

© Коллектив авторов, 2019

Ю.Э. ДОБРОХОТОВА¹, Е.И. БОРОВКОВА¹, В.С. СКАЛЬНАЯ², Т.К. ИЛЬЯЗОВ¹, О.В. РАССОХИНА¹**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ У ПАЦИЕНТОК С БЕСПЛОДИЕМ И ХРОНИЧЕСКИМ ЭНДОМЕТРИТОМ ДО И ПОСЛЕ ЭКЗОГЕННОЙ ЦИТОКИНОТЕРАПИИ**¹Кафедра акушерства и гинекологии лечебного факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия²Городская клиническая больница № 40 Департамента здравоохранения г. Москвы, Россия**Цель.** Выявление клинико-иммунологических параллелей у пациенток с бесплодием и хроническим эндометритом до и после проведения экзогенной цитокинотерапии.**Материалы и методы.** Проспективное исследование 58 пациенток с хроническим эндометритом (основная группа, n=43) и здоровых женщин (группа сравнения, n=15). Материал эндометрия получен путем аспирационной биопсии на 20–24-й день цикла. Иммуногистохимическим методом оценено количество пиноподий, стероидных рецепторов, вирусных включений, маркеров хронического воспаления (CD138, CD20, CD8, CD4, CD56, HLA-DR11). Реакцией обратной транскрипции и полимеразной цепной реакцией (ПЦР) в режиме реального времени изучена экспрессия генов рецепторов TLR4, TLR2, HBD1, TNFα, методом иммуноферментного анализа определена концентрация HNP1-3. Проведен 20-дневный курс цитокинотерапии препаратом Суперлимф 25 ЕД. После окончания терапии повторно выполнена аспирационная биопсия эндометрия.**Результаты.** Через 20 дней качественная детекция CD138 в виде мембранного окрашивания выявлялась в 39,5% образцов. Частота положительного окрашивания на CD20 снижалась в 1,4 раза, уровни CD8- и NK-клеток не менялись, увеличилось количество CD4 (в 1,7 раза) и HLA-DR11 (в 1,5 раза), числа пиноподий возросло в 1,27 раза, экспрессия рецепторов к эстрогенам в эпителии и строме увеличилась в 1,3 и 3,2 раза, к прогестерону – в 3 и 2,7 раза, в 2,18 раза уменьшилась детекция вируса Эпштейна–Барр, в 1,3 раза снизилась экспрессия гена рецептора TLR2, возросла экспрессия гена рецептора TLR4 (в 1,5 раза), TNFα (в 1,2 раза), HBD1 (в 2,1 раза) и HNP1-3 (в 1,6 раза). Спонтанная беременность наступила у 19 (44,2%) пациенток в течение от 1 до 6 месяцев после окончания терапии. Выявлена обратная корреляция между повышением экспрессии генов факторов врожденного иммунитета и снижением детекции маркеров хронического эндометрита (CD138, CD20) и внутриклеточных включений вируса Эпштейна–Барр.**Заключение.** Представленные результаты позволяют предположить, что экзогенная цитокинотерапия может быть эффективной у пациенток с хроническим вирусным эндометритом.**Ключевые слова:** плазматические клетки, хронический эндометрит, бесплодие, цитокинотерапия, врожденный иммунитет, TLR2, TLR4, дефенсин, фактор некроза опухоли, вирус Эпштейна–Барр, беременность.**Вклад авторов.** Доброхотова Ю.Э., Боровкова Е.И.: концепция и дизайн исследования; Боровкова Е.И., Скальная В.С., Ильязов Т.К.: сбор и обработка материала; Скальная В.С., Ильязов Т.К.: статистическая обработка данных; Боровкова Е.И., Рассохина О.В.: написание текста; Доброхотова Ю.Э.: редактирование.**Конфликт интересов.** Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.**Финансирование.** Исследование выполнено без спонсорской поддержки.

Для цитирования: Доброхотова Ю.Э., Боровкова Е.И., Скальная В.С., Ильязов Т.К., Рассохина О.В. Клинико-иммунологические параллели у пациенток с бесплодием и хроническим эндометритом до и после экзогенной цитокинотерапии. Акушерство и гинекология. 2019; 12: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.12>.

YU.E. DOBROKHOTOVA¹, E.I. BOROVKOVA¹, V.S. SKALNAYA², T.K. ILYAZOV¹, O.V. RASSOKHINA¹**CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PARALLELS IN PATIENTS WITH INFERTILITY AND CHRONIC ENDOMETRITIS BEFORE AND AFTER EXOGENOUS CYTOKINE THERAPY**¹Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of General Medicine, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia²City Clinical Hospital Forty, Moscow Healthcare Department, Moscow, Russia**Objective.** To identify clinical and immunological parallels in patients with infertility and chronic endometritis before and after exogenous cytokine therapy.

Subjects and methods. A prospective study was conducted in 58 women, including those with chronic endometritis (a study group, n=43) and healthy women (a comparison group, n=15). Endometrial samples were obtained by aspiration biopsy on days 20 to 24 of the cycle. The number of pinopodes, steroid receptors, viral inclusions, and chronic inflammation markers (CD138, CD20, CD8, CD4, CD56, and HLA-DRII) were estimated by an immunohistochemical assay. Reverse transcription and real-time PCR assays were used to study the gene expressions of TLR4, TLR2, HBD1, and TNF α ; HNP1-3 concentrations were estimated by enzyme-linked immunosorbent assay. A 20-day cycle of cytokine therapy with Superlymph 25 U was performed. An endometrial aspiration biopsy was repeated after the end of therapy.

Results. After 20 days, high-quality CD138 detection using membrane staining was observed in 39.5% of the samples. The frequency of positive staining for CD20 reduced by 1.4 times; the count of CD8 and NK cells did not change; the number of CD4 and HLA-DRII increased by 1.7 and 1.5 times, respectively; that of pinopodes rose by 1.27 times; the epithelial and stromal expressions of estrogen receptors increased by 1.3 and 3.2 times, respectively; those of progesterone receptors rose by 3 and 2.7 times, respectively; the detection of Epstein-Barr virus declined by 2.18 times, the expression of the TLR2 gene reduced by 1.3 times; the gene expressions of TLR4, TNF α , HBD1, and HNP1-3 increased by 1.5-, 1.2-, 2.1-, and 1.6-fold, respectively. Spontaneous pregnancy occurred in 19 (44.2%) patients within 1 to 6 months after the end of therapy. An inverse correlation was found between the increased gene expression of innate immunity factors and the decreased detection of chronic endometritis markers (CD138, CD20) and intracellular Epstein-Barr virus inclusions.

Conclusion. The given results may suggest that exogenous cytokine therapy can be effective in patients with chronic viral endometritis.

Keywords: plasma cells, chronic endometritis, infertility, cytokine therapy, innate immunity, TLR2, TLR4, defensin, tumor necrosis factor, Epstein-Barr virus, pregnancy.

Author contributions: Dobrokhotova Yu.E., Borovkova E.I.: concept and design of the investigation; Borovkova E.I., Skalnaya V.S., Ilyazov T.K.: material collection and processing; Skalnaya V.S., Ilyazov T.K.: statistical data processing; Borovkova E.I., Rassokhina O.V.: writing the text; Dobrokhotova Yu.E.: editing.

Conflict of interests. The authors declare that there are no conflicts of interest.

Financing. The investigation has not been sponsored.

For citation: Dobrokhotova Yu.E., Borovkova E.I., Skalnaya V.S., Ilyazov T.K., Rassokhina O.V. Clinical and immunological parallels in patients with infertility and chronic endometritis before and after exogenous cytokine therapy. *Akusherstvo i Ginekologiya / Obstetrics and gynecology*. 2019; 12: (In Russian). <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.12>.

Ответная реакция организма на любое внешнее или внутреннее воздействие является многокомпонентной и определяется такими качествами, как чувствительность, реактивность и резистентность. Одним из наиболее общих свойств, позволяющих дифференцированно реагировать на воздействие факторов внешней и внутренней среды, является реактивность. Именно она во многом определяет развитие, особенности течения и исходы болезни. Чувствительность — это возможность дифференцировать характер и интенсивность действия фактора, а также передавать информацию о нем другим клеткам. Резистентность, или устойчивость, — это способность организма переносить действие повреждающего фактора [1, 2].

Реактивность организма сформировалась в результате эволюционного развития, а ее совершенствование и многообразие обеспечивают приспособляемость и устойчивость организма к патогенам.

Несостоятельность реактивности может возникнуть как вследствие повреждения генетической программы, так и в результате нарушений в ее реализации. В ответ на воздействие повреждающего или инфекционного фактора происходит активация неиммунной или иммунной реактивности, проявляющейся микроциркуляторными нарушениями, лейкоцитарной инфильтрацией, фагоцитозом поврежденных клеток, субклеточной и клеточной регенерацией, что приводит к полному излечению без каких-либо последствий для организма. В условиях измененной реактив-

ности общая приспособительная реакция может стать чрезмерной (гиперергия) или ослабленной (гипергия) и способствовать излечению со значительным повреждением ткани или хронизации болезни [2, 3].

Переход острого воспаления в хроническое связан с незавершенностью воспаления, когда конечная цель, заключающаяся в уничтожении патогенного агента и его удалении из организма, не достигается. Хронизация развивается в результате нарушения базовых механизмов врожденного иммунитета, таких как распознавание и фагоцитоз возбудителя [4].

Наличие хронического воспаления в высоком цилиндрическом эпителии матки препятствует наступлению беременности. Для осуществления оплодотворения решающее значение имеет перестройка эндометрия, заключающаяся в ветвлении желез и активном ангиогенезе [5]. Максимально эти изменения выражены в период окна имплантации, примерно на 7-й день после овуляции. Начиная с лютеиновой фазы цикла, высокие уровни прогестерона стимулируют секреторную деятельность эндометриальных желез и осуществляют уникальную по длительности перестройку фибробластов стромы эндометрия до специализированных децидуальных клеток [3, 6].

Хронический эндометрит является самостоятельной причиной бесплодия у 18,8% женщин и фактором невынашивания беременности у 52,1% пациенток [3]. Поскольку в основе хронического воспаления лежит неполноценность (гипергия) реактивно-

сти, попытка воздействия на это звено врожденного иммунитета может способствовать восстановлению функции эндометрия [7].

Итак, первичным звеном в формировании реактивности эндометрия к чужеродным агентам являются Toll-подобные рецепторы (TLR – Toll-like receptors) [4, 5]. Это сигнальные структуры, которые экспрессируются на поверхности клеток и в эндосомах. При их активации бактериями, вирусами, простейшими и любыми другими экзогенными и эндогенными факторами запускается каскад последовательных внутриклеточных реакций, инициирующих в ядре транскрипцию генов провоспалительных цитокинов, интерферона и антимикробных пептидов [4–8]. Неадекватность первичного звена реагирования приводит к недостаточной продукции провоспалительных цитокинов и развитию хронической воспалительной реакции [7, 8].

Одним из препаратов, зарегистрированных в качестве стимулятора функциональной активности моноцитов, нейтрофилов, естественных киллеров, фагоцитоза, выработки цитокинов (ИЛ-1, TNF), регенерации и эпителизации ткани, является Суперлимф. Он представляет собой естественный комплекс природных противомикробных пептидов и цитокинов, является иммуномодулятором и обладает противовирусным и противомикробным действием [7, 8].

Целью нашего исследования явилось выявление клинико-иммунологических параллелей у пациенток с бесплодием и хроническим эндометритом до и после проведения экзогенной цитокинотерапии.

Материалы и методы

Проспективное исследование включило 58 пациенток. В основную группу вошли 43 женщины в возрасте от 25 до 45 ($34,4 \pm 2,7$) лет с критериями включения:

- морфологически и иммуногистохимически подтвержденный хронический эндометрит;
- женское бесплодие (исключены эндокринный, анатомический и трубно-перитонеальный факторы);
- отсутствие инфекций, передающихся половым путем, и любого воспалительного процесса во влагалище;
- отсутствие значимой соматической патологии (сахарный диабет, ожирение, гипотиреоз, системные заболевания);
- отсутствие аллергических реакций на белки животного происхождения;
- подписанное информированное согласие пациентки на участие в исследовании.

Группу сравнения составили 15 женщин в возрасте от 20 до 25 ($23,3 \pm 0,4$) лет, не имеющих в анамнезе беременностей, внутриматочных вмешательств, гинекологической и соматической патологии.

Набор материала проводился в консультативно-диагностическом отделении ГКБ № 40 в кабинете бесплодия, группа сравнения была сформирована из клинических ординаторов, обучающихся на базах кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Объем обследования включал сбор анамнеза, морфологическое, иммуногистохимическое (ИГХ) и иммунологическое исследование ткани эндометрия. Забор материала у пациенток основной группы проводился дважды на 20–24-й дни цикла: на этапе включения и через 20 дней после проведения терапии препаратом Суперлимф. В группе сравнения забор материала проводился однократно. После проведения аспирационной биопсии эндометрия пациенткам с хроническим эндометритом был назначен препарат Суперлимф по 1 свече (25 ЕД) во влагалище в течение 20 дней.

Для получения ткани эндометрия мы использовали урогенитальный зонд типа С «Пайпель». Материал помещался в пробирки с 10% раствором формалина (для ИГХ и морфологического исследования) и в пробирки типа Эппендорф с транспортной средой (для иммунологического исследования). В ИГХ-исследовании оценивались количество пиноподий (%), экспрессия рецепторов к эстрогенам и прогестерону (в эпителии и строме), наличие инфекционных агентов (цитомегаловируса (ЦМВ), вируса простого герпеса (ВПГ) 1 и 2 типов, вируса Эпштейна–Барр, вируса папилломы человека (ВПЧ)), маркеры хронического эндометрита (CD138, CD20, CD8, CD4, CD56, HLA-DRII).

Исследование факторов врожденного иммунитета проводили на кафедре иммунологии МБФ РНИМУ им. Н.И. Пирогова (зав. кафедрой проф. Ганковская Л.В.). Были изучены экспрессия генов TLR4, TLR2, HBD1-дефенсина и фактора некроза опухоли (TNF α) методами реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени по стандартным методикам [7, 8]. Уровень противомикробного пептида HNP1-3 оценивали методом иммуноферментного анализа (набор Human HNP1-3, NycultBiotech).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2016 и Statistica 6.1. Для описания количественных данных, имеющих нормальное распределение, использовали среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (SD). При распределении признаков, отличающихся от нормального, количественные данные описаны в виде медианы (Me) и квартилей Q1 и Q3. Корреляционный анализ производили методом Спирмена. Величина уровня значимости $p=0,05$ принята за критическую при интерпретации результатов статистического анализа.

Результаты

Основными критериями включения в основную группу были наличие хронического эндометрита и бесплодие. У 90,7% пациенток бесплодие было вторичным и только у 4 (9,3%) – первичным. Длительность бесплодия составила от 1 до 16 лет, в среднем 4 (0,7) года. В анамнезе 20,5% женщин проходили программы вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), беременность наступила у 5,1% из них. Акушерский анамнез 39 пациенток с вторичным бесплодием характеризовался

влагалищными родами (43,6%), искусственным абортom до 12 недель (25,6%), самопроизвольным выкидышем до 10 недель (30,8%). Из пациенток основной группы внутриматочные вмешательства в виде раздельного диагностического выскабливания отмечены у 39,5%.

Гинекологический анамнез был отягощен эктопией шейки матки (25,6%), носительством *Ureaplasma spp.* (34,8%), полипом эндометрия (23,2%) и кандидозным вульвовагинитом (34,8%).

Был проанализирован 101 образец эндометрия, полученный до и после курса экзогенной цитокино-терапии пациенток основной группы и группы сравнения.

Золотым стандартом диагностики хронического эндометрита является выявление в его тканях скопления плазматических клеток (CD138). Данный маркер обнаружен в 100% случаев у пациенток основной группы. Кроме того, при хроническом эндометрите (по сравнению с показателями группы сравнения) качественное окрашивание на CD20 выявлено в 53,5% и 4,7% соответственно, на CD8 и CD4 – в 55,8% и 9,3%, CD56 – в 51,2% и 6,9% соответственно. Таким образом, подтверждено, что при хроническом эндометрите в ткани эндометрия значительно превышен уровень цитотоксических Т-лимфоцитов, Т-лимфоцитов хелперов, естественных киллеров и В-лимфоцитов.

В неизмененном эндометрии суммарное мембранное и цитоплазматическое окрашивание на все изучаемые клетки не превышало 9,3%, за исключением CD138, который не был обнаружен ни у одной пациентки из группы сравнения.

После курса терапии препаратом Суперлимф были выявлены изменения. Через 20 дней качественная детекция CD138 в виде мембранного окрашивания выявлялась только в 39,5% образцов ($p=0,03$). Частота положительного мембранного окрашивания на В-лимфоциты (CD20) снижалась в 1,4 раза (до 37,2%, $p=0,05$), а уровни цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8) и NK-клеток значимо не менялись. Было выявлено увеличение количества клеток с положительным мембранным окрашива-

нием на CD4 (маркер Т-лимфоцитов хелперов, в 1,7 раза, $p=0,04$) и HLA-DRII (в 1,5 раза, $p=0,05$).

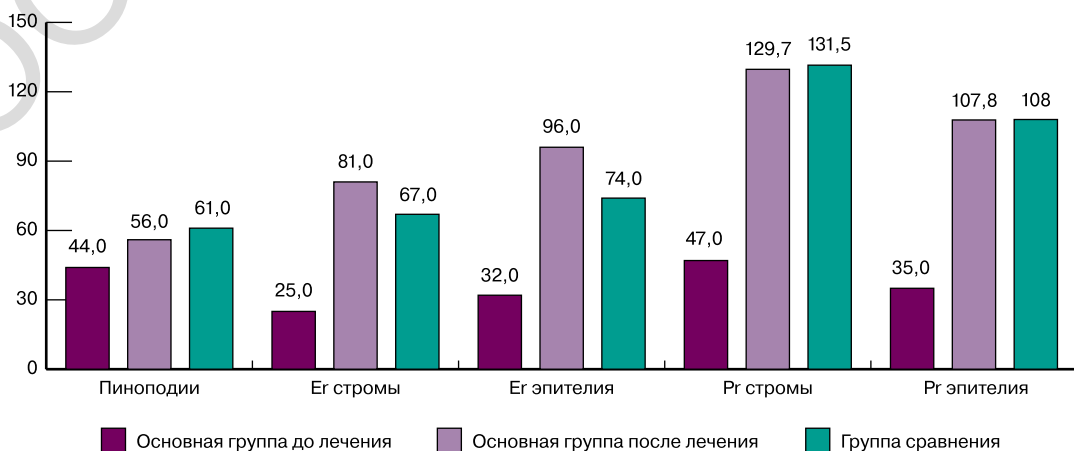
Показатели рецептивности эндометрия имели выраженную индивидуальную вариабельность. Было обнаружено, что при хроническом эндометрите по сравнению с группой сравнения процент пиноподий составлял 44,9 (12,4) и 61 (10,5) соответственно ($p=0,04$), экспрессия рецепторов эстрогенов в строме составляла 25,9 (7,9) и 67,5 (12,1) ($p=0,03$), в эпителии – 32,3 (6,2) и 74 (18,6) ($p=0,04$), экспрессия рецепторов к прогестерону в строме составляла 47,1 (4,9) и 131,5 (12,2) ($p=0,02$), в эпителии – 35,3 (7,1) и 108,3 (25,1) ($p=0,02$) соответственно. Таким образом, в ткани эндометрия с хроническим воспалением выявлено значимое снижение экспрессии всех изучаемых рецепторов (рис. 1).

После проведения курса цитокино-терапии отмечено увеличение числа пиноподий в 1,27 (до 56,3%) раза, в эпителии – усиление экспрессии рецепторов к эстрогенам в 1,3 (96,9 (9,2)) раза и к прогестерону – в 3 (107,8 (22,8)) раза ($p=0,02$). В стромальных клетках также отмечена тенденция к увеличению экспрессии рецепторов: в 3,25 раза к эстрогенам (81,8 (11,6)) и в 2,7 раза к прогестерону (129,7 (15,1)) ($p=0,04$). Показатели экспрессии рецепторов к прогестерону достигли уровней нормы.

Результаты качественной оценки ядерного и цитоплазматического окрашивания клеток эндометрия на наличие вирусных агентов показали, что в большинстве образцов ткани от пациенток основной группы были выявлены вирусные включения: у 25,6% – ВПГ 2 типа, у 55,8% – вируса Эпштейна-Барр, у 6,9% – ВПГ 1 типа и у 4,6% – ВПЧ. В группе сравнения не было выявлено ни одного случая обнаружения внутриклеточных вирусных включений. После 20-дневного курса цитокино-терапии нами было установлено значительное (в 2,2 раза) снижение детекции вируса Эпштейна-Барр (с 55,8 до 25,5%, $p=0,02$) и отсутствие изменений для ВПГ и ВПЧ.

В табл. 1 представлены результаты исследования экспрессии генов врожденного иммунитета и

Рис. 1. Показатели рецептивности эндометрия, %



дефенсина в тканях эндометрия у пациенток с хроническим эндометритом и в норме.

В ткани неизмененного эндометрия преобладает экспрессия генов рецепторов TLR2, кодирующих образование распознающих рецепторов врожденного иммунитета, и в значимом количестве присутствуют гены эффекторных молекул (дефенсин и TNF α). Данные молекулы отвечают за реактивность организма и своевременность и полноценность ответа на проникновение инфекционных факторов.

Обнаружено, что экспрессия генов врожденного иммунитета сохраняется и на фоне хронического воспаления, но достоверно отличается от показателей нормы. В 1,2 раза снижена экспрессия TLR4 и дефенсина, а уровень экспрессии генов TNF α и рецептора TLR2 умеренно повышены (в 1,13 раза).

После курса цитокинотерапии были выявлены значимые изменения: в 1,3 раза снизилась экспрессия гена рецептора TLR2 ($p=0,04$), возросла экспрессия гена рецептора TLR4 (в 1,5 раза) ($p=0,03$), TNF α (в 1,2 раза) ($p=0,05$), HBD1 (в 2,1 раза) ($p=0,03$) и HNP1-3 (в 1,6 раза) ($p=0,05$).

Спонтанная беременность наступила у 19 (44,2%) пациенток в течение от 1 до 6 месяцев после окончания курса терапии (рис. 2). Длительность бесплодия составляла от 2,5 до 7,5 года, и во всех случаях беспло-

дие было вторичным. К моменту подготовки статьи беременность самопроизвольно прервалась у 3 (15,7%) пациенток в сроках до 7 недель, неразвивающаяся беременность 6–9 недель была диагностирована у 3 женщин (15,7%), своевременные влагалищные роды произошли у 2 пациенток (10,5%), беременность пролонгируется в сроках 30–34 недели – у 7 (36,8%). Сообщили о наступлении беременности и ее ультразвуковом подтверждении 4 (21%) пациентки, но в дальнейшем выбыли из исследования по собственному желанию.

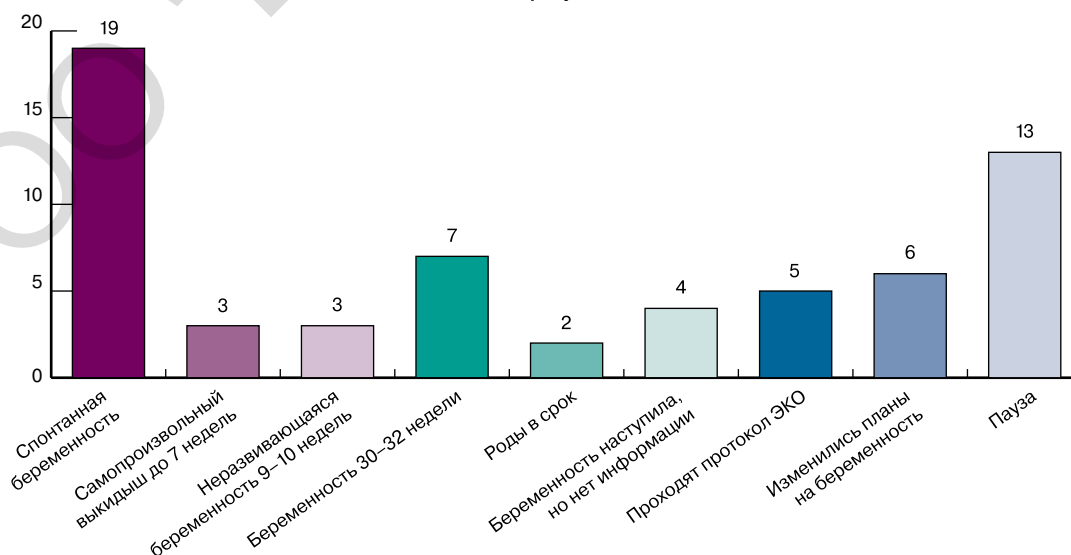
Мы отдельно проанализировали результаты ИГХ- и иммунологического исследований ткани эндометрия пациенток с наступившей в последующем беременностью (табл. 2).

Согласно представленным в таблице данным, исходные показатели экспрессии гена рецептора TLR2 и TNF α у женщин с хроническим эндометритом и наступлением беременности после терапии не отличались от нормы. Значимые различия были выявлены только для экспрессии TLR4 (снижена в 1,9 раза) и дефенсина (снижен в 1,4 раза). После курса экзогенной цитокинотерапии отмечено значимое повышение экспрессии всех изучаемых факторов, значимо превышающее показатели нормы и показатели в группе женщин, беременность у которых в последующем не наступила.

Таблица 1. Экспрессия генов врожденного иммунитета в ткани эндометрия

Исследуемый показатель	Основная группа (n=43)		Группа сравнения (n=15) 10 ³ копий/мл Me (Q1;Q3)
	Экспрессия до терапии 10 ³ копий/мл Me (Q1;Q3)	Экспрессия после терапии 10 ³ копий/мл Me (Q1;Q3)	
TLR2	1381,6 (1041;1793,5)	1070,9 (659;1283)	1225,6 (819;1314,5)
TLR4	501,6 (191,5;815,5)	849,4 (304,5;1141,5)	610,7 (511;708)
TNF α	2517,9 (1978;2970,5)	2980,7 (2161,5;3849,5)	2218,8 (1615,5;2487)
HBD1	1163,7 (446;1836)	2452,5 (1921,5;3041,5)	1354,8 (1022;1613)
HNP1-3 (нг/мл)	7,2 (4,5;9,1)	11,5 (8,5;13)	–

Рис. 2. Репродуктивные исходы



Сопоставление полученных результатов с ИГХ-исследованием позволило выявить некоторые закономерности. Подтверждена обратная корреляция между повышением экспрессии генов факторов врожденного иммунитета и снижением детекции маркеров хронического эндометрита (CD138, CD20). Слабая значимая обратная корреляционная связь была выявлена между уровнем экспрессии генов рецепторов TLR2 и количеством В-лимфоцитов. Умеренная значимая обратная связь – между уровнями экспрессии TLR4 ($p=0,04$) и HBD1 ($p=0,005$) и количеством плазматических клеток. Сильная значимая обратная связь подтверждена для экспрессии генов TLR2 ($p=0,02$) и TNF α ($p=0,03$) с концентрацией плазматических и активированных В-лимфоцитов.

Обсуждение

Реактивность организма является врожденной особенностью, которая позволяет своевременно и адекватно реагировать на любые экзо- и эндогенные воздействия с последующей полной элиминацией повреждающего фактора и восстановлением целостности ткани. Нарушения реактивности в виде гиперергии или гиперергии приводят к чрезмерному повреждению ткани или развитию хронического воспаления.

В большинстве случаев при хроническом эндометрите не удается верифицировать инициирующий фактор, а терапия возникающего клеточного и молекулярного дисбаланса в настоящее время не разработана.

В проведенном нами исследовании была предпринята попытка изучения и сопоставления клинических и иммунологических изменений в ткани эндометрия при хроническом эндометрите и бесплодии, а также разработки вариантов коррекции выявленных изменений.

ИГХ-исследование тканей при хроническом эндометрите подтвердило ранее имеющиеся данные о массивном скоплении плазматических клеток (CD138), В-лимфоцитов, больших гранулярных лимфоцитов (CD56), Т-лимфоцитов хелперов (CD4), а также сниженной экспрессии в ядрах клеток железистого эпителия рецепторов к эстрогенам и прогестерону. В большинстве образцов были верифицированы признаки хронической вирусной инфекции, с преобладанием цитоплазматических включений ВПГ 1 и 2 типов (32,5%) и вируса Эпштейна–Барр (55,8%).

При иммунологическом исследовании было обнаружено, что в тканях на фоне хронического воспаления изменяется экспрессия генов факторов врожденного иммунитета, отвечающих за реактивность и выработку эффекторных противобактериальных молекул. Значимо снижена экспрессия гена рецептора TLR4 и дефенсина. TLR4 отвечает за начальное звено взаимодействия с бактериальными и вирусными агентами, передавая сигнал в ядро клетки и инициируя запуск продукции провоспалительных цитокинов и интерферона. Снижение экспрессии данного гена в тканях, уже пораженных, может отражать или истощение данного фактора, или его изначально несостоятельность. Дефенсин (HBD1) является катионным пептидом, активным в отношении бактерий, грибов и разнообразных оболочечных и безоболочечных вирусов и участвует в процессе лизиса фагоцитированных микроорганизмов. Сниженная экспрессия генов, отвечающих за выработку данного фактора, может являться одной из причин персистенции в клетках эндометрия вирусов.

После 20-дневного курса экзогенной цитокинотерапии нами были получены интересные результаты. Значимо улучшились показатели рецептивности эндометрия за счет увеличения числа пиноподий (в 1,27 раза) и нормализации экспрессии рецепторов к прогестерону. У 27 (62,8%) пациенток морфологический диагноз хронического активного вирусного эндометрита был снят полностью, а у 16 (37,2%) женщин сохранялся в виде хронического неактивного процесса. Цитоплазматические включения вируса Эпштейна–Барр стали выявляться в 2 раза реже (с 55,8 до 25,5%). Полученные результаты можно связать с изменениями, произошедшими в экспрессии генов факторов врожденного иммунитета. После окончания курса лечения в тканях эндометрия возросла экспрессия рецепторов TLR4, что привело к повышению уровня экспрессии HBD1 (в 5 раз), TNF α (в 2,2 раза) и HNP1-3 (в 1,57 раза).

Клинически также были выявлены изменения. Из 43 пациенток, страдающих бесплодием на фоне хронического эндометрита, спонтанная беременность наступила у 19 (44,2%). Из них у 13 (68,4%) ИГХ диагноз хронического эндометрита был снят после курса цитокинотерапии, и во всех случаях отсутствовал вирус Эпштейна–Барр. При сопоставлении характера

Таблица 2. Экспрессия генов врожденного иммунитета в ткани эндометрия у женщин с последующей беременностью

Исследуемый показатель, 10 ³ копий/мл	С хроническим эндометритом без беременности (n=24) Me (Q1;Q3)		С хроническим эндометритом с последующей беременностью (n=19) Me (Q1;Q3)		Группа сравнения (n=15) Me (Q1;Q3)
	до терапии	после терапии	до терапии	после терапии	
TLR2	1406,6 (1011;1679,5)*	1072,4 (711,5;1332)***	1249 (914,5;1382,5)*	1062 (882;1212,5)***	1225,6 (819;1314,5)***
TLR4	605,6 (312,5;898,5)*	766,5 (367;1096,5)**	321 (106;496)*, ***	1287 (333;2077) **, ***	610,7 (511;708)**
TNF α	2580,9 (1931;2992,5)*	2885,6 (2087,5;3912,5)**	2185 (1822;2744)*	3493 (2900,5;4119,5) **, ***	2218,8 (1615,5;2487)**
HBD1 (нг/мл)	1197,4 (458;1888,5)*	2418,1 (1900;3102,5)**	985 (446,5;1311,5)*	2634 (2389;2786,5)**, ***	1354,8 (1022;1613)**

Примечание: *, ** – разница выделенных показателей значима при сравнении между группами без беременности и с наступившей беременностью, $p < 0,05$; *** – разница выделенных показателей значима при сравнении с группой сравнения, $p < 0,05$.

начальных изменений ткани эндометрия и их состояния после курса экзогенной цитокинотерапии были выявлены обратные корреляционные зависимости. Мы обнаружили, что исходный дисбаланс иммунокомпетентных клеток и цитокинов, которые нарушают рецептивность и пролиферативную активность клеток эндометрия, может быть скорректирован у ряда пациенток. Увеличение экспрессии генов, кодирующих факторы врожденного иммунитета (TLR2, TLR4, NBD1, TNF α), приводит к количественному снижению вирусных включений и выраженности хронического воспаления. Чем выше оказывается экспрессия факторов врожденного иммунитета, тем меньше в тканях эндометрия обнаруживается скоплений плазматических клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов.

Заключение

Представленные результаты позволяют предположить, что экзогенная цитокинотерапия может быть эффективной у пациенток с хроническим вирусным эндометритом.

Литература/References

1. Katila T. Post-mating inflammatory responses of the uterus. *Reprod Domest Anim.* 2012; 47 Suppl 5: 31–41. PMID:22913558.
2. Bazer F.W., Wu G., Spencer T.E., Johnson G.A., Burghardt R.C., Bayless K. Novel pathways for implantation and establishment and maintenance of pregnancy in mammals. *Molecular human reproduction.* 2010; 16(3): 135–52. PMID:19880575; PubMed Central PMCID: PMC2816171
3. Шуришалина А.В. Хронический эндометрит как причина нарушений репродуктивной функции. *Гинекология.* 2012; 14(4): 16–18. [Shurshalina A.V. Chronic endometritis as a reason of reproductive abnormalities. *Ginekologiya/Gynecology.* 2012; 14(4): 16–18. (in Russian)].
4. Ezz M.A., Marey M.A., Elweza A.E., Kawai T., Heppelmann M., Pfarrer C., Balboula A.Z., Montaser A., Imakawa K., Zaabel S.M., Shimada M., Miyamoto A. TLR2/4 signaling pathway mediates sperm-induced inflammation in bovine endometrial epithelial cells in vitro. *PLoS ONE.* 2019; 14(4): e0214516. doi:10.1371/journal.pone.0214516
5. Cronin J.G., Turner M.L., Goetze L., Bryant C.E., Sheldon I.M. Toll-like receptor 4 and MYD88-dependent signaling mechanisms of the innate immune system are essential for the response to lipopolysaccharide by epithelial and stromal cells of the bovine endometrium. *Biol Reprod.* 2012; 86(2): 51–9. PMID:22053092; PubMed Central PMCID: PMC396703.
6. Lin S.C., Lo Y.C., Wu H. Helical assembly in the MyD88-IRAK4-IRAK2 complex in TLR/IL-1R signalling. *Nature.* 2010; 465(7300): 885–90. PMID:20485341; PubMed Central PMCID: PMC2888693.
7. Доброхотова Ю.Э., Ганковская Л.В., Боровкова Е.И., Зайдиева З.С., Свитич О.А., Филина А.Б., Быстрицкая Е.П., Зайдиева З.С., Арутюнян А.М., Степанянц И.В. Совершенствование тактики ведения беременных с дисплазией шейки матки путем коррекции показателей врожденного иммунитета. *Акушерство и гинекология.* 2018; 12: 42–49. [Dobrokhotova Yu.E., Gankovskaya L.V., Borovkova E.I., Zalesskaya S.A., Svitch O.A., Filina A.B., Bistritskaya E.P., Zaidieva Z.S., Arutyunyan A.M., Stepanyants I.V. Improvement of management tactics for pregnant women with cervical dysplasia, by correcting innate immunity indicators. *Akusherstvo i Ginekologiya /Obstetrics and Gynecology.* 2018; (12): 42–49. (in Russian)]. <http://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.12.42-49>
8. Доброхотова Ю.Э., Ганковская Л.В., Боровкова Е.И., Зайдиева З.С., Скальная В.С. Модулирование локальной экспрессии факторов врожденного иммунитета у пациенток с хроническим эндометритом и бесплодием. *Акушерство и гинекология.* 2019; 5: 125–32. [Dobrokhotova Yu.E., Gankovskaya L.V., Borovkova E.I., Zaidieva Z.S., Skalnaya V.S. Modulation of the local expression of innate immune factors in patients with chronic endometritis and infertility. *Akusherstvo i Ginekologiya /Obstetrics and Gynecology.* 2019; (5): 125–32. (in Russian)]. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.5.125-132>

Поступила 12.11.2019

Принята в печать 29.11.2019

Received 12.11.2019

Accepted 29.11.2019

Сведения об авторах:

Доброхотова Юлия Эдуардовна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии лечебного факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова. Тел.: +7 (495)722-63-99. E-mail: pr.dobrokhotova@mail.ru.

Адрес: 117997 Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1, стр. 9.

Боровкова Екатерина Игоревна, д.м.н., доцент, профессор кафедры акушерства и гинекологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова. Тел.: +7 (903)785-57-93.

E-mail: Katyankitina@mail.ru. ORCID 0000-0001-7140-262X. Spin-cod: 8897-8605

Адрес: 117997 Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1, стр. 9.

Скальная Виктория Сергеевна, врач акушер-гинеколог консультативно-диагностического отделения родильного дома при ГКБ № 40. Тел.: +7(916)921-64-14.

E-mail: dworvik2010@yandex.ru.

Адрес: 129301 Россия, Москва, ул. Таймырская, д. 6.

Ильязов Тулеген Кидралиевич, аспирант кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова. E-mail: ilyazovtolik@yandex.ru.

Адрес: 117997 Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1, стр. 9.

Рассохина Олеся Валентиновна, клинический ординатор кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Адрес: 117997 Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1, стр. 9.

About the authors:

Julia E. Dobrokhotova, MD, professor, head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, RNIMU im. N.I. Pirogov. Phone: +7 (495) 722-63-99, e-mail: pr.dobrokhotova@mail.ru

117997 Russia, Moscow, ul. Ostrovityanova, Building 1, p. 9.

Ekaterina I. Borovkova, MD, associate professor, professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, e-mail: Katyankitina@mail.ru, tel.: +7 (903) 785-57-93. ORCID 0000-0001-7140-262X Spin-cod: 8897-8605

117997 Russia, Moscow, ul. Ostrovityanova, d. 1, p. 9.

Victoria S. Skalnaya, obstetrician-gynecologist, consultative and diagnostic department of the maternity hospital at City Clinical Hospital №40. Tel.: +7 (916) 921-64-14. E-mail: dworvik2010@yandex.ru.

129301 Russia, Moscow, ul. Taimyrskaya, d. 6.

Tulegen K. Ilyazov, graduate student of the Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, RNIMU im. N.I. Pirogov. E-mail: ilyazovtolik@yandex.ru

117997 Russia, Moscow, ul. Ostrovityanova, d. 1, p. 9.

Olesya V. Rassokhina, clinical intern at the Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, RNIMU im. N.I. Pirogov,

117997 Russia, Moscow, ul. Ostrovityanova, d. 1, p. 9.