УДК 618.39-021.3-08
DOI: https://doi.org/10.17816/JOWD629708

Оценка эффективности цитотерапии у женщин с ранними репродуктивными потерями

М.О. Шенгелия, О.Н. Беспалова, Т.С. Жернакова, Е.А. Корнюшина, О.В. Пачулия, В.А. Семенов

Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Цитотерапия, или аллоиммунизация, лимфоцитами партнера — метод активной иммунокоррекции путем искусственной иммунизации аллогенными отцовскими или донорскими лейкоцитами или их фрагментами до беременности и на ранних сроках — эффективный способ коррекции иммунорегуляции, позволяющий повысить эффективность протоколов вспомогательных репродуктивных технологий и число успешных беременностей, закончившихся живорождением у пар с привычным невынашиванием беременности.

Цель — оценить клиническую и лабораторную эффективность цитотерапии у супружеских пар с репродуктивными нарушениями в анамнезе.

Материалы и методы. В исследование включены 77 супружеских пар с привычным выкидышем, первичным бесплодием, повторными неудачами имплантации при экстракорпоральном оплодотворении. Критерии включения: возраст от 20 до 44 лет, две неудачи имплантации и более при экстракорпоральном оплодотворении и/или два самопроизвольных прерывания беременности и более до 20 нед., нормальный кариотип абортуса и партнеров, типирование генов системы HLA (human leukocyte antigen, главного комплекса гистосовместимости) II класса по трем локусам (DQA1, DQB1, DRB1) супружеской паре. Всем женщинам перед планируемой беременностью проводили цитотерапию в качестве монотерапии. Для исследования иммунного статуса обследовали кровь пациенток и устанавливали количество натуральных киллеров (NK-клеток, $CD3^{-}CD16^{+}CD56^{+}$), натуральных Т-киллеров (NKT-клеток, $CD3^{+}CD16^{+}CD56^{+}$), активность NK-клеток по спонтанной или активированной экспрессии CD107a.

Результаты. Из 77 женщин, включенных в исследование, у 32 не прошло 12 мес. для регистрации беременности, поэтому из оставшихся 48 супружеских пар — у 32 (66,7 %) было зарегистрировано наступление беременности в течение 12 мес. после иммунизации. Среди пациенток с привычным выкидышем беременность наступила в 87,0 % случаев, и в 45,2 % — закончилась рождением здорового доношенного ребенка, а у 29,0 % женщин в настоящее время беременность развивается. Среди пациенток с первичным бесплодием и повторными неудачами имплантации при экстракорпоральном оплодотворении беременность наступила в 35,3 % случаев. При сравнении показателей функциональной активности NK-клеток периферической крови до и через 2 нед. после второй цитотерапии отмечено статистически значимое снижение общего количества NK-клеток на 5,1 % (p = 0,015).

Заключение. Цитотерапия эффективна у пациентов с привычной потерей плода на раннем сроке гестации и в 87 % случаев приводит к наступлению беременности, а в 74 % случаев — к ее пролонгированию после 13 нед. Эффект процедуры оправдан ее иммунорегуляторными функциями, что проявлено в снижении общего количества NK-клеток.

Ключевые слова: цитотерапия; аллоиммунизация лимфоцитами партнера; привычное невынашивание беременности; повторные неудачи имплантации; бесплодие; экстракорпоральное оплодотворение; репродуктивные нарушения.

Как цитировать
Шенгелия М.О., Беспалова О.Н., Жернакова Т.С., Корнюшина Е.А., Пачулия О.В., Семенов В.А. Оценка эффективности цитотерапии у женщин с ранними репродуктивными потерями // Журнал акушерства и женских болезней. 2024. Т. 73. № 6. С. 182–193. DOI: https://doi.org/10.17816/JOWD629708

Рукопись получена: 31.03.2024 **Рукопись одобрена:** 06.09.2024 **Опубликована online:** 27.12.2024

ЭКО•ВЕКТОР
Статья доступна по лицензии CC BY-NC-ND 4.0 International
© Эко-Вектор, 2024

DOI: https://doi.org/10.17816/JOWD629708

Evaluation of the effectiveness of cytotherapy in women with early pregnancy loss

Margarita O. Shengelia, Olesya N. Bespalova, Tatiana S. Zhernakova, Ekaterina A. Kornyushina, Olga V. Pachuliia, Vyacheslav A. Semenov

The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: Cytotherapy, or alloimmunization, with partner lymphocytes is a method of active immunocorrection through artificial immunization with allogeneic paternal or donor leukocytes or their fragments before and in the early stages of pregnancy, as an effective method for correcting immunoregulation, which will increase the effectiveness of assisted reproductive technologies protocols and the number of successful pregnancies ending in live birth in couples with recurrent pregnancy loss.

AIM: The aim of this study was to evaluate the clinical and laboratory effectiveness of cytotherapy in married couples with a history of reproductive disorders.

MATERIALS AND METHODS: The study included 77 married couples with recurrent miscarriage, primary infertility, and repeated implantation failure during *in vitro* fertilization. Inclusion criteria were age 20–44 years, 2 implantation failures during *in vitro* fertilization and more and/or 2 spontaneous abortions before 20 weeks of gestation and more, normal karyotypes of the abortus and partners, HLA (human leukocyte antigen, major histocompatibility complex) class II gene typing at three loci (DQA1, DQB1, DRB1) in the married couple. All women received cytotherapy as monotherapy before a planned pregnancy. To study the immune status, the patients' blood was examined and the natural killer (NK) cell ($CD3^-CD16^+CD56^+$) and natural T-killer (NKT) cell ($CD3^+CD16^+CD56^+$) counts, as well as NK cell activity, were determined by spontaneous or activated expression of CD107a.

RESULTS: Of the 77 women included in the study, 32 individuals did not have 12 months to register their pregnancy, therefore, of the remaining 48 married couples, 32 (66.7%) ones had pregnancy registered within 12 months after immunization. Among patients with recurrent miscarriage, pregnancy occurred in 87.0% of cases, in which in 45.2% of cases it ended in the birth of a healthy full-term newborn, and in 29% of cases, pregnancy is currently developing. Among patients with primary infertility and repeated implantation failure during *in vitro* fertilization, pregnancy occurred in 35.3% of cases. When comparing the functional activities of NK cells in peripheral blood before and two weeks after the second cytotherapy, we found a decrease in the total NK cell count by 5.1% ($p = 0.015$).

CONCLUSIONS: Cytotherapy is an effective therapy in patients with recurrent early miscarriage and leads to pregnancy in 87% of cases and its prolongation after 13 weeks in 74% of cases. The effect of the procedure is justified by its immunoregulatory functions, which is manifested by a decrease in the total NK cell count.

Keywords: cytotherapy; lymphocyte immunotherapy; recurrent miscarriage; repeated implantation failure; infertility; *in vitro* fertilization; reproductive disorders.

To cite this article

Shengelia MO, Bespalova ON, Zhernakova TS, Kornyushina EA, Pachuliia OV, Semenov VA. Evaluation of the effectiveness of cytotherapy in women with early pregnancy loss. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases.* 2024;73(6):182–193. DOI: https://doi.org/10.17816/JOWD629708

Received: 31.03.2024 **Accepted:** 06.09.2024 **Published online:** 27.12.2024

ECO•VECTOR

The article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 license
© Eco-Vector, 2024

ОБОСНОВАНИЕ

Цитотерапию [лимфоцитиммунотерапию, иммуноцитотерапию (ИЦТ), аллоиммунизацию лимфоцитами партнера] применяют на протяжении 50 лет. Она является методом активной иммунокоррекции путем искусственной иммунизации аллогенными отцовскими или донорскими лейкоцитами или их фрагментами при привычном невынашивании беременности, бесплодии неясного генеза, повторных неудачах имплантации при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО) [1, 2].

В основе метода лежит стимуляция продукции антиотцовских цитотоксических антител (anti-paternal cytotoxic antibodies, APCA) [3], антиидиотипических антител (антиидиотипы, anti-idiotypicantibodies, Ab2) [4] и антител, блокирующих реакцию смешанной культуры лимфоцитов супругов (mixed lymphocyte reaction blocking antibodies, MLR-Bf) [5–8]. Предполагаемые механизмы развития материнского иммунного ответа на отцовские антигены могут быть связаны как с появлением антител, способных связывать в частности рецепторы клеток, участвующих в цитотоксических реакциях в отношении будущего трофобласта, например, LIR-1[1]-супрессорные рецепторы натуральных киллеров (NK-клеток), так и с избирательным изменением состава клеток, способствующих формированию оптимального супрессивного фенотипа, необходимых для успешной имплантации и развития беременности [9–11].

Этот метод разработали и предложили A. Beer и соавт. (1970–1978), в России его ввели в практику в 1983 г. В.М. Сидельникова и В.И. Говалло, а патент на методику проведения цитотерапии получен в 2004 г. [12].

До сих пор цитотерапию назначают в большинстве случаев эмпирически, на основе данных репродуктивного анамнеза [13, 14]. В настоящее время обосновано ее персонифицированное назначение по результатам обследования трех локусов системы HLA (human leukocyte antigen, главного комплекса гистосовместимости) II класса (DQA1, DQB1, DRB1) у партнеров с отягощенным репродуктивным анамнезом (привычным невынашиванием беременности, бесплодием неясного генеза, повторными неудачами имплантации при ЭКО).

Эффективность аллоиммунизации лимфоцитами партнера оценивают по клиническому успеху в наступлении и пролонгировании беременности до доношенности [15–17]. Оценка эффективности лабораторными методами предполагает выявление изменений иммунорегуляторных механизмов, направленных на адаптацию иммунной системы матери к полуаллогенному плоду, что проявлено в изменении состава натуральных Т-киллеров (NKT-клеток), NK-клеток, Т-регуляторных клеток, концентрацией провоспалительных цитокинов [18–21] и остается предметом научных исследований.

Несмотря на большой список исследований, уже проведенных различными группами авторов, эффективность данной процедуры в разных популяциях варьирует [22–24]. Разногласия возникают на всех этапах анализа, от критериев отбора пациентов, методики получения материала, кратности и дозы введения лейкоцитарной взвеси, временного интервала наступления беременности, использования крови партнера или донора (как мужчин, так и женщин), лабораторных критериев оценки эффективности до интерпретации полученных данных, что не позволяет ввести данный метод иммунотерапии в современные клинические протоколы, гайдлайны и мировые стандарты [25].

Цель — оценить эффективность цитотерапии у супружеских пар с репродуктивными нарушениями в анамнезе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 77 супружеских пар с диагнозами «привычный выкидыш» (код 96 по Международной классификации болезней 10-го пересмотра), «женское бесплодие неуточненное» (код 97.9) идиопатического генеза, а также многократными неудачами имплантации при применении вспомогательных репродуктивных технологий (двумя и более). Критерии включения: возраст женщины от 20 до 40 лет, типирование генов главного комплекса гистосовместимости HLA II класса (DRB1, DQA1, DQB1) супружеских пар, две неудачи имплантации и более при применении вспомогательных репродуктивных технологий и/или два эпизода самопроизвольного прерывания беременности и более до 20 нед. от одного и того же партнера (если в каждом случае доказаны нормальные кариотипы абортуса и партнеров), самопроизвольное наступление предыдущих беременностей, отсутствие анатомических, аутоиммунных и гормональных нарушений, воспалительных заболеваний органов малого таза в фазе обострения, подписанная пациенткой форма информированного согласия на исследование.

Критерии исключения: со стороны женщин — наличие антифосфолипидного синдрома или повышение антифосфолипидных антител (критериальных), аутоиммунные заболевания (системная красная волчанка, ревматоидный артрит, гломерулонефрит и др.), поливалентная форма аллергии, наличие инфекционных заболеваний или обострение хронических в текущий момент; со стороны мужчин — хронический вирусный гепатит В, С, ВИЧ, сифилис, заболевания, вызванные вирусными инфекциями в настоящий момент, хронические инфекционные заболевания. Критерии исключения являются противопоказанием для назначения цитотерапии.

Так, перед каждой процедурой с целью биологической безопасности проводили обследование мужчины

[1] LIT-1 — Leukocyte Ig-like receptor, лейкоцитарный иммуноглобулиноподобный рецептор.

(срок действия всех результатов составляет 3 мес.), включающее:

1) исследование уровня иммуноглобулинов классов M, G (IgM, IgG) к вирусу иммунодефицита человека ВИЧ-1/-2 в крови;
2) определение антител к бледной трепонеме (*Treponema pallidum*) иммуноферментным методом в крови;
3) определение антигена (HbsAg) вируса гепатита B (Hepatitis B virus) в крови;
4) определение суммарных антител классов M и G (anti-HCV IgG и anti-HCV IgM) к вирусу гепатита C (Hepatitis C virus) в крови.

Перед каждой процедурой проводили комплексное исследование на СПИД, гепатит B, C методом полимеразной цепной реакции (срок действия результатов 72 ч) и клинический анализ крови.

Выделение клеток для цитотерапии

Всем женщинам перед беременностью проводили цитотерапию в качестве монотерапии лимфоцитами супруга в предгравидарной подготовке в середине фолликулярной фазы двух последовательных менструальных циклов (м. ц.) и во время наступившей беременности в сроке 5–6 и/или 8–9 нед. Данную процедуру используют в институте с 2004 г. Методика проведения цитотерапии в формате стандартной операционной процедуры «Логистика приема супружеской пары для процедуры ИЦТ» утверждена на заседании локального этического комитета НИИ АГиР им. Д.О. Отта (протокол № 11 от января 2022 г.).

Забор крови у партнера осуществляли из локтевой вены в стерильные вакутейнеры с гепарином натрия объемом 50–70 мл (6–10 вакутейнеров) в специальном боксированном помещении для работы с компонентами крови с соблюдением условий стерильной работы.

Образцы крови инкубировали в вертикальном положении в термостате при температуре 37 °C в течение 2 ч. Дальнейшие манипуляции проводили в ламинарном шкафу (класс 2 биологической безопасности в стерильных условиях). После разделения крови на два слоя надосадок аккуратно снимали пастеровской пипеткой (объемом 10–15 мл) и переносили в стерильные 15 мл. Затем центрифугировали при 150 g 10 мин.

Далее удаляли надосадочную жидкость и проводили лизис эритроцитов 3–4 раза. Очищенную суспензию лейкоцитов ресуспендировали и полученный биоматериал забирали в шприц для дальнейшего внутрикожного ведения. Суспензию, содержащую от 5×10^6 до 100×10^6 лейкоцитарных клеток, вводили внутрикожно в подлопаточную область (в 6–8 точек по 0,3 мл).

В период предгестационной подготовки рекомендована барьерная контрацепция. С третьего м. ц. контрацепция отменена. Наступление беременности регистрировали в течение 12 последующих м. ц. При отсутствии наступления беременности проводили «доиммунизацию» через 6 м. ц. после последней процедуры однократно.

У всех пациенток оценивали количество NK-клеток ($CD3^-CD16^+CD56^+$) и NKT-клеток ($CD3^+CD16^+CD56^+$) и определяли функциональную активность NK-клеток по спонтанной и индуцированной экспрессии CD107a методом проточной цитофлуориметрии. Для этого мононуклеары периферической крови выделяли на градиенте плотности фиколла (ρ = 1,077, Sigma, США) стандартным методом. Далее часть клеток инкубировали в культуральной среде RPMI-1640 (Sigma, США) с добавлением реагента для активации лейкоцитов, содержащего смесь форбол-миристат-ацетата и иономицина (BD, США), 3 ч при температуре 37 °C и 5 % содержанием диоксида углерода. Другую часть клеток инкубировали без добавления активатора. После инкубации клетки отмывали раствором Хэнкса (ООО «БиолоТ», Россия) и обрабатывали моноклональными антителами к CD16, CD56, CD3, CD45, CD107a (BD, США) согласно рекомендациям производителя.

Измерения проводили на проточном цитофлуориметре FacsCanto II (BD, США) в отделе иммунологии и межклеточных взаимодействий НИИ АГиР им. Д.О. Отта. NK-клетки анализировали до иммунизации и через 2 нед. после повторной иммунизации.

Статистический анализ

Статистическая обработка результатов проведена с использованием программы IBM SPSS Statistics 26. Перед описанием количественных данных проверен характер их распределения с помощью критерия Шапиро – Уилка. Все необходимые условия соблюдены с обоснованием их применимости: нормальное распределение признаков и равенство дисперсий в сравниваемых группах — максимальная близость значений среднего арифметического. Показатели измерены в количественной шкале, соблюдено правило «трех сигм». Поскольку все выборки соответствовали критериям нормального распределения, использованы параметрические методы (*t*-критерий Стьюдента).

Значимость различий относительных показателей, характеризующих частоту наступления беременности, оценивали с помощью метода χ^2. Частоты аллелей рассчитывали по закону Харди – Вайнберга. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В общей когорте пациенток с репродуктивными нарушениями средний возраст составил 33,9 ± 4,6 года (от 26 до 42 лет), индекс массы тела — 22,4 ± 3,8 кг/м^2 (от 17 до 35,1 кг/м^2).

До решения вопроса о назначении цитотерапии все женщины с отягощенным репродуктивным анамнезом из группы исследования прошли многолетний путь диагностики для выявления возможных причин данной патологии и патогенетическую терапию. Наиболее часто встречались воспалительные заболевания органов малого таза (56,5 %), урогенитальные инфекции (46,4 %).

Таблица 1. Варианты трех локусов системы HLA II класса (DRB1, DQA1, DQB1)
Table 1. Variants of the three HLA class II loci (DRB1, DQA1, DQB1)

Локус	Вариант
DQA1	101-102, 103, 201, 301, 401, 501, 601
DQB1	201, 301, 302, 303, 304, 305, 401, 402, 501, 502, 503.1, 504, 601, 602-8
DRB1	01, 03, 04, 06, 07, 08, 09, 10, 11, 12, 15, 16

Гормональные нарушения (синдром поликистозных яичников, неклассическая форма врожденной дисфункции коры надпочечников, нарушение лютеиновой фазы / ановуляция, нарушение менструального цикла) диагностированы у каждой 7-й женщины (14,2 %). Наружный генитальный эндометриоз и/или аденомиоз диагностирован у 12,9 % пациенток. У 19,5 % женщин был повышенный уровень антител к аннексину V и хорионическому гонадотропину человека. Так, практически в половине случаев встречались воспалительные заболевания органов малого таза и урогенитальная инфекция, причем их лечение выполнено в полном объеме. После коррекции гинекологической и экстрагенитальной патологии и при отсутствии эффекта от назначенной терапии (отсутствии наступления беременности или потере беременности на ранних сроках гестации) рекомендовано более детальное иммунологическое и генетическое исследование.

Всем супружеским парам проведено типирование генов главного комплекса гистосовместимости HLA II класса по трем локусам DRB1, DQA1, DQB1 с помощью аллель-специфической полимеразной цепной реакции.

При анализе количества совпадений аллелей в супружеских парах по локусам DQA1, DQB1 и DRB1 исследована частота совпадений по каждому локусу, а также частота аллелей и генотипов у каждого из супругов. Совпадением считали наличие у обоих супругов хотя бы одного случая одинаковых аллелей в локусе. При обнаружении одинаковых вариантов внутри локуса количество совпадений удваивали. Так, присутствие у супружеской пары с генотипом ♀DQA1 **103/103** и ♂DQA1 201/**103** приравнивали к двум совпадениям по локусу DQA1, а генотип ♀DQA1 **103/103** и ♂DQA1 **103/103** — к четырем совпадениям по локусу DQA1. Таким образом, максимальное количество возможных совпадений по трем локусам в гене HLA II класса (y) может достигать $y = (2n \times 3) \times 2 = 12$, где n — аллель. Это является наиболее отягощающем иммунологическим фактором у пациентов с привычной потерей плода на ранних сроках.

Так, среди супружеских пар с репродуктивными нарушениями (бесплодием, повторными неудачами имплантации при ЭКО и привычным невынашиванием беременности) в 85,7 % случаев установлено совпадение по двум аллелям в системе HLA II класса и более (рис. 1). В парах с репродуктивными нарушениями диагностировано совпадение по 2 аллелям у 16,9 % пар, по 3 — у 33,7 %, по 4 — 10,4 %, по 5 — у 15,6 %, по 6 — у 7,8 %. У двух пар

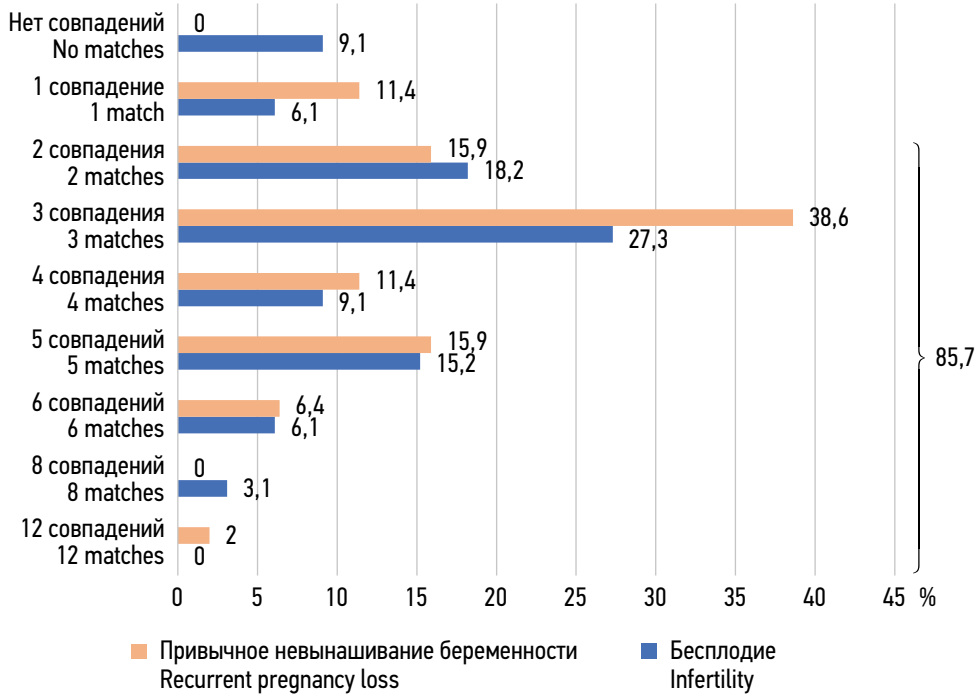

Рис. 1. Распределение по количеству совпадений по системе HLA II класса среди супружеских пар с репродуктивными нарушениями
Fig. 1. Distribution of the matches according to the HLA class II system among married couples with reproductive disorders

Таблица 2. Количество супружеских пар с наиболее частыми гаплотипами HLA II класса (DQA1, DQB1, DRB1) среди супружеских пар с репродуктивными нарушениями

Table 2. Number of couples with the most common HLA class II haplotypes (DQA1, DQB1, DRB1) among couples with reproductive disorders

Количество супружеских пар	DQA1	DQB1	DRB1
6,5 % (*n* = 5)	–	301	11
6,5 % (*n* = 5)	101-102	501	–
6,5 % (*n* = 5)	–	602-8	06
6,5 % (*n* = 5)	301	–	04
7,8 % (*n* = 6)	501	201	–
7,8 % (*n* = 6)	101-102	–	01
7,8 % (*n* = 6)	101-102	–	01
7,8 % (*n* = 6)	201	201	–
7,8 % (*n* = 6)	201	–	07
7,8 % (*n* = 6)	101-102	602-8	–
9,1 % (*n* = 7)	501	–	11
16,9 % (*n* = 13)	501	301	–
6,5 % (*n* = 5)	201	201	07
6,5 % (*n* = 5)	101-102	501	01

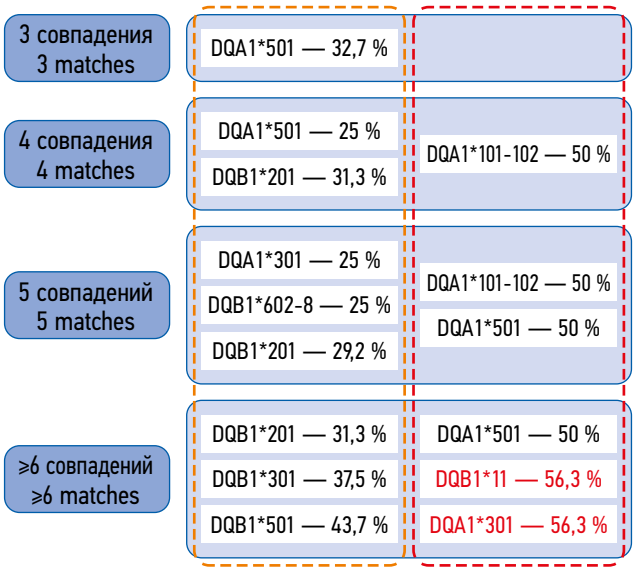

Рис. 2. Распределение наиболее часто встречающихся совпадений у аллелей трех локусов системы HLA II класса (DQA1, DQB1, DRB1) у супружеских пар с репродуктивными нарушениями

Fig. 2. Distribution of the most frequent matches in alleles of the three HLA class II loci (DQA1, DQB1, DRB1) in married couples with reproductive disorders

установлено совпадение по 8 и 12 аллелям в трех локусах DQA1, DQB1, DRB1. Из 33 супружеских пар с бесплодием совпадения по двум аллелям и более обнаружено у 79 %, а из 44 пар с привычным невынашиванием беременности — у 90,5 % ($p < 0,05$).

Таким образом, у 85 % пар с отягощенным репродуктивным анамнезом выявлено совпадение по двум и более локусам в системе HLA II класса, наиболее частыми вариантами аллельных совпадений по двум локусам являются DQA1*0501/DRB1*11/ и DQA1*0501/DQB1*301/ (9,1 и 16,9 % соответственно), по трем локусам DQA1*0201/DQB1*201/DRB1*07/ и DQA1*101-102/DQB1*501/DRB1*01/ (6,5 и 6,5 % соответственно) (табл. 2).

В зависимости от количества совпадений проанализирована частота совпадений у аллелей трех локусов DRB1, DQA1, DQB1 и выделены наиболее значимые (рис. 2).

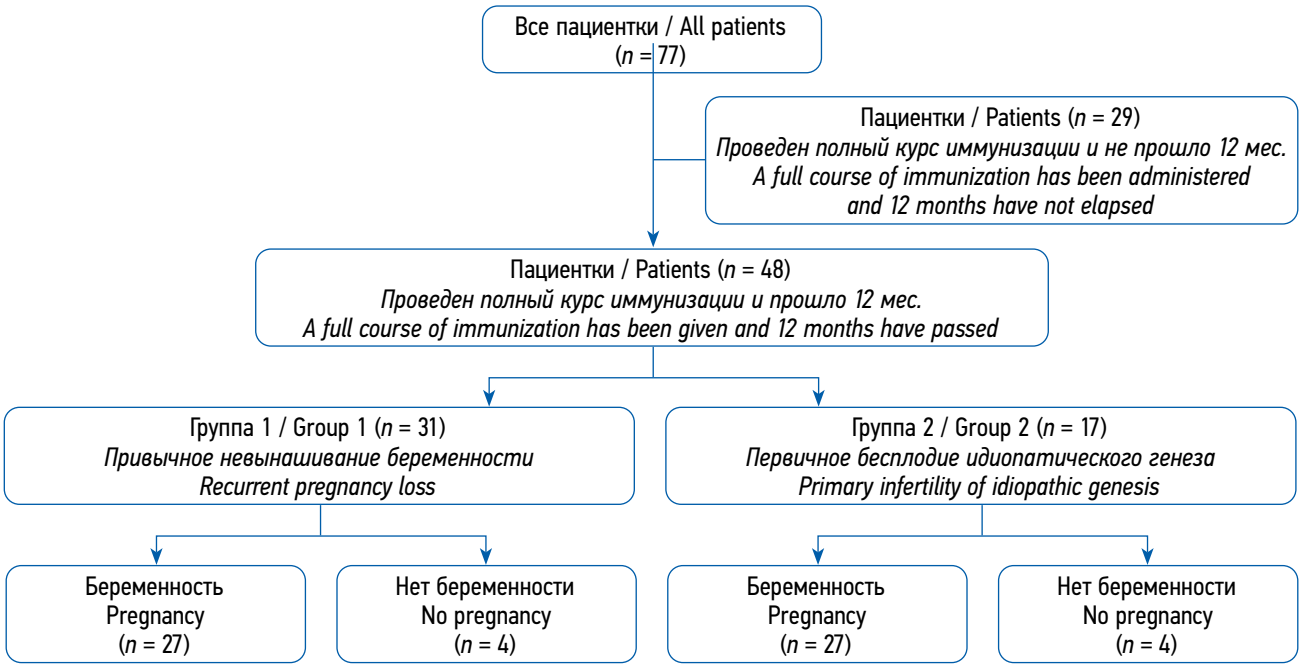

Рис. 3. Эффективность цитотерапии на основании наступления беременности

Fig. 3. Efficacy of cytotherapy based on pregnancy onset

Так, обращает на себя внимание группа из четырех аллелей: совпадения среди них встречались у каждой второй супружеской пары: DQA1*101-102 и DQA1*0501 в 50 % случаев, DQA1*0301 и DRB1*11 в 56,3 % случаев (рис. 2).

Показанием для назначения курса цитотерапии, помимо комплексного иммунологического обследования, было исследование генов HLA II класса. Так, всем супружеским парам на прегравидарном этапе проведены две процедуры цитотерапии в формате монотерапии до 14-го дня м. ц. в течение 2 последовательных м. ц. При наступлении беременности в зависимости от количества совпадений по системе HLA II класса была дополнительно назначена одна (на сроке 5–6 нед.) или две процедуры цитотерапии (на сроке 5–6 и 8–9 нед.). Так, при наличии трех совпадений и менее проводили иммунизацию при беременности однократно, а при наличии 4 совпадений и более — двукратно.

Из 77 женщин, включенных в исследование, у 29 не прошло 12 мес. для регистрации беременности, поэтому из оставшихся 48 супружеских пар, получивших полный курс иммунизации, спустя 12 мес. у 28 (58,3 %) зарегистрировали наступление беременности в течение 6 м. ц. после иммунизации, еще у 4 (8,3 %) женщин — в период 7–12 м. ц. При этом у 16 (33,3 %) женщин беременность не наступила в течение 12 м. ц. после иммунизации (рис. 3). У 21 из 32 (65,6 %) женщин беременность завершилась

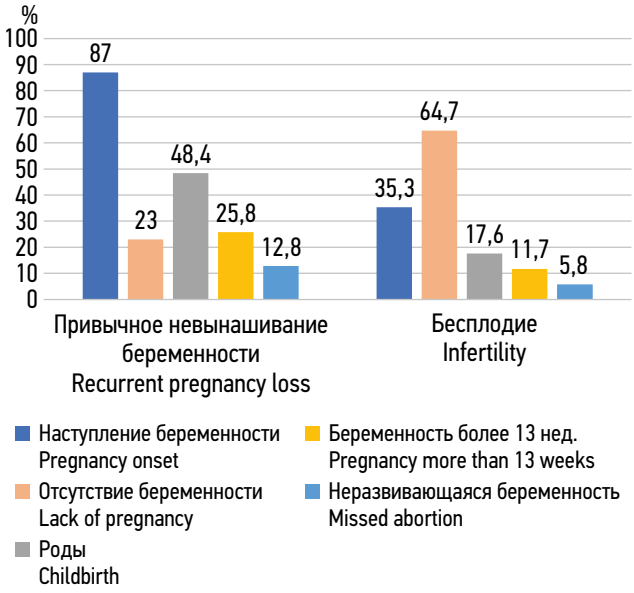

Рис. 4. Исходы лечения у обследованных женщин

Fig. 4. Therapy outcomes in the examined women

рождением живых доношенных детей. В 5 (15,6 %) случаях зарегистрирована неразвивающаяся беременность на сроках 5–9 нед., из них в 2 (6,3 %) случаях — по причине хромосомной аномалии у плода. Остальные 6 (18,7 %) женщин в настоящее время беременны.

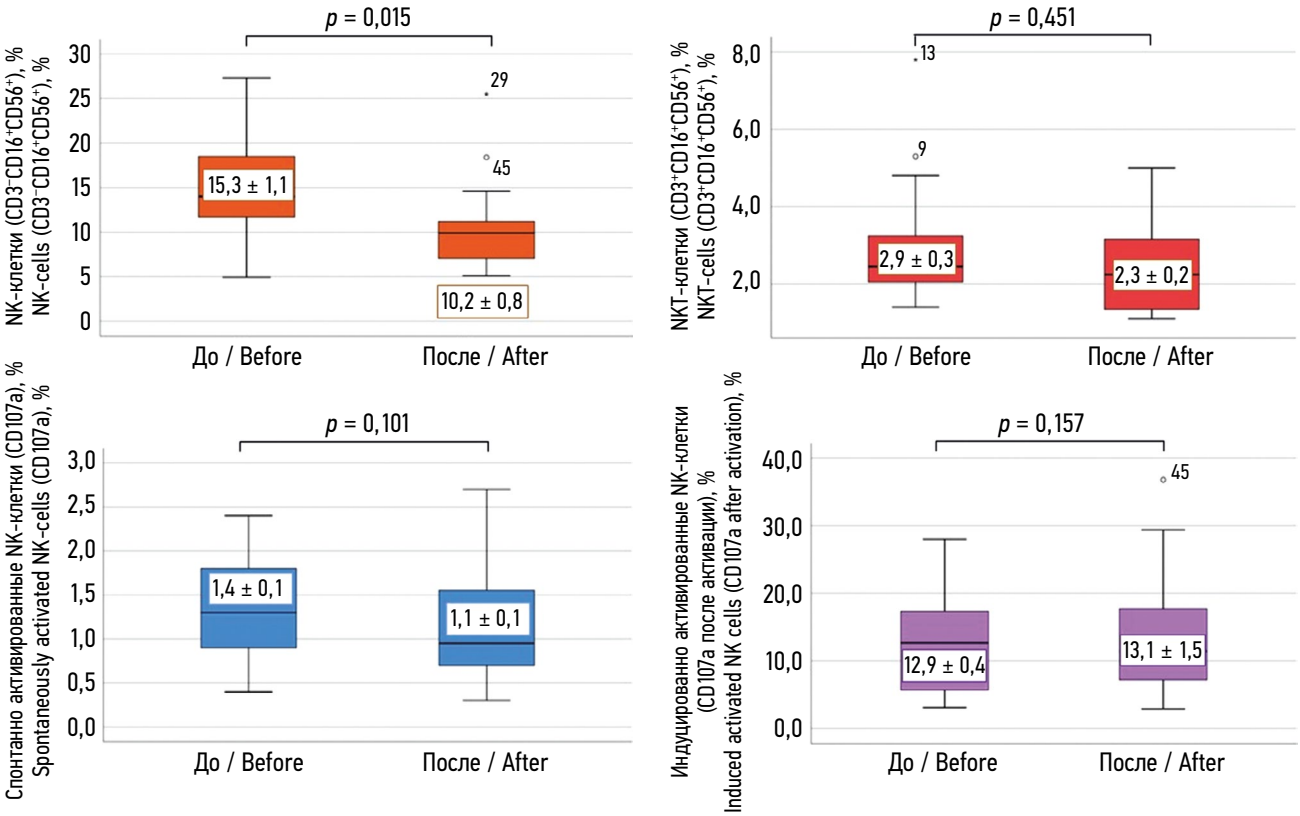

Рис. 5. Динамика изменений показателей функциональной активности натуральных киллеров (NK-клеток) и натуральных Т-киллеров (NKT-клеток) периферической крови до цитотерапии и через две недели после повторной иммунизации. Точки обозначают «выбросы» из общей группы по статистическому анализу, не входящие в 95 % доверительный интервал

Fig. 5. Natural killer (NK) and natural T-killer (NKT) cell functional activity dynamics in peripheral blood before cytotherapy and two weeks after re-immunization. Dots denote “outliers” from the total statistical analysis group outside the 95% confidence interval

DOI: https://doi.org/10.17816/JOWD629708

На втором этапе исследования пациентки разделены на 2 группы: группа 1 (n = 31) включала женщин с привычным невынашиванием беременности, группа 2 (n = 17) — с первичным бесплодием идиопатического генеза и повторными неудачами имплантации при ЭКО. При анализе клинической эффективности цитотерапии установлено, что среди пациенток из группы 1 беременность наступила в 87 % случаев (у 27 человек), причем у 15 (48,4 %) она закончилась рождением здорового доношенного ребенка, а у 8 (25,8 %) женщин в настоящее время беременность развивается.

Среди пациенток из группы 1 беременность наступила в 35,3 % случаев (у 6 пациенток), при этом у 3 (50 %) женщин из данной когорты беременность закончилась рождением доношенного здорового ребенка, у 2 (33,3 %) беременность развивается, у одной женщины диагностирована неразвивающаяся беременность (рис. 4).

При анализе показателей содержания и активности NK-клеток периферической крови у 47,8 % пациенток определено повышенное количество NK-клеток ($CD3^-CD16^+CD56^+$) в периферической крови (12,5 % и более), а у 21,4 % пациенток также отмечено повышение спонтанной активности NK-клеток по экспрессии CD107a (2 % и более).

Лабораторная эффективность процедуры цитотерапии была основана на сравнении показателей функциональной активности NK-клеток периферической крови до цитотерапии и через 2 нед. после повторной иммунизации на прегравидарном этапе. Так, наблюдали отчетливую динамику в регуляции иммунной системы: отмечено статистически значимое снижение общего количества NK-клеток на 5,1 % (p = 0,015), а также выявлена тенденция к снижению содержания NKT-клеток и спонтанно активированных NK-клеток (CD107a) на 0,55 и 0,26 % соответственно и повышению уровня индуцируемо активированных NK-клеток (CD107a) на 0,13 % (p > 0,05; рис. 5).

Таким образом, наиболее высокую клиническую эффективность наблюдали среди пар с привычной потерей плода на ранних сроках гестации в анамнезе по сравнению со значением при первичном бесплодии (87 против 35,3 % наступления беременности; p < 0,01). Одновременно с этим лабораторная эффективность подтверждена в сравнительном анализе показателей функциональной активности NK-клеток периферической крови до цитотерапии и через 2 нед. после повторной иммунизации на прегравидарном этапе, поскольку иммунорегуляторные механизмы направлены на снижение общего количества NK-клеток.

ОБСУЖДЕНИЕ

Метод цитотерапии обладает достаточной эффективностью, однако успех от данной процедуры непосредственно зависит от репродуктивного анамнеза (привычного невынашивания беременности или первичного бесплодия неясного генеза) и количества совпадений в системе HLA II класса у супружеских пар [26].

Ранее доказано, что иммунотерапия отцовскими лимфоцитами увеличивает экспрессию блокирующих APCA (блокирующего фактора) к TCR (T-cell receptor, рецептор Т-клеток), Ab2, MLR-Bf, PIBF (Progesterone-induced-blocking factor, прогестерон-индуцированный блокирующий фактор) и подавляет активность цитокинов Th-1 и NK-клеток [27–29]. Цитотерапия оказывает значительный стимулирующий эффект на развитие плаценты, уменьшая случаи плацентарной недостаточности, частоты задержки внутриутробного развития плода. Так, дефицит указанных антител у женщин с наличием ранних репродуктивных потерь в анамнезе или беременных с угрозой выкидыша [30, 31] ассоциирован с высоким сходством партнеров по HLA-антигенам гистосовместимости [32–34]. Соответственно, для профилактики и лечения привычного невынашивания беременности предложен метод иммунизации лимфоцитами отца, позволяющий индуцировать появление блокирующего фактора [35–37].

За последнее десятилетие накапливаются данные и идет пересмотр взглядов акушеров-гинекологов и иммунологов на цитотерапию: врачи и ученые пытаются разработать более персонифицированный подход при ее назначении и оценке критериев клинической и лабораторной эффективности.

Так, Е.И. Антух и соавт. в 2011 г. провели исследование чтобы определить эффективность иммунизации лимфоцитами мужа беременных женщин с идиопатическим привычным невынашиванием беременности в анамнезе. Полученные результаты позволили рекомендовать обследование HLA-совместимости супружеских пар с идиопатическим бесплодием, привычным невынашиванием беременности неясного генеза, двумя неудачными попытками ЭКО в анамнезе и более, так как была показана эффективность применения метода иммунизации лимфоцитами мужа у женщин при HLA-совместимости партнеров [38].

В 2021 г. Г.Х. Мамедли и соавт. проанализировали иммуногенетические данные 60 супружеских пар с ранними репродуктивными потерями [39]. Установлено, что полное несовпадение HLA-генотипов было благоприятным фактором для развития беременности. Совпадение по трем антигенам и более системы HLA класса II являлось фактором, повышающим риск ранних потерь беременности. Показаниями для лимфоцитиммунотерапии стали совместимость супругов по антигенам системы HLA по трем аллелям и более, а также гомозиготность супругов по локусам HLA-DRB*1, DQA1* и DQB1*. Анализ клинической эффективности показал, что лимфоцитиммунотерапия увеличивает частоту наступления (76,3 и 36,4 % соответственно; p < 0,05) и вынашивания (82,7 и 0,0 % соответственно; p < 0,001) беременности у супружеских пар с высокой степенью HLA-совместимости. Важным итогом стало следующее: использование только медикаментозной сохраняющей терапии (включая спазмолитические средства, седативные препараты, витамины, антиагреганты, дидрогестерон) в группе сравнения у женщин

с HLA-совместимостью с супругом без лимфоцитиммунотерапии ни в одном случае не способствовало сохранению беременности.

Известно, что совпадение по двум локусам и более системы HLA II класса ассоциировано с привычными репродуктивными потерями, и чем больше наблюдают идентичных аллелей по системе HLA, тем выше риск бесплодия или репродуктивных потерь очень раннего срока [26]. Повышенная частота совпадений по локусам главного комплекса гистосовместимости характеризует отдельно взятые популяции, где в культуре есть близкородственные связи или браки между дальними родственниками 4-го, 5-го, 6-го поколения. И чем ярче проявляется данная особенность, тем вероятность совпадения по системе HLA выше, что обосновано накоплением на протяжении многих столетий «иммунологического и генетического груза».

Известно, что иммунологические взаимоотношения между матерью и плодом представляют собой двунаправленную связь. В ее основе лежит, с одной стороны, презентация антигена плода, а с другой — распознавание этих антигенов и реакция на них иммунной системы матери [40, 41]. Таким образом, иммунологическое распознавание беременности необходимо для ее благоприятного течения и развития, а неадекватное распознавание фетальных антигенов может привести к ее прерыванию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение цитотерапии является эффективным методом иммунокоррекции у пациентов с привычной потерей плода и в 87 % случаев приводит к наступлению беременности, а в 74 % — к ее пролонгированию после 13 нед. Так, прегестационная подготовка в формате монотерапии и комплексное назначение цитотерапии одновременно со стандартной сохраняющей терапией способствовало снижению частоты ранних потерь беременности. Эффект процедуры оправдан ее иммунорегуляторными функциями, что проявлено в снижении общего количества NK-клеток.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы «Разработка методов комплексной иммуноэфферентной терапии у супружеских пар с иммунологическими причинами репродуктивных потерь», номер государственной регистрации научно-исследовательских, опытно-конструкторских и опытно-технологических работ FGWN-2023-0002.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Наибольший вклад распределен следующим образом: *М.О. Шенгелия* — концепция и дизайн исследования, обзор литературы, цитотерапия, сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, написание текста, внесение окончательной правки; *О.Н. Беспалова* — концепция и дизайн исследования, написание текста, внесение окончательной правки; *Т.С. Жернакова, Е.А. Корнюшина, О.В. Пачулия* — написание текста, внесение окончательной правки; *В.А. Семёнов* — сбор и обработка материалов, выделение клеток для лейковзвеси при цитотерапии, анализ полученных данных.

Этический комитет. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом НИИ АГиР им. Д.О. Отта (№ 11 от 20.01.2022).

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. The study was carried out within the framework of research “Development of methods of complex immunoefferent therapy in married couples with immunological causes of reproductive losses” state registration number FGWN-2023-0002.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Author contribution. All the authors have made a significant contribution to the development of the concept, research, and preparation of the article as well as read and approved the final version before its publication.

Personal contribution of the authors: *M.O. Shengelia* — concept and design of the study, literature review, cytotherapy, collecting and preparation of samples, data analysis, text writing, making final edits; *O.N. Bespalova* — concept and design of the study, text writing, making final edits; *T.S. Zhernakova, E.A. Kornyushina, O.V. Pachuliia* — text writing, making final edits; *V.A. Semenov* — collecting and preparation of samples, isolating cells for leukemia suspension during cytotherapy, data analysis.

Ethics approval. The present study protocol was approved by the local Ethics Committee of the Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott (No. 11 dated 20.01.2022).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сарибегова В.А., Тетруашвили Н.К., Вторушина В.В., и др. Влияние иммуноцитотерапии на течение и исходы беременностей у женщин с привычным выкидышем в зависимости от срока наступления беременности // Журнал Акушерства и женских болезней. 2017. Т. 66, N S. С. 36–37. EDN: YLAOIG

2. Francisco P.D., Tan-Lim C.S.C., Agcaoili-De Jesus M.S.L. Efficacy of lymphocyte immunotherapy in the treatment of recurrent pregnancy loss from alloimmunity: a systematic review and meta-analysis // Am J Reprod Immunol. 2022. Vol. 88, N 4. ID: e13605. doi: 10.1111/aji.13605

3. Ramhorst R., Agriello E., Zittermann S., et al. Is the paternal mononuclear cells’ immunization a successful treatment for recurrent spontaneous abortion? // Am J Reprod Immunol. 2000. Vol. 44, N 3. P. 129–135. doi: 10.1111/j.8755-8920.2000.440301.x

4. Pandey M.K., Agrawal S. Prevalence of anti-idiotypic antibodies in pregnancy v/s recurrent spontaneous abortion (RSA) women // Obstet Gynaecol Today. 2002. Vol. 10. P. 574–578.
5. Hajipour H., Nejabati H.R., Latifi Z., et al. Lymphocytes immunotherapy for preserving pregnancy: mechanisms and challenges // Am J Reprod Immunol. 2018. Vol. 80, N 3. ID: e12853. doi: 10.1111/aji.12853
6. Günther V., Alkatout I., Meyerholz L., et al. Live birth rates after active immunization with partner lymphocytes // Biomedicines. 2021. Vol. 29, N 9(10). P. 1350. doi: 10.3390/biomedicines9101350
7. Meng L., Tan J., Du T., et al. The effects of LIT and MLR-Bf on immune biomarkers and pregnancy outcomes in women with previous early recurrent miscarriage: a retrospective study // Front Immunol. 2021. Vol. 4, N 12. ID: 642120. doi: 10.3389/fimmu.2021.642120
8. Arefieva A., Nikolaeva M., Stepanova E., et al. Association of CD200 expression in paternal lymphocytes with female Th1/Th2 balance and pregnancy establishment at immunotherapy of recurrent spontaneous abortion // Am J Reprod Immunol. 2021. Vol. 85, N 3. ID: e13355. doi: 10.1111/aji.13355
9. Sarkesh A., Sorkhabi A.D., Ahmadi H., et al. Allogeneic lymphocytes immunotherapy in female infertility: lessons learned and the road ahead // Life Sci. 2022. Vol. 299. ID: 120503. doi: 10.1016/j.lfs.2022.120503
10. Moffett A., Chazara O., Colucci F. Maternal allo-recognition of the fetus // Fertil Steril. 2017. Vol. 107, N 6. P. 1269–1272. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.05.001
11. Krechetova L.V., Vanko L.V., Vtorushina V.V., et al. Lymphocyte activation in the development of immune tolerance in women with recurrent pregnancy loss // Biochemistry (Mosc). 2020. Vol. 85, N 5. P. 583–593. doi: 10.1134/S0006297920050077
12. Говалло В.И., Сидельникова В.М. Иммунизация беременных женщин аллогенными лимфоцитами мужа как метод профилактики самопроизвольных выкидышей // Акушерство и гинекология. 1983. № 12. С. 25–27.
13. Chen J., Liu B., Zhang Y., et al. Effect of immunotherapy on patients with unexplained recurrent spontaneous abortion // Ann Palliat Med. 2020. Vol. 9, N 5. P. 2545–2550. doi: 10.21037/apm-19-440b
14. Sarno M., Cavalcante M.B., Niag M., et al. Gestational and perinatal outcomes in recurrent miscarriages couples treated with lymphocyte immunotherapy // Eur J Obstet Gynecol Biol X. 2019. Vol. 7, N 3. ID: 100036. doi: 10.1016/j.eurox.2019.100036
15. Eidizadeh A., Papert S., Valk J., et al. Adverse drug reactions following lymphocyte immunotherapy for the treatment of infertility: a retrospective study // J Obstet Gynaecol Res. 2022. Vol. 48, N 10. P. 2571–2582. doi: 10.1111/jog.15348
16. Li J., Gu Y., Zhang S., et al. Effect of prepregnancy lymphocyte active immunotherapy on unexplained recurrent miscarriage, pregnancy success rate, and maternal-infant outcome // BioMed Res Int. 2021. Vol. 2021. ID: 7878752. doi: 10.1155/2021/7878752
17. Liu S., Gu X., Weng R. Clinical effect of lymphocyte immunotherapy on patients with unexplained recurrent spontaneous abortion // Immun Inflamm Dis. 2021. Vol. 9, N 4. P. 1272–1278. doi: 10.1002/iid3.474
18. Rezayat F., Esmaeil N., Rezaei A., et al. Contradictory effect of lymphocyte therapy and prednisolone therapy on CD3+CD8+CD56+ natural killer t population in women with recurrent spontaneous abortion // J Hum Reprod Sci. 2023. Vol. 16, N 3. P. 246–256. doi: 10.4103/jhrs.jhrs_8_23
19. Aslanian-Kalkhoran L., Kamrani A., Alipourfard I., et al. The effect of lymphocyte immunotherapy (LIT) in modulating immune responses in patients with recurrent pregnancy loss (RPL) // Int Immunopharmacol. 2023. Vol. 121. ID: 110326. doi: 10.1016/j.intimp.2023.110326
20. Gharesi-Fard B., Zolghadri J., Kamali-Sarvestani E. Effect of leukocyte therapy on tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma production in patients with recurrent spontaneous abortion // Am J Reprod Immunol. 2008. Vol. 59, N 3. P. 242–250. doi: 10.1111/j.1600-0897.2007.00569.x
21. Díaz-Hernández I., Alecsandru D., García-Velasco J.A., et al. Uterine natural killer cells: from foe to friend in reproduction // Hum Reprod Update. 2021. Vol. 27, N 4. P. 720–746. doi: 10.1093/humupd/dmaa062
22. Günther V., Alkatout I., Junkers W., et al. Active immunisation with partner lymphocytes in female patients who want to become pregnant – current status // Geburtshilfe und Frauenheilkunde. 2018. Vol. 78, N 3. P. 260–273. doi: 10.1055/s-0044-101609
23. Liang X., Qiu T., Qiu L., Wang X., et al. Female third party lymphocytes are effective for immunotherapy of patients with unexplained primary recurrent spontaneous abortion: a retrospective analysis of outcomes // Eur J Contracept Reprod Health Care. 2015. Vol. 20, N 6. P. 428–437. doi: 10.3109/13625187.2015.1046593
24. Sarkesh A., Sorkhabi A.D., Ahmadi H., et al. Allogeneic lymphocytes immunotherapy in female infertility: lessons learned and the road ahead // Life Sci. 2022. Vol. 15, N 299. ID: 20503. doi: 10.1016/j.lfs.2022.120503
25. Parhizkar F., Motavalli-Khiavi R., Aghebati-Maleki L., et al. The impact of new immunological therapeutic strategies on recurrent miscarriage and recurrent implantation failure // Immunol Lett. 2021. Vol. 236. P. 20–30. doi: 10.1016/j.imlet.2021.05.008
26. Беспалова О.Н. Генетические факторы риска невынашивания беременности: дис. … докт. мед. наук. Санкт-Петербург, 2009. Режим доступа: https://www.dissercat.com/content/geneticheskie-faktory-riska-nevynashivaniya-beremennosti/read. Дата обращения: 01.06.2024
27. Robertson S.A., Care A.S., Moldenhauer L.M. Regulatory T cells in embryo implantation and the immune response to pregnance // J Clin Invest. 2018. Vol. 128, N 10. P. 4224–4235. doi: 10.1172/JCI122182
28. Piccinni M.P., Raghupathy R., Saito S., et al. Cytokines, hormones and cellular regulatory mechanisms favoring successful reproduction // Front Immunol. 2021. Vol. 28, N 12. ID: 717808. doi: 10.3389/fimmu.2021.717808
29. Yuan M.M., Du M.R., Wang M.Y., et al. Combination of CD4(+)CD25(+)CD127(-) regulatory T cells with MLC-BE and BE-Ab2: an efficient evaluation of the therapy of paternal lymphocyte induced immunization in unexplained recurrent spontaneous abortion patients // Int J Clin Exp Pathol. 2015. Vol. 8, N 4. P. 4022–4032.
30. Agrawal S., Kishore R., Halder A., et al. Outcome of pregnancy in women with recurrent spontaneous abortion following immunotherapy with allogeneic lymphocytes // Hum Reprod. 1995. Vol. 10, N 9. P. 2280–2284. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a136285
31. Aoki K., Kajiura S., Matsumoto Y., et al. Clinical evaluation of immunotherapy in early pregnancy with x-irradiated paternal mononuclear cells for primary recurrent aborters // Am J Obstet Gynecol. 1993. Vol. 169, N 3. P. 649–653. doi: 10.1016/0002-9378(93)90638-y
32. Beer A.E., Quebbeman J.F., Ayers J.W., et al. Major histocompatibility complex antigens, maternal and paternal immune responses, and chronic habitual abortions in humans // Am J Obstet Gynecol. 1981. Vol. 141, N 8. P. 987–999. doi: 10.1016/s0002-9378(16)32690-4
33. Kishore R., Agarwal S., Halder A., et al. HLA sharing, anti-paternal cytotoxic antibodies and MLR blocking factors in women with recurrent spontaneous abortion // J Obstet Gynaecol Res. 1996. Vol. 22, N 2. P. 177–183. doi: 10.1111/j.1447-0756.1996.tb00962.x
34. Smith J.B., Cowchock F.S. Immunological studies in recurrent spontaneous abortion: effects of immunization of women with paternal mononuclear cells on lymphocytotoxic and mixed lymphocyte reaction blocking antibodies and correlation with sharing of HLA

and pregnancy outcome // J Reprod Immunol. 1988. Vol. 14, N 2. P. 99–113. doi: 10.1016/0165-0378(88)90062-9
35. Agarwal S., Kishore R., Halder A, et al. Outcome of pregnancy in women with recurrent spontaneous abortion following immunotherapy with allogeneic lymphocytes // Hum Reprod. 1995. Vol. 10, N 9. P. 2280–2284. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a136285
36. Motak-Pochrzest H., Malinowski A. Polish experiences with paternal lymphocyte immunization in women with recurrent miscarriages // Neuroendocrinol Lett. 2015. Vol. 36, N 6. P. 572–577.
37. Fainboim L., Belén S., González V., et al. Evaluation of paternal lymphocyte immunotherapy and potential biomarker mixed lymphocyte reaction-blocking factor in an Argentinian cohort of women with unexplained recurrent spontaneous abortion and unexplained infertility // Am J Reprod Immunol. 2021. Vol. 86, N 2. ID: e13422. doi: 10.1111/aji.13422
38. Антух Е.И., Смирнова И.В. Метод иммунизации лимфоцитами мужа в лечении привычного невынашивания // Охрана материнства и детства. 2011. № 1(17). С. 66–68. EDN: ODCNCP
39. Мамедли Г.Х., Бабаева Г.И., Азизова М.Э., и др. Гомология антигенов HLA II класса, как причина ранних репродуктивных потерь // Биомедицина (Баку). 2021. Т. 19, № 2. С. 18–23. doi: 10.24412/1815-3917-2021-2-18-23
40. Alexandrova M., Manchorova D., Dimova T. Immunity at maternal-fetal interface: *KIR*/HLA (Allo)recognition // Immunol Rev. 2022. Vol. 308, N 1. P. 55–76. doi: 10.1111/imr.13087
41. Xu L., Li Y., Sang Y., et al. Crosstalk between trophoblasts and decidual immune cells: the cornerstone of maternal-fetal immunotolerance // Front Immunol. 2021. Vol. 25, N 12. ID: 642392. doi: 10.3389/fimmu.2021.642392

REFERENCES

1. Saribegova VA, Tetruashvili NK, Vtorushina VV, et al. The influence of immunocytotherapy on the course and outcomes of pregnancies in women with recurrent miscarriage, depending on the timing of pregnancy. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2017;66(S):36–37. (In Russ.) EDN: YLAOIG
2. Francisco PD, Tan-Lim CSC, Agcaoili-De Jesus MSL. Efficacy of lymphocyte immunotherapy in the treatment of recurrent pregnancy loss from alloimmunity: a systematic review and meta-analysis. *Am J Reprode Immunol.* 2022;88(4):e13605. doi: 10.1111/aji.13605
3. Ramhorst R., Agriello E., Zittermann S., et al. Is the paternal mononuclear cells' immunization a successful treatment for recurrent spontaneous abortion? *Am J Reprod Immunol.* 2000;44(3):129–135. doi: 10.1111/j.8755-8920.2000.440301.x
4. Pandey MK, Agrawal S. Prevalence of anti-idiotypic antibodies in pregnancy v/s recurrent spontaneous abortion (RSA) women. *Obstet Gynaecol Today.* 2002;10:574–578.
5. Hajipour H, Nejabati HR, Latifi Z, et al. Lymphocytes immunotherapy for preserving pregnancy: mechanisms and challenges. *Am J Reprod Immunol.* 2018;80(3):12853. doi: 10.1111/aji.12853
6. Günther V, Alkatout I, Meyerholz L, et al. Live birth rates after active immunization with partner lymphocytes. *Biomedicines.* 2021;29;9(10):1350. doi: 10.3390/biomedicines9101350
7. Meng L, Tan J, Du T, et al. The effects of LIT and MLR-Bf on immune biomarkers and pregnancy outcomes in women with previous early recurrent miscarriage: a retrospective study. *Front Immunol.* 2021;4(12):642120. doi: 10.3389/fimmu.2021.642120
8. Arefieva A, Nikolaeva M, Stepanova E, et al. Association of CD200 expression in paternal lymphocytes with female Th1/Th2 balance and pregnancy establishment at immunotherapy of recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol.* 2021;85(3):13355. doi: 10.1111/aji.13355
9. Sarkesh A, Sorkhabi AD, Ahmadi H, et al. Allogeneic lymphocytes immunotherapy in female infertility: lessons learned and the road ahead. *Life Sci.* 2022;15(299):120503. doi: 10.1016/j.lfs.2022.120503
10. Moffett A, Chazara O, Colucci F. Maternal allo-recognition of the fetus. *Fertil Steril.* 2017;107(6):1269–1272. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.05.001
11. Krechetova LV, Vanko LV, Vtorushina VV, et al. Lymphocyte activation in the development of immune tolerance in women with recurrent pregnancy loss. *Biochemistry (Mosc).* 2020;85(5):583–593. doi: 10.1134/S0006297920050077
12. Govallo VI, Sidelnikova VM. Immunization of pregnant women with allogeneic lymphocytes of the husband as a method of preventing spontaneous miscarriages. *Obstetrics and Gynecology.* 1983;12:25–27. (In Russ.)
13. Chen J, Liu B, Zhang Y, et al. Effect of immunotherapy on patients with unexplained recurrent spontaneous abortion. *Ann Palliat Med.* 2020;9(5):2545–2550. doi: 10.21037/apm-19-440b
14. Sarno M, Cavalcante MB, Niag M, et al. Gestational and perinatal outcomes in recurrent miscarriages couples treated with lymphocyte immunotherapy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2019;7(3):100036. doi: 10.1016/j.eurox.2019.100036
15. Eidizadeh A, Papert S, Valk J, et al. Adverse drug reactions following lymphocyte immunotherapy for the treatment of infertility: a retrospective study. *J Obstet Gynaecol Res.* 2022;48(10):2571–2582. doi: 10.1111/jog.15348
16. Li J, Gu Y, Zhang S, et al. Effect of prepregnancy lymphocyte active immunotherapy on unexplained recurrent miscarriage, pregnancy success rate, and maternal-infant outcome. *BioMed Res Int.* 2021;2021:7878752. doi: 10.1155/2021/7878752
17. Liu S, Gu X, Weng R. Clinical effect of lymphocyte immunotherapy on patients with unexplained recurrent spontaneous abortion. *Immun Inflamm Dis.* 2021;9(4):1272–1278. doi: 10.1002/iid3.474
18. Rezayat F, Esmaeil N, Rezaei A, et al. Contradictory effect of lymphocyte therapy and prednisolone therapy on CD3+CD8+CD56+ Natural Killer T Population in Women with Recurrent Spontaneous Abortion. *J Hum Reprod Sci.* 2023;16(3):246–256. doi: 10.4103/jhrs.jhrs_8_23
19. Aslanian-Kalkhoran L, Kamrani A, Alipourfard I, et al. The effect of lymphocyte immunotherapy (LIT) in modulating immune responses in patients with recurrent pregnancy loss (RPL). *Int Immunopharmacology.* 2023;121:110326. doi: 10.1016/j.intimp.2023.110326
20. Gharesi-Fard B, Zolghadri J, Kamali-Sarvestani E. Effect of leukocyte therapy on tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma production in patients with recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol.* 2008;59(3):242–250. doi: 10.1111/j.1600-0897.2007.00569.x
21. Díaz-Hernández I, Alecsandru D, García-Velasco JA, et al. Uterine natural killer cells: from foe to friend in reproduction. *Hum Reprod Update*. 2021;27(4):720–746. doi: 10.1093/humupd/dmaa062
22. Günther V, Alkatout I, Junkers W, et al. Active immunisation with partner lymphocytes in female patients who want to become pregnant – current status. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, 2018;78(3):260–273. doi: 10.1055/s-0044-101609
23. Liang X, Qiu T, Qiu L, et al. Female third party lymphocytes are effective for immunotherapy of patients with unexplained primary recurrent spontaneous abortion: a retrospective analysis of outcomes. *Eur J Contracept Reprod Health Care.* 2015;20(6):428–437. doi: 10.3109/13625187.2015.1046593

24. Sarkesh A, Sorkhabi AD, Ahmadi H, et al. Allogeneic lymphocytes immunotherapy in female infertility: lessons learned and the road ahead. *Life Sci.* 2022;15(299):120503. doi: 10.1016/j.lfs.2022.120503
25. Parhizkar F, Motavalli-Khiavi R, Aghebati-Maleki L, et al. The impact of new immunological therapeutic strategies on recurrent miscarriage and recurrent implantation failure. *Immunol Letters*. 2021;236:20–30. doi: 10.1016/j.imlet.2021.05.008
26. Bespalova ON. Genetic risk factors for miscarriage [dissertation abstract]: Saint-Petersburg; 2009. Available from: https://www.dissercat.com/content/geneticheskie-faktory-riska-nevynashivaniya-beremennosti/read. (In Russ.)
27. Robertson SA, Care AS, Moldenhauer LM. Regulatory T cells in embryo implantation and the immune response to pregnance. *J Clin Invest.* 2018;128(10):4224–4235. doi: 10.1172/JCI122182
28. Piccinni MP, Raghupathy R, Saito S, et al. Cytokines, hormones and cellular regulatory mechanisms favoring successful reproduction. *Front Immunol.* 2021;28(12):717808. doi: 10.3389/fimmu.2021.717808
29. Yuan MM, Du MR, Wang MY, et al. Combination of CD4(+)CD25(+) CD127(-) regulatory T cells with MLC-BE and BE-Ab2: an efficient evaluation of the therapy of paternal lymphocyte induced immunization in unexplained recurrent spontaneous abortion patients. *Int J Clin Exper Pathol.* 2015;8(4):4022–4032.
30. Agrawal S, Kishore R, Halder A, et al. Outcome of pregnancy in women with recurrent spontaneous abortion following immunotherapy with allogeneic lymphocytes. *Hum Reprod.* 1995;10(9):2280–2284. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a136285
31. Aoki K, Kajiura S, Matsumoto Y, et al. Clinical evaluation of immunotherapy in early pregnancy with x-irradiated paternal mononuclear cells for primary recurrent aborters. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;169(3):649–653. doi: 10.1016/0002-9378(93)90638-y
32. Beer AE, Quebbeman JF, Ayers JW, et al. Major histocompatibility complex antigens, maternal and paternal immune responses, and chronic habitual abortions in humans. *Am J Obstet Gynecol.* 1981;141(8):987–999. doi: 10.1016/s0002-9378(16)32690-4
33. Kishore R, Agarwal S, Halder A, et al. HLA sharing, anti-paternal cytotoxic antibodies and MLR blocking factors in women with recurrent spontaneous abortion. *J Obstet Gynaecol Res.* 1996;22(2):177–183. doi: 10.1111/j.1447-0756.1996.tb00962.x
34. Smith JB, Cowchock FS. Immunological studies in recurrent spontaneous abortion: effects of immunization of women with paternal mononuclear cells on lymphocytotoxic and mixed lymphocyte reaction blocking antibodies and correlation with sharing of HLA and pregnancy outcome. *J Reprod Immunol.* 1988;14(2):99–113. doi: 10.1016/0165-0378(88)90062-9
35. Agarwal S, Kishore R, Halder A, et al. Outcome of pregnancy in women with recurrent spontaneous abortion following immunotherapy with allogeneic lymphocyes. *Hum Reprod.* 1995;10(9):2280–2284. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a136285
36. Motak-Pochrzest H, Malinowski A. Polish experiences with paternal lymphocyte immunization in women with recurrent miscarriages. *Neuroendocrinol Lett.* 2015;36(6):572–577.
37. Fainboim L, Belén S, González V, et al. Evaluation of paternal lymphocyte immunotherapy and potential biomarker mixed lymphocyte reaction-blocking factor in an Argentinian cohort of women with unexplained recurrent spontaneous abortion and unexplained infertility. *Am J Reprod Immunol.* 2021;86(2):13422. doi: 10.1111/aji.13422
38. Antukh EI, Smirnova IV. Method of immunization with husband's lymphocytes in the treatment of recurrent miscarriage. *Protection of motherhood and childhood.* 2011;17(1):66–68. (In Russ.) EDN: ODCNCP
39. Mamedli GH, Babaeva GI, Azizova ME, et al. Homology of class II HLA antigens as a cause of early reproductive losses. *Biomedicine (Baku).* 2021;19(2):18–23. (In Russ.) doi: 10.24412/1815-3917-2021-2-18-23
40. Alexandrova M, Manchorova D, Dimova T. Immunity at maternal-fetal interface: *KIR*/HLA (Allo)recognition. *Immunol Rev.,* 2022;308(1):55–76. doi: 10.1111/imr.13087
41. Xu L, Li Y, Sang Y, et al. Crosstalk between trophoblasts and decidual immune cells: the cornerstone of maternal-fetal immunotolerance. *Front Immunol.* 2021;25(12):642392. doi: 10.3389/fimmu.2021.642392

ОБ АВТОРАХ

*** Маргарита Олеговна Шенгелия**, канд. мед. наук;
адрес: Россия, 199034, Санкт-Петербург,
Менделеевская линия, д. 3;
ORCID: 0000-0002-0103-8583; eLibrary SPIN: 7831-2698;
e-mail: bakleicheva@gmail.com

Олеся Николаевна Беспалова, д-р мед. наук;
ORCID: 0000-0002-6542-5953; eLibrary SPIN: 4732-8089;
e-mail: shiggerra@mail.ru

Татьяна Сергеевна Жернакова;
ORCID: 0000-0002-5131-4363; eLibrary SPIN: 3913-7697;
e-mail: tatazhernakova@gmail.com

Екатерина Амировна Корнюшина, канд. мед. наук;
ORCID: 0009-0003-5918-2697; eLibrary SPIN: 5844-1975;
e-mail: hapacheva@yandex.ru

Ольга Владимировна Пачулия, канд. мед. наук;
ORCID: 0000-0003-4116-0222; eLibrary SPIN: 1204-3160;
e-mail: for.olga.kosyakova@gmail.com

Вячеслав Александрович Семенов;
ORCID: 0009-0001-1777-9650; e-mail: s.semenov@gmail.com

AUTHORS INFO

*** Margarita O. Shengelia**, MD, Cand. Sci. (Medicine);
address: 3 Mendeleevskaya Line, Saint Petersburg,
199034, Russia;
ORCID: 0000-0002-0103-8583; eLibrary SPIN: 7831-2698;
e-mail: bakleicheva@gmail.com

Olesya N. Bespalova, MD, Dr. Sci. (Medicine);
ORCID: 0000-0002-6542-5953; eLibrary SPIN: 4732-8089;
e-mail: shiggerra@mail.ru

Tatiana S. Zhernakova, MD;
ORCID: 0000-0002-5131-4363; eLibrary SPIN: 3913-7697;
e-mail: tatazhernakova@gmail.com

Ekaterina A. Kornyushina, MD, Cand. Sci. (Medicine);
ORCID: 0009-0003-5918-2697; eLibrary SPIN: 5844-1975;
e-mail: hapacheva@yandex.ru

Olga V. Pachuliia, MD, Cand. Sci. (Medicine);
ORCID: 0000-0003-4116-0222; eLibrary SPIN: 1204-3160;
e-mail: for.olga.kosyakova@gmail.com

Vyacheslav A. Semenov;
ORCID: 0009-0001-1777-9650; e-mail: s.semenov@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author