

*Иммунологические
методы обследования и лечения
супружеских пар после
многократных неудачных
попыток IVF/ET*

И. И. Гузов

Клиники и лаборатории ЦИР

Генеральный директор

<http://www.cironline.ru>

<http://www.cirlab.ru>

cir@cironline.ru

Новосибирск, 6 марта 2008

Биологические причины неудач ЭКО

Наука — это амеба, посылающая псевдоподии во все стороны, нодвигающаяся в одном направлении

Милан Гашек

Неудачи ЭКО. Классификация

- 1. По времени возникновения
 - ◆ Доимплантационные
 - ◆ Имплантационные
 - ◆ Постимплантационные

Неудачи ЭКО. Классификация

- 2. Обусловленные
 - ◆ Качеством яйцеклетки
 - ◆ Качеством сперматозоида
 - ◆ Качеством эмбриона
 - ◆ Качеством децидуальной оболочки
 - ◆ Нарушением взаимодействия между эмбрионом и эндометрием
 - ◆ Нарушением процесса оплодотворения
 - ◆ Технологическими нарушениями процедуры ЭКО

Неудачи ЭКО. Классификация

- 3. По главным факторам
 - ◆ Генетические факторы
 - ◆ Эпигенетические факторы
 - ◆ Иммунологические факторы
 - ◆ Эндокринные факторы
 - ◆ Инфекционные факторы
 - ◆ Химические и токсические факторы
 - ◆ Физические факторы
 - ◆ Нарушения гемостаза
 - ◆ Нарушения васкуляризации и кровотока

Неудачи ЭКО. Классификация

● 4. По прогнозу

- ◆ Совместимые с прогрессированием беременности и нормальным развитием плода
- ◆ Несовместимые с прогрессированием беременности и нормальным развитием плода

Если иммунологические процессы стоят у истоков зарождения жизни, то в этом скрыта важная сторона биологического значения иммунитета в целом.

В. И. Говалло



Теории, объясняющие феномены репродуктивной функции у человека

- Теория эгоизма генов (Ричард Докинс)
- Теория красной королевы (или черного ферзя) (Ли Ван Вален)
- Конфликтология в генетике (Дэйвид Хейг)

Имплантационное окно (Шарль Тибо)

- Для успеха имплантации должна быть идеальная синхронизация между развитием бластоцисты и развитием слизистой матки
- Слишком рано: матка не прошла нормальную децидуальную трансформацию, и эмбрион не сможет имплантироваться
- Слишком поздно: слизистая матки либо готовится к следующему циклу, либо активно отторгает зародыш

Имплантационное окно

- Одна из тайн имплантационного окна заключается в том, что оно не наблюдается нигде, кроме матки.
- Таким образом, матка является единственным органом, абсолютно рефрактерным для имплантации, кроме короткого периода имплантационного окна (Жерар Шауа)
- Нет ни одного исследования, подтверждающего классическую миграцию НК-клеток в область плацентарной площадки при внематочной беременности

Зачем нужно половое размножение?

(Джордж Вильямс)

- Бесполое размножение не требует затрат сил на поиск партнера
- Бесполое размножение происходит в 2 раза быстрее, поскольку передает потомству в два раза больше своих генов и только своих генов
- При половом размножении существует постоянная угроза потери части генов, поскольку потомству передается только половина генов

Вильям Хамильтон: компьютерная модель полового/бесполого размножения и болезни

- Двуполые организмы выигрывают только тогда, когда в систему вводятся паразиты

Теория красной королевы («черного ферзя») Ли Ван Вален

- У нас, - сказала Алиса, с трудом переводя дух, - когда долго бежишь со всех ног, непременно попадешь в другое место.
- Какая медлительная страна! - сказала Королева. - Ну, а здесь, знаешь ли, приходится бежать со всех ног, чтобы только остаться на том же месте! Если же хочешь попасть в другое место, тогда нужно бежать по меньшей мере вдвое быстрее!



Faster! Faster! Cried the Queen.
John Tenniel, from *Through the Looking-Glass*

Теория красной королевы (Ли Ван Вален)

- Образное название биологической эволюционной гонки вооружений.
- Продолжительность благополучного существования вида не гарантирует виду благополучного существования в будущем (закон вымирания вида)
- Существует постоянная гонка вооружений между макроорганизмом и паразитами. Макроорганизм совершенствует методы защиты. Микроорганизм совершенствует методы нападения. Микроорганизм подбирает ключи, макроорганизм меняет замки

Теория красной королевы

- Только рекомбинация генов при мейозе и ауткроссинг генов при половом размножении обеспечивает быстрое распространение генов, повышающих устойчивость к атакам паразитов
- Половое размножение – это единственный шанс выжить для популяции медленно размножающихся макроорганизмов в условиях постоянного давления со стороны быстро размножающихся и мутирующих микроорганизмов

Теория красной королевы (Мэтт Ридли)

- **Immune system would not work without sex.**
- **Иммунная система не может работать без полового размножения**

Иммунология и репродукция

- Взаимодействие репродуктивных и иммунных факторов в процессе эволюции обеспечило все разнообразие полиморфизмов генов, важных как для репродуктивного успеха, так и для эффективной иммунной защиты
- Иммунные механизмы обеспечивают высокую степень избирательности всех этапов репродуктивного процесса
- В женском организме, несущем основную физиологическую нагрузку, связанную с беременностью, иммунные механизмы играют важную роль в выборе эмбриона с оптимальными биологическими характеристиками

Аллоиммунные факторы снижения фертильности

- HLA-гены: гены ИММУННОГО ОТВЕТА
- Драма гомозигот: выводятся из репродуктивного процесса всеми возможными способами
 - ◆ Недружелюбный прием эмбриона материнским организмом
 - ◆ Снижение фертильности
 - ◆ Ослабленный иммунитет
 - ◆ Повышение риска аутоиммунных заболеваний в результате химеризма (косвенным образом – снижение фертильности матери)

Аллоиммунные факторы риска

- HLA-типирование (DR, DQ)
 - ◆ Похожесть первых двух цифр
 - ◆ «Гомозиготность» по первым двум цифрам у одного из родителей
 - ◆ DR важнее DQ
 - ◆ DQB1 важнее DQA1
- MLC (СКЛ) – смешанная культура лимфоцитов
 - ◆ Ослабление реакции на лимфоциты отца

Аллоиммунные факторы: лечение

- Попытка обмана эволюции:
 - ◆ иммунизация лимфоцитами мужа
 - ◆ иммунизация донорскими лимфоцитами
 - ◆ иммунизация лизатом плаценты
- Доза имеет решающее значение.
Золотой стандарт: 200-250 млн.
клеток
- Иммунологическая память носит
пожизненный характер

Репродуктивный иммунофенотип

- Иммунная система матки
 - ◆ Защита от вторжения инфекции
 - ◆ На страже биологических интересов матери
 - Крепость, которую нужно взять штурмом
 - Только героическое поведение эмбриона способно преодолеть все барьеры
 - После приема на поселение – испытания на протяжении нескольких недель

Репродуктивный иммунофенотип

- Главная задача материнского организма: не ошибиться в выборе
- Огромные физиологические ресурсы, затрачиваемые на вынашивание беременности, роды, лактацию и защиту ребенка требуют большой осмотрительности в выборе «правильного зародыша»

Большой гранулярный лимфоцит — главная клетка иммунной системы эндометрия

- Large granular lymphocyte (LGL):
CD56^{bright} CD16⁻ mCD3⁻
- 70% всех лейкоцитов эндометрия
- Тесная связь с клетками
экстравиллезного трофобласта
- Экспрессия рецепторов к HLA-G и
HLA-C антигенам трофобласта

Таблица 1. Лейкоциты слизистой матки

	Эндометрий вне беременности	Ранняя децидуальная оболочка		
	Пролиферативная фаза	Секреторная фаза	Базальная	Париетальная
Гранулоциты				
Нейтрофилы	-	-/+	-/+	-
Эозинофилы	-	-	-	-
Базофилы	-	-	/	-
Лимфоциты				
В клетки	-(+)	-(+)	-(+)	-(+)
T клетки	+	+	+	+
NK клетки (LGL)	+	+++	+++++	+++
Макрофаги	+	+	+++	+

Репродуктивный фенотип

- Иммунограмма
- Полиморфизм генов цитокинов

Репродуктивный фенотип

- Факторы риска
 - ◆ Высокие цифры CD8, CD16, CD56
 - ◆ Высокие цифры В1-лимфоцитов в сочетании с повышением общих IgM либо аутоиммунных IgM
 - ◆ Высокие цифры В1-лимфоцитов в сочетании с аутоиммунными состояниями (зоб Хасимото)

Репродуктивный иммунофенотип

- Факторы риска:
 - ◆ Наличие провоспалительных вариантов генов интерлейкина 1, рецепторного антагониста интерлейкина 1, туморнекротического фактора и др.

Репродуктивный иммунофенотип

- Лечение:

- ◆ Санация очагов воспаления в организме
- ◆ Внутривенные иммуноглобулины в средних и больших дозах в сочетании с низкодозированным аспирином (выключение тромбоцитов из ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО процесса, НЕ ТОЛЬКО АНТИАГРЕГАНТ)

IVF: триггерные точки запуска циклов

- Суперовуляция
- Забор яйцеклеток
- Подсадка эмбрионов
- Имплантация

Факторы риска имплантации и плацентации

- Спазм спиральных артерий
- Тромбоз спиральных артерий
- Избыточное отложение фибрина

Факторы риска нарушений имплантации и плацентации

- Аутоиммунные факторы
- Тромбофилия
- Сосудистый спазм

Аутоиммунные факторы

- Антитела к фосфолипидам
- Антитела к ДНК
- Антитела против щитовидной железы
- Антитела к кофакторам АФС:
 - ◆ Аннексину V
 - ◆ Бета2-гликопротеину 1

Тромбофилические состояния

- Гемостазиограмма
- Волчаночный антикоагулянт
- D-димеры
- Антитромбин III
- Протеин С
- Гомоцистеин

Тромбофилии

- Полиморфизм генов системы гемостаза
- Полиморфизм генов фолатного обмена

Сосудистый спазм

- Полиморфизм генов ренин-ангиотензиновой системы

Иммунологическое обследование при невынашивании беременности и бесплодии

Аутоиммунные факторы

Антитела к кардиолипину

Антитела к ДНК

Антитела к белкам щитовидной железы

Антитела к фактору роста нервов

Аллоиммунные факторы

HLA-типирование

Смешанная культура лимфоцитов супругов

Иммуно-фенотип

Иммунограмма:

Выявление вторичных иммунодефицитных состояний и вирусной активности

Уровень NK-клеток и V_1 -лимфоцитов

Особенности иммунологической конституции пациентки

Антиспермальные антитела

Проба Шуварского

Проба Курцрока-Миллера

АСАТ в крови методом ELISA

АСАТ в цервикальной слизи и в сперме методом латекс-агглютинации

Список исследований, рекомендованных Центром иммунологии и репродукции (Москва)

Спасибо!

