обследованы 57 здоровых женщин, поступивших для проведения искусственного аборта на тех же сроках, с нормально протекающей беременностью (III группа). Диагноз был

установлен на основании клинических данных и результатов эхографического исследования и в дальнейшем подтвержден данными гистологического исследования. Критериями исключения были: доказанный эндокринный генез невынашивания беременности, антифосфолипидный синдром, наличие тяжелых экстрагенитальных заболеваний, анатомические изменения внутренних половых органов, подтвержденные хромосомные аномалии эмбриона и плода. Все пациентки подписали информированное добровольное согласие на проведение научных исследований и публикацию результатов без указания персональных данных.

Были проанализированы клинические и анамнестические данные беременных: возраст, социально-экономическое положение, профессиональные вредности, характер менструальной функции, морфометрические показатели.

Экспрессия в децидуальной ткани мРНК IL-2, IL-10, IL-12 и IL-23 была изучена методом обратнотранскриптазной количественной ПЦР в соответствии с руководством MIQE [6]. Материалом для исследования являлась децидуальная ткань, полученная при выскабливании полости матки. Характер ткани был подтвержден гистологически.

Образцы помещали в консервирующий раствор RNAlater («Ambion», США). Для выделения РНК из образцов пробирки размораживали при комнатной температуре, затем центрифугировали при 12000 об. («Eppendorf-5418R», Германия) в течение 5 – 10 минут, надосадочную жидкость удаляли. Полученный осадок представлял собой взвесь эпителиальных клеток, которые были пригодны для выделения РНК. Выделение РНК проводили методом фенол-хлороформной экстракции с использованием реагента «Тризол» («Invitrogen», США) согласно инструкции производителя. Качество РНК проверяли методом электрофореза в течение 15 минут при напряжении 10V/см по интенсивности свечения полос рибосомальной РНК в 1,1% агарозном геле

с бромистым этидием. Для удаления геномной ДНК образцы были обработаны ДНКазой DNase I RNase free («Thermo Fisher Scientific», США) согласно инструкции производителя.

Обратная транскрипция была проведена с использованием oligoDT («Евроген», Россия) и набора «Обратная транскриптаза Mint» («Евроген», Россия) на амплификаторе «Терцик» («ДНК-технология», Россия). В реакцию вносили 500 нг РНК, предварительно прогретой до 55 градусов (концентрацию РНК проверяли на спектрофотометре Nanodrop («Thermoscientific», США)) и 4 мкл oligoDT (20 мкМ). Обратную транскрипцию проводили согласно инструкции производителя. Качество полученной кДНК оценивали с помощью гелеэлектрофореза в 1,1% агарозном геле с бромистым этидием. Для дальнейшей ПЦР использовали разведение полученной кДНК со стерильной водой в объеме 1:25.

Количественная ПЦР была выполнена на амплификаторе CFX96 («BioRad», США) с использованием набора qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия). Подбор праймеров генов был выполнен с помощью базы данных BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov). В качестве генов-нормировщиков были использованы пептидилпролилизомераза А и β-актин.

Для приготовления смеси на одну пробирку вносили 2 мкл кДНК, по 2 мкл прямого и обратного праймера, 5 мкл смеси qPCRmix-HS SYBR, 14 мкл стерильной воды. Амплификацию проводили в следующем режиме: предварительная денатурация – 1 цикл 95 градусов Цельсия 5 мин, денатурация – 1 цикл 95 градусов Цельсия 30 с; отжиг при соответствующей каждому праймеру температуре – 30 с; элонгация при 68 градусах Цельсия – 30 с. Количество циклов – 45. Последовательности праймеров и температура амплификации указаны в таблице 1. Дополнительным этапом после амплификации была добавлена кривая плавления (melt curve) от 55 до 95 градусов Цельсия по 6 с для детекции возможных димеров праймеров.

Таблица 1

Праймеры для количественной ПЦР

Table 1

Primers for quantitative PCR

Ген	Прямой праймер 5'-3'	Обратный праймер 5'-3'	Температура отжига, °С
IL-2	AACCTCAACTCCTGCCACAA	CAATGGTTGCTGTCTCATCAG C	55
IL-10	TGAAAACAAGAGCAAGGCCG	CCCAAGCCCAGAGACAAGAT	55,5
IL-12	GTCACAAAGGAGGCGAGGTT	CAGCAGGTGAAACGTCCAGA	64
IL-23	CAAAGCAAGTGGAAGTGGGC	TGAGTGCCATCCTTGAGCTG	55
β- актин	CAGGCACCAGGGCGTGATGG	GATGGAGGGGCGGACTCGT	64
PPIA	CCGCCGAGGAAAACCGTGTA CT	TGGACAAGATGCCAGGACCC GT	64

Полученные результаты выражали в относительных единицах (отн. ед.), экспрессию генов вычисляли по формуле:

$$R = 2^{-\frac{(Cq_{target} - (Cq_{ref1} + Cq_{ref2})/2)}{}}$$

где R – нормализованная экспрессия мРНК исследуемого гена, Cq ref1 и Cq ref2 – Cq генов-нормировщиков, Cq target – Cq исследуемого гена [7].

Статистическая обработка результатов производилась с помощью программы «Statistica 13.2» (Statsoft, США). Нормальность распределения определяли с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Достоверность различий оценивали с помощью критерия Манна-Уитни, результаты представляли как медиану (нижний квартиль; верхний квартиль). Различия считали статистически достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение.

Исследуемые группы не имели достоверных различий по возрасту, сроку беременности, морфометрическим показателям (росту, весу, индексу массы тела). Все женщины являлись жительницами города Белгорода, имели среднее и высшее образование. Профессиональные вредности при сборе анамнеза выявлены не были. Не было установлено достоверных различий в возрасте менархе и продолжительности менструального цикла.

Экспрессия мРНК IL-12 в децидуальной ткани была достоверно выше у па-

циенток с самопроизвольными выкидышами по сравнению с группой контроля (табл. 2). У пациенток с неразвивающейся беременностью не было выявлено достоверных различий в экспрессии мРНК IL-12 по сравнению с контрольной группой.

Экспрессия мРНК IL-2, IL-10 и IL-23 в децидуальной ткани у пациенток с неразвивающейся беременностью и самопроизвольными выкидышами ранних сроков не имела достоверных различий с группой контроля.

IL-12 обеспечивает дифференцировку Th1-лимфоцитов и активирует натуральные киллеры. IL-2 обеспечивает дифференцировку регуляторных T-лимфоцитов Treg. IL-10 является противовоспалительным цитокином, который секретируется преимущественно Th2-лимфоцитами и Treg, и ингибирует дифференцировку Th17. IL-23 обеспечивает дифференцировку Th17 [8].

Несмотря на большое количество работ, посвященных роли цитокинов IL-2, IL-10, IL-12 и IL-23 в патогенезе невынашивания беременности ранних сроков, полученные в них данные являются разнообразными и противоречивыми. Были изучены уровни вышеуказанных цитокинов в сыворотке крови, способность мононуклеарных клеток крови секретировать цитокины *in vitro*, а также экспрессия цитокинов в децидуальной ткани на уровне мРНК

и белка как во время беременности у пациенток со спорадическими выкидышами и привычным невынашиванием беременно-

сти, так и вне беременности у пациенток с невынашиванием в анамнезе.

Таблица 2

Экспрессия мРНК IL-2, IL-10, IL-12 и IL-23 в децидуальной ткани пациенток с неразвивающейся беременностью и самопроизвольными выкидышами на сроке 6-10 недель беременности, Me (25%; 75%), отн. ед.

Table 2

mRNA expression of IL-2, IL-10, IL-12 and IL-23 in the decidua of patients with missed and spontaneous abortions at 6-10 weeks of gestation, Me (25%; 75%), relative units

Genes	1. Пациентки с неразвивающейся беременностью (n=34)	2. Пациентки с самопроизвольными выкидышами (n=34)	3. Пациентки с прогрессирующей беременностью (контрольная группа) (n=57)	P 1-3	P 2-3	P 1-2
IL-2	0,0004 (0,000002; 0,0016)	0,00008 (0,0000001; 0,0043)	0,000009 (0,000001; 0,0011)	0,48	0,84	0,93
IL -10	0,002 (0,00005; 0,026)	0,001 (0,00011; 0,015)	0,002 (0,00021; 0,007)	0,62	0,81	0,97
IL-12	0,0011 (0,0000001; 0,0026)	0,0018 (0,00001; 0,0149)	0,00002 (0,0000001; 0,0002)	0,14	0,04	0,51
IL-23	0,076 (0,002; 0,245)	0,282 (0,053; 0,877)	0,114 (0,034; 0,216)	0,88	0,07	0,13

IL-12 обеспечивает дифференцировку Th1-лимфоцитов и активирует натуральные киллеры. IL-2 обеспечивает дифференцировку регуляторных T-лимфоцитов Treg. IL-10 является противовоспалительным цитокином, который секретируется преимущественно Th2-лимфоцитами и Treg, и ингибирует дифференцировку Th17. IL-23 обеспечивает дифференцировку Th17 [8].

Несмотря на большое количество работ, посвященных роли цитокинов IL-2, IL-10, IL-12 и IL-23 в патогенезе невынашивания беременности ранних сроков, полученные в них данные являются разнородными и противоречивыми. Были изучены уровни вышеуказанных цитокинов в сыворотке крови, способность мононуклеарных клеток крови секретировать цитокины *in vitro*, а также экспрессия цитокинов в децидуальной ткани на уровне мРНК и белка как во время беременности у пациенток со спорадическими выкидышами и привычным невынашиванием беременно-

сти, так и вне беременности у пациенток с невынашиванием в анамнезе.

В нашей работе мы не выявили достоверных различий в экспрессии мРНК IL-12 и IL-2 в децидуальной ткани пациенток с неразвивающейся беременностью, а также IL-2 у пациенток с самопроизвольными выкидышами. Однако экспрессия мРНК IL-12 у пациенток с самопроизвольными выкидышами была достоверно выше, чем в группе контроля.

Данные литературы об особенностях экспрессии IL-12 и IL-2 в децидуальной ткани, а также об их уровне в сыворотке крови у пациенток с невынашиванием достаточно противоречивы.

В сыворотке крови пациенток со спорадическими самопроизвольными выкидышами не было выявлено достоверных различий в концентрации IL-12 по сравнению женщинами, имевшими прогрессирующую беременность [8]. В сыворотке крови пациенток с неразвивающейся беременностью было выявлено как увеличение

уровня IL-12 [9], так и отсутствие достоверных различий с женщинами, имевшими прогрессирующую беременность [10].

В исследовании Wilson R. et al. (2004) была проведена оценка уровня IL-12 в сыворотке крови у пациенток с прогрессирующей беременностью раннего срока, имевших привычное невынашивание в анамнезе. Далее пациентки были разделены на две группы: женщин, у которых произошла потеря данной беременности в I триместре, и пациенток, у которых беременность завершилась рождением ребенка. В первой группе пациенток уровень IL-12 был достоверно выше, чем во второй группе, а также выше, чем в группе здоровых беременных женщин с неотягощенным анамнезом [12]. Однако у пациенток с привычным невынашиванием, поступивших во время прерывания данной беременности, не было выявлено достоверных различий уровня IL-12 в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой (прогрессирующая беременность) [8].

Работы, посвященные особенностям экспрессии IL-12 в децидуальной ткани, являются единичными. У пациенток, поступивших со спорадическими самопроизвольными выкидышами, не наблюдалось достоверных различий экспрессии IL-12 на уровне белка в лимфоцитах, моноцитах и гранулоцитах, полученных из децидуальной ткани, по сравнению с группой контроля (прогрессирующая беременность) [13]. Однако в данной работе авторы исключили из исследования образцы, в которых имелись гистологические признаки воспаления.

Вне беременности были изучены особенности экспрессии IL-12 и IL-2 в эндометрии, а также уровни данных цитокинов в сыворотке крови у пациенток с привычным невынашиванием. В фолликулярную фазу менструального цикла у данной группы пациенток не было выявлено достоверных различий в уровне IL-12 и IL-2 в сыворотке крови по сравнению с группой здоровых небеременных женщин [14]. Однако в середине секреторной фазы менструального цикла у пациенток с привыч-

ным невынашиванием в анамнезе методом ИФА было выявлено увеличение IL-12 и в эндометрии, и в сыворотке крови по сравнению с пациентками с неотягощенным акушерским анамнезом [15]. В другом исследовании в периимплантационный период у пациенток с привычным невынашиванием в анамнезе было обнаружено увеличение экспрессии мРНК IL-12 и IL-2 в эндометрии по сравнению с женщинами, имевшими прогрессирующую беременность. Однако на уровне белка различий в экспрессии IL-12 выявлено не было [16].

В нашей работе не было выявлено достоверных различий в экспрессии мРНК IL-10 в децидуальной ткани у пациенток с неразвивающейся беременностью и с самопроизвольными выкидышами ранних сроков по сравнению с контрольной группой (прогрессирующая беременность). Однако, по данным литературы, уровень IL-10 в сыворотке крови у пациенток с неразвивающейся беременностью был достоверно ниже, чем у пациенток с прогрессирующей беременностью [17]. У пациенток с привычным невынашиванием неустановленного генеза, обследованных во время прерывания данной беременности, в мононуклеарных клетках крови было выявлено снижение секреции IL-10 [18, 18] и увеличение IL-2 по сравнению с пациентками, имевшими прогрессирующую беременность [18, 18, 20].

В децидуальной ткани у пациенток с неразвивающейся беременностью наблюдалось значительное снижение IL-10 на уровне белка по сравнению с пациентками с прогрессирующей беременностью [21]. У беременных с привычным невынашиванием, поступивших с прервавшейся беременностью, экспрессия IL-10 в децидуальной ткани на уровне мРНК и белка была достоверно ниже, чем у женщин с прогрессирующей беременностью [22, 22].

У небеременных женщин с привычным невынашиванием в анамнезе наблюдалось снижение экспрессии IL-10 в пролиферативную фазу цикла [24], однако в секреторную фазу цикла не было выявлено достоверных различий по сравнению

с пациентками без отягощенного анамнеза [24, 25].

В нашей работе не было выявлено достоверных различий в экспрессии мРНК IL-23 у пациенток с неразвивающейся беременностью и с самопроизвольными выкидышами ранних сроков по сравнению с контрольной группой. По данным литературы, не было выявлено достоверных различий в концентрации IL-23 в сыворотке крови и у пациенток со спорадическими самопроизвольными выкидышами, и у пациенток с привычным невынашиванием, поступивших во время прерывания данной беременности, по сравнению с группой контроля (прогрессирующая беременность) [8].

Однако в других работах у пациенток с привычным невынашиванием неустановленного генеза, обследованных во время прерывания данной беременности, было выявлено увеличение IL-23 в сыворотке крови, а также в децидуальной ткани и на уровне мРНК [26], и на уровне белка [22, 26].

У небеременных женщин с привычным невынашиванием неустановленного генеза в анамнезе в середине секреторной фазы менструального цикла в мононуклеарных клетках крови экспрессия мРНК IL-23 была выше, чем у пациенток с неосложненным репродуктивным анамнезом [27].

Таким образом, данные литературы об особенностях экспрессии IL-2, IL-10, IL-12 и IL-23 в децидуальной ткани, мононуклеарных клетках крови, а также о содержании данных цитокинов в сыворотке крови при невынашивании беременности являются противоречивыми. В нашей работе было выявлено увеличение экспрессии мРНК IL-12 в децидуальной ткани у пациенток с самопроизвольными выкидышами, что подтверждает полученные ранее данные о сдвиге соотношения Th1/Th2 в сторону Th1 лимфоцитов. Так как мы не выявили достоверных различий в экспрессии мРНК IL-2, IL-10 и IL-23 в децидуальной ткани у пациенток с неразвивающейся беременностью и самопроизвольными выкидышами, а данные других исследований

являются противоречивыми, требуются дальнейшие исследования для оценки роли Treg и Th17 в патогенезе невынашивания беременности ранних сроков.

Заключение. В нашей работе было выявлено увеличение экспрессии мРНК IL-12 в децидуальной ткани у пациенток с самопроизвольными выкидышами, что подтверждает наличие сдвига соотношения Th1/Th2 в сторону Th1. Так как достоверных различий в экспрессии мРНК IL-2, IL-10 и IL-23 в децидуальной ткани у пациенток с неразвивающейся беременностью и самопроизвольными выкидышами выявлено не было, а ранее мы также не выявили достоверных различий в экспрессии мРНК маркеров Treg и Th17, необходимы дальнейшие исследования для оценки роли данных субпопуляций Т-лимфоцитов в патогенезе невынашивания беременности ранних сроков.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Inflammosome in the human endometrium: further step in the evaluation of the “maternal side” / S. D'Ippolito [et al.] // Fertility and sterility. 2016. Vol. 105(1). P. 111-118. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.09.027>
2. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy / S. Saito [et al.] // American journal of reproductive immunology. 2010. Vol. 63(6). P. 601-610. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2010.00852.x>
3. Sharma S. Natural killer cells and regulatory T cells in early pregnancy loss // The International journal of developmental biology. 2014. N 58. P. 219. DOI: 10.1387/ijdb.140109ss
4. Субпопуляции Т-лимфоцитов эндометрия в патогенезе невынашивания беременности ранних сроков / О.П. Лебедева [и др.] // Проблемы репродукции. 2018. Т. 24, N 1. С. 82-86. DOI: 10.17116/repro201824182-86
5. Kalinski P. Regulation of immune responses by prostaglandin E2 // The Journal of Immunology. 2012. Vol. 188(1). P. 21-28. DOI: 10.4049/jimmunol.1101029
6. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments / S.A. Bustin [et al.] //

Clinical chemistry. 2009. Vol. 55(4). P. 611-622. DOI: 10.1373/clinchem.2008.112797

7. Pfaffl M.V. Quantification strategies in real-time PCR. In: S.A. Bustin, ed. A-Z of quantitative PCR. La Jolla: Int. University Line; 2004. P. 87-112.

8. Хайтов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. Иммунология: атлас. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011.

9. Low levels of circulating alpha-1 antitrypsin are associated with spontaneous abortions / T. Madar [et al.] // The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine. 2013. Vol. 26(18). P. 1782-1787. DOI: <https://doi.org/10.3109/14767058.2013.801955>

10. Maternal serum levels of pro-inflammatory cytokines in missed and threatened abortion / R. Paradisi [et al.] // American Journal of Reproductive Immunology. 2003. Vol. 50(4). P. 302-308. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0897.2003.00065.x>

11. Tian C.-F., Kang M.-H. Common stress and serum cortisol and IL-12 levels in missed abortion // Journal of Obstetrics and Gynaecology. 2013. Vol. 34(1). P. 33-35. DOI: <https://doi.org/10.3109/01443615.2013.830089>

12. Abnormal first trimester serum interleukin 18 levels are associated with a poor outcome in women with a history of recurrent miscarriage / R. Wilson [et al.] // American Journal of Reproductive Immunology. 2004. Vol. 51(2). P. 156-159. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.8755-8920.2003.00126.x>

13. Questioning the Th1/Th2 paradigm in reproduction: peripheral levels of IL-12 are down-regulated in miscarriage patients / A.C. Zenclussen [et al.] // American Journal of Reproductive Immunology. 2002. Vol. 48(4). P. 245-251. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0897.2002.01136.x>

14. Evaluation of peripheral blood NK cell subsets and cytokines in unexplained recurrent miscarriage / H.A. Rad [et al.] // Journal of the Chinese Medical Association. 2018. Vol. 81(12). P. 1065-1070. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2018.05.005>

15. Role of inflammatory mediators in patients with recurrent pregnancy loss / C. Comba [et al.] // Fertility and sterility. 2015. Vol. 104(6). P. 1467-1474. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.08.011>

16. The role of T-helper cytokines in human reproduction / K.J. Lim [et al.] // Fertility and sterility. 2000. Vol. 73(1). P. 136-142. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(99\)00457-4](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(99)00457-4)

17. Investigation of systemic inflammatory response in first trimester pregnancy failure / J. Calleja-Agius [et al.] // Human reproduction. 2011. Vol. 27(2). P. 349-357. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/der402>

18. Cytokine production by maternal lymphocytes during normal human pregnancy and in unexplained recurrent spontaneous abortion / R. Raghupathy [et al.] // Human Reproduction. 2002. Vol. 15(3). P. 713-718. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/15.3.713>

19. Hadinedoushan H., Mirahmadian M., Aflatounian A. Increased Natural Killer Cell Cytotoxicity and IL-2 Production in Recurrent Spontaneous Abortion // American Journal of Reproductive Immunology. 2007. Vol. 58(5). P. 409-414. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2007.00524.x>

20. Rezaei A., Dabbagh A. T-helper (1) cytokines increase during early pregnancy in women with a history of recurrent spontaneous abortion // Medical Science Monitor. 2002. Vol. 8(8). P. CR607-CR610.

21. Deficiency of decidual IL-10 in first trimester missed abortion: a lack of correlation with the decidual immune cell profile / M. Plevyak [et al.] // American Journal of Reproductive Immunology. 2002. Vol. 47(4). P. 242-250. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0897.2002.01060.x>

22. Characterization of the subsets of human NKT-like cells and the expression of Th1/Th2 cytokines in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion / J. Yuan [et al.] // Journal of Reproductive Immunology. 2015. Vol. 110. P. 81-88. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2015.05.001>

23. Differences in cytokine expression and STAT3 activation between healthy controls and patients of unexplained recurrent spontaneous abortion (URSA) during early pregnancy / J. Cai [et al.] // PloS one. 2016. Vol. 11(9). P. e0163252. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163252>

24. Variations in T-helper 17 and regulatory T cells during the menstrual cycle in peripheral blood of women with recurrent spontaneous abortion / N. Sereshki [et al.] // International journal of fertility and sterility. 2014. Vol. 8(1). P. 59.

25. Jasper M.J., Tremellen K.P., Robertson S.A. Reduced expression of IL-6 and IL-1 α mRNAs in secretory phase endometrium of women with recurrent miscarriage // Journal of Repro-

ductive Immunology. 2007. Vol. 73(1). P. 74-84. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2006.06.003>

26. Increased prevalence of T helper 17 (Th17) cells in peripheral blood and decidua in unexplained recurrent spontaneous abortion patients / W.-J. Wang [et al.] // Journal of Reproductive Immunology. 2010. Vol. 84(2). P. 164-170. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2009.12.003>

27. Th17 cells and related cytokines in unexplained recurrent spontaneous miscarriage at the implantation window / B. Saifi [et al.] // Reproductive BioMedicine Online. 2014. Vol. 29(4). P. 481-489. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.06.008>

References

1. D'Ippolito S, Tersigni C, Marana R, et al. Inflammation in the human endometrium: further step in the evaluation of the "maternal side". Fertility and sterility. 2016;105(1):111-118. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.09.027>

2. Saito S, Nakashima A, Shima T, et al. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. American journal of reproductive immunology. 2010;63(6):601-610. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2010.00852.x>

3. Sharma S. Natural killer cells and regulatory T cells in early pregnancy loss. The International journal of developmental biology. 2014;58:219. DOI: 10.1387/ijdb.140109ss

4. Lebedeva OP, Zhukova IO, Ivashova ON, et al. [Subpopulations of T-lymphocytes of the endometrium in pathogenesis of early miscarriages]. Russian Journal of Human Reproduction (Problemy reproduktivnoy). 2018;24(1):82-86. Russian. DOI: 10.17116/repro201824182-86

5. Kalinski P. Regulation of immune responses by prostaglandin E2. The Journal of Immunology. 2012;188(1):21-28. DOI: 10.4049/jimmunol.1101029

6. Bustin SA, Benes V, Garson JA, et al. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. Clinical chemistry. 2009;55(4):611-622. DOI: 10.1373/clinchem.2008.112797

7. Pfaffl MV. Quantification strategies in real-time PCR. In: S.A. Bustin, ed. A-Z of quantitative PCR. La Jolla: Int. University Line; 2004:87-112.

8. Khaitov RM, Yarin AA, Pinegin BV. [Immunology: an atlas]. Moscow: GEOTAR-Media; 2011. Russian.

9. Madar T, Shahaf G, Sheiner E, et al. Low levels of circulating alpha-1 antitrypsin are associated with spontaneous abortions. The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine. 2013;26(18):1782-1787. DOI: <https://doi.org/10.3109/14767058.2013.801955>

10. Paradisi R, Porcu E, Venturoli S, et al. Maternal serum levels of pro-inflammatory cytokines in missed and threatened abortion. American Journal of Reproductive Immunology. 2003;50(4):302-308. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0897.2003.00065.x>

11. Tian C-F, Kang M-H. Common stress and serum cortisol and IL-12 levels in missed abortion. Journal of Obstetrics and Gynaecology. 2013;34(1):33-35. DOI: <https://doi.org/10.3109/01443615.2013.830089>

12. Wilson R, Moor J, Jenkins C, et al. Abnormal first trimester serum interleukin 18 levels are associated with a poor outcome in women with a history of recurrent miscarriage. American Journal of Reproductive Immunology. 2004;51(2):156-159. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.8755-8920.2003.00126.x>

13. Zenclussen AC, Fest S, Busse P, et al. Questioning the Th1/Th2 paradigm in reproduction: peripheral levels of IL-12 are down-regulated in miscarriage patients. American Journal of Reproductive Immunology. 2002;48(4):245-251. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0897.2002.01136.x>

14. Rad HA, Basirat Z, Mostafazadeh A, et al. Evaluation of peripheral blood NK cell subsets and cytokines in unexplained recurrent miscarriage. Journal of the Chinese Medical Association. 2018;81(12):1065-1070. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2018.05.005>

15. Comba C, Bastu E, Dural O, et al. Role of inflammatory mediators in patients with recurrent pregnancy loss. Fertility and sterility. 2015;104(6):1467-1474. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.08.011>

16. Lim KJ, Odukoya OA, Ajjan RA, et al. The role of T-helper cytokines in human reproduction. Fertility and sterility. 2000;73(1):136-142. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(99\)00457-4](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(99)00457-4)

17. Calleja-Agius J, Jauniaux E, Pizzey AR, et al. Investigation of systemic inflammatory response in first trimester pregnancy failure. Human reproduction. 2011;27(2):349-357. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/der402>

18. Raghupathy R, Makhseed M, Azizieh F, et al. Cytokine production by maternal lympho-

cytes during normal human pregnancy and in unexplained recurrent spontaneous abortion. *Human Reproduction*. 2002;15(3):713-718. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/15.3.713>

19. Hadinedoushan H, Mirahmadian M, Aflatounian A. Increased Natural Killer Cell Cytotoxicity and IL-2 Production in Recurrent Spontaneous Abortion. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2007;58(5):409-414. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2007.00524.x>

20. Rezaei A, Dabbagh A. T-helper (1) cytokines increase during early pregnancy in women with a history of recurrent spontaneous abortion. *Medical Science Monitor*. 2002;8(8):CR607-CR610.

21. Plevyak M, Hanna N, Mayer S, et al. Deficiency of decidual IL-10 in first trimester missed abortion: a lack of correlation with the decidual immune cell profile. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2002;47(4):242-250. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0897.2002.01060.x>

22. Yuan J, Li J, Huang S-Y, et al. Characterization of the subsets of human NKT-like cells and the expression of Th1/Th2 cytokines in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion. *Journal of Reproductive Immunology*. 2015;110:81-88. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2015.05.001>

23. Cai J, Li M, Huang Q, et al. Differences in cytokine expression and STAT3 activation between healthy controls and patients of unexplained recurrent spontaneous abortion (URSA) during early pregnancy. *PloS one*. 2016;11(9):e0163252. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163252>

24. Sereshki N, Gharagozloo M, Ostadi V, et al. Variations in T-helper 17 and regulatory T cells during the menstrual cycle in peripheral blood of women with recurrent spontaneous abortion. *International journal of fertility and sterility*. 2014;8(1):59.

25. Jasper MJ, Tremellen KP, Robertson SA. Reduced expression of IL-6 and IL-1 α

mRNAs in secretory phase endometrium of women with recurrent miscarriage. *Journal of Reproductive Immunology*. 2007;73(1):74-84. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2006.06.003>

26. Wang W-J, Hao C-F, Yi-Lin Yin G-J, et al. Increased prevalence of T helper 17 (Th17) cells in peripheral blood and decidua in unexplained recurrent spontaneous abortion patients. *Journal of Reproductive Immunology*. 2010;84(2):164-170. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2009.12.003>

27. Saifi B, Rezaee SA, Tajik N, et al. Th17 cells and related cytokines in unexplained recurrent spontaneous miscarriage at the implantation window. *Reproductive BioMedicine Online*. 2014;29(4):481-489. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.06.008>

Информация об авторах

Ольга Петровна Лебедева, доктор медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник, кафедра генетики, цитологии и биоинженерии, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», E-mail: safonova2@yandex.ru.

Алена Николаевна Ивашкевич, врач акушер-гинеколог, отделение акушерства и гинекологии, клиника «Гелиос» в Франкенвальде, E-mail: alionka_iv@yahoo.com.

Information about the authors

Olga P. Lebedeva, Doctor of Medical Science, Associate Professor, Senior Researcher, Department of Genetics, Cytology and Bioengineering, Voronezh State University, E-mail: safonova2@yandex.ru.

Aliona N. Ivashevici, Obstetrician and Gynecologist, Department of Obstetrics and Gynecology, Helios Frankenwaldklinik Kronach, E-mail: alionka_iv@yahoo.com.

Статья поступила в редакцию 9 января 2019 г.
Receipt date 2019 January 9.

Статья принята к публикации 26 мая 2019 г.
Accepted for publication 2019 May 26.