

На правах рукописи

КРАСИЛЬНИКОВА АНГЕЛИНА КСЕНОФОНТОВНА

**ПЕРСониФИЦИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ
И ТАКТИКЕ ЛЕЧЕНИЯ ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ ПРИ «МАЛЫХ»
ФОРМАХ ЭНДОМЕТРИОЗА**

14.01.01- акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Иваново 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук, профессор

Малышкина Анна Ивановна
Сотникова Наталья Юрьевна

Официальные оппоненты:

Ярмолинская Мария Игоревна - доктор медицинских наук, профессор РАН, руководитель отдела эндокринологии репродукции ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О.Отта»

Унаниян Ара Леонидович - доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры акушерства и гинекологии №1 ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России

Куценко Ирина Игоревна - доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства, гинекологии и перинатологии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2018 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д208.028.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В.Н. Городкова» Минздрава России, сайт: www.niimid.ru

Автореферат разослан «_____» _____ 2018 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент

Панова Ирина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Эндометриоз, по мнению большинства исследователей, является одним из наиболее распространенных гинекологических заболеваний с высокой частотой встречаемости среди женщин активного репродуктивного возраста (Адамян Л.В. и др., 2017; Коган Е. А., и др., 2017). По данным разных авторов эндометриоз диагностируется у 5-10% всех женщин репродуктивного возраста, и его распространенность в последние годы не имеет тенденции к снижению (Parasar P. et al., 2017). Болевой синдром и бесплодие являются основными клиническими симптомами этого заболевания, существенно снижающими качество жизни пациенток и влияющими на отношения в семье и обществе в целом (Moradi M. et al., 2014). Эндометриоз выявляется в 70% случаев у женщин с хроническими тазовыми болями (Куценко И.И., 2016) и в 40-60% случаев у пациенток с бесплодием (Ярмолинская М. И., Денисова В. М., 2013; Гаспарян С. А. и др., 2015, Унанян А.Л., 2017). Поэтому вопросы, связанные с лечением бесплодия у пациенток с эндометриозом являются в настоящее время одними из наиболее актуальных в современной гинекологии.

До сих пор до конца не установлены механизмы, приводящие к нарушению репродуктивной функции у пациенток с эндометриозом, особенно с «малыми» формами эндометриоза. Нет единого мнения о тактике ведения пациенток с бесплодием и «малыми» формами эндометриоза. Несмотря на то что лечебно-диагностическая лапароскопия остается «золотым стандартом» лечения женщин с данной патологией (Адамян Л.В. и др., 2017; Mavrellos D. et al., 2015) эффективность восстановления репродуктивной функции у пациенток с эндометриозом I-II стадий после хирургического лечения бесплодия остается недостаточно высокой (20-40%) (Brown J, Farquhar C., 2014; Duffy J.M. et al., 2014). Повышению частоты наступления беременности после лапароскопии могло бы способствовать использование неинвазивных прогностических методов, позволяющих еще на дооперационном этапе оценить возможность спонтанного наступления беременности после лапароскопии и решить вопрос о целесообразности применения дополнительных лечебных мероприятий в раннем послеоперационном периоде у каждой конкретной пациентки. Наиболее перспективным направлением поиска новых медикаментозных путей коррекции нарушений, связанных с репродуктивной функцией пациенток с «малыми» формами эндометриоза, является изучение возможности применения препаратов с иммуномодулирующим действием, поскольку иммунные нарушения играют важную роль в развитии как эндометриоза, так и связанного с ним бесплодия.

Степень разработанности темы

Показано, что у пациенток с эндометриозом отмечаются изменения реакций адаптивного и врожденного иммунитета, проявляющиеся в угнетении цитотоксической активности естественных киллеров, в активации гуморальных иммунных реакций с усиленной выработкой аутоантител различной специфичности, в повышенной выработке провоспалительных цитокинов и факторов роста в перитонеальной полости, в нарушении функции перитонеальных макрофагов, в развитии резистентности клеток эндометрия к апоптозу и др. (S. H. Ahn et al., 2015; Izumi G. et al., 2018). Предполагают, что все эти нарушения могут быть непосредственно связаны с механизмами, определяющими возможность развития и роста эндометриоидных очагов в перитонеальной полости. Но для более полного понимания роли иммунной системы в патогенезе эндометриоза необходимо проведение оценки выраженности иммунных нарушений при эндометриозе различной степени тяжести, что позволит выделить наиболее значимые механизмы, участвующие в регуляции эктопического роста эндометрия. Менее ясна на сегодняшний день взаимосвязь иммунных нарушений с развитием бесплодия при эндометриозе, в особенности при его «малых» формах. Выявление конкретных иммунных изменений при бесплодии и эндометриозе могло бы послужить «точкой приложения» действия иммуномодулирующих препаратов, направленного как на коррекцию иммунных нарушений, так и на улучшение фертильности пациенток с эндометриозом.

В настоящее время получен положительный опыт применения иммуномодуляторов как с целью лечения эндометриоза, так и связанного с ним бесплодия. Имеются данные о возможности использования интерферона альфа, рекомбинантного интерлейкина-2 при эндометриозе (Ярмолинская М.И., Денисова В.М., 2015). Достаточно давно ведется изучение эффективности применения Пентоксифиллина, обладающего выраженным противовоспалительным действием, у пациенток с эндометриозом.

В обзоре Cochrane было показано, что применения этого препарата с целью лечения болевого синдрома при распространенных формах эндометриоза малоэффективно (Lv D. et al., 2012). Однако единого мнения о целесообразности использования Пентоксифиллина для лечения бесплодия у пациенток с эндометриозом пока еще нет. Требуются дальнейшие исследования в этом направлении. Одним из препаратов, действующих на клетки фагоцитарного ряда, является ГМДП (глюкозаминилмурамилдипептид). В экспериментальных исследованиях было показано, что ГМДП является сильным активатором врожденной и адаптивной иммунной системы (Takada H., 2006). Однако до настоящего времени в лечении пациенток с бесплодием и эндометриозом

ГМДП не применялся. Таким образом, уточнение иммунных механизмов, определяющих нарушение репродуктивной функции у пациенток с эндометриозом I-II стадий, и разработка на их основе персонифицированного подхода к коррекции выявленных нарушений является актуальной задачей современной гинекологии, решение которой позволит существенно повысить эффективность существующих методов лечения эндометриоза и связанного с ним бесплодия.

Цель исследования: разработать персонифицированный подход к медикаментозной коррекции иммунных нарушений, связанных с регуляцией реакций врожденного и гуморального иммунитета, у женщин с бесплодием и эндометриозом I-II стадий для повышения эффективности восстановления репродуктивной функции пациенток после хирургического лечения.

Задачи исследования

1. Выявить факторы риска нарушений репродуктивного здоровья у женщин с «малыми» формами эндометриоза
2. Установить особенности регуляции гуморального звена иммунитета на системном и локальном уровне у женщин с бесплодием и «малыми» формами эндометриоза
3. Выявить закономерности функционирования клеток фагоцитарного ряда на системном и локальном уровне у женщин с бесплодием и «малыми» формами эндометриоза.
4. В эксперименте *in vitro* обосновать возможность использования препаратов с иммуномодулирующим действием (Пентоксифиллин, глюкозаминилмурамилдипептид) для коррекции иммунных нарушений у женщин с бесплодием и «малыми» формами эндометриоза.
5. Провести сравнительный клинко-иммунологический анализ эффективности лечения бесплодия у пациенток с «малыми» формами эндометриоза с традиционным ведением раннего послеоперационного периода и с включением в комплексную терапию иммуномодуляторов (Пентоксифиллин и глюкозаминилмурамилдипептид).
6. Разработать алгоритм дифференцированного назначения иммуномодуляторов для обоснования персонифицированного подхода к ведению раннего послеоперационного периода у женщин с бесплодием при «малых» формах эндометриоза.

Научная новизна

Установлены особенности регуляции реакций гуморального и врожденного звеньев иммунитета, ассоциированные с развитием эндометриоза, а также с нарушением репродуктивной функции при «малых» формах эндометриоза.

Впервые показано, что при эндометриозе и связанном с ним бесплодием выявляются 3 типа изменений иммунного ответа: 1 тип – не зависящие от степени тяжести эндометриоза, 2 тип - пропорциональные степени тяжести заболевания и 3 тип – отмечаемые лишь у пациенток с «малыми» формами эндометриоза и бесплодием.

Показано, что к иммунным факторам, характерным для эндометриоза вне зависимости от степени тяжести относятся усиленная активность В-1 и $\gamma\delta$ Т лимфоцитов, угнетение функции «клеток-мусорщиков» при повышенной продукции провоспалительных цитокинов IL-6 и TNF α фагоцитами крови и перитонеальной жидкости.

К иммунным механизмам, способствующим развитию распространенных форм эндометриоза, относятся повышенный синтез и продукция факторов, активирующих реакции Th2 типа (IL-4, IL-6, sCD30) на системном и локальном уровне, а также усиление экспрессии PRR рецепторов (TLR2, RAGE) макрофагами перитонеальной жидкости.

Установлено, что для пациенток с «малыми» формами эндометриоза и бесплодием характерно повышение системной продукции лимфоцитами IL-5, усиление экспрессии TLR2 моноцитами и снижение продукции IL-1 β моноцитами.

Выявлено, что Пентоксифиллин *in vitro* угнетает синтез и продукцию цитокинов Th2 типа периферическими лимфоцитами здоровых женщин, а при воздействии *in vitro* на лимфоциты пациенток с эндометриозом - уменьшает внутриклеточную продукцию IL-4 и IL-6 лимфоцитами крови и перитонеальной жидкости и продукцию IL-5- периферическими лимфоцитами.

Впервые показано, что ГМДП *in vitro* стимулирует мембранную экспрессию TLR2, CD36, CD204, CD11b CD120a молекул моноцитами крови и макрофагами перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом, а также усиливает внутриклеточную экспрессию фагоцитами крови и перитонеальной жидкости TNF α и IL-1 β по дозо-зависимому типу.

Эффективность хирургического лечения бесплодия у пациенток с «малыми» формами эндометриоза зависит от исходного иммунологического фона. Иммунологические показатели пациенток, определяемые до начала лечения, (уровень периферических CD20+CD5+ лимфоцитов, CD86+ нейтрофилов и IL-1 β + моноцитов) позволяют прогнозировать наступление беременности после проведения лапароскопии у пациенток с «малыми» формами эндометриоза.

Показано, что персонифицированное применение в раннем послеоперационном периоде иммуномодуляторов Пентоксифиллин и ГМДП за счет нормализации состояния иммунной системы увеличивает частоту

наступления беременности у женщин с «малыми» формами эндометриоза и бесплодием: Пентоксифиллин способствует снижению активности Th2-зависимых иммунных реакций за счет нормализации синтеза и продукции цитокинов IL-4, IL-5 и IL-6, а ГМДП восстанавливает функции «клеток-мусорщиков» фагоцитов и повышает внутриклеточную экспрессию IL-1 β моноцитами.

Впервые разработан алгоритм персонафицированного назначения комбинированного лечения с включением иммуномодуляторов Пентоксифиллин и ГМДП в раннем послеоперационном периоде женщинам с эндометриозом I-II стадий и бесплодием.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования

Существенно дополнены и расширены существующие теоретические представления о патогенезе генитального эндометриоза, а именно установлены особенности регуляции реакций гуморального и врожденного звеньев иммунитета, ассоциированные с развитием генитального эндометриоза, а также с нарушением репродуктивной функции при «малых» формах эндометриоза.

Разработаны новые способы прогнозирования эффективности хирургического лечения бесплодия у женщин с I-II стадией генитального эндометриоза на основании определения в периферической крови относительного количества IL-1 β + моноцитов, CD86+ нейтрофилов, CD20+CD5+ лимфоцитов. Получены патенты на изобретения «Способ прогнозирования спонтанного наступления беременности у женщин с I и II стадией наружного генитального эндометриоза» №2557923 от 30.06.2015г., «Способ прогнозирования наступления беременности у женщин с I и II стадиями эндометриоза после хирургического лечения» №2613313 от 15.03.2017.

Доказана целесообразность назначения Пентоксифиллина и ГМДП в раннем послеоперационном периоде у женщин с эндометриозом I-II стадии и бесплодием. Предложены критерии персонафицированного подхода в их назначении в зависимости от исходного иммунологического фона.

Показано, что предложенный алгоритм обследования и определения тактики ведения пациенток с эндометриозом I-II стадии и бесплодием до и после хирургического лечения увеличивает частоту наступления беременности.

Разработан протокол «Прогнозирование восстановления репродуктивной функции у пациенток с бесплодием и эндометриозом I-II стадии после проведения лечебно-диагностической лапароскопии» для клинической апробации.

Методология и методы исследования

Работа выполнена на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор, д.м.н., проф. А. И. Малышкина) в условиях эндоскопического отделения гинекологической клиники (зав. отд. к.м.н. В.Н. Романов), консультативно-диагностического отделения и женской консультации №1 при ФГБУ «ИвНИИ МиД имени В. Н. Городкова» Минздрава России (зав. ЖК д.м.н. Е.Л.Бойко) и на базе Лабораторные исследования выполнялись в лабораториях клинической иммунологии (зав. лаб. д.м.н., проф. Н.Ю. Сотникова), патоморфологии и электронной микроскопии (зав. лаб. д.м.н., проф. Л.П. Перетятко).

Всего было обследовано 453 женщины. В ходе исследования были выделены следующие клинические группы:

Контрольная группа - 103 здоровые фертильные женщины с реализованной репродуктивной функцией и отсутствием генитального эндометриоза.

Основная группа - 264 женщины с I-II стадиями эндометриоза и бесплодием (по классификации Американского общества фертильности (R-AFS), 1985 и 1986 г.), (код по МКБ – N83.0-эндометриоз тазовой брюшины) или минимальный и легкий эндометриоз (по классификации Американского общества по репродуктивной медицине 1995г. и пересмотренная в 1996г.) или «малые» формы эндометриоза, по результатам диагностической лапароскопии 1984 г. K.Semm.

Группа сравнения - 86 женщин с III-IV стадиями эндометриоза и бесплодием (по классификации Американского общества фертильности, 1985 год), (код по МКБ – N80.1 Эндометриоз яичников, N80.2 Эндометриоз маточных труб, N80.3 Эндометриоз тазовой брюшины, N80.4 Эндометриоз ректовагинальной перегородки и влагалища) или умеренный и тяжелый эндометриоз (по классификации Американского общества по репродуктивной медицине 1995г. и пересмотренная в 1996г.) или «распространенные» формы эндометриоза, по результатам диагностической лапароскопии 1984 г. K.Semm.

На амбулаторном этапе пациенткам с бесплодием и эндометриозом было проведено обследование в соответствии с приказом Минздрава России от 12 ноября 2012г. № 572, в ходе которого были исключены из основной группы женщины с сочетанием наружного и внутреннего эндометриоза на основании данных влагалищного УЗИ, МРТ с определением толщины «переходной зоны» миометрия (JZ), тяжелой экстрагенитальной патологией, выраженными аллергическими реакциями на момент обращения. В исследование не вошли

женщины с другими возможными причинами бесплодия: женское бесплодие, связанное с отсутствием овуляции, бесплодие цервикального, трубного и маточного происхождения, женское бесплодие, связанное с мужскими факторами.

Всем женщинам с бесплодием во время лечебно-диагностической лапароскопии был диагностирован генитальный эндометриоз, верифицированный при проведении гистологического исследования удаленных очагов или биоптатов пораженной брюшины, капсул кист.

В зависимости от тактики ведения раннего послеоперационного периода 264 женщины основной группы методом случайной выборки были разделены на три подгруппы.

I подгруппа - 150 женщин с традиционным ведением раннего послеоперационного периода, получавшие обезболивающую и антибактериальную терапию.

II подгруппа - 75 женщин, которые в дополнение к традиционной терапии получали в первые 5 дней после лапароскопии препарат Пентоксифиллин (регистрационный номер №015 494/01).

III подгруппа - 39 женщин, в раннем послеоперационном периоде в дополнение к традиционной терапии получавшие иммуномодулирующий препарат ГМДП (Ликопид) (регистрационный № 015 494/01).

Все исследования проведены с учетом требований Хельсинской декларации Всемирной ассоциации «Эстетические принципы проведения научных и медицинских исследований с участием человека» с поправками 2008 г. и нормативных документов «Правила клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом №226 от 19.06.2003 года Министерства здравоохранения и социального развития РФ. Все участники исследования дали свое информированное согласие. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «Ив НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России.

Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь и перитонеальная жидкость.

Пациентки, получавшие традиционную или медикаментозную терапию в послеоперационном периоде, обследовались двукратно. Первый раз забор венозной крови у пациенток с подозрением на эндометриоз I-II стадий как причину бесплодия осуществлялся в амбулаторных условиях перед госпитализацией в эндоскопическое отделение гинекологической клиники ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В.Н.Городкова» Минздрава России. Повторный забор венозной крови проводился через 2 месяца после лечения для оценки эффективности проведенной терапии.

Эвакуация перитонеальной жидкости осуществлялась однократно сразу после нанесения операционной травмы во время проведения лечебно-диагностической лапароскопии.

Лабораторные методы:

Иммунологические

- выделение иммунокомпетентных клеток из периферической крови и перитонеальной жидкости методом скоростного центрифугирования в двойном градиенте плотности фиколл-верографина (Uppsala, Sweden);
- определение фенотипа и внутриклеточной продукции цитокинов в популяциях периферических и перитонеальных лимфоцитов, моноцитов/макрофагов и нейтрофилов крови методом двухцветной проточной цитофлюориметрии с помощью моноклональных антител на приборе FACSCanto II (Becton Dickinson, USA);
- выделение чистых популяций лимфоцитов и моноцитов/макрофагов из крови и перитонеальной жидкости с помощью магнитных частиц (Dynabeads® CD14, Invitrogen by Life Technologies AS, Oslo, Norway) методом магнитной сепарации;
- количественное определение уровня экспрессии мРНК IL-4, IL-5, NOD2 и RAGE в популяциях лимфоцитов и моноцитов/макрофагов периферической крови и перитонеальной жидкости методом обратнo-транскрипционной полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени. При расчете уровня экспрессии мРНК IL-6 использовали полуколичественный ct метод с расчетом коэффициента RQ (related quantity);
- определение концентрации IL-4, IL-6, RAGE, sCD30, sTNFR2 в сыворотке крови и в перитонеальной жидкости методом ИФА;
- определение в сыворотке крови концентрации ФСТ, ЛГ, эстрадиола, ингибина В, АМГ, а также наличия маркеров острой и хронической бактериально-вирусной инфекции методом ИФА;
- культивирование лимфоцитов периферической крови и перитонеальной жидкости с препаратом Пентоксифиллин в концентрации 80 мкг/мл в течение 24 часов при 37°C и 5% CO₂ с последующим определением уровня внутриклеточной продукции IL-4, IL-5 и IL-6 в общей популяции лимфоцитов и в популяции Т-хелперов методом проточной цитометрии и оценкой уровня экспрессии IL-4 и IL-5 лимфоцитами методом ОТ-ПЦР;
- культивирование МНК крови и перитонеальной жидкости с препаратом ГМДП в концентрациях 1, 5 и 10 мкг/мл в течение 24 часов при 37°C и 5% CO₂ с последующим определением уровня TLR2+, CD36+, CD204+, CD11b+, CD120a+, IL-1β+ и TNFα+ клеток в моноцитарном/макрофагальном гейте методом проточной цитометрии.

Морфологические

Проведение обзорного гистологического исследования удаленных очагов эндометриоза для верификации диагноза.

Математическая обработка осуществлялась в пакете прикладных программ «Statistica 6.0.», «MicrosoftOffice 2010», «MedCalc» и «OpenEpi» по общепринятым методам вариационной статистики после проверки рядов на нормальность распределения, в программе «OpenEpi» рассчитывали относительный риск (ОР) с 95% ДИ. С использованием программы «MedCalc» был проведен ROC-анализ.

Положения, выносимые на защиту

К иммунным механизмам, ассоциированным с развитием эндометриоза и бесплодия, относятся усиление активности системных и локальных иммунных реакций Th2 типа и дисбаланс активности клеток врожденного иммунитета, проявляющийся угнетением функции «клеток-мусорщиков» при повышенной продукции провоспалительных цитокинов фагоцитами крови и перитонеальной жидкости и усиленной экспрессии PRR молекул перитонеальными макрофагами. В основе иммунных нарушений, способствующих развитию бесплодия у пациенток с «малыми» формами эндометриоза, лежит усиление системной продукция лимфоцитами IL-5, экспрессии TLR2 моноцитами и снижение продукции IL-1 β - моноцитами.

Показатели относительного содержания IL-1 β ⁺ моноцитов, CD86⁺ нейтрофилов и CD20⁺CD5⁺ лимфоцитов являются прогностическими критериями успеха хирургического лечения бесплодия у женщин с эндометриозом I-II стадии.

Пентоксифиллин *in vitro* и *in vivo* снижает активность гуморальных иммунных реакций за счет угнетения синтеза и продукции цитокинов Th2 типа лимфоцитами. ГМДП при воздействии *in vitro* и *in vivo* стимулирует экспрессию «рецепторов-мусорщиков» фагоцитами крови и усиливает продукцию моноцитами IL-1 β . Применение иммуномодулирующей терапии в раннем послеоперационном периоде в зависимости от изначального иммунологического фона повышает эффективность положительного воздействия терапии на состояние репродуктивной функции пациенток с «малыми» формами эндометриоза.

Апробация диссертации

Основные результаты исследований по теме диссертации докладывались и обсуждались на Всероссийском научном форуме «Мать и дитя» (Москва., 2011, 2013, 2014), Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 2012, 2015, 2018), V Российской конференции «Иммунология репродукции. Теоретические и клинические аспекты» (Иваново, 2012), объединенном

иммунологическом форуме (Нижний Новгород, 2013), Международной научно-практической конференции «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и геномных технологий» (Ташкент, Узбекистан, 2015), Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Городковские чтения», посвященной 35-летию со дня основания института (Иваново, 2015), X Юбилейном Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 2016), XXIX Международном конгрессе с курсом эндоскопии: Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний (Москва, 2016), Региональной образовательной школе РОАГ: Гинекологические заболевания и репродуктивное здоровье женщины (Казань, 2016), Международном Российско-Узбекском симпозиуме «Актуальные проблемы иммунологии репродукции» (Иваново, 2017), Образовательной конференции с международным участием Российского общества акушеров-гинекологов «Репродуктивные технологии в решении демографических проблем России» (Иваново, 2017), на XVI Всероссийском научном форуме с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2017).

Разработанные способы прогнозирования эффективности хирургического лечения бесплодия у женщин с I-II стадией генитального эндометриоза прошли предрегистрационные испытания в гинекологической клинике ФГБУ «ИвНИИ МиД им. В.Н. Городкова» Минздрава России. Материалы используются в учебном процессе на кафедре акушерства и гинекологии, медицинской генетики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России), на кафедре акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В.Н. Городкова» Минздрава России.

Личное участие автора

Автором проводился отбор пациенток в исследуемые группы и их лечение, согласно критериям включения и исключения, проводилась беседа с женщинами с целью получения согласия на участие в исследовании, выполнялся сбор жалоб и анамнеза, заполнялись карты обследования. Полученные данные были статистически обработаны, проанализированы, результаты описаны. Автор сформулировал выводы, основные положения и практические рекомендации.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 57 печатных работ, из них 16 в рецензируемых журналах, включенных в перечень журналов, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации научных результатов диссертаций.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 371 странице машинописного текста, содержит введение, обзор литературы, 9 глав собственных исследований, обсуждение полученных результатов, выводы, практические рекомендации и список литературы, включающий 60 отечественных и 444 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 145 таблицами и 24 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Результаты исследования и их обсуждение

Во всех исследуемых группах подавляющее большинство женщин находились в активном репродуктивном возрасте, до 35 лет. Средний возраст женщин основной группы составил 29 [27; 32] лет, в группе сравнения 30 [27; 32] лет, в контрольной группе - 33 [28; 36] года ($p = 0,000$ в обоих случаях). Полученные нами данные согласуются с мнением большинства исследователей, указывающих на то, что существует прямая зависимость между нарушением фертильности при эндометриозе и возрастом. Это заболевание женщин активного репродуктивного возраста до 35 лет. В то время как у женщин старше 36 лет бесплодие при наличии эндометриоза обусловлено возрастными проблемами, качеством репродуктивного материала независимо от тяжести эндометриоза (Prescott J. et al. 2016, González-Comadran M. et al., 2017).

При изучении особенностей менструальной функции у женщин с эндометриозом вне зависимости от стадии заболевания средний возраст менархе соответствовал общепринятым в популяции нормативам составил 13 [12; 14] лет и не отличался от показателей контрольной группы ($p > 0,05$). При этом несвоевременное начало менструаций, проявляющееся как ранним так и поздним их становлением, у женщин с I-II и III-IV стадиями эндометриоза и бесплодием отмечалось чаще, чем в группе контроля и составило 6,4%, 7,0% против 0%, соответственно $p = 0,03$ в обоих случаях. По данным литературы, поздний возраст менархе (≥ 16 лет) снижает риск развития эндометриоза (Treloar S. A. et al., 2010; Barclay L., 2009). В нашем исследовании пациентки с поздним становлением менархе сообщали о выраженной первичной дисменорее, требующей приема НПВП и приводящих к снижению трудоспособности на всем протяжении жизни. Согласно данным литературы, тяжелая первичная дисменорея является одним из важных факторов риска развития эндометриоза, поскольку повышает воздействие так называемой

«ретроградной менструации» на тазовую брюшину (Parazzini F. et al., 2017).

Правильный ритм менструаций имели практически все пациентки исследуемых групп, средняя продолжительность менструального цикла составляла 28 [28; 30] дней ($p>0,05$). При этом у женщин с эндометриозом и бесплодием средняя продолжительность менструального кровотечения составила 5 [4; 6] дней, что было достоверно выше по сравнению с контрольной группой 5 [4; 5] ($p=0,02$ и $p=0,001$). Различий между пациентками основной и группой сравнения не отмечено.

Возраст начала половой жизни не различался в группах ($p>0,05$). Репродуктивная функция была полностью реализована у всех женщин контрольной группы. Анамнестически у всех обследованных женщин данной группы отсутствовал период бесплодия в супружеской паре, каждая из женщин имела одного и более живого здорового ребенка, причем двух и более здоровых детей имели 70,9% пациенток.

У женщин с эндометриозом в 100% отмечалось бесплодие, длительность которого составила от 1 до 13 лет, в среднем 3 [2; 5] года. Данный факт еще раз подчеркивают необходимость более раннего направления на лапароскопическое обследование пациенток с бесплодием для выявления его причин. У пациенток с I-II стадиями эндометриоза первичное и вторичное бесплодие имело место в 57,6% и 42,3% случаев соответственно, что свидетельствует о небольшом преобладании первичного бесплодия в данной группе женщин. В группе пациенток с III-IV стадиями эндометриоза первичное бесплодие доминировало и имело место у 70,9% женщин, а вторичное бесплодие выявлялось лишь у 29,1% женщин, что статистически значимо отличало группу сравнения от основной клинической группы наблюдения ($p=0,04$ в обоих случаях). Этот факт согласуется с мнением ряда авторов, что у женщин с эндометриозом чаще встречается первичное бесплодие (Vercellini P. et al., 2014).

Репродуктивная функция пациенток с эндометриозом и бесплодием характеризовалась относительно низкой частотой беременностей в анамнезе. В среднем на одну больную приходилось 0 [0; 1] беременностей в основной группе, 0 [0; 0] беременностей – в группе сравнения и 2 [1; 4] беременности - в контрольной группе, что достоверно чаще, чем в основной группе и в группе сравнения ($p=0,000$ в обоих случаях). Артифициальные аборт в анамнезе отмечались у 20,4% пациенток основной группы, 14,0% женщин группы сравнения, что достоверно реже, чем в группе контроля (42,7%) ($p=0,000$ в обоих случаях). Это обстоятельство представляется вполне логичным, так как основным критерием отбора пациенток основной группы и группы сравнения являлось наличие бесплодия.

Изучение структуры гинекологических заболеваний у пациенток исследуемых групп выявило повышенную частоту встречаемости гиперпролактинемии в анамнезе при отсутствии микро- и макропролактиномы, (по данным МРТ) при I-II стадиях эндометриоза (10,9%) по сравнению с контрольной группой (0%, $p=0,001$). Данное явление могло быть следствием локальной гиперэстрогении (Ярмолинская М.И., 2009), а также стресса, возникающего вследствие дисменореи при эндометриозе, что может оказывать прямое ингибирующее влияние на процессы овуляции и имплантации эмбриона. Кроме того, пролактин является индуктором ангиогенеза, что может иметь важное значение для механизмов развития эндометриоидных гетеротопий (Bulun S.E., 2009). Пациентки основной группы достоверно чаще имели в анамнезе воспалительные заболевания органов малого таза (39,3%), чем женщины контрольной группы (15,5%, $p=0,000$).

В группе женщин с распространенным эндометриозом в анамнезе чаще, чем у женщин контрольной группы и пациенток с «малыми» формами эндометриоза встречались оперированные ранее эндометриоидные кисты яичников (14,0% против 2,0%, $p=0,004$; 2,3%, $p=0,000$, соответственно).

По мнению многих авторов, эндометриоз ассоциируется с многими хроническими заболеваниями (Kvaskoff M. et al., 2015, Sen-WenTeng et al., 2016) Среди перенесенных соматических заболеваний у женщин основной группы и группы сравнения достоверно чаще, чем в группе контроля отмечались НЦД по гипотоническому или гипертоническому типу (контроль – 7,8%, основная группа - 18,9%, $p=0,01$; группа сравнения - 19,8%, $p=0,03$), аллергические реакции - контроль – 4,9%, основная группа - 21,2%, $p=0,000$; группа сравнения - 16,3%, $p=0,01$). Хронические заболевания желудочно-кишечного тракта выявлены у 13,2% пациенток с I-II стадиями эндометриоза и бесплодием, что достоверно повышено по сравнению с группой контроля - 4,9% ($p=0,03$).

Операции в анамнезе, основными показаниями к которым явились острый аппендицит и наличие брюшных грыж, достоверно чаще отмечались у женщин основной группы и группы сравнения по сравнению с контрольной группой (12,5%, 15,1% и 2,9%, $p=0,003$ и $p=0,002$, соответственно). В обеих группах женщин с эндометриозом и бесплодием в анамнезе имела место лечебно-диагностическая лапароскопия по удалению очагов эндометриоза (11,3% случаев у женщин основной группы и 24,4% случаев у пациенток группы сравнения), что достоверно отличало их от контрольной группы (0%) ($p=0,000$ в обоих случаях), причем у женщин группы сравнения рецидив эндометриоза фигурировал чаще, чем в основной группе ($p=0,01$). Рецидивы заболевания у них могли быть связаны с отказом использования

рекомендуемой адъювантной гормональной терапии в связи с наличием длительного приема и побочных эффектов назначаемых препаратов, а также их высокой стоимостью. Рецидив эндометриоза после отмены адъювантной терапии у исследуемых пациенток группы сравнения диагностировался в среднем через 2-4 года. Наши результаты о том, что женщины, перенесшие хирургическое вмешательство, составляют группу риска в развитии и рецидивировании эндометриоза, полностью соответствуют полученным литературным данным (Prescott J. et al., 2016, Khoufache K. et al., 2012).

Оценка инфекционного статуса пациенток показала, что частота встречаемости инфекций, передающихся половым путем, в анамнезе у женщин с эндометриозом, независимо от стадии заболевания, была достоверно выше, чем в контрольной группе (28,3% - основная группа, 32,6% - группа сравнения, 9,7% - контрольная группа, $p=0,000$ в обоих случаях). При этом у пациенток основной группы и группы сравнения достоверно чаще, чем в контрольной группе отмечалось наличие вирусного инфицирования (14,0% - основная группа, 24,4% - группа сравнения, 3,9% - контрольная группа, $p=0,01$ и $p=0,000$, соответственно). Только у пациенток с I-II стадиями эндометриоза нами было выявлено статистически значимое увеличение частоты встречаемости бактериального инфицирования по сравнению с контрольной группой (17,7% и 5,8%, $p=0,006$) и сочетание бактериально-вирусной инфекции (4,9% и 0%, $p=0,05$). Полученные нами результаты еще раз свидетельствуют о наличии хронического воспалительного процесса на локальном уровне при эндометриозе.

Проведение ROC анализа клиничко-анамнестических данных позволило нам выявить факторы риска развития «малых» форм эндометриоза: несвоевременное становление менструаций (ОР 1,34, ДИ 95% 1,17-1,53); аллергические реакции в анамнезе (ОР 1,35, ДИ 95% 1,2-1,5), воспалительные заболевания органов малого таза (ОР 1,33, ДИ 95% 1,19-1,49), оперативные вмешательства на органах брюшной полости (ОР 1,31, ДИ 95% 1,16-1,48), перенесенные ранее операции по удалению эндометриоидных гетеротопий (ОР 1,44, ДИ 95% 1,34-1,54) и наличием бактериально-вирусной инфекции (ОР 1,31, ДИ 95% 1,17-1,47). Факторами риска развития распространенных форм эндометриоза и бесплодия по нашим данным являются несвоевременное становление менструаций (ОР 1,97, ДИ 95% 1,39-2,78), аллергические реакции (ОР 1,74, ДИ 95% 1,26-2,39), оперативные вмешательства на органах брюшной полости (ОР 1,9, ДИ 95% 1,43-2,58), перенесенные ранее операции по удалению эндометриоидных гетеротопий и эндометриоидных кист в анамнезе (ОР 2,56, ДИ 95% 2,121-3,091), наличие маркеров вирусной инфекции (ОР 2,11, ДИ 95% 1,64-2,73).

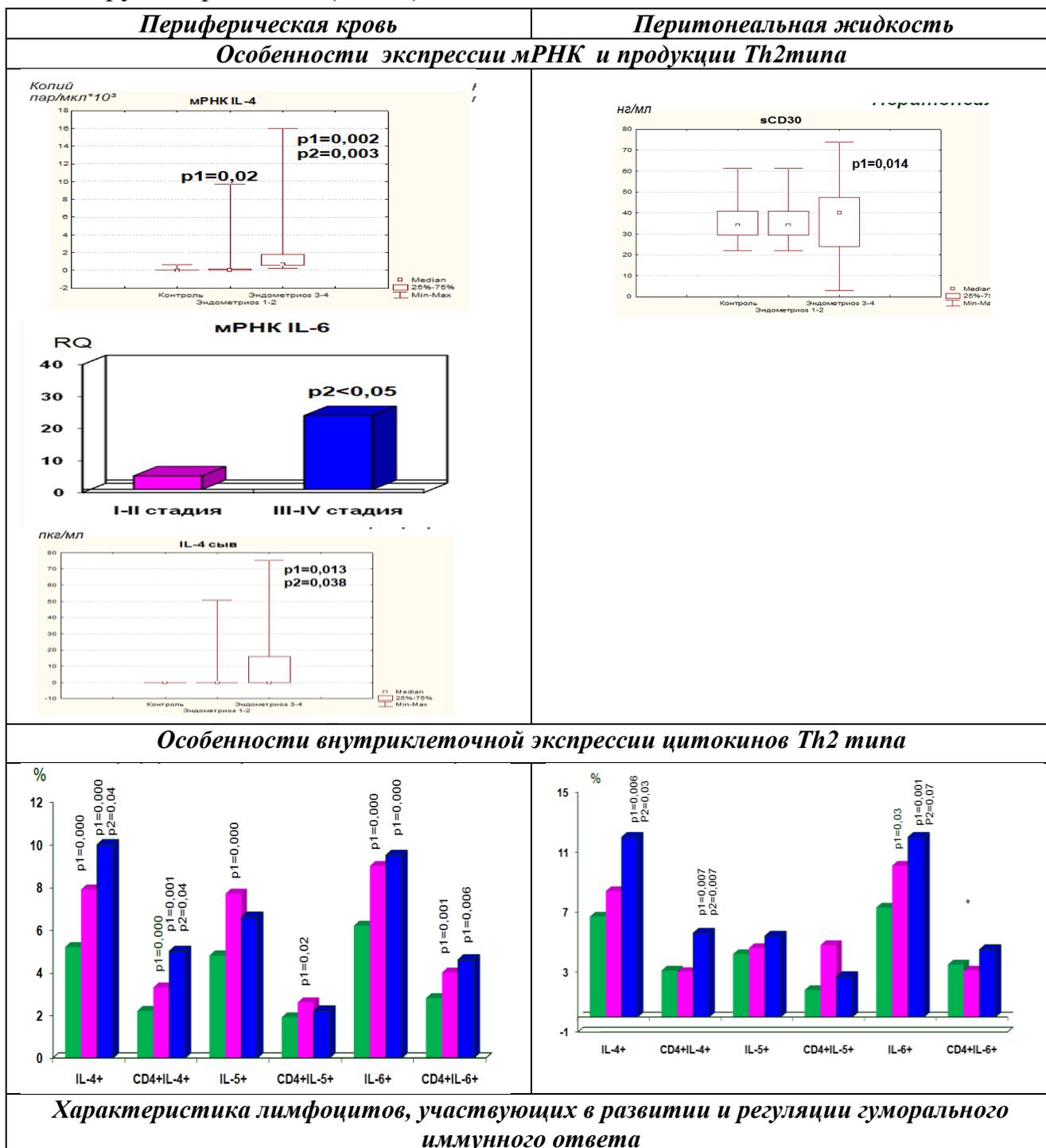
Среди жалоб, предъявляемых женщинами при сборе анамнеза, у пациенток с эндометриозом, независимо от стадии данного заболевания достоверно чаще, чем в контрольной группе имели место аномальные маточные кровотечения в виде полименореи (28,4%, 51,2% против 1,0%, $p = 0,000$ в обоих случаях), болезненные менструации (55,7%, 81,5% против 16,5%, $p=0,000$ в обоих случаях), боли при половом контакте (12,5%, 47,7% против 0%, $p=0,000$ в обоих случаях). При этом альгодисменорея, диспареуния чаще отмечалась у женщин с III-IV стадиями эндометриоза по сравнению с I-II стадиями данного заболевания ($p=0,000$).

При гистологическом исследовании эндометрия в обеих группах пациенток с эндометриозом отмечалось повышение частоты встречаемости простой гиперплазии эндометрия без атипии ($p=0,000$ в обоих случаях), при этом частота встречаемости гиперпластического процесса эндометрия у женщин с III-IV стадиями эндометриоза была достоверно выше, чем при I-II стадиях (68,6% и 16,3% соответственно, $p=0,000$). Частота выявления хронического эндометрита в основной группе и группе сравнения была повышена по сравнению с контрольной группой (7,9% и 10,5% против 0%, $p=0,01$, $p=0,002$).

Для более полного понимания механизмов, определяющих развитие бесплодия у женщин с эндометриозом, особый интерес представляет уточнение роли иммунных нарушений в патогенезе данного заболевания, поскольку именно иммунная система обеспечивает поддержание тканевого гомеостаза и должна реагировать на гетеротопически перемещенную эндометриальную ткань. Изучение особенностей регуляции и активации реакций гуморального и врожденного иммунитета у пациенток с эндометриозом и бесплодием позволило нам выявить нарушения, связанные как с развитием эндометриоза, так и с отсутствием фертильности.

Оценка продукции цитокинов Th2 типа, участвующих в активации В-лимфоцитов и продукции антител, показала, что у всех пациенток с эндометриозом вне зависимости от его стадии, отмечалось усиление экспрессии мРНК IL-4 периферическими лимфоцитами, повышение внутриклеточной экспрессии IL-4 и IL-6 периферическими лимфоцитами и Т-хелперами, увеличение уровня IL-6+ перитонеальных лимфоцитов, содержания периферических и перитонеальных В-1 лимфоцитов и $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой (Рис.1.). Для пациенток с эндометриозом III-IV стадий характерно увеличение сывороточного содержания IL-4 и концентрации в перитонеальной жидкости sCD30 по сравнению с контрольной группой, а также усиление экспрессии мРНК IL-4 и IL-6 периферическими лимфоцитами, повышение количества IL-4+ и CD4+IL-4+ лимфоцитов в крови

и перитонеальной жидкости и сывороточного уровня IL-4 по сравнению с показателями пациенток с «малыми» формами эндометриоза. Только у пациенток основной группы количество IL-5+ и CD4+IL-5+ периферических лимфоцитов выше, а содержание HLA-DR+ лимфоцитов в крови и в перитонеальной жидкости - ниже показателей здоровых женщин. Уровень периферических CD20+ В-лимфоцитов у женщин основной группы был выше, чем в группе сравнения (Рис.1.).



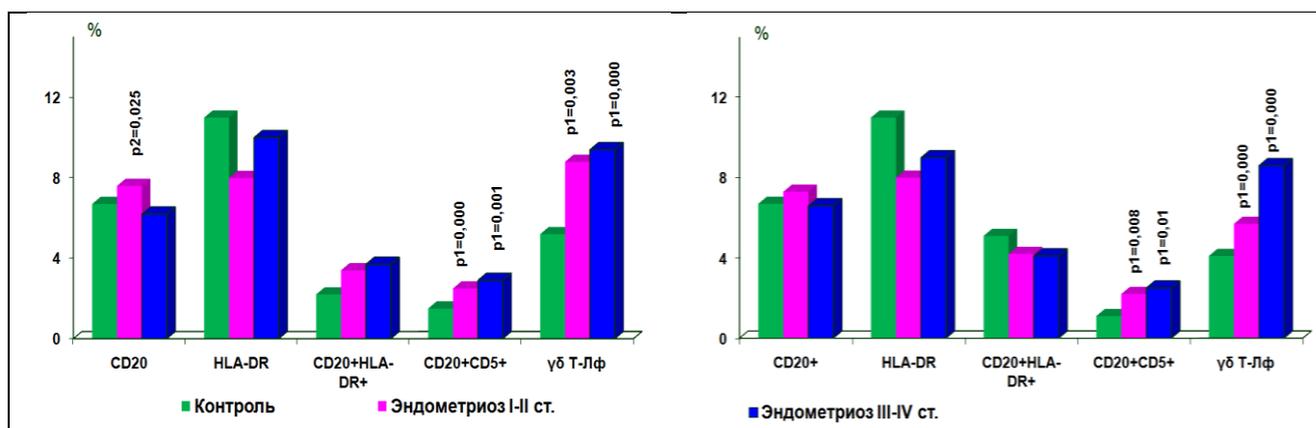


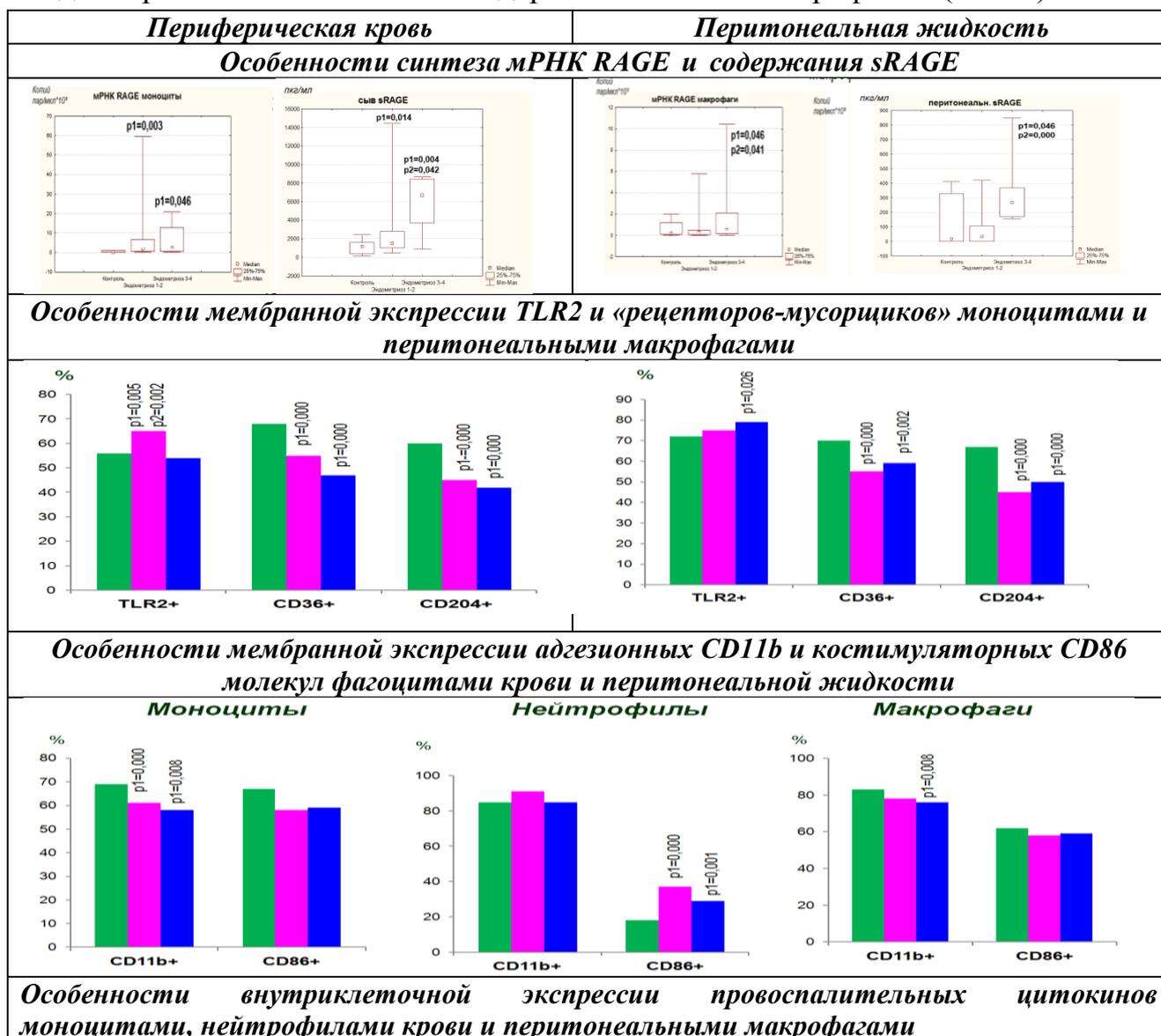
Рис. 1. Характеристика синтеза и продукции цитокинов Th2 типа при эндометриозе (Примечание: p_1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p_2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения)

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют об активации реакций гуморального звена иммунитета на системном и локальном уровне при эндометриозе, следствием чего может явиться усиление выработки аутоантител. При этом IL-4, синтез и продукция которого коррелируют со стадией эндометриоза, по-видимому, играет важную роль в механизмах развития эндометриодных гетеротопий. Ранее было показано, что этот цитокин может индуцировать пролиферацию эндометриодных клеток (Aznaurova Y. B. et al., 2014, Malutan A. M. et al., 2016) и оказывает стимулирующее действие на рост очагов экспериментального эндометриоза (Quattrone F. et al., 2015). Только в группе женщин с "малыми" формами эндометриоза была повышена внутриклеточная экспрессия IL-5, что может быть связано с развитием бесплодия у этих пациенток, так как IL-5 непосредственно участвует в усилении процессов выработки антител, в том числе и аутоантител за счет активации B1 лимфоцитов (Aihara N., 2015, Yanagibashi T. et al., 2017).

Для уточнения роли клеток врожденного иммунитета в патогенезе эндометриоза и связанного с ним бесплодия мы провели сравнительную оценку синтеза ряда цитокинов, паттернраспознающих рецепторов (PPR) и адгезионных молекул моноцитами и нейтрофилами крови и перитонеальными макрофагами женщин с эндометриозом и бесплодием различной степени тяжести.

Нами было выявлено существенное повышение экспрессии мРНК RAGE и сывороточной концентрации RAGE моноцитами, увеличение относительное содержание IL-6⁺ и TNF α ⁺ моноцитов, CD86⁺ нейтрофилов, IL-1 β ⁺ и TNF α ⁺ перитонеальных макрофагов у всех пациенток с эндометриозом вне зависимости от степени тяжести эндометриоза по сравнению с показателями

здоровых фертильных женщин (Рис.2). При этом количество CD36+, CD204+, CD11b+ и IL-1β+ моноцитов, CD36+ и CD204+ макрофагов, CD204+ нейтрофилов у пациенток основной группы и группы сравнения были ниже, чем у женщин группы контроля. Только при распространенном эндометриозе увеличивалось количество TLR2+, CD11b+ и IL-6+ макрофагов по сравнению с показателями здоровых женщин, усиливалась экспрессия мРНК RAGE перитонеальными макрофагами и концентрация RAGE в перитонеальной жидкости по сравнению как с контрольной группой, так и с «малыми» формами эндометриоза и повышался уровень sTNFR2 в сыворотке крови по сравнению с «малыми» формами эндометриоза. Отличительной характеристикой пациенток с «малыми» формами эндометриоза и бесплодием является повышенный по сравнению с контролем уровень TLR2+ моноцитов и увеличенное по сравнению с показателями пациенток с распространенным эндометриозом относительное содержание CD86+ нейтрофилов (Рис.2.)



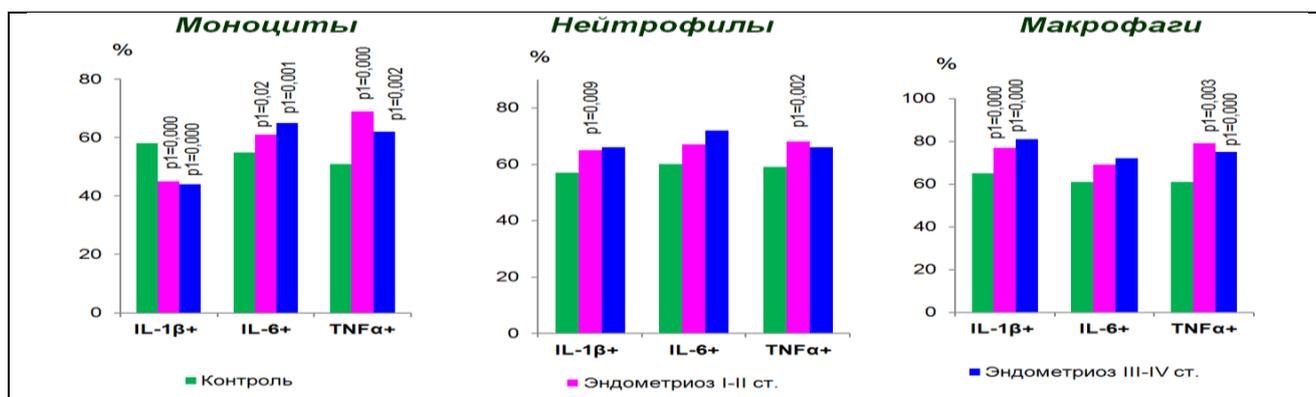


Рис.2. Характеристика активации клеток врожденного иммунитета при эндометриозе (Примечание: p_1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p_2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения)

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о выраженном дисбалансе функционального состояния фагоцитов крови и перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом. С одной стороны при эндометриозе усиленная продукция провоспалительных цитокинов фагоцитами крови и перитонеальной жидкости может вести к усилению и поддержанию воспалительных реакций, с другой стороны, низкий уровень экспрессии «рецепторов-мусорщиков» и адгезионных молекул позволяет говорить об угнетении способности клеток фагоцитарного ряда взаимодействовать с другими клетками и объектами фагоцитоза, что может приводить к нарушению элиминации неполноценных клеток и клеточного дебриса из перитонеальной полости, способствуя развитию эндометриоза.

Выявленные нами изменения позволяют нам говорить о наличии характерных иммунологических особенностей у пациенток с бесплодием и «малыми» формами эндометриоза, тщательная коррекция которых будет способствовать оптимизации тактики ведения пациенток с «малыми» формами эндометриоза и бесплодием и позволит повысить шансы на увеличение частоты наступления беременности.

Общепринято, что лечебно-диагностическая лапароскопия является «золотым стандартом» в лечении эндометриоза и бесплодия (Адамян Л.В., 2016). В нашем исследовании всем женщинам выполнена данная операция, а также мы оптимизировали тактику ведения раннего послеоперационного периода. 150 женщин с «малыми» формами эндометриоза и бесплодием в раннем послеоперационном периоде получали обезболивающую и антибактериальную терапию и составили I клиническую подгруппу. При ретроспективном анализе успеха восстановления фертильности после проведения лапароскопии при традиционном ведении раннего послеоперационного периода нами было выявлено, что спонтанная беременность наступила у 43 (28,7%) из 150 обследованных женщин в течение

первого года после проведения операции. Таким образом, эффективность хирургического лечения с традиционным ведением раннего послеоперационного периода женщин с бесплодием и «малыми» формами эндометриоза составила 28,7%. При этом по данным клинического обследования беременность наступала преимущественно у более молодых женщин в возрасте до 30 лет (69,8%) и с меньшей длительностью периода бесплодия 1-3 года (69,8%).

Хирургическое лечение бесплодия у женщин данной подгруппы с «малыми» формами эндометриоза приводило к нормализации через 2 месяца после лечения таких иммунологических показателей, как экспрессия мРНК IL-4 и IL-6 лимфоцитами и RAGE моноцитами, относительное содержание лимфоцитов с фенотипом IL-5+, HLA-DR+CD20+, $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов, а также CD204+, IL-1 β + и TNF α + нейтрофилов (Таблица 1). Следует отметить, что большинство изученных нами показателей гуморального и врожденного иммунитета после проведения лапароскопии не изменились.

Таблица 1.

Характеристика иммунологических показателей после хирургического лечения бесплодия у пациенток с эндометриозом I-II стадии.

Параметр, единицы измерения	Контрольная группа (n=33)	Эндометриоз I-II стадии, до лечения (n=59)	Эндометриоз I-II стадии, после лечения (n=32)
мРНК IL-4 лимфоциты, (нормализованное количество копий пар*1000)	0 [0; 0,11]	0,09 [0,008; 0,98] p1=0,0218	0,002 [0; 1,267] p1=0,249
мРНК IL-6 лимфоциты, RQ	-	3,90 \pm 2,70	0,75 \pm 0,75
мРНК RAGE моноциты, (нормализованное количество копий пар/мкл $\times 10^3$)	0,13[0,08;0,87]	1,72 [0,56; 3,15] p1=0,03	0,49 [0,13; 7,00] p1=0,417, p2=0,382
IL-5+ в общей популяции лимфоцитов, %	4,85 \pm 0,61	6,94 \pm 0,47 p1=0,010	5,76 \pm 0,58 p1=0,287, p2=0,126
CD20+HLA-DR+ лимфоциты,%	5,13 \pm 0,59	3,80 \pm 0,38 p1=0,068	5,60 \pm 0,99 p1=0,680
TCR $\gamma\delta$ + лимфоциты, %	4,07 \pm 0,38	5,94 \pm 0,56 p1=0,008	5,84 \pm 1,03 p1=0,130
CD204+(SR-A+) нейтрофилы, %	54,52 \pm 3,41	40,98 \pm 2,40 p1=0,002	44,32 \pm 3,41 p1=0,064
IL-1 β + нейтрофилы, %	57,98 \pm 2,58	65,98 \pm 1,73 p1=0,013	65,36 \pm 2,64 p1=0,052
TNF α + нейтрофилы, %	59,58 \pm 2,32	67,50 \pm 1,66 p1=0,008	65,18 \pm 2,65 p1=0,123

Примечание: p1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой.

p2 – дано по сравнению с эндометриозом I-II стадии до лечения

Дифференцированный анализ данных иммунологического обследования в зависимости от последующего наступления беременности у пациенток основной группы с традиционным ведением раннего послеоперационного периода выявил, что динамика ряда иммунологических показателей ассоциировалась с успешным исходом лечения бесплодия. К этим показателям относятся CD20+CD5+ лимфоциты, IL-1 β + моноциты и CD86+ нейтрофилы.

Ретроспективная оценка данных иммунологического обследования 125 женщин в зависимости от спонтанного восстановления у них репродуктивной функции в течение года после проведения лечебно-диагностической лапароскопии показала, что в тех случаях, когда у пациенток до проведения лапароскопии относительное содержание CD20+CD5+ лимфоцитов было равно или менее 2,3%, CD86+ нейтрофилов – равно или менее 31% и IL-1 β + моноцитов – равно или более 50%, отмечалось спонтанное наступление беременности в течение года после проведения лапароскопии. При отклонениях от указанных значений хотя бы одного показателя прогнозируется отсутствие эффекта хирургического лечения эндометриоза и бесплодия. Точность прогнозирования успеха хирургического лечения бесплодия по одновременному определению содержания CD20+CD5+ лимфоцитов, CD86+ нейтрофилов и IL-1 β + моноцитов у пациенток с эндометриозом I-II стадий составляет 79,2%. На основании этих данных нами был разработан «Способ прогнозирования эффективности хирургического лечения бесплодия у женщин с I-II стадией наружного генитального эндометриоза» (Патент №2557923 от 30.06.2015) и «Способ прогнозирования наступления беременности у женщин с эндометриозом I-II стадии после хирургического лечения» (Патент № 2613313 от 15.03.2017).

Однако индивидуальный анализ данных показал, что около 70% пациенток нуждаются в проведении дополнительных лечебно-диагностических мероприятий с целью повышения эффективности хирургического лечения бесплодия при "малых" формах эндометриоза.

Учитывая полученные нами результаты мы предположили, что направленная иммунная коррекция окажет благоприятное влияние на состояние репродуктивной функции пациенток и позволит повысить эффективность лечения бесплодия у женщин с «малыми» формами эндометриоза. Именно этот контингент пациенток нуждается в особом подходе к ведению послеоперационного периода, поскольку применение гормональной терапии этим женщинам не показано. Опираясь на полученные нами данные, мы выбрали два препарата для иммунной коррекции: Пентоксифиллин, который оказывает положительное влияние на состояние

гуморального звена иммунитета и ГМДП (глюкозаминилмурамилдипептид) – корректирует функцию фагоцитов.

Как известно, Пентоксифиллин, ингибитор фосфодиэстеразы, является средством для улучшения реологических свойств крови с выраженным противовоспалительным действием. Пентоксифиллин включен в стандарт оказания высокотехнологичной медицинской помощи женщинам с распространенным эндометриозом как препарат, улучшающий микроциркуляцию и реологические свойства крови в раннем послеоперационном периоде после проведения органосохраняющих операций (утвержден Приказом МЗ и СР РФ №257 от 07.04.2006).

В нашем исследовании мы провели изучение иммуномодулирующего влияния Пентоксифиллина на клетки гуморального звена иммунитета как *in vitro*, так и *in vivo*. При действии *in vitro* Пентоксифиллин вызывал снижение уровня продукции лимфоцитами цитокинов Th2 типа: достоверно угнетал внутриклеточную экспрессию IL-4, IL-5 и IL-6 в общей популяции лимфоцитов ($p=0,003$, $p=0,014$, $p=0,02$, соответственно). Кроме того, культивирование периферических лимфоцитов в присутствии Пентоксифиллина приводило к снижению количества Т-хелперов 2 типа с фенотипом CD4+IL-4+ и CD4+IL-6+ ($p=0,000$, $p=0,006$, соответственно). Это позволило нам предположить, что при использовании данного препарата *in vivo* у пациенток с "малыми" формами эндометриоза и бесплодием будет наблюдаться нормализация изначально нарушенной продукции цитокинов 2 типа.

Для этого была сформирована II клиническая подгруппа, в которой наряду с традиционной терапией дополнительно назначался Пентоксифиллин. Пентоксифиллин применялся внутривенно капельно по 100 мг в сутки в первые 5 дней после лапароскопии в дополнение к традиционному лечению у 75 женщин (II клиническая подгруппа). Наступление беременности отмечено у 25 (33,3%) из 75 пациенток. Таким образом, эффективность лечения бесплодия у пациенток этой группы составила 33,3% и не имела достоверных отличий по сравнению с группой традиционного лечения (28,7%) ($p>0,05$). Наступление беременности мы чаще отмечали у молодых пациенток, моложе 30 лет – в 72% случаев.

Изучение динамики иммунологических показателей у пациенток, получавших Пентоксифиллин, выявило достоверное снижение уровня экспрессии мРНК IL-4, IL-6, угнетение внутриклеточной экспрессии IL-4, IL-5 и IL-6 лимфоцитами при уменьшении количества CD4+IL-6+ Т-хелперов и $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов через 2 месяца после лечения (Таблица 2.).

Таблица 2.

Влияние терапии с применением Пентоксифиллина на показатели гуморального звена иммунитета у пациенток с «малыми» формами эндометриоза и бесплодием.

Параметр, единицы измерения	Контрольная группа (n=33)	Эндометриоз I-II стадии, до лечения (n=44)	Эндометриоз I-II стадии, после лечения (n=33)
мРНК IL-4 лимфоциты, (нормализованное количество копий пар*1000)	0 [0; 0,11]	0,011 [0,007; 0,18] p1=0,034	0,0 [0; 0,10] p2=0,045
мРНК IL-6 лимфоциты (RQ)	-	9,23±5,16	0,33±0,30
IL-4+ в общей популяции лимфоцитов, %	5,20±0,30	7,96±0,54 p1=0,000	5,38±0,41 p2=0,000
IL-5+ в общей популяции лимфоцитов, %	4,85±0,61	8,24±0,59 p1=0,0002	6,44±0,55 p2=0,031
IL-6+ в общей популяции лимфоцитов, %	6,12±0,44	9,48±0,49 p1=0,000	5,99±0,47 p2=0,000
CD4+IL-6+, %	2,84±0,23	3,95±0,22 p1=0,001	2,76±0,28 p2=0,001
TCRγδ+ лимфоциты, %	4,07±0,38	5,48±0,56 p1=0,045	3,19±0,31 p2=0,001

Примечание: p1 – дано по сравнению с контрольной группой; p2 – дано по сравнению с эндометриозом I-II стадии до лечения

Таким образом, полученные данные позволяют говорить о снижении напряженности реакций гуморального звена иммунитета у пациенток основной группы после терапии Пентоксифиллином. Мы предположили, что Пентоксифиллин будет оказывать положительное влияние на подгруппу женщин с изначально высокими значениями CD20+CD5+ или B-1 лимфоцитов, у которых предположительно может быть усилена выработка аутоантител. Проведенный анализ выявил связь иммунологических показателей женщин с изначально высоким содержанием B-1 клеток, получавших Пентоксифиллин в раннем послеоперационном периоде, с успехом восстановления репродуктивной функции у них после лечения. Показано, что в данной подгруппе беременность преимущественно наступала в тех случаях, когда у пациенток изначально отмечался высокий уровень CD4+IL-5+ лимфоцитов (2,9% и более) и CD4+IL-6+ лимфоцитов (3,5% и более), а через два месяца после комплексного лечения отмечался низкий уровень экспрессии мРНК IL-5 (0,2 норм. копий пар нуклеотидов*1000 и менее) и снижалось относительное содержание IL-5+ лимфоцитов более чем на 52%. Таким образом, по данным показателям можно прогнозировать эффективность лечения Пентоксифиллином бесплодия у женщин с «малыми» формами эндометриоза. Точность прогноза составляет 91%.

Для коррекции выявленных нами нарушений активности врожденного звена иммунитета мы выбрали препарат с доказанным активирующим воздействием на фагоциты, а именно - глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП), действующее вещество препарата Ликопид. Известно, что ГМДП относится к классу мурамилдипептидов (МДП) и является минимальным распознаваемым структурным компонентом пептидогликана бактериальной стенки (Shikama Y. et al., 2011), стимулируя фагоциты через NOD2 рецепторы (Takada, H., 2006).

Учитывая выраженные нарушения в мембранной экспрессии TLR и «рецепторов-мусорщиков» фагоцитами крови и перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и бесплодием, мы проанализировали действие ГМДП *in vitro* на данные параметры, чтобы оценить целесообразность использования ГМДП в лечении пациенток с эндометриозом и бесплодием. Было установлено, что ГМДП *in vitro* стимулировал сниженную экспрессию TLR2+, CD36, CD204+, TNF α + моноцитов и TNF α + и IL-1 β + макрофагов, что позволило предположить возможность позитивного влияния ГМДП на показатели врожденного иммунитета у пациенток с эндометриозом при применении его *in vivo*.

Мы использовали препарат ГМДП (Ликопид) по 10 мг 1 раз в сутки в течение 10 дней, в курсовой дозе 100 мг у 39 пациенток (III клиническая подгруппа) с первых суток послеоперационного периода наряду с обезболивающей и антибактериальной терапией. Наступление беременности в течение первого года после лечения было отмечено у 16 пациентов из обследованных 39. Таким образом, эффективность ГМДП при лечении бесплодия у пациенток с «малыми» формами эндометриоза составила 41%, что хотя и превышает эффективность хирургического лечения (28,7%), но данное отличие не является статистически достоверными. Данные клинического анализа показали, что беременность наступала чаще у женщин со вторичным бесплодием, которые имели более высокий показатель среднего количества своевременных родов в анамнезе ($p=0,030$).

Изучение динамики иммунологических показателей у пациенток основной группы до и после лечения ГМДП выявило, что иммуномодулятор нормализовал сниженную экспрессию «рецепторов-мусорщиков» CD36 и CD204 моноцитами, усиливал экспрессию TLR2 молекул моноцитами и нейтрофилами и CD204 нейтрофилами и повышал изначально сниженную внутриклеточную экспрессию IL-1 β моноцитами (Таблица 3).

Таблица 3.

Влияние терапии с применением Ликопида на показатели гуморального звена иммунитета у пациенток с «малыми» формами эндометриоза и бесплодием.

Параметр, %	Контрольная группа (n=36)	Эндометриоз I-II стадии, до лечения (n=39)	Эндометриоз I-II стадии, после лечения (n=25)
CD36+ моноциты,	68,83±2,15	61,35±2,88 p1=0,045	71,10±3,24 p1=0,715, p2=0,001
CD204+моноциты	60,65±1,68	49,60±1,69 p1=0,000	56,73±2,31 p1=0,180, p2=0,016
TLR2+ моноциты	57,99±2,00	64,38±2,35 p1=0,037	75,56±1,92 p1=0,000, p2=0,001
IL-1β+ моноциты	59,16±1,99	42,53±1,45 p1=0,000	58,75±1,51 p1=0,872, p2=0,000
TLR2 нейтрофилы	78,7 [71,9; 82,7]	77,2 [66,5; 81,4] p1=0,381	83,2 [77,4; 85,6] p1=0,710, p2=0,005
CD204+ нейтрофилы	54,52±3,41	51,51±3,43 p1=0,679	60,17±1,83 p1=0,950, p2=0,036

Примечание: p1–дано по сравнению с контрольной группой, p2 – дано по сравнению с эндометриозом I-II стадии до лечения

Мы провели ретроспективный анализ иммунологических показателей в зависимости от успеха наступления беременности после комплексного лечения с использованием иммуномодулятора ГМДП (Ликопид) и установили, что беременность наступала у женщин с изначально более низкими значениями TLR2+ моноцитов (59,37±2,63% - беременность наступила и 68,38±3,48 - беременность не наступила, p=0,047), CD36+ нейтрофилов (54,67±4,40% - беременность наступила и 70,71±4,15- беременность не наступила, p=0,017) и с более высоким содержанием IL-1β+ моноцитов, чем у женщин с отсутствием беременности (45,49±1,92- беременность наступила и 39,66±1,90 - беременность не наступила, p=0,016). Для подгруппы с наступившей после лечения беременностью было также характерно повышение после лечения уровня экспрессии мРНК NOD-2 (с 0,09[0,0; 0,64] нормализованных копий пар/мкл x10³ до 1,98 [0,61; 2,24] нормализованных копий пар/мкл x10³, p=0,009), нормализация изначально сниженного содержания CD36+ моноцитов (с 57,53±3,77% до лечения и 68,89±4,77% после лечения, p=0,078) и повышение содержания CD120a+ нейтрофилов (38,14±2,87% до лечения и 47,07±3,38% после лечения, p=0,056).

Поскольку проведенные нами исследования продемонстрировали положительное влияние препарата ГМДП как *in vitro*, так и *in vivo* на функциональное состояние фагоцитов крови, проявляющееся, в том числе, и повышением внутриклеточной экспрессии IL-1β моноцитами, мы предположили, что применение ГМДП в послеоперационном периоде у контингента пациенток, имеющих низкие показатели относительного

содержания IL-1 β + моноцитов (менее 50%), окажет положительное влияние как на состояние фагоцитарных клеток, так и на репродуктивную функцию пациенток. Но эффективность лечения бесплодия с применением ГМДП в данной подгруппе составила 34,5%, что лишь незначительно превышает эффективность хирургического лечения бесплодия. Таким образом, возникла необходимость поиска дополнительных критериев назначения иммуномодулятора, которые бы позволили повысить эффективность иммуномодулирующей терапии при лечении бесплодия. Проведенный ROC анализ показал высокую прогностическую значимость таких показателей, как относительное содержание TLR2+ моноцитов и CD36+ нейтрофилов до лечения и уровень экспрессии мРНК NOD2 моноцитами и содержание CD120a+ нейтрофилов через 2 месяца после курса лечения. Нами было установлено, что если у пациенток до начала лечения показатели TLR2+ моноцитов составляют 66% и менее, а CD36+ нейтрофилов - 69,4% и менее, а после лечения уровня экспрессии мРНК NOD2 моноцитами равен или превышает 1,2 норм.копий пар*1000 и относительное содержание CD120a+ нейтрофилов равно или более 42,6%, то беременность после применения иммуномодулятора ГМДП в раннем послеоперационном периоде наступает в 86% случаев.

Таким образом, для достижения высокой эффективности лечения бесплодия у женщин с «малыми» формами эндометриоза необходим индивидуальный подход к ведению раннего послеоперационного периода.

Назначение иммуномодуляторов (Пентоксифиллина, Ликопида) должно проводиться с учетом изначального уровня активированных В-лимфоцитов, IL-1 β моноцитов, CD86+ нейтрофилов и с определением степени выраженности ответа пациентки на терапию препаратом. Только в случаях достижения максимального иммуномодулирующего влияния Пентоксифиллина, Ликопида можно ожидать наступления беременности после лечения.

На основании полученных результатов нами был разработан алгоритм обследования и определения тактики послеоперационного ведения пациенток с эндометриозом I-II стадий и бесплодием (Схема 1). Использование данного алгоритма позволяет определить шанс спонтанного наступления беременности после хирургического лечения, оценить необходимость назначения специфической иммуномодулирующей терапии в раннем послеоперационном периоде, либо ориентировать пациентку на проведение ЭКО в тех случаях, когда использование иммуномодуляторов будет, согласно прогнозу, не эффективно. Применение данного алгоритма позволит повысить эффективность лечения бесплодия у пациенток с «малыми» формами эндометриоза в ряде случаев до 80-85%.

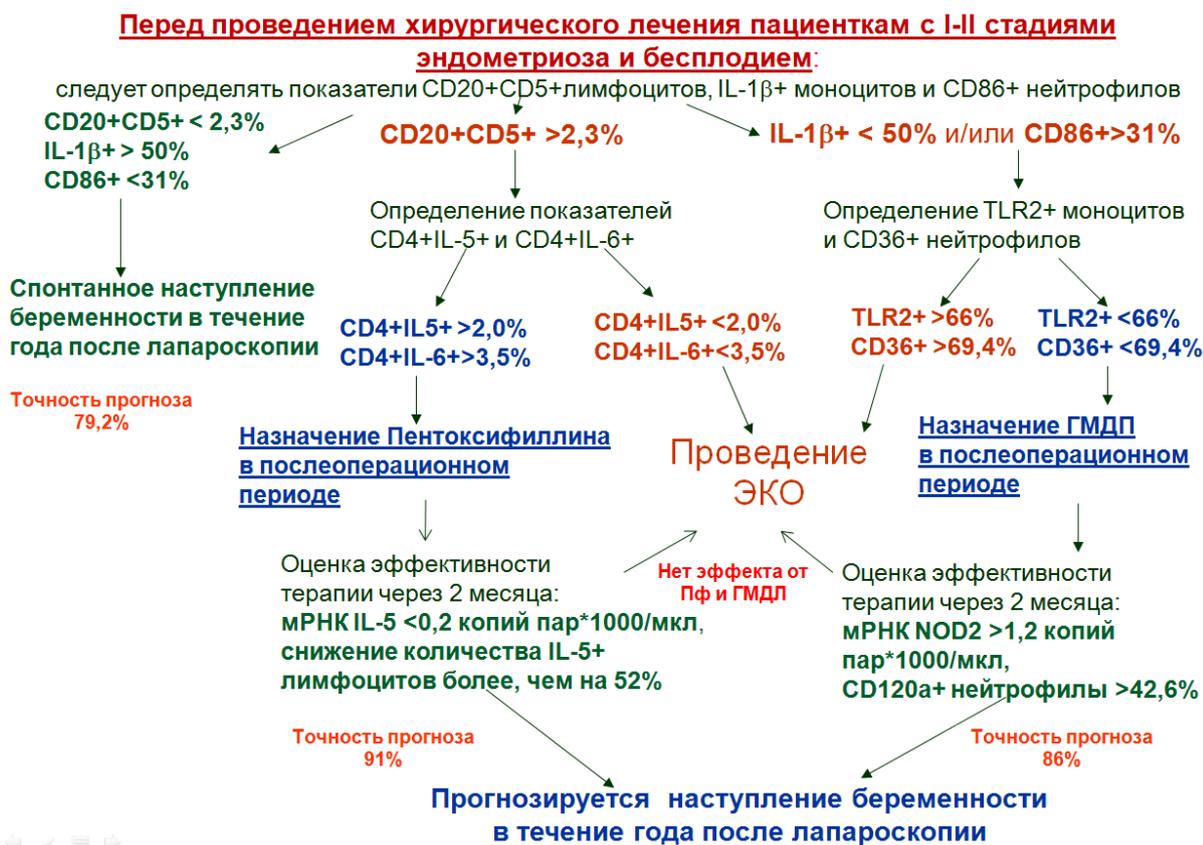


Схема 1. Алгоритм обследования и определения тактики ведения раннего послеоперационного периода у пациенток с бесплодием при I-II стадиях генитального эндометриоза

ВЫВОДЫ

- Для всех пациенток с эндометриозом вне зависимости от степени его тяжести характерна повышенная по сравнению с фертильными здоровыми женщинами частота несвоевременного становления менструаций (раннее и позднее менархе), нарушений менструальной функции в виде аномальных маточных кровотечений (полименореи), альгодисменореи и диспареунии, аллергических реакций и ранее перенесенных оперативных вмешательств на органах брюшной полости (грыжесечение и аппендэктомия), рецидива эндометриоза, железисто-кистозной гиперплазии эндометрия и хронического эндометрита по результатам морфологического исследования. Отличительными клиническими признаками женщин с эндометриозом I–II стадий от группы контроля являются: более высокая частота ранее перенесенных хронических воспалительных процессов органов малого таза, заболеваний желудочно-кишечного тракта, гиперпролактинемии, встречаемости маркеров острого вирусного инфицирования на момент обследования. У пациенток с эндометриозом I–II стадий в отличие от

женщин с III–IV стадиями эндометриоза реже встречается первичное бесплодие, полименорея, выраженный болевой синдром в виде альгодисменореи, диспареунии и дисхезии, оперативные вмешательства по поводу кист яичников, эндометриоза и неинвазивных заболеваний шейки матки в анамнезе, гиперплазии эндометрия.

2. К факторам риска, способствующим развитию эндометриоза и бесплодия, вне зависимости от степени его тяжести, относятся: несвоевременное становление менструаций (OR 1,34 при эндометриозе I–II стадий, OR 1,97 при эндометриозе III–IV стадий), аллергические реакции (OR 1,34 при эндометриозе I–II стадий, OR 1,74 при эндометриозе III–IV стадий), эндометриоз в анамнезе, подтвержденный лапароскопически (OR 1,44 при эндометриозе I–II стадий, OR 2,56 при эндометриозе III–IV стадий), наличие инфекций, передающихся половым путем (OR 1,31 при эндометриозе I–II стадий, OR 1,91 при эндометриозе III–IV стадий). Наличие воспалительных заболеваний органов малого таза повышает риск развития эндометриоза I–II стадий (OR 1,33), а оперативные вмешательства на яичниках – эндометриоза III–IV стадий (OR 2,03)
3. У всех пациенток с эндометриозом вне зависимости от степени тяжести заболевания отмечается повышение по сравнению с контрольной группой экспрессии мРНК IL-4 периферическими лимфоцитами, усиление внутриклеточной экспрессии IL-4 и IL-6 периферическими лимфоцитами и Т-хелперами, повышение уровня IL-6+ перитонеальных лимфоцитов, содержания периферических и перитонеальных В-1 лимфоцитов и $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов. Для пациенток с эндометриозом III–IV стадий характерно увеличение сывороточного содержания IL-4 и концентрации в перитонеальной жидкости sCD30 по сравнению с контрольной группой, а также усиление экспрессии мРНК IL-4 и IL-6 периферическими лимфоцитами, повышение количества IL-4+ и CD4+IL-4+ лимфоцитов в крови и перитонеальной жидкости и сывороточного уровня IL-4 по сравнению с показателями пациенток с «малыми» формами эндометриоза. Только у пациенток с эндометриозом I–II стадий количество IL-5+ и CD4+IL-5+ периферических лимфоцитов выше, а содержание HLA-DR+ лимфоцитов в крови и в перитонеальной жидкости – ниже показателей здоровых женщин. Уровень периферических CD20+ В-лимфоцитов в основной группе был выше, чем в группе сравнения.
4. При эндометриозе вне зависимости от степени его тяжести усилена экспрессия мРНК RAGE моноцитами, повышен сывороточный уровень RAGE, снижено количество CD36+, CD204+, CD11b+ и IL-1 β +

моноцитов, CD36⁺ и CD204⁺ макрофагов, CD204⁺ нейтрофилов и увеличено относительное содержание IL-6⁺ и TNF α ⁺ моноцитов, CD86⁺ нейтрофилов, IL-1 β ⁺ и TNF α ⁺ перитонеальных макрофагов по сравнению с показателями здоровых женщин. Только при распространенном эндометриозе увеличивается количество TLR2⁺, CD11b⁺ и IL-6⁺ макрофагов по сравнению с показателями здоровых женщин, усиливается экспрессия мРНК RAGE перитонеальными макрофагами и концентрация RAGE в перитонеальной жидкости по сравнению как с контрольной группой, так и с группой пациенток с «малыми» формами эндометриоза и повышается уровень sTNFR2 в сыворотке крови по сравнению с таковым в группе с «малыми» формами эндометриоза. Отличительной характеристикой пациенток с «малыми» формами эндометриоза и бесплодием является повышенный по сравнению с контролем уровень TLR2⁺ моноцитов и увеличенное по сравнению с показателями пациенток с распространенным эндометриозом относительное содержание CD86⁺ нейтрофилов.

5. После проведения лечебно-диагностической лапароскопии и традиционной послеоперационной терапии у пациенток основной группы через два месяца отмечается нормализация показателей синтеза и внутриклеточной продукции ряда цитокинов Th2 лимфоцитами крови, экспрессии мРНК RAGE моноцитами и CD86 молекул нейтрофилами. В то же время традиционное лечение не оказывает влияния на уровень B-1 лимфоцитов, экспрессию TLR2, CD36, CD204, CD11b, IL-1 β и TNF α моноцитами, а также сывороточную концентрацию RAGE. Спонтанное наступление беременности у пациенток основной группы с традиционным ведением раннего послеоперационного периода отмечено в 28,7% случаев, преимущественно у пациенток с меньшей длительностью периода бесплодия (1–3 года) и при минимальных изменениях показателей врожденного и гуморального иммунного ответа. С наступлением беременности после проведения лапароскопии у пациенток с «малыми» формами эндометриоза ассоциируются низкие значения уровня периферических CD20⁺CD5⁺ лимфоцитов (2,3% и менее), CD86⁺ нейтрофилов (31% и менее) и высокие показатели относительного содержания IL-1 β ⁺ моноцитов (50% и более).
6. Пентоксифиллин при воздействии *in vitro* на лимфоциты здоровых женщин снижает экспрессию мРНК IL-4 и угнетает внутриклеточную экспрессию IL-4 и IL-6 в популяции лимфоцитов и IL-4 – в популяции Т-хелперов крови. У пациенток с эндометриозом Пентоксифиллин не влияет на экспрессию мРНК цитокинов Th2-типа, но вызывает снижение

- внутриклеточной экспрессии IL-4 в популяции Т-хелперов и IL-6 – в общей популяции лимфоцитов крови и перитонеальной жидкости, а также угнетает внутриклеточную экспрессию IL-4 и IL-5 в общей популяции лимфоцитов и IL-6 – в популяции Т-хелперов периферической крови.
7. Использование Пентоксифиллина в комплексном лечении раннего послеоперационного периода приводит к нормализации синтеза IL-4, внутриклеточной экспрессии IL-4 и IL-5 в общей популяции лимфоцитов и IL-6 – в популяции лимфоцитов и Т-хелперов, а также содержания $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов и к наступлению беременности у 33,3% женщин основной группы, преимущественно с низким уровнем активированных CD20+HLA-DR+ В-лимфоцитов до лечения, и при снижении у пациенток синтеза и внутриклеточной экспрессии IL-5 периферическими лимфоцитами и Т-хелперами через два месяца после лечения.
 8. ГМДП при воздействии *in vitro* оказывает стимулирующее дозозависимое действие на мембранную экспрессию функциональных молекул и внутриклеточную продукцию провоспалительных цитокинов моноцитами и перитонеальными макрофагами у пациенток с эндометриозом. При воздействии ГМДП в концентрации 1 мкг/мл в максимальной степени увеличивается содержание CD11b+ и CD120a+ моноцитов, CD36+ и CD11b+ макрофагов; в концентрации 5 мкг/мл – IL-1 β + моноцитов, TLR2+, CD204+ и CD120a+ макрофагов; в концентрации 10 мкг/мл – TLR2+, CD36, CD204+, TNF α + моноцитов и TNF α + и IL-1 β + макрофагов.
 9. Терапия ГМДП в комплексном лечении раннего послеоперационного периода приводит к усилению экспрессии «рецепторов-мусорщиков» CD36 и CD204 моноцитами, повышению содержания IL-1 β + моноцитов у пациенток с «малыми» формами эндометриоза и бесплодием. Применение ГМДП приводит к наступлению беременности у 41% женщин основной группы, у которых чаще отмечалось вторичное бесплодие и большее количество своевременных родов в анамнезе, что сочеталось с изначально низкими значениями TLR2+ моноцитов, CD36+ и CD204+ нейтрофилов, а также повышением экспрессии мРНК NOD2 через два месяца после лечения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациенткам с подозрением на эндометриоз I–II стадии как причину бесплодия до проведения лапароскопии в амбулаторных условиях рекомендуется определять в крови относительное содержание CD20+CD5+ лимфоцитов, IL-1 β + моноцитов и CD86+ нейтрофилов. В

- случаях, когда у пациентки уровень CD20+CD5+ лимфоцитов составляет 2,3% и менее, CD86+ нейтрофилов – 31% и менее, а IL-1 β + моноцитов – 50% и более, прогнозируется спонтанное наступление беременности в течение года после лапароскопии. При неблагоприятном прогнозе исхода хирургического лечения рекомендуется проведение дополнительного иммунологического обследования.
2. Если у пациентки выявлено повышенное содержание CD20+CD5+ лимфоцитов, в периферической крови, забранной в день поступления в стационар, необходимо определить относительное содержание IL-5+, CD4+IL-5+ и CD4+IL-6+ лимфоцитов, и при уровне CD4+IL-5+ лимфоцитов 2,9% и более, а CD4+IL-6+ лимфоцитов – 3,5% и более пациентке рекомендуется назначить в первые пять дней после лапароскопии препарат Пентоксифиллин внутривенно капельно по 100 мг в сутки. Через два месяца после лечения пациентке рекомендуется повторное иммунологическое обследование с определением уровня экспрессии мРНК IL-5 и индекса изменения относительного содержания IL-5+ лимфоцитов и при значениях показателя экспрессии мРНК IL-5 0,2 норм копий-пар нуклеотидов \times 1000 и менее и при снижении относительного содержания IL-5+ лимфоцитов более чем на 52% прогнозируется успешное наступление беременности в течение года.
 3. Если у пациентки изначально относительное содержание IL-1 β + моноцитов составляет менее 50% и/или CD86+ нейтрофилов – более 31%, в периферической крови, забранной в день поступления пациентки в стационар, рекомендуется определить относительное содержание TLR2+ моноцитов и CD36+ нейтрофилов. Если у пациентки содержание TLR2+ моноцитов составляет 66% и менее и/или CD36+ нейтрофилов – 69,4% и менее, рекомендуется назначить в раннем послеоперационном периоде курс лечения ГМДП per os по 10 мг в сутки в течение первых десяти дней послеоперационного периода. Рекомендуется провести дополнительную оценку эффективности проведенной терапии через два месяца после лечения с определением экспрессии моноцитами мРНК NOD2 и относительного содержания CD120a+ нейтрофилов. Если уровень экспрессии мРНК NOD2 составляет более 1,2 норм копий-пар нуклеотидов \times 1000, а содержание CD120a+ нейтрофилов – более 42,6%, то благоприятный прогноз наступления беременности после применения ГМДП подтверждается.
 4. В тех случаях, когда дополнительное иммунологическое обследование при поступлении в стационар выявляет либо сочетание уровня CD4+IL-5+ лимфоцитов менее 2,9%, а CD4+IL-6+ лимфоцитов – менее 3,5%, либо

высокое содержание TLR2+ моноцитов (более 66%) и CD36+ нейтрофилов (более 69,4%), назначение иммуномодулирующей терапии в послеоперационном периоде нецелесообразно. В этих случаях рекомендуется рассмотреть вопрос об использовании вспомогательных репродуктивных технологий в ближайшие после лапароскопии месяцы.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации научных результатов диссертаций

1. Роль цитокинов перитонеальной жидкости в регуляции инвазивных свойств эндометриальных клеток при эндометриозе / Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова, Е.С. Филиппова, **А.К. Красильникова** // *Мать и Дитя в Кузбассе*. – 2011. – № 1. – С. 304–309.
2. Малышкина, А.И. Особенности системных реакций врожденного иммунитета у женщин с бесплодием при «малых» формах наружного генитального эндометриоза / А.И. Малышкина, **А.К. Красильникова**, С.В. Романова // *Российский иммунологический журнал*. – 2012. – Т. 6(14), № 2(1). – С. 84–86.
3. Анциферова, Ю.С. Влияние in vitro препарата ГМДП на экспрессию сигнальных рецепторов и продукцию цитокинов фагоцитами периферической крови и перитонеальной жидкости при эндометриозе / Ю.С. Анциферова, С.В. Романова, **А.К. Красильникова** // *Российский иммунологический журнал*. – 2012. – Т. 6(14), № 2(1). – С. 143–145.
4. Иммунокорректирующая терапия в лечении бесплодия у женщин с наружным генитальным эндометриозом / **А.К. Красильникова** [и др.] // *Детская медицина Северо-Запада*. – 2012. – Т. 3, № 3. – С. 21–23.
5. Прогнозирование эффективности хирургического лечения бесплодия у женщин с малыми формами наружного генитального эндометриоза / **А.К. Красильникова**, А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова // *Акушерство и гинекология*. – 2013. – № 7. – С. 36–39.
6. Синтез и продукция RAGE моноцитами при эндометриозе: связь с состоянием репродуктивной функции пациенток / Ю.С. Анциферова, Н.Ю. Сотникова, З. Улкова-Галова, А.И. Малышкина, **А.К. Красильникова**, С.В. Романова // *Российский иммунологический журнал*. – 2014. – Т. 8(17), № 1. – С. 41–47.
7. Использование иммуномодулирующей терапии у женщин с бесплодием при «малых» формах наружного генитального эндометриоза / **А.К. Красильникова** [и др.] // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2014. – Т. 14, № 3. – С. 25–28.
8. Обоснование включения Ликопида в комплексную терапию бесплодия при эндометриозе / Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова, А.И. Малышкина, **А.К. Красильникова**, С.В. Романова // *Российский иммунологический журнал*. – 2014. – Т. 8(17), № 3. – С. 733–736.
9. Особенности дифференцировки В-лимфоцитов крови и перитонеальной жидкости при эндометриозе / Л.Х. Абдуллаева, Ю.С. Анциферова, А.И. Малышкина, **А.К. Красильникова** // *Российский иммунологический журнал*. – 2015. – Т. 9(18), № 2(1). – С. 366–368.
10. RAGE synthesis and expression at systemic and local level during endometriosis / N.Yu. Sotnikova, Yu.S. Antsiferova, A.I. Malyschkina, **А.К. Krasilnikova** // *J. Reprod. Immunology*. – 2016. – Vol. 115. – P. 29.
11. Нарушения системных реакций врожденного иммунитета у пациенток с бесплодием и эндометриозом I-II стадии и возможность их коррекции препаратом ликопид / Н.Ю.

- Сотникова, Ю.С. Анциферова, А.И. Малышкина, **А.К. Красильникова** // Иммунология. – 2016. – Т. 37, № 1. – С. 17–21.
12. Особенности регуляции гуморального иммунного ответа на системном и локальном уровнях при эндометриозе / **А.К. Красильникова** [и др.] // Таврический медико-биологический вестник. – 2017. – Т. 20, № 2. – С. 58–62.
 13. Особенности функционального состояния фагоцитов крови у пациенток с эндометриозом I-II стадии и бесплодием / **А.К. Красильникова**, А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2017. – Т. 17, № 3. – С. 9–14.
 14. Взаимосвязь системной и локальной продукции sTNF-R2 с активностью иммунных реакций Th2 типа у пациенток с эндометриозом / А.К. Красильникова, Ю.С. Анциферова, А.И. Малышкина // Российский иммунологический журнал. - 2016.- Т. 10 (19), № 2 (1).- С.150-152.
 15. Патент № 2613313 Российская Федерация, МПК G01N 33/52. Способ прогнозирования наступления беременности у женщин с I и II стадиями эндометриоза после хирургического лечения / Малышкина А.И., Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., **Красильникова А.К.**; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение "Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). - № 2016106709; заяв. 26.02.2016; опубл. 15.03.2017, Бюл. № 8. Электрон. опт. диск (CD-ROM).
 16. Патент № 2557923 Российская Федерация, МПК G01N 33/53. Способ прогнозирования спонтанного наступления беременности у женщин с I и II стадией наружного генитального эндометриоза / Малышкина А.И., Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Романова С.В., **Красильникова А.К.**; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение "Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). - № 2013146410; заявл. 18.10.2013; опубл. 27.07.2015, Бюл. № 21. Электрон. опт. диск (CD-ROM).

Публикации в журналах, сборниках, материалах конференций и тезисы докладов

17. Экспериментальное обоснование возможности регуляции липоидом экспрессии «рецепторов-мусорщиков» на поверхности перитонеальных макрофагов у женщин с наружным генитальным эндометриозом / Ю.С. Анциферова, Н.Ю. Сотникова, Е.В. Парфенюк, **А.К. Красильникова** [и др.] // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2010. – № 2/1(29). – С. 241.
18. Влияние Ликопада на уровень экспрессии рецепторов-мусорщиков при наружном генитальном эндометриозе / Ю.С. Анциферова, М.А. Елисеева, **А.К. Красильникова**, Е.В. Парфенюк // Российский иммунологический журнал. – 2010. – Т. 4(13), № 4. – С. 428–429.
19. Влияние наноразмерного кремнезема и углеродных нанотрубок на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов у женщин с бесплодием, обусловленным наружным генитальным эндометритом или хроническим сальпингитом / А.В. Волкова, С.Б. Назаров, Л.В. Посисеева, О.Г. Ситникова, **А.К. Красильникова** [и др.] // Мать и дитя: тезисы IV Регионального научного форума. – Екатеринбург, 2010. – С. 60–61.
20. Использование хемилюминесцентного анализа для оценки фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов у гинекологических больных / А.В. Волкова, О.Г. Ситникова, **А.К. Красильникова** [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2010. – Т. 4(13), № 4. – С. 430.
21. Филиппова, Е.С. Особенности регуляции инвазии и апоптоза клеток эутопического и

- эктопического эндометрия при эндометриозе / Е.С. Филиппова, М.А. Елисеева, **А.К. Красильникова** // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2010. – № 2/1(29). – С. 214.
22. Состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у женщин с бесплодием, обусловленным наружным генитальным эндометриозом или хроническим сальпингитом / А.В. Волкова, С.Б. Назаров, Л.В. Посисеева, О.Г. Ситникова, **А.К. Красильникова** [и др.] // V международный конгресс по репродуктивной медицине: материалы. – М., 2011. – С. 98–99.
23. Показатели хемилюминесценции в перитонеальной жидкости у женщин с бесплодием, обусловленным наружным генитальным эндометриозом или хроническим сальпингитом / А.В. Волкова, С.Б. Назаров, Л.В. Посисеева, О.Г. Ситникова, **А.К. Красильникова** [и др.] // Бюллетень ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова. – 2011. – Приложение 4. – С. 28.
24. Состояние фагоцитарной активности макрофагов у женщин с эндометриозом и хроническим сальпингофоритом. Новые пути коррекции нарушений / А.В. Волкова, О.Г. Ситникова, **А.К. Красильникова** [и др.] // Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. – 2011. – № 1. – С. 203–206.
25. **Красильникова, А.К.** Возможность использования иммунологических показателей для прогнозирования эффективности лечения бесплодия у женщин с "малыми" формами наружного генитального эндометриоза / А.К. Красильникова, А.И. Малышкина, Ю.С. Анциферова // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2011. – № 2/1(35). – С. 155–156.
26. Использование иммунологических показателей для прогнозирования эффективности хирургического лечения бесплодия у женщин с наружным генитальным эндометриозом / А.И. Малышкина, Ю.С. Анциферова, Н.Ю. Сотникова, **А.К. Красильникова**, М.Л. Добрынина // Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. – 2011. – № 1. – С. 198–201.
27. Нарушение функционального состояния перитонеальных макрофагов при наружном генитальном эндометриозе / Н.Ю. Сотникова, Е.С. Филиппова, Ю.С. Анциферова, **А.К. Красильникова** // Медицинская иммунология. – 2011. – Т. 13, № 4–5. – С. 438–439.
28. Значение факторов врожденного иммунитета в развитии бесплодия у женщин с малыми формами наружного генитального эндометриоза / А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, С.В. Романова, **А.К. Красильникова**, Ю.С. Анциферова // Мать и дитя: материалы XII Всероссийского научного форума. – М., 2011. – С. 360.
29. Анциферова, Ю.С. Особенности синтеза, продукции и рецепции TGF β в эндометрии пациенток с наружным генитальным эндометриозом / Ю.С. Анциферова, **А.К. Красильникова** // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2012. – № 4(41). – С. 81.
30. Новые подходы к медикаментозной коррекции иммунных нарушений у пациенток с бесплодием при «малых» формах наружного генитального эндометриоза / А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова, **А.К. Красильникова**, С.В. Романова // VI международный конгресс по репродуктивной медицине: материалы. – М., 2012. – С. 136–137.
31. Влияние препарата Ликопид на иммунологические показатели женщин с бесплодием при «малых» формах наружного генитального эндометриоза: связь с восстановлением репродуктивной функции / А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, С.В. Романова, **А.К.**

- Красильникова, Ю.С.** Анциферова // *Мать и дитя: материалы XIII Всероссийского научного форума*. – М., 2012. – С. 301–302.
32. Влияние иммуномодулирующей терапии с использованием препарата Ликопид на функциональное состояние моноцитов периферической крови женщин с бесплодием и «малыми» формами наружного генитального эндометриоза / А.И. Малышкина, С.В. Романова, Ю.С. Анциферова, **А.К. Красильникова** // *Российский иммунологический журнал*. – 2013. – Т. 7(16), № 2–3. – С. 280.
33. Перспективы использования наносомальной формы ГМДП (глюкозаминилмурамилдипептида) на основе наночастиц кремнезема для коррекции функции перитонеальных макрофагов при эндометриозе / Ю.С. Анциферова, Н.Ю. Сотникова, **А.К. Красильникова** [и др.] // *Химия и медицина с молодежной научной школой по органической химии: тезисы докладов IX Всероссийской конференции*. – Уфа-Абзаково, 2013. – С. 132–133.
34. Дифференцированный подход к назначению иммуномодулирующей терапии при лечении бесплодия у женщин с малыми формами наружного генитального эндометриоза / **А.К. Красильникова** [и др.] // *Мать и дитя: материалы XIV Всероссийского научного форума*. – М., 2013. – С. 326–327.
35. Применение иммуномодуляторов в лечении пролиферативных гинекологических заболеваний / А.И. Малышкина, **А.К. Красильникова**, Н.Ю. Сотникова [и др.] // VII Международный конгресс по репродуктивной медицине: материалы. – М., 2013. – С. 337–338.
36. Изменение сывороточного содержания RAGE при наружном генитальном эндометриозе / А.И. Малышкина, С.В. Романова, Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова, **А.К. Красильникова** // *Амбулаторно-поликлиническая помощь – в эпицентре женского здоровья: сборник тезисов V Всероссийского Конгресса*. – М., 2013. – С. 233–235.
37. Разработка наносомальной лекарственной формы иммуномодулятора ГМДП на основе наночастиц диоксида кремния / Е.В. Парфенюк, Н.А. Алешина, Ю.С. Анциферова, Н.Ю. Сотникова, **А.К. Красильникова** // *Новые функциональные материалы и наукоемкие технологии: тезисы Международного научного Симпозиума*. – Тиват, 2013. – С. 37–39
38. Изменение иммунологических показателей у женщин с бесплодием при «малых» формах наружного генитального эндометриоза после иммуномоделирующей терапии / **А.К. Красильникова** [и др.] // *Цитокины и воспаление*. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 102.
39. Прогнозирование эффективности хирургического лечения бесплодия у пациенток с эндометриозом I–II стадии / **А.К. Красильникова**, А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова // *Мать и дитя: материалы XV Всероссийского научного форума*. – М., 2014. – С. 280–282.
40. Анциферова, Ю.С. Исследование *in vitro* возможности применения нанокомпозита иммуномодулятора ГМДП с частицами кремнезема для коррекции функции фагоцитов при эндометриозе / Ю.С. Анциферова, **А.К. Красильникова**, Н.Ю. Сотникова // *Исследование, технология и использование нанопористых носителей лекарств в медицине* / под ред. В.Я. Шевченко, О.И. Киселева, В.Н. Соколова. – СПб.: Химиздат, 2015. – С. 210–252.
41. Регуляция активности клеток врожденного иммунитета на системном и локальном уровне при эндометриозе различной степени тяжести / Ю.С. Анциферова, Н.Ю. Сотникова, А.И. Малышкина, **А.К. Красильникова** // *Российский иммунологический журнал*. – 2015. – Т. 9(18), № 1(1). – С. 11–12.

42. Особенности фенотипа В-лимфоцитов крови и перитонеальной жидкости при эндометриозе / Л.Х. Абдуллаева, Ю.С. Анциферова, А.И. Малышкина, **А.К. Красильникова** // Медицинская иммунология. – 2015. – Т. 17. – Специальный выпуск. – С. 172.
43. Значение аутоантител в нарушении фертильности у женщин с эндометриозом / Л.Х. Абдуллаева, А.И. Малышкина, Ю.С. Анциферова, **А.К. Красильникова** // Новости дерматовенерологии и репродуктивного здоровья. – 2015. – № 2. – С. 153.
44. Характеристика различных популяций В-лимфоцитов крови и перитонеальной жидкости у пациенток с эндометриозом / Л.Х. Абдуллаева, А.И. Малышкина, Ю.С. Анциферова, **А.К. Красильникова** // Мать и дитя: материалы VIII регионального научного форума. – Сочи, 2015. – С. 76–77.
45. Молекулярные механизмы регуляции системного и локального воспаления при эндометриозе / **А.К. Красильникова**, А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова // Мать и дитя: материалы XVI Всероссийского научного форума. – М., 2015. – С. 109–110.
46. Особенности продукции аутоантител на системном и локальном уровнях при эндометриозе / Л.Х. Абдуллаева, А.И. Малышкина, Ю.С. Анциферова, **А.К. Красильникова** // IX Международный конгресс по репродуктивной медицине: материалы / под ред. Г.Т. Сухих, Л.В. Адамян. – М., 2015. – С. 14–16.
47. Изменение сывороточного содержания гаге при наружном генитальном эндометриозе / **А.К. Красильникова**, А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова // Актуальные вопросы акушерства, гинекологии, неонатологии и педиатрии: сборник научных трудов. – Иваново, 2015. – С. 73–78.
48. Молекулярные механизмы участия фагоцитарных клеток в регуляции воспаления при эндометриозе / **А.К. Красильникова**, А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова // X Юбилейный Международный конгресс по репродуктивной медицине: материалы. – М., 2016. – С. 58–60.
49. Новые медикаментозные возможности в лечении пациенток с бесплодием и малыми формами эндометриоза / **А.К. Красильникова**, А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова // Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний: материалы XXIX Международного конгресса с курсом эндоскопии. – М., 2016. – С. 39–40.
50. Взаимосвязь системной и локальной продукции аутоантител с параметрами активации В-лимфоцитов у пациенток с эндометриозом различной степени тяжести / Л.Х. Абдуллаева, А.И. Малышкина, Ю.С. Анциферова, **А.К. Красильникова** // Научно-практическая ревматология. – 2016. – Т. 54. – Приложение 3. – С. 4.
51. Анциферова, Ю.С. Взаимосвязь системной и локальной продукции sTNF-R2 с активностью иммунных реакций Th2 типа у пациенток с эндометриозом / Ю.С. Анциферова, А.И. Малышкина, **А.К. Красильникова** // Российский иммунологический журнал. – 2016. – Т. 10(19), № 2(1). – С. 150–152.
52. Роль аутоантител различной специфичности в развитии эндометриоза и связанного с ним бесплодия / Л.Х. Абдуллаева, А.И. Малышкина, Ю.С. Анциферова, **А.К. Красильникова** // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 60. – Специальный выпуск. – С. 14.
53. Дифференцировка В-лимфоцитов и продукция аутоантител при эндометриозе / Ю.С. Анциферова, А.И. Малышкина, Л.Х. Абдуллаева, **А.К. Красильникова** // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19. – Специальный выпуск. – С. 175–176.
54. Новые медикаментозные возможности в лечении пациенток с бесплодием и малыми формами эндометриоза / **А.К. Красильникова**, А.И. Малышкина, Н.Ю. Сотникова, Ю.С.

- Анциферова // Актуальные вопросы профилактики, ранней диагностики, лечения и медицинской реабилитации больных с неинфекционными заболеваниями и травмами: материалы V Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием. – Иваново, 2017. – С. 170–172.
55. Особенности продукции аутоантител при эндометриозе различной степени тяжести / Л.Х. Абдуллаева, А.И. Малышкина, Ю.С. Анциферова, **А.К. Красильникова** Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19. – Специальный выпуск. – С. 175–176.
56. Характеристика инфекционного статуса женщин с бесплодием различного генеза / Л.Х. Абдуллаева, **А.К. Красильникова**, А.И. Малышкина, Ю.С. Анциферова, М.Л. Добрынина // Материалы конгресса XII Международной конференции по репродуктивной / под ред. Г.Т. Сухих, Л.В. Адамян – М., 2018. – С. 528-529.
57. Особенности регуляции активности В-лимфоцитов при бесплодии, обусловленном эндометриозом / Л.Х. Абдуллаева, **А.К. Красильникова**, А.И. Малышкина, Ю.С. Анциферова // Материалы XXXI Международного конгресса с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» / под ред. Г.Т. Сухих, Л.В. Адамян – М., 2018. – С. 36-37.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГМДП – глюкозаминилмурамилдипептид
 IL – интерлейкин
 TNF – фактор некроза опухоли α
 Th2 типа – Т-хелперы
 АТ – антитела
 ОР – относительный риск
 ИФА – иммуноферментный анализ
 ДИ – доверительный интервал
 УЗИ – ультразвуковое исследование
 МРТ – вагнитно-резонансная томография
 Ig – иммуноглобулин
 PRR – паттернраспознающие рецепторы
 TLR2 – Toll-подобные рецепторы
 RAGE – рецептор конечных продуктов гликозилирования
 NOD – домен олигомеризации нуклеотидов
 CD – кластер дифференцировки
 ФСГ – фолликулостимулирующий гормон
 ЛГ – лютеинизирующий гормон
 АМГ – антимюллеров гормон
 ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение
 мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота
 PAMP - патоген-ассоциированные молекулярных паттернов
 DAMP – молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением
 МДП – мурамилдипептид