

## Влияние рекомбинантного интерферона альфа-2b на относительное содержание CD56<sup>bright</sup>-популяции натуральных киллеров в периферической крови беременных женщин с урогенитальными инфекциями

Е. Н. Выжлова<sup>1</sup>, В. В. Малиновская<sup>1</sup>, Е. В. Дмитриева<sup>1</sup>, С. В. Новикова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

<sup>2</sup> Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» Москва, Россия

Поступила 14.11.2016 г. Принята к публикации 07.02.2017 г.

Ослабление неспецифической резистентности организма во время беременности сопровождается активацией хронических урогенитальных инфекций, которые являются частой причиной внутриутробного инфицирования плода. В российской акушерско-гинекологической практике в комплексе дородовой подготовки беременных с урогенитальными инфекциями применяется препарат на основе рекомбинантного интерферона альфа-2b ВИФЕРОН® в лекарственной форме «суппозитории ректальные». Благоприятный клинический эффект препарата на течение беременности и перинатальный исход сопровождается снижением относительного содержания CD56<sup>bright</sup>-популяции натуральных киллеров в периферической крови исследованных беременных женщин.

**Ключевые слова:** беременность; урогенитальные инфекции; внутриутробные инфекции; рекомбинантный интерферон альфа-2b; CD56<sup>bright</sup>-популяция натуральных киллеров.

**Библиографическое описание:** Выжлова ЕН, Малиновская ВВ, Дмитриева ЕВ, Новикова СВ. Влияние рекомбинантного интерферона альфа-2b на относительное содержание CD56<sup>bright</sup>-популяции натуральных киллеров в периферической крови беременных женщин с урогенитальными инфекциями. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение* 2017; 17(1): 54–58.

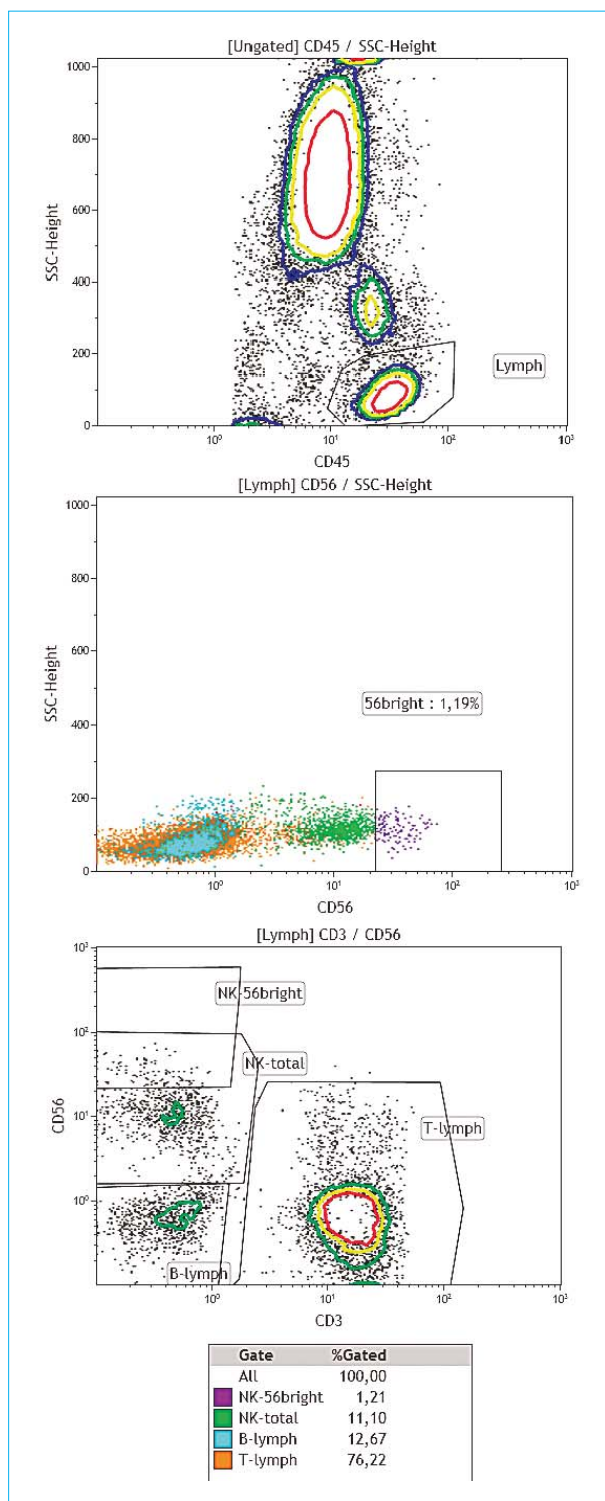
Широкая распространенность среди населения урогенитальных инфекций (УГИ) представляет особую опасность для беременных женщин, поскольку УГИ у беременных являются основной причиной внутриутробного инфицирования плода (ВУИ). При этом случаи острых первичных УГИ беременных относительно редки, чаще имеет место активация хронических или латентных инфекций, что связано с ослаблением в период беременности как специфического [1–3], так и неспецифического иммунного ответа [4, 5]. В последние годы большое внимание исследователей уделяется определению роли эффекторных клеток врожденного иммунитета, в частности натуральных киллеров (НК), в патогенезе вирусных заболеваний [6, 7]. НК представлены в организме двумя основными субпопуляциями, которые отличаются по фенотипу (степени экспрессии молекулы CD56) и функциям [8]. Обладающая высокой цитотоксичностью CD56<sup>dim</sup> субпопуляция составляет как минимум 90 % всех циркулирующих НК и имеет значительное содержание перфорина, гранзима и цитолитических гранул. CD56<sup>bright</sup>-популяция составляет около 10 % от общего пула циркулирующих НК, однако эти клетки обнаруживаются как резиденты во вторичных лимфоидных органах и в нелимфоидных органах, таких как печень и матка [9]. CD56<sup>bright</sup>-НК интенсивно секретируют цитокины (интерферон гамма, фактор некроза опухоли альфа, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор и др.). Ряд исследований показывает изменение общего содержания НК и изменение соотношения CD56<sup>bright</sup>/CD56<sup>dim</sup>-популяции НК в периферической крови при вирусных заболеваниях, в частности при гриппе [10], в

том числе изучалось их содержание до и после вакцинации [11]; при вирусном гепатите С обнаружена прямая корреляция содержания CD56<sup>bright</sup>-популяции НК с уровнем вiremии [12]. В российской акушерско-гинекологической практике в комплексе дородовой подготовки беременных с урогенитальными инфекциями применяется препарат на основе рекомбинантного интерферона альфа-2b ВИФЕРОН®.

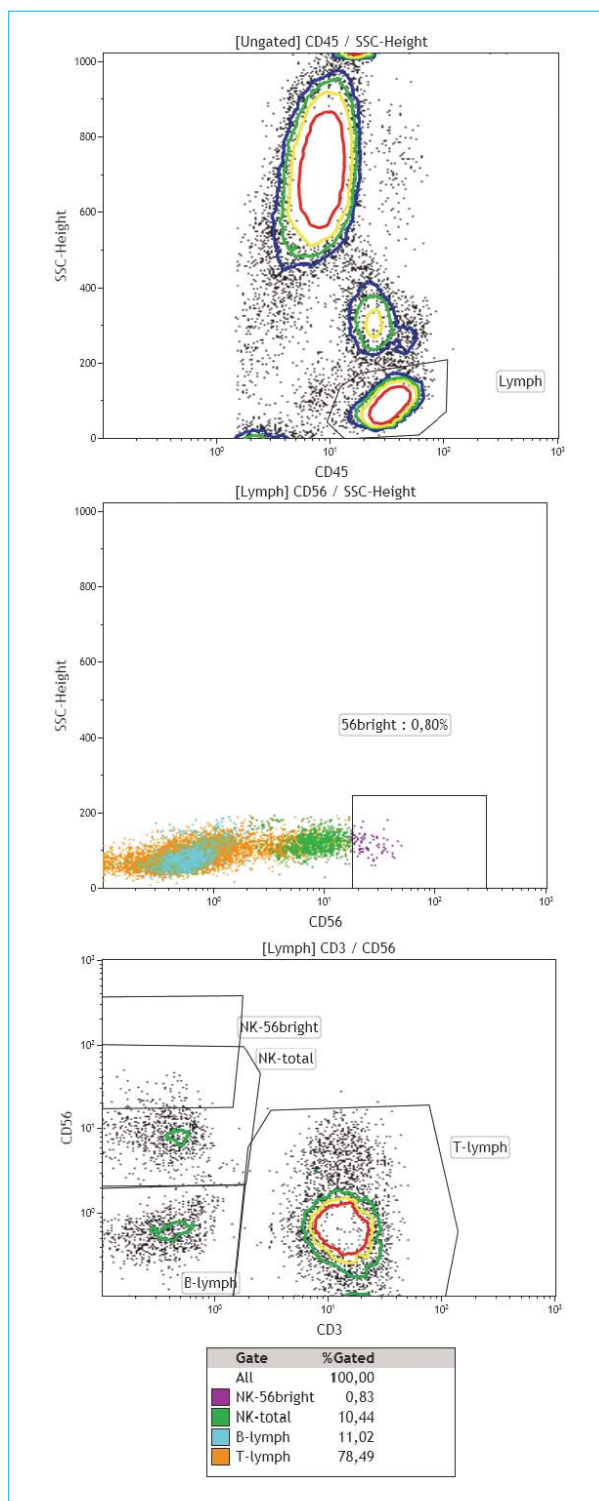
Целью настоящего исследования явилось изучение относительного содержания CD56<sup>bright</sup>-популяции натуральных киллеров в периферической крови беременных женщин с урогенитальными инфекциями при лечении препаратом ВИФЕРОН®.

### Материалы и методы

Основную группу исследования составили беременные группы риска по развитию внутриутробной инфекции (лабораторно-клинические признаки УГИ, рецидивы вульвовагинальной инфекции, воспалительные заболевания органов малого таза в анамнезе, синдром потери плода в анамнезе, осложнения настоящей беременности — перманентная угроза прерывания беременности) со сроком гестации 14–25 недель (группа 1,  $n = 30$ ). После подписания информированного согласия на участие в исследовании группа 1 была рандомизирована на 2 группы, в одной из которых беременным проводилась стандартная терапия УГИ с целью профилактики ВУИ (группа 2,  $n = 15$ ), а вторая группа в дополнении к стандартной терапии получала препарат интерферона альфа-2b ВИФЕРОН®, суп-



**Рис. 1.** Беременная В., 30 лет, уреоплазмоз, бактериальный вагиноз, кандидозный кольпит. Срок гестации 24 недели, до начала терапии. Относительное содержание натуральных киллеров (NK-total) — 11,10 % от общего числа лимфоцитов. Содержание CD56<sup>bright</sup>-популяции НК (NK-56bright) — 1,21 % от общего числа лимфоцитов.



**Рис. 2.** Беременная В., срок гестации 39 недель, по окончании терапии. Самостоятельное родоразрешение на 40 неделе. Относительное содержание натуральных киллеров (NK-total) — 10,44 % от общего числа лимфоцитов, содержание CD56<sup>bright</sup>-популяции НК (NK-56bright) — 0,83 % от общего числа лимфоцитов.

позитории ректальные, согласно схеме: ВИФЕРОН® 500000 МЕ по 1 суппозиторию через 12 ч (2 раза в день) в течение 10 дней; затем по 1 свече через 12 ч (2 раза в день) дважды в неделю — 10 суппозиторий; затем каж-

дые 4 недели повторяли профилактический стабилизирующий курс препарата ВИФЕРОН® 150000 МЕ по 1 суппозиторию каждые 12 ч в течение 5 дней (группа 3, n = 15). Забор венозной крови с целью проведения имму-

**Таблица 1.** Относительное содержание субпопуляций лимфоцитов периферической крови исследованных беременных женщин

| Субпопуляция лимфоцитов  | 1 группа<br>(n = 30)      | 2 группа<br>(n = 15)     | 3 группа<br>(n = 15)    | 4 группа<br>(n = 15) |
|--|---------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------|
| Т-лимфоциты (CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>-</sup> ), %                     | 78,32±3,65 <sup>a</sup>   | 80,19±7,09 <sup>c</sup>  | 79,72±5,84 <sup>e</sup> | 73,56±5,83           |
| Т-хелперы (CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> ), %                        | 46,18±6,28 <sup>a</sup>   | 46,84±7,21 <sup>c</sup>  | 43,07±3,69              | 41,62±4,04           |
| Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> ), %      | 29,27±6,25                | 31,66±10,44              | 33,58±5,16              | 30,04±5,27           |
| В-лимфоциты (CD3 <sup>-</sup> CD19 <sup>+</sup> ), %                     | 9,42±2,78 <sup>a</sup>    | 9,14±4,0 <sup>c</sup>    | 10,08±3,04              | 13,02±4,64           |
| НК (CD3 <sup>-</sup> CD56 <sup>+</sup> ), %                              | 11,18±3,51                | 9,02±4,0                 | 9,46±2,82               | 10,86±3,41           |
| CD56 <sup>bright</sup> -НК (CD3 <sup>-</sup> CD56 <sup>bright</sup> ), % | 1,08±0,19 <sup>a, b</sup> | 1,3±0,18 <sup>c, d</sup> | 0,74±0,15               | 0,79±0,13            |

Примечания: 1. Данные представлены в виде среднего ±SD.

2. Группа 1: беременные с УГИ, до начала терапии, n = 30;

Группа 2: беременные с УГИ, не получавшие ВИФЕРОН® в комплексе дородовой подготовки, n = 15;

Группа 3: беременные с УГИ, получавшие ВИФЕРОН® в комплексе дородовой подготовки, начиная со второго триместра, n = 15;

Группа 4: беременные без лабораторно-клинических признаков УГИ, n = 15.

<sup>a</sup> Достоверные различия между группами 1 и 4 (p < 0,05).

<sup>b</sup> Достоверные различия между группами 1 и 3 (p < 0,05).

<sup>c</sup> Достоверные различия между группами 2 и 4 (p < 0,05).

<sup>d</sup> Достоверные различия между группами 2 и 3 (p < 0,05).

<sup>e</sup> Достоверные различия между группами 3 и 4 (p < 0,05).

нофенотипирования осуществляли в группе 1 до начала рандомизации, а в группах 2 и 3 — по окончании терапии (на сроке гестации 26–40 недель). Группу сравнения составили 15 беременных женщин без клинико-лабораторных признаков УГИ на разных сроках гестации (8–40 недель) (группа 4, n = 15). На двухлазерном проточном цитофлуориметре FACSCalibur (производства фирмы «Becton Dickinson», США) с использованием моноклональных антител («Becton Dickinson», США) в образцах периферической крови исследовали относительное содержание следующих основных субпопуляций лимфоцитов: В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов, НК и CD56<sup>bright</sup>-популяции НК. Полученные данные статистически обрабатывали на программном обеспечении SPSS для Windows. Значимость различий полученных средних значений иммунофенотипирования лейкоцитов между выборками оценивали с помощью метода однофакторного дисперсионного анализа one-way ANOVA. Отличия считали достоверными при p < 0,05.

## Результаты и обсуждение

Относительное содержание отдельных субпопуляций лимфоцитов, выраженное в процентах от общего числа лимфоцитов периферической крови исследованных беременных женщин, представлено в таблице 1. Для беременных с УГИ характерны более высокие уровни содержания Т-лимфоцитов (в том числе Т-хелперов) и CD56<sup>bright</sup>-популяции НК по сравнению со здоровыми беременными женщинами. После лечения препаратом интерферона альфа-2b уровень CD56<sup>bright</sup>-популяции НК в периферической крови исследованных беременных достоверно снижался до уровней, характерных для здоровых беременных, тогда как по окончании стандартной терапии УГИ изменений в субпопуляционном составе лимфоцитов по сравнению с аналогичными показателями до начала лечения не наблюдалось.

На рисунках 1 и 2 представлены гистограммы иммунофенотипирования клеток периферической крови пациентки с УГИ до начала лечения препаратом интерферона альфа-2b во втором триместре беременности (рис. 1), и по окончании лечения перед родоразрешением (рис. 2).

В процессе лечения содержание CD56<sup>bright</sup>-популяции НК снизилось с 1,2 до 0,8 % от общего числа лейкоцитов периферической крови, что клинически сопровождалось уменьшением частоты бактериального вагиноза и осложнений беременности. Терапия препаратом интерферона альфа-2b обеспечила благоприятный исход беременности данной пациентки: на 40 неделе путем самостоятельного родоразрешения у нее родился клинически здоровый мальчик (вес 3800 г, 52 см, 8/9 баллов по Апгар, посевы из зева — роста нет, общий анализ крови — норма).

## Заключение

Препарат рекомбинантного интерферона альфа-2b ВИФЕРОН® в лекарственной форме суппозитории ректальные успешно применяется в российской акушерско-гинекологической практике около 20 лет в комплексе дородовой подготовки беременных с УГИ для профилактики ВУИ [13, 14].

Данные, полученные в ходе настоящего лабораторного исследования, подтверждают ранее показанный благоприятный клинический эффект препарата, который заключается в 1,5–2-кратном снижении частоты осложнений беременности и родов, более чем двукратном увеличении частоты рождения здоровых детей [15, 16]. Обнаружено достоверное увеличение относительного содержания CD56<sup>bright</sup>-популяции НК в периферической крови беременных с УГИ по сравнению со здоровыми беременными, а также снижение CD56<sup>bright</sup>-популяции НК в периферической крови беременных с УГИ, получавших ВИФЕРОН® в составе комплексной дородовой подготовки.

Полученные результаты расширяют наши представления о роли НК в элиминации вирусной инфекции и подчеркивают важность дальнейшего исследования механизмов действия препаратов экзогенного интерферона альфа в лечении хронических вирусных заболеваний.

## Литература

1. Birkeland SA, Kristoffersen K. Lymphocyte transformation with mitogens and antigens during normal human pregnancy: a longitudinal study. *Scand J Immunol.* 1980; 11(3): 321–5.
2. Gehrz RC, Christianson WR, Linner KM, Conroy MM, McCue SA, Balfour HH Jr. A longitudinal analysis of lymphocyte proliferative

- responses to mitogens and antigens during human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1981; 140(6): 665–70.
3. Thong YH, Steele RW, Vincent MM, Hensen SA, Bellanti JA. Impaired in vitro cell-mediated immunity to rubella virus during pregnancy. *Nº Eng J Med.* 1973; 289(12): 604–6.
  4. Veenstra van Nieuwenhoven AL, Heineman MJ, Faas MM. The immunology of successful pregnancy. *Hum Reprod Update.* 2003; 9(4): 347–57.
  5. Gregory CD, Lee H, Rees GB, Scott IV, Shah LP, Golding PR. Natural killer cells in normal pregnancy: analysis using monoclonal antibodies and single-cell cytotoxicity assays. *Clin Exp Immunol.* 1985; 62(1): 121–7.
  6. Vivier E, Tomasello E, Baratin M, Walzer T, Ugolini S. Functions of natural killer cells. *Nat Immunol.* 2008; 9(5): 503–10.
  7. Biron CA. Expansion, maintenance, and memory in NK and T cells during viral infections: responding to pressures for defense and regulation. *PLoS Pathog.* 2010; 6(3), e1000816.
  8. Cooper MA, Fehniger TA, Turner SC, Chen KS, Ghaheri BA, Ghayur T, et al. Human natural killer cells: a unique innate immunoregulatory role for the CD56<sup>bright</sup> subset. *Blood* 2001; 97(10): 3146–51.
  9. Melsen JE, Lugthart G, Lankester AC, Schilham MW. Human circulating and tissue-resident CD56<sup>bright</sup> natural killer cell populations. *Front Immunol.* 2016; 7: article 262.
  10. Jost S, Quillay H, Reardon J, Peterson E, Simmons RP, Parry BA, et al. Changes in cytokine levels and NK cell activation associated with influenza. *PLoS One* 2011; 6(9): e25060.
  11. Long BR, Michaelsson J, Loo CP, Ballan WM, Vu BA, Hecht FM, et al. Elevated frequency of gamma interferon-producing NK cells in healthy adults vaccinated against influenza virus. *Clin Vaccine Immunol.* 2008; 15(1): 120–30.
  12. Bozzano F, Picciotto A, Costa P, Marras F, Fazio V, Hirsch I, et al. Activating NK cells receptor expression / function (NKp30, NKp46, DNAM-1) during chronic viraemic HCV infection is associated with the outcome of combined treatment. *Eur J Immunol.* 2011; 41(10): 2905–14.
  13. Краснопольский ВИ, Тареева ТГ, Малиновская ВВ, Шугинин ИЮ, Микаелян АВ, Никольская ИГ и др. Мониторинг беременных с вирусными инфекциями семейства герпеса. Медицинская технология. Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации. Министерство здравоохранения Московской области. М.; 2006.
  14. Буданов ПВ, Асланов АГ. Внутриутробные вирусные инфекции. *Вопросы практической педиатрии* 2006; 1(4): 16–7.
  15. Абаева ЗР. Влияние виферона на иммунитет новорожденных от матерей, инфицированных цитомегаловирусом и вирусом простого герпеса: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2001.
  16. Бочарова ИИ. Клинико-иммунологические варианты патологических состояний у новорожденных, родившихся у матерей с урогенитальной инфекцией (диагностика, прогнозирование, технологии ведения): автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2008.

## Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18.

Выжлова Евгения Николаевна. Старший научный сотрудник лаборатории онтогенеза и коррекции системы интерферона, канд. биол. наук.

Малиновская Валентина Васильевна. Руководитель лаборатории онтогенеза и коррекции системы интерферона, д-р биол. наук, профессор.

Дмитриева Елена Владиславовна. Научный сотрудник лаборатории онтогенеза и коррекции системы, канд. биол. наук.

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии». Российская Федерация, 101000, Москва, ул. Покровка, 22а.

Новикова Светлана Викторовна. Заведующая 2-м акушерским отделением, д-р мед. наук.

Адрес для переписки: Дмитриева Елена Владиславовна; ladyguinevere@mail.ru

## The effect of recombinant interferon alpha-2b on the relative content of CD56<sup>bright</sup> NK cells in the peripheral blood of pregnant women with chronic urogenital infections

E. N. Vyzhlova<sup>1</sup>, V. V. Malinovskaya<sup>1</sup>, E. V. Dmitrieva<sup>1</sup>, S. V. Novikova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Federal State Budgetary Institution «Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

<sup>2</sup> State Budgetary Healthcare Institution of the Moscow region «Scientific Research Institute of Obstetrics and Gynecology of the Moscow Region», Moscow, Russia

Physiological immunodeficiency during pregnancy contributes to activation of chronic urogenital pathology which often causes intrauterine infections. Recombinant interferon-alpha based rectal suppositories VIFERON® are often used in Russia for treatment of pregnant women with urogenital pathology. The treatment results in a marked decrease in the number of pregnancy complications and perinatal pathology accompanied by a decrease in peripheral blood CD56<sup>bright</sup> natural killer cells.

**Key words:** pregnancy; urogenital pathology; intrauterine infections; recombinant interferon-alpha; CD56<sup>bright</sup> natural killer cells.

**For citation:** Vyzhlova EN, Malinovskaya VV, Dmitrieva EV, Novikova SV. The effect of recombinant interferon alpha-2b on the relative content of CD56<sup>bright</sup> NK cells in the peripheral blood of pregnant women with chronic urogenital infections. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2017; 17(1): 54–58.



## References

1. Birkeland SA, Kristoffersen K. Lymphocyte transformation with mitogens and antigens during normal human pregnancy: a longitudinal study. *Scand J Immunol.* 1980; 11(3): 321–5.
2. Gehrz RC, Christianson WR, Linner KM, Conroy MM, McCue SA, Balfour HH Jr. A longitudinal analysis of lymphocyte proliferative responses to mitogens and antigens during human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1981; 140(6): 665–70.
3. Thong YH, Steele RW, Vincent MM, Hensen SA, Bellanti JA. Impaired in vitro cell-mediated immunity to rubella virus during pregnancy. *Nº Eng J Med.* 1973; 289(12): 604–6.
4. Veenstra van Nieuwenhoven AL, Heineman MJ, Faas MM. The immunology of successful pregnancy. *Hum Reprod Update.* 2003; 9(4): 347–57.
5. Gregory CD, Lee H, Rees GB, Scott IV, Shah LP, Golding PR. Natural killer cells in normal pregnancy: analysis using monoclonal antibodies and single-cell cytotoxicity assays. *Clin Exp Immunol.* 1985; 62(1): 121–7.
6. Vivier E, Tomasello E, Baratin M, Walzer T, Ugolini S. Functions of natural killer cells. *Nat Immunol.* 2008; 9(5): 503–10.
7. Biron CA. Expansion, maintenance, and memory in NK and T cells during viral infections: responding to pressures for defense and regulation. *PLoS Pathog.* 2010; 6(3), e1000816.
8. Cooper MA, Fehniger TA, Turner SC, Chen KS, Ghaheri BA, Ghayur T, et al. Human natural killer cells: a unique innate immunoregulatory role for the CD56<sup>bright</sup> subset. *Blood* 2001; 97(10): 3146–51.
9. Melsen JE, Lugthart G, Lankester AC, Schilham MW. Human circulating and tissue-resident CD56<sup>bright</sup> natural killer cell populations. *Front Immunol.* 2016; 7: article 262.
10. Jost S, Quillay H, Reardon J, Peterson E, Simmons RP, Parry BA, et al. Changes in cytokine levels and NK cell activation associated with influenza. *PLoS One* 2011; 6(9): e25060.
11. Long BR, Michaelsson J, Loo CP, Ballan WM, Vu BA, Hecht FM, et al. Elevated frequency of gamma interferon-producing NK cells in healthy adults vaccinated against influenza virus. *Clin Vaccine Immunol.* 2008; 15(1): 120–30.
12. Bozzano F, Picciotto A, Costa P, Marras F, Fazio V, Hirsch I, et al. Activating NK cells receptor expression / function (NKp30, NKp46, DNAM-1) during chronic viraemic HCV infection is associated with the outcome of combined treatment. *Eur J Immunol.* 2011; 41(10): 2905–14.
13. Krasnopolskiy VI, Tareeva TG, Malinovskaya VV, Shuginin IO, Mikaleyev AV, Nikolskaya IG, et al. Monitoring of pregnant women with herpes-virus family's infections. *Medical Technology. Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation. Ministry of Health of Moscow region. Moscow: Moscow scientific research regional Institute of obstetrics and gynecology; 2006 (in Russian).*
14. Budanov PV, Aslanov AG. Intrauterine infections. *Voprosy prakticheskoi pediatrii* 2006; 1(4): 16–7 (in Russian).
15. Abaeva ZR. *Effect of viferon on the immunity of newborns from mothers with herpes and cytomegalovirus infections. Cand. Med. Sci. [thesis] Moscow; 2001 (in Russian).*
16. Bocharova II. *Clinical-immunological variations of the pathological states of newborns from mothers with urogenital infections (diagnosis, prognosis, treatment technology). Dr. Med. Sci. [dissertation]. Moscow; 2008 (in Russian).*

## Authors

Federal State Budgetary Institution «Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Gamalei st. 18, Moscow 123098, Russian Federation.

Выжлова ЕН. Senior researcher of the Laboratory of Ontogenesis and Interferon System Improvement. Candidate of Biological Sciences.

Малиновская ВВ. Head of the Laboratory of Ontogenesis and Interferon System Improvement. Doctor of Biological Sciences, professor.

Дмитриева ЕВ. Researcher of the Laboratory of Ontogenesis and Interferon System Improvement. Candidate of Biological Sciences.

State Budgetary Healthcare Institution of the Moscow region «Scientific Research Institute of Obstetrics and Gynecology of the Moscow Region». Pokrovka st. 22a, Moscow 101000, Russian Federation.

Новикова СВ. Head of the 2nd Obstetrics Hospital Unit. Doctor of Medical Sciences.