

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Ивановская государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Ивановский научно-исследовательский институт
материнства и детства имени В.Н. Городкова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

АБДУЛЛАЕВА

Лейла Хосровна

РОЛЬ В-ЛИМФОЦИТОВ И АУТОАНТИТЕЛ В РАЗВИТИИ НАРУЖНОГО
ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА И СВЯЗАННОГО С НИМ
БЕСПЛОДИЯ

14.01.01- Акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук

МАЛЫШКИНА Анна Ивановна

доктор биологических наук

АНЦИФЕРОВА Юлия Станиславовна

Иваново - 2018

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1. Современные представления о механизмах развития бесплодия у пациенток с эндометриозом.....	11
1.2. Особенности функционирования клеток гуморального звена иммунитета и продукция аутоантител при эндометриозе.....	20
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	26
2.1. Организация работы и объем исследований.....	26
2.2. Методы исследования.....	28
2.3. Статистическая обработка данных.....	33
Глава 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН.....	34
Глава 4. ОСОБЕННОСТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ И АКТИВАЦИИ В-ЛИМФОЦИТОВ НА СИСТЕМНОМ И ЛОКАЛЬНОМ УРОВНЕ У ПАЦИЕНТОК С БЕСПЛОДИЕМ И ЭНДОМЕТРИОЗОМ.....	53
4.1. Особенности дифференцировки и активации В-лимфоцитов крови у пациенток с бесплодием и эндометриозом.....	54
4.2. Особенности дифференцировки и активации В-лимфоцитов перитонеальной жидкости у пациенток с бесплодием и эндометриозом.....	59
4.3. Регуляция активности В-лимфоцитов на системном и локальном уровне при эндометриозе и связанном с ним бесплодии.....	64
4.4. Взаимосвязь показателей, характеризующих активацию и дифференцировку В-лимфоцитов крови и перитонеальной жидкости, с особенностями течения бесплодия у пациенток с эндометриозом.....	67
Глава 5. ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМНОЙ И ЛОКАЛЬНОЙ ПРОДУКЦИИ АУТОАНТИТЕЛ РАЗЛИЧНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ У ПАЦИЕНТОК С БЕСПЛОДИЕМ И ЭНДОМЕТРИОЗОМ.....	77

5.1. Продукция аутоантител на системном уровне при эндометриозе и связанном с ним бесплодии.....	78
5.2. Продукция аутоантител на локальном уровне при эндометриозе и связанном с ним бесплодии.....	83
5.3. Взаимосвязь системной и локальной дифференцировки и активации В-лимфоцитов с продукцией аутоантител.....	87
Глава 6. Обоснование возможности использования показателей активности гуморальных иммунных реакций в качестве критериев диагностики эндометриоза и связанного с ним бесплодия (проведение Рос-анализа).....	96
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	103
ВЫВОДЫ.....	131
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	134
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	135
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	137

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Эндометриоз - одно из наиболее распространенных гинекологических заболеваний, поражающее до 50% женщин репродуктивного возраста и препятствующее реализации их репродуктивной функции [3; 8; 69]. Несмотря на интенсивные исследования, патогенез эндометриоза и связанного с ним бесплодия до сих пор до конца не установлен. К настоящему времени предложено несколько гипотез, объясняющих механизмы сниженной фертильности у женщин с эндометриозом. Считают, что эндокринные, овуляторные и эндометриальные нарушения, сниженный овариальный резерв, нарушения созревания яйцеклеток и транспорта гамет, низкое качество эмбрионов играют важную роль в развитии бесплодия, ассоциированного с эндометриозом [60; 85; 109; 157; 103; 141; 58].

Широкое распространение получила гипотеза об участии аутоиммунных механизмов как в развитии самого эндометриоза, так и в нарушении фертильности при эндометриозе [111]. Достаточно давно было установлено, что у пациенток с эндометриозом как в сыворотке, так и в перитонеальной жидкости повышено содержание анти-эндометриальных антител, а также аутоантител к фосфолипидам, аннексину, ламинину [165, 88, 67]. Как известно, в основе механизмов усиленной продукции аутоантител лежит активация В-лимфоцитов, определяющаяся особенностями их взаимодействия с Т-лимфоцитами и специфическими антигенами и регулируемая рядом растворимых факторов, таких как BAFF (фактор активации В-клеток) и APRIL (лиганд, индуцированный пролиферацией) [53], а также специфической популяцией регуляторных В-лимфоцитов, продуцирующих IL-10 [161]. Важную информацию об активации В-лимфоцитов дает изучение направленности их дифференцировки. Известно, что циркулирующие В-лимфоциты, завершившие свое развитие и созревание в костном мозге, до контакта с антигеном имеют фенотип наивных клеток, характеризующийся отсутствием мембранной экспрессии CD27 молекул,

тогда как после взаимодействия с антигеном В-клетки активируются и начинают экспрессировать CD27 молекулы и приобретают фенотип клеток-памяти, либо дифференцируются до плазматических клеток, являющихся продуцентами антител [87]. Таким образом, оценка фенотипа и определение стадий дифференцировки В-лимфоцитов позволяет оценить степень активности гуморальных иммунных реакций. Однако особенности дифференцировки В-лимфоцитов при эндометриозе и связанном с ним бесплодии до настоящего времени остаются практически не изученными. Нет данных о взаимосвязи между уровнем активации В-лимфоцитов и продукцией ими аутоантител.

В связи с этим, уточнение особенностей дифференцировки и активации В-лимфоцитов с одновременным определением характера продукции аутоантител у пациенток с эндометриозом и бесплодием является актуальной задачей, имеющей как научное, так и практическое значение, поскольку ее решение позволит не только уточнить механизмы развития эндометриоза и связанного с ним бесплодия, но и может послужить основой для разработки новых критериев диагностики данного заболевания.

Степень разработанности темы

К настоящему времени проведены исследования по изучению особенностей продукции аутоантител при эндометриозе и связанном с ним бесплодии [165, 88, 67]. Но до сих пор нет единого мнения о их роли в патогенезе данной патологии. Научных работ, посвященных изучению особенностей дифференцировки и активации В-лимфоцитов при бесплодии, обусловленном эндометриозом различной степени распространенности, ранее не проводилось.

Цель работы

Выявить новые аспекты патогенеза наружного генитального эндометриоза и связанного с ним бесплодия и разработать новые методы

диагностики данного заболевания на основании определения особенностей дифференцировки В-лимфоцитов, системной и локальной продукции аутоантител.

Задачи исследования

1. Выявить клинически значимые факторы, влияющие на состояние репродуктивной функции пациенток с эндометриозом различных стадий.
2. Установить направленность дифференцировки и активации В-лимфоцитов в периферической крови и перитонеальной жидкости у пациенток с эндометриозом различных стадий и бесплодием.
3. На основании изучения содержания В10-лимфоцитов и фактора APRIL выявить особенности регуляции функциональной активности В-лимфоцитов в периферической крови и перитонеальной жидкости у пациенток с эндометриозом различных стадий и бесплодием.
4. Оценить особенности содержания иммуноглобулинов основных классов и аутоантител различной специфичности в сыворотке крови и перитонеальной жидкости у пациенток с эндометриозом различных стадий и бесплодием и охарактеризовать взаимосвязь между параметрами дифференцировки и активации В-лимфоцитов и продукцией аутоантител у здоровых фертильных женщин и пациенток с эндометриозом различных стадий и бесплодием.
5. Разработать новые критерии диагностики эндометриоза у пациенток с бесплодием.

Научная новизна исследования

Впервые показано, что развитие эндометриоза и бесплодия сопровождается нарушением дифференцировки периферических и перитонеальных В-лимфоцитов в сторону увеличения пула наивных CD19+CD27- В-лимфоцитов и снижения содержания CD19+CD27+ клеток памяти, а также повышения уровня плазматических клеток и активированных В-лимфоцитов.

Впервые выявлено нарушение регуляции активности В-клеток при эндометриозе различных стадий и бесплодии за счет снижения содержания CD20+IL-10+ В-лимфоцитов в периферической крови и перитонеальной жидкости.

Выявлена взаимосвязь показателей дифференцировки и активации В-лимфоцитов с длительностью и характером бесплодия у пациенток с эндометриозом различных стадий.

Установлена зависимость системной и локальной продукции органоспецифических и неспецифических аутоантител от стадий эндометриоза.

Выявлено, что у пациенток с эндометриозом различных стадий и бесплодием резко снижено количество и сила корреляционных взаимодействий между показателями, характеризующими дифференцировку и активность В-лимфоцитов и продукцию иммуноглобулинов и аутоантител.

Показано, что параметры, характеризующие дифференцировку и активность В-лимфоцитов, могут служить критериями диагностики эндометриоза у пациенток с бесплодием.

Практическая и теоретическая значимость результатов исследования

Разработан новый способ диагностики эндометриоза у женщин с бесплодием на основании определения в периферической крови относительного содержания CD19+IgD+ В-лимфоцитов. Получен патент на изобретение «Способ диагностики эндометриоза у женщин с бесплодием» от 15.06.2018 № 2 657 802.

Выявлены новые механизмы патогенеза эндометриоза при бесплодии.

Положения, выносимые на защиту

Развитие эндометриоза и связанного с ним бесплодия обусловлено угнетением активности регуляторных В-лимфоцитов, что ведет к накоплению пула наивных и активированных В-клеток, В1-лимфоцитов и плазматических

клеток как в периферической крови, так и в перитонеальной жидкости с максимальной выраженностью нарушений дифференцировки В-лимфоцитов на локальном уровне пропорционально стадии патологического процесса.

Нарушение дифференцировки В-лимфоцитов лежит в основе усиления аутореактивности и повышения выработки аутоантител различной специфичности, которые с одной стороны участвуют в усилении локальных воспалительных реакций, способствующих развитию эндометриозных очагов, а с другой стороны оказывают повреждающее действие на органы репродуктивной системы, определяя снижение фертильности у пациенток с эндометриозом.

Показатель относительного содержания CD19+IgD⁺ в периферической является диагностическим критерием эндометриоза у женщин с бесплодием.

Внедрение результатов работы в практику

Разработанный способ диагностики эндометриоза у женщин с бесплодием прошел предрегистрационное испытание в гинекологической клинике на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, внедрен в учебный процесс на кафедрах акушерства и гинекологии, медицинской генетики ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России; акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «ИвНИИ МиД им. В.Н. Городкова» Минздрава России.

Степень достоверности полученных результатов

Степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным количеством клинических наблюдений, использованием современных компьютерных программ прикладного статистического анализа. Обследованы 161 пациентка с эндометриозом 1-2 стадии и бесплодием, 53 женщины с эндометриозом 3-4 стадии и бесплодием, 29 пациенток с

бесплодием, обусловленным трубно-перитонеальным фактором и 60 здоровых фертильных женщин.

Личное участие автора

Автором проводился отбор пациенток в исследуемые группы, 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.

Апробация работы

Основные результаты исследования по теме диссертации докладывались и обсуждались на Международной научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы здоровья матери и ребенка – 2018» (г. Иваново, 3-4 апреля 2018 г.), на II Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека» (г. Иваново, 13-17 апреля 2015 г.); на III Всероссийской образовательно-научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека» (г. Иваново, 10-14 апреля 2017 г.); на IV Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека» (г. Иваново, 9-12 апреля 2018г.), на Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Городковские чтения», посвященная 35-летию со дня основания ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В.Н. Городкова» Минздрава России (г. Иваново, 14 октября 2015 г.), на XVI

Всероссийском научном форуме с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (г. Санкт-Петербург, 5-8 июня 2017г.)

Публикации

По теме диссертации опубликовано 17 печатных работ, из них 7 в рецензируемых журналах, включенных в перечень журналов, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации научных результатов диссертаций.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 154 страницах машинописного текста, содержит введение, обзор литературы, 4 главы собственных исследований, обсуждение полученных результатов, выводы, практические рекомендации. Список литературы включает 174 источника, в том числе 15 отечественных и 159 зарубежных. Работа иллюстрирована 43 таблицами и 15 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления о механизмах развития бесплодия у пациенток с эндометриозом

Эндометриоз – это хроническое гинекологическое заболевание, которое поражает женщин репродуктивного возраста и является причиной развития воспаления, болевого синдрома и бесплодия [130]. Эндометриоз характеризуется присутствием и ростом эндометриальных желез и стромы вне мест их нормального расположения, преимущественно на поверхности органов брюшной полости [40]. По данным разных авторов эндометриоз поражает от 6 до 10% всех женщин репродуктивного возраста [40; 124; 95]. К основным клиническим проявлениям эндометриоза относятся дисменорея, диспареуния, хроническая тазовая боль, маточные кровотечения и бесплодие [40]. Среди женщин, страдающих болевым синдромом и/или бесплодием распространенность эндометриоза оценивается как 35-50% [80]. Считается, что заболевание затрагивает около 176 миллионов женщин репродуктивного возраста во всем мире, с пиком падения между 24 и 29 годами [19, 69]. В то же время существует мнение, что данные по эпидемиологии несколько занижены, и от начальных проявлений симптомов эндометриоза до постановки окончательного диагноза в среднем проходит 6,7 года [92]. Данную ситуацию связывают с необходимостью проведения хирургической операции для верификации диагноза эндометриоза. В связи с этим, разработка дополнительных неинвазивных диагностических критериев эндометриоза имеет особую актуальность.

Патогенез эндометриоза интенсивно изучается в течение последних десятилетий, к настоящему времени предложено несколько теорий, объясняющих механизмы развития эндометриоза. К наиболее распространенным патогенетическим теориям эндометриоза относят ретроградную менструацию, целомическую метаплазию, нарушенный иммунный надзор, лимфогенный заброс. В последние годы появились

гипотезы, предполагающие участие стволовых клеток и генетических нарушений. Выдвинутая достаточно давно гормональная теория развития эндометриоза также не утратила сегодня своего значения [111]. Несмотря на существующие многочисленные гипотезы, полное понимание причин, вызывающих развитие эндометриоза, до сих отсутствует.

Лидирующая в настоящее время теория ретроградной менструации, предложенная еще в 1920-х гг Д. А. Сампсоном, предполагает что фрагменты эндометриальной ткани попадают в перитонеальную полость в результате ретроградного заброса менструальной крови через фаллопиевы трубы [76]. Эндометриальные клетки имплантируются на поверхности органов брюшной полости, пролиферируют и формируют эндометриоидные очаги с развитым кровоснабжением. В пользу этой теории свидетельствует тот факт, что у женщин с эндометриозом значительно повышен объем рефлюксной менструальной крови по сравнению с женщинами без эндометриоза [145]. В то же время, частота ретроградной менструации сходна у женщин с эндометриозом и без него. Поэтому у пациенток, склонных к развитию эндометриоза, должны существовать дополнительные причины, ведущие к формированию очагов эндометриоза из фрагментов менструального эндометрия [111].

Теория целомической метаплазии учитывает тот факт, что перитонеум содержит недифференцированные клетки, которые могут дифференцироваться в эндометриальные клетки. Согласно этой теории эктопический эндометрий развивается из этих мультипотентных клеток брюшины по влиянием различных факторов, таких как гормональный стимул, хроническое воспаление и т.д. [74; 152].

Гипотеза лимфогенного заброса, дополняя теорию ретроградной менструации, утверждает, что менструальный эндометрий может мигрировать из брюшной полости через лимфатические сосуды и вены на достаточно большие расстояния, что объясняет наличие эндометриальных имплантов вне перитонеальной полости [111].

Другой теорией, также дополняющей ретроградную теорию и объясняющей, почему только у части женщин с ретроградной менструацией развивается эндометриоз, является теория нарушенного иммунного надзора. Предполагают, что у пациенток с эндометриозом угнетена надзорная функция иммунной системы и иммунокомпетентные клетки не способны к удалению эндометриального дебриса из перитонеальной полости [108]. Эта теория полностью объясняет, почему только у части женщин с ретроградной менструацией развивается эндометриоз, а у других – нет. Принято считать, что у пациенток с эндометриозом нарушен клеточно-опосредованный иммунитет в результате угнетения цитотоксической активности естественных киллеров, что помогает клеткам рефлюксного эндометрия избегать иммунный надзор и сохранять свою жизнеспособность [111]. Более того, иммунная система пациенток с эндометриозом даже может способствовать развитию уже сформировавшихся очагов эндометриоза. Показано, что в перитонеальной жидкости при эндометриозе резко повышается количество лейкоцитов и макрофагов, которые вырабатывают многочисленные цитокины, хемокины и факторы роста, такие как интерлейкин (IL)-1, -6, -8, фактор некроза опухоли- α , сосудисто-эндотелиальный фактор роста, эпидермальный фактор роста, фактор роста фибробластов и др., которые усиливают ангиогенез, пролиферацию эндометриальных клеток, создавая благоприятные условия для роста очагов эндометриоза [136; 162; 102; 73; 141].

Сравнительно недавно была выдвинута гипотеза, что развитие эндометриоидной ткани происходит *de novo* из эндогенных стволовых клеток эндометрия [59]. В ряде экспериментальных исследований было показано, что костно-мозговые мезенхимальные стволовые клетки могут дифференцироваться в эндометриальные клетки и участвовать таким образом в развитии эктопических эндометриальных имплантов. Эта гипотеза объясняет, каким образом эктопические ткани локализуются в таких далеких от брюшной полости местах, как легкие и центральная нервная системы [111].

Генетическая теория эндометриоза была основана на выявленном более 20 лет назад факте, что у женщин, имеющих в первом поколении родственниц с эндометриозом, в 7 раз выше риск развития этого заболевания, чем у женщин без семейной истории эндометриоза [111]. Семейная предрасположенность к эндометриозу была затем продемонстрирована на исследованиях монозиготных близнецов и экспериментальных моделях эндометриоза. Предполагают, что генетический полиморфизм может вести к aberrантной экспрессии генов в эндометрии, однако реальная значимость отдельных генов в развитие эндометриоза пока еще не определена. Единственным исключением является ген KRAS, который кодирует молекулу сигнальной трансдукции. Мутации этого гена при различных опухолевых процессах способствуют усилению клеточной пролиферации, жизнеспособности и миграции. На экспериментальной мышинной модели эндометриоза было продемонстрировано, что у мышей, экспрессирующих ген KRAS, спонтанно развивался эндометриоз [145]. Недавно был выявлен полиморфизм гена KRAS у женщин с резистентным эндометриозом [16]. Эти генетические исследования свидетельствуют о том, что изучение специфических генетических изменений могут помочь идентифицировать подтипы эндометриоза, что позволит индивидуализировать терапию и разработать персонализированный подход к лечению эндометриоза.

Существующие в настоящее время подходы к медикаментозному лечению эндометриоза, опираются, прежде всего, на гормональные нарушения, играющие важную роль в развитии эндометриоза. Достаточно давно было установлено, что развитие эндометриоза связано с усиленной продукцией эстрогенов и резистентностью к прогестерону, в максимальной степени выраженной в эндометрии [1]. Известно, что прогестерон индуцирует в норме в эндометрии экспрессию 17 β -гидроксистероид дегидрогеназы 2 типа (HSD17B2), которая метаболизирует биологически активный эстрадиол в менее активный эстрон, а у пациенток с эндометриозом в результате потери активности HSD17B2 в эндометрии значительно усиливается активность

эстрогенов. Многочисленными экспериментальными исследованиями было продемонстрировано, что усиленная продукция эстрогенов и развитие резистентности к прогестерону за счет нарушенной экспрессии в эндометрии прогестероновых рецепторов непосредственно проводят к повышенной способности эндометриальных клеток к пролиферации, росту, а также способствует развитию активного воспалительного процесса в эндометрии [85]. В связи с этим препараты, направленные на восстановление гормонального статуса, широко применяются в лечении пациенток с эндометриозом.

Как уже было отмечено ранее, помимо выраженного болевого синдрома эндометриоз может проявляться снижением фертильности. Механизмы бесплодия при эндометриозе до настоящего времени остаются полностью не установленными. Можно считать достаточно очевидными причины компрометированной репродукции у пациенток с распространенным эндометриозом. Нарушенная анатомия органов малого таза и выраженный спаечный процесс приводя к механическому нарушению высвобождения ооцитов, измененной сократительности миометрия и сниженной фертилизации и транспорта эмбриона [85]. В то же время менее ясными механизмы нарушения фертильности у пациенток с «малыми» формами эндометриоза. Предполагают, что негативное влияние на фертильность у этих пациенток могут оказывать гормональные нарушения, оксидативный стресс, провоспалительные цитокины, факторы роста, ангиогенные факторы, нарушенная экспрессия генов [111]. Рассмотрим некоторые, наиболее важные, звенья патогенеза бесплодия при эндометриозе.

- Механизмы, негативно влияющие на развитие ооцитов и качество эмбриона при эндометриозе.

В литературе широко распространено мнение, что эндометриоз негативно влияет на овариальный резерв [157; 60]. К причинам, вызывающим снижение овариального резерва, относят повреждение ткани яичников в результате хирургического лечения [125], а также высокий уровень ФСГ и

низкое число антральных фолликулов [70]. В то же время ряд авторов не находят снижения овариального резерва при эндометриозе [109]. Установлено, что при эндометриозе нарушены процессы развития фолликулов и продукции ооцитов в результате нарушенного микроокружения в яичниках, в первую очередь, из-за измененного цитокинового профиля фолликулярной жидкости и функций клеток гранулезы [104]. Выявлено, что при эндометриозе в клетках гранулезы отмечаются нарушения клеточного цикла [121], усилен их апоптоз [126] и нарушена регуляция сигнальных путей, вовлекающихся в их развитие и рост [166]. Нарушенный стероидогенез, ведущий к снижению фолликулярному уровню эстрогенов и высокому – прогестерона оказывает непосредственное негативное влияние на микроокружение ооцитов при эндометриозе [153]. Кроме того, в фолликулярной жидкости при эндометриозе выявлена повышенная концентрация IL-8 IL-6, IL-12, TNF α что свидетельствует об усилении локального воспаления, которое может вызывать снижение качества ооцитов [103; 141; 58]. Кроме того, фолликулярная жидкость влияет на взаимодействие гамет. Так, в норме фолликулярная жидкость индуцирует акросомную реакцию и усиливает связывание сперматозоидов с zona-pellucida, тогда как у пациенток с эндометриозом связывание сперматозоидов с zona-pellucida значительно снижена, по сравнению с пациентками с трубным фактором бесплодия [132].

- Нарушение транспорта гамет при эндометриозе

Провоспалительное микроокружение при эндометриозе оказывает влияние и на транспорт гамет. Показано, что воспаление нарушает функцию труб, снижая их подвижность. Нарушенная сократительность миометрия также негативно воздействует на транспорт гамет и имплантацию эмбриона [84].

- Изменения на уровне эндометрия при эндометриозе

Показано, что при эндометриозе отмечаются изменения в эндометрии, что, по мнению многих исследователей, является

непосредственной причиной имплантационных неудач. Так, при эндометриозе в эндометрии выявлена нарушенная экспрессия различных генов, связанных с различными этапами репродуктивных процессов. Среди них – компоненты Wnt-сигналинга, обеспечивающего имплантацию [41], экспрессия *Noxa10* генов, вовлекающихся в эмбриогенез, в регенерацию эндометрия в каждом менструальном цикле и обеспечивающих эндометриальную рецептивность [163]. При эндометриозе как в эутопическом, так и в эктопическом эндометрии выявлено изменение уровня ароматазы, что ведет к усиленной продукции эстрадиола и, соответственно, влияет на развитие и рецептивность эндометрия [111]. Резистентность к прогестерону также участвует в имплантационных неудачах при эндометриозе. Поскольку прогестерон индуцирует децидуализацию эндометрия в лютеиновую фазу, его присутствие является необходимым для развития нормальной беременности. При эндометриозе выявлена дисрегуляция прогестероновых рецепторов как в эутопическом, так и в эктопическом эндометрии, что определяет развитие резистентности к прогестерону и ведет к усиленной эстрогеновой стимуляции, создавая неблагоприятные условия для имплантации [111]. Кроме того, у пациенток с эндометриозом в эндометрии нарушена экспрессия ряда интегриновых молекул, необходимых для нормальной имплантации эмбриона. Среди этих молекул – $\alpha\beta$ -интегрин, маркер эндометриальной рецептивности [76].

- *Перитонеальное воспаление и бесплодие при эндометриозе*

Ранее мы описали, каким образом измененный цитокиновый профиль перитонеальной жидкости может участвовать в механизмах формирования и роста эндометриоидных гетеротопий [132; 94]. Поскольку органы женской репродуктивной системы, включая матку, яичники и фаллопиевы трубы, буквально «плавают» в перитонеальной жидкости, провоспалительные цитокины, уровень которых повышен в перитонеальной жидкости, непосредственно взаимодействуют с яйцеклетками, сперматозоидами и эмбрионами, и, вероятно, оказывают влияние на их качество и функцию. В

связи с этим, широко распространено мнение, что провоспалительное микроокружение в брюшной полости непосредственно связано с нарушенной репродуктивной функцией пациенток с эндометриозом [94]. В настоящее время эта проблема интенсивно изучается. Показано, что повышение уровня RANTES в перитонеальной жидкости ведет к усилению воспаления и продукции реактивных форм кислорода, снижающих фертильность пациенток [128]. Высокий перитонеальный уровень IL-10 может вызывать арест клеточного цикла клеток гранулезы на стадии G0, что приводит к низкому качеству ооцитов [96]. TNF α , содержание которого значительно повышено в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом, способен вызывать гиперэкспрессию в фолликулярной жидкости Egr1, или раннего отвечающего ростового фактора, что приводит к нарушению сигнального протеазного пути, препятствуя овуляции [63]. Считают, что цитокины перитонеальной жидкости оказывают негативное влияние на сперматозоиды. Показано, что IL-6, продукция которого перитонеальными макрофагами значительно повышена у пациенток с эндометриозом, снижает подвижность сперматозоидов. Кроме того, высокий уровень провоспалительных цитокинов в перитонеальной жидкости при эндометриозе оказывает токсический эффект на эмбрионы [111].

- Оксидативный стресс и бесплодие при эндометриозе

Оксидативный стресс является одним из важнейших звеньев в патогенезе эндометриоза. При этом состоянии реактивные формы кислорода образуются значительно быстрее, чем эндогенные системы антиоксидантной защиты могут их нейтрализовать. В настоящее время считается доказанным, что оксидативный стресс вовлекается в патогенез эндометриоза, вызывая воспалительный ответ в перитонеальной полости [127]. Известно, что макрофаги, эритроциты, и апоптотические эндометриальные клетки являются сильными индукторами оксидативного стресса. Так, активированные макрофаги играют важную роль в деградации эритроциты, которые высвобождают прооксидантные и провоспалительные факторы, такие как

гемм, железо, вовлекающиеся в образование реактивных форм кислорода, оказывающие выраженное повреждающее и провоспалительное действие [107]. В литературе достаточно подробно освещаются аспекты участия оксидативного стресса в механизмах развития бесплодия при эндометриозе, в частности, описано, как реактивные формы кислорода воздействуют на созревание ооцитов, формирование бластоцисты, лютеолизис и лютеиновую поддержку при беременности [164]. Имбаланс между реактивными формами кислорода и антиоксидантными механизмами ведет к выраженному оксидативному стрессу в перитонеальном микроокружении, фолликулярной жидкости и около яичников, по мнению многих авторов является важным механизмом нарушенной репродуктивной функции у пациенток с эндометриозом [127]. Действительно, было показано, что в фолликулярной жидкости при эндометриозе повышена концентрация ROS, MDA и NO, следствием чего явилось нарушение созревания яйцеклеток и низким качеством эмбриона [61]. Важную роль в нарушении репродуктивной функции пациенток с эндометриозом отводят оксиду азота NO. Это свободный радикал, биорегулятор апоптоза. Известно, что низкие уровни NO являются необходимым условием для нормального функционирования яичников и имплантации. Однако, в эндометрии пациенток с эндометриозом выявлено высокое содержания как NO, так и синтазы оксида азота NOS, что препятствует имплантации [105]. Высокий уровень NO может также снижать фертильность, оказывая повреждающее действие на маточные трубы, снижая подвижность сперматозоидов и оказывая токсическое действие в отношении эмбрионов [127]. Однако, ряд полученных данных не укладывается в рамки общепринятого мнения. Так, Nakagawa K. с соавторами не выявили признаков усиленного оксидативного стресса в фолликулярной жидкости пациенток с эндометриозом [117]. В связи с этим, вопрос о роли оксидативного стресса в развитии бесплодия при эндометриозе нуждается в дальнейшем изучении.

Таким образом, бесплодие является важнейшей проблемой, связанной с эндометриозом. Проведенные исследования свидетельствуют том, что

механизмы нарушенной фертильности крайне сложны и многообразны. Для создания высокоэффективных методов лечения как эндометриоза, так и связанного с ним бесплодия, необходимо иметь как можно более полное представление о том, каким образом эндометриоз может приводить к нарушению репродуктивной функции. В этой связи особый интерес представляет уточнение иммунных факторов, которые могут лежать в основе как формирования очагов эндометриоза, так и нарушения фертильности при эндометриозе.

1.2. Особенности функционирования клеток гуморального звена иммунитета и продукция аутоантител при эндометриозе

Важная роль иммунной системы в патогенезе эндометриоза считается в настоящее время полностью доказанной. Установлено, что практически все типы клеток иммунной системы, включая макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, естественные киллеры, Т-хелперы и В-лимфоциты, а также продуцируемые ими многочисленные цитокины и факторы роста вовлекаются в механизмы развития эндометриоза и связанного с ним бесплодия [94; 106]. В проведенных исследованиях достаточно подробно освещена роль клеточно-опосредованного иммунного ответа, обусловленного макрофагами и естественными киллерами, в развитии эктопического эндометрия. Менее ясна на сегодняшний день роль В-лимфоцитов и вырабатываемых ими антител и аутоантител в развитии эндометриоза и связанного с ним бесплодия, хотя в литературе освещены вопросы о возможной взаимосвязи между аутоиммунными заболеваниями и эндометриозом. Некоторые исследователи сообщают об общих клинических особенностях между пациентами с эндометриозом и с различной аутоиммунной патологией, тогда как в других работах есть данные о серологических параллелях между эндометриозом и аутоиммунными заболеваниями.

Passoto S.G. с соавторами выявили общие клинические симптомы у пациенток с эндометриозом и системной красной волчанкой (СКВ), такие как высокая

частота артралгии, миалгии по сравнению со здоровыми женщинами. При этом ни у одной из пациенток с эндометриозом не было симптомов СКВ [66]. В 2002 году Sinaii N. с соавторами опубликовали данные, полученные при обследовании 3680 пациенток с эндометриозом [82]. При сравнении с популяцией здоровых доноров у пациенток с эндометриозом, проживающих в США, была выявлена более высокая частота встречаемости гипотиреозита, ревматоидного артрита, СКВ, синдрома Сьергена и множественного склероза. Авторы также сообщали, что аллергия и астма чаще выявлялись в популяции женщин с эндометриозом [82].

Другие результаты были получены в исследовании, проведенном Matorras R. С соавторами в 2007 г. [138]. Эти авторы не выявили ассоциации между СКВ, множественным склерозом и эндометриозом. Данное исследование было проведено на достаточно небольшой испанской популяции. Было обследовано 342 женщин с эндометриозом, 120 пациенток с СКВ, 22 пациентки с множественным склерозом и 501 асимптоматическая женщина в качестве контроля. Авторы сообщили о том, что среди женщин с эндометриозом было выявлено 2 случая СКВ, что достоверно не отличало их от контрольной группы. Случаев множественно склероза не было отмечено ни при эндометриозе, ни в контрольной группе. Таким образом, данные проведенных исследований не позволяют сделать заключение о наличии ассоциации между эндометриозом и специфическими аутоиммунными заболеваниями. Но, несмотря на отсутствие выраженной клинической корреляции, в других работах сообщается о присутствии аутореактивных антител у пациенток с эндометриозом. Эти антитела включают различные антитела к фосфолипидам, гистонам, полинуклеотидам [108]. Некоторые из этих аутоантител являются органо-специфическими анти-эндометриальными и анти-овариальными антителами [62]. Существует мнение, что появление чрезмерного количества эндометриальных протеинов внематочной локализации при ретроградной менструации может провоцировать развитие аутоиммунного ответа. Причем значимость этих аутоантител пока не ясна.

Подобный аутоиммунный ответ может способствовать либо развитию эндометриоза, либо напротив, поддерживать гомеостаз в брюшной полости [115].

В проведенных исследованиях было показано, что анти-ядерные антитела были выявлены у 18% пациенток с эндометриозом, ни у одной здоровой женщины и у 93% женщин с СКВ [66]. Taylor P.V. с соавторами протестировали сыворотку 71 пациенток с лапароскопически подтвержденным эндометриозом и 109 здоровых женщин на предмет присутствия в ней антител к ядру, фосфолипидам, гладкомышечным клеткам и антигенам спермы [30]. Они обнаружили, по крайней мере, один тип антител у 58% женщин с эндометриозом и у 12% здоровых женщин. При этом статистически значимое повышение было зафиксировано для анти-ядерных, анти-кардиолипиновых антител и для волчаночного антикоагулянта. Dias J.A. показал, что у 41,1% пациенток с эндометриозом отмечались анти-ядерные антитела, хотя различий по клиническим симптомам, включая наличие бесплодия, у женщин позитивных и негативных по анти-ядерным антителам выявлено не было. В связи с этим, авторы делают вывод о том, что присутствие этих антител является вторичным иммунологическим эффектом, но не фактором, усугубляющим течение эндометриоза [57].

Достаточно много работ было посвящено изучению анти-эндометриальных антител у пациенток с эндометриозом. Еще в 1980-х гг Weed J.C. с соавторами продемонстрировали наличие IgG и депозитов комплемента в эндометрии у женщин с эндометриозом [171]. Они предположили, что эктопический эндометрий действует как чужеродный триггер, индуцирующий аутоиммунный ответ, который может привести к развитию бесплодия. Mathur S. с соавторами позднее обнаружили IgA и IgG антитела к эндометриальным антигенам в сыворотке, цервикальных и вагинальных секретах женщин с эндометриозом [114]. Значение этих антител до конца не ясно, но предполагают, что они могут участвовать в развитии бесплодия [62]. Антителам другой специфичности – анти-ламининовым

антителам также отводят важную роль в нарушении репродукции у пациенток с эндометриозом. Как известно, ламинины – это семейство гликопротеинов экстрацеллюлярного матрикса, которые играют ключевую роль в развитии эмбриона и имплантации. Inagaki J. с соавторами выявили ассоциацию между IgG анти-ламинин-1 антителами и эндометриозом у пациенток с бесплодием [22]. Было высказано предположение, что эти антитела могут изменять функцию ламинина, нарушая, таким образом, ранние стадии репродуктивного процесса. Было также показано, что эти антитела ассоциированы с развитием ранних выкидышей [137].

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют об усиленной выработке аутоантител при эндометриозе. Пока еще до конца не выявлена значимость этих аутоантител для развития эктопического эндометрия и нарушения фертильности при эндометриозе. Существует мнение, что выработка этих антител либо является естественным ответом на хроническую локальную тканевую деструкцию, либо представляет собой патологический процесс, ведущий к генерализованной аутоиммунной дисфункции [62].

Для более полного понимания механизмов, определяющие выработку аутоантител, необходимо уточнить механизмы функционирования при эндометриозе В-лимфоцитов – основных эффекторных клеток гуморального иммунного ответа. Как известно, развитие В-лимфоцитов начинается в костном мозге, где они проходят начальные стадии про- и пре- В-клеток, приобретают В-клеточный рецептор и выходят в циркуляцию на стадии зрелых наивных клеток. Наивными считаются В-лимфоциты до их первого контакта с антигеном. Активированные, проконтактировавшие с антигеном В-лимфоциты, дифференцируются до конечных этапов своего развития, В-клеток памяти и плазматических клеток [169; 37]. В-клетки памяти способны к быстрой активации при повторной встрече с антигеном, обеспечивая эффективный гуморальный ответ, а плазматические клетки являются основными продуцентами антител. Таким образом, изучение

субпопуляционного состава В-лимфоцитов дает важную информацию об уровне активации В-клеток, о характере их функционирования. При эндометриозе дифференцировка В-лимфоцитов изучена недостаточно.

Впервые усиление реактивности В-лимфоцитов при эндометриозе было продемонстрировано в 1980 г Н. Старцевой [11]. в том же году были выявлены депозиты IgG и комплемента в эндометрии при их снижении в сыворотке и впервые было высказано предположение об аутоиммунной природе эндометриоза [171].

Изучение количественных характеристик В-лимфоцитов при эндометриозе дало противоречивые результаты. В ряде работ было выявлено увеличение содержания В-клеток в периферической крови и в перитонеальной жидкости [160; 151]. Сообщалось о повышении уровня В-1 субпопуляции в перитонеальной жидкости при эндометриозе и было высказано предположение о том, что бесплодие у пациенток с эндометриозом частично может быть связано с выработкой аутоантител, обусловленной поликлональной В-клеточной активацией, ассоциированной с пролиферацией В-1 лимфоцитов [133]. Оценка лимфоцитарных субпопуляций в периферической крови 306 пациенток показала снижение уровня CD20+ В-клеток, также как и CD20+ лимфоцитов, коэкспрессирующих HLA-DR и CD44 молекулы при эндометриозе [35].

При изучении содержания В-лимфоцитов в эндометрии также были получены противоречивые результаты. Так, одни авторы сообщают об отсутствии значительных изменений в содержании В-лимфоцитов в эндометриозе и эктопическом эндометрии выявлено не было [65]. Оценка эндометриальных лимфоцитарных популяций методом иммуногистохимии показала увеличение количества CD20+ клеток в очагах эндометриоза и в эндометрии пациенток с эндометриозом [45; 44].

Немногочисленные работы посвящены изучению особенностей регуляции активности В-лимфоцитов при эндометриозе. Так, было показано, что при эндометриозе усилена экспрессия мРНК Blimp-1, или В-

лимфоцитарного индуктора программы созревания, который регулирует дифференцировку плазматических клеток [53]. В эндометриоидных очагах был выявлен высокий уровень такого цитокина, активирующего В-клетки, как BLyS (В-лимфоцитарный стимулятор) [86]. Этот цитокин вырабатывается макрофагами и играет важную роль в нормальном развитии В-лимфоцитов и их дифференцировки в плазматические клетки. Высокий уровень BLyS также отмечается в плазме пациентов с аутоиммунными заболеваниями. При изучении полиморфизма гена BLyS было установлено, что развитие глубокого инфильтративного эндометриоза ассоциировано гетерозиготностью гена BLyS, на основании чего авторы сделали вывод об участии BLyS в патогенезе эндометриоза [32]. Однако в другом исследовании был проведен анализ того же полиморфизма в специфической группе инфертильных женщин с эндометриозом, но различий выявлено не было [140].

Таким образом, результаты, полученные к настоящему времени не дают полного представления о характере функционирования В-лимфоцитов при эндометриозе и связанном с ним бесплодии. Хотя во многих работах показана усиленная продукция аутоантител при эндометриозе, их роль в развитии данного заболевания остается пока до конца не установленной. Нет единого мнения о количестве В-лимфоцитов у пациенток с эндометриозом. Полностью отсутствуют работы, посвященные изучению дифференцировке В-лимфоцитов, системно и локальном содержании различных популяций В-лимфоцитов при эндометриозе и бесплодии. Нет данных о возможных регуляторных механизмах, участвующих в развитии реакций гуморального звена иммунитета при данном заболевании. Выявление этих факторов не только углубит наши представления о патогенезе эндометриоза и связанного с ним бесплодия, но и, возможно, позволит на основании выявленных особенностей разработать новые диагностические критерии эндометриоза и связанного с ним бесплодия.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Организация работы и объем исследований

Работа выполнена на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения России (директор, д.м.н., проф. А. И. Малышкина). Отбор пациенток осуществлялся методами сплошного и выборочного анализа в гинекологической клинике на базе IV гинекологического отделения. Лабораторные исследования проводились в лабораториях клинической иммунологии (зав. лаб., заслуженный врач РФ, д.м.н., проф. Н. Ю. Сотникова), патоморфологии и электронной микроскопии (зав. лаб. д.м.н., проф. Л.П. Перетятко).

Всего были обследованы 243 женщины с бесплодием и сформированы следующие клинические группы:

1. Контрольная группа - 60 здоровые фертильные женщины с реализованной репродуктивной функцией и отсутствием наружного эндометриоза.
2. 1 основная группа (n=161) - женщины с бесплодием, обусловленным эндометриозом 1-2 стадии по классификации Американского общества фертильности, 1985 год (N80.3 - эндометриоз тазовой брюшины).
3. 2 основная группа (n=53) - женщины с бесплодием, обусловленным эндометриозом 3-4 стадии по классификации Американского общества фертильности, 1985 год (N80.1 эндометриоз яичников, N80.2 эндометриоз маточных труб, N80.3 эндометриоз тазовой брюшины, N80.4 эндометриоз ректовагинальной перегородки и влагалища).
4. Группа сравнения (n=29) - женщины с бесплодием, обусловленным трубно-перитонеальным фактором (N97.1 женское бесплодие трубного происхождения).

Всем женщинам с бесплодием во время лечебно-диагностической лапароскопии были диагностированы наружный генитальный эндометриоз

(верифицированный при проведении гистологического исследования удаленных очагов или биоптатов пораженной брюшины, капсул кист) или трубно-перитонеальное бесплодие.

В контрольную группу вошли женщины, поступившие на отделение эндоскопической хирургии для добровольной хирургической стерилизации по социальным показаниям [5]. Перед проведением оперативного вмешательства женщины данной группы обследовались в женских консультациях г. Иваново и Ивановской области, в консультативно-диагностической поликлинике и Центре планирования семьи и репродукции НИИ МиД им. В.Н. Городкова.

Критериями включения женщин в основные группы и группу сравнения стали: активный репродуктивный возраст (18-35 лет); I или II бесплодие, обусловленное эндометриозом различных стадии; бесплодие, обусловленное трубно-перитонеальным фактором.

Критериями исключения являлись: бесплодие, обусловленное другими факторами (эндокринными, цервикального и маточного происхождения, бесплодия, связанного с мужскими факторами и другими формами женского бесплодия (иммунологические, генетические)); сочетание наружного эндометриоза с аденомиозом (N 80.0 эндометриоз матки); острые или хронические соматические заболевания в стадии обострения и (или) декомпенсации, аллергические реакции на момент обследования.

На каждую пациентку заполнялась специально разработанная «Карта обследования женщин», в которую выкопировывались данные анамнеза, результаты исследований и наблюдений из истории болезни женщины. Каждая пациентка давала письменное информированное согласие на участие в исследованиях. На каждую пациентку заполнялась специально разработанная «Карта обследования женщин», в которую вносили результаты

клинических наблюдений, дополнительных исследований и основные анамнестические сведения, выкопированные из истории болезни.

Материалом для исследования служила гепаринизированная периферическая венозная кровь из локтевой вены, взятая до оперативного вмешательства, и перитонеальная жидкость, полученная во время проведения лапароскопии.

У всех пациенток было получено информированное согласие на участие в исследовании, согласие на забор периферической крови и перитонеальной жидкости. Исследование проводилось с одобрения локального этического комитета ГБОУ ВПО ИвГМА Минздрава России.

2.2. Методы исследования

Клинические методы исследования.

Всем женщинам проводился сбор анамнеза, общий осмотр, гинекологический осмотр, лабораторные исследования (группа крови и резус-фактор, общие анализы крови и мочи; серологические реакции крови на выявление ВИЧ-инфекции и реакция Вассермана, биохимический анализ крови; коагулограмма, мазки из цервикального канала и влагалища на флору; УЗИ, ЭКГ), перед операцией пациентки были осмотрены терапевтом, по показаниям - неврологом, окулистом, эндокринологом.

Эндоскопические методы исследования.

Женщинам с бесплодием была выполнена лечебно-диагностическая лапароскопия с использованием оборудования фирмы «Karl Stors» (Германия) (биполярная коагуляция и/или иссечение очагов наружного генитального эндометриоза, цистэктомия эндометриоидных кист, рассечение спаек). В ходе операции у ряда пациенток для исключения внутриматочной патологии, производилась жидкостная гистероскопия с помощью жесткого гистероскопа («Karl Stors», Германия) и биопсия эндометрия.

Иммунологические методы исследования.

- Выделение мононуклеарных клеток из периферической крови и перитонеальной жидкости.

Выделение обогащенной популяции мононуклеарных клеток (МНК) из гепаринизированной периферической крови и перитонеальной жидкости осуществляли стандартным методом скоростного центрифугирования в градиенте плотности фиколл-верографина ($d=1,078$) [1]. Полученную клеточную популяцию отмывали в фосфатном буфере, довели концентрацию клеток до 1×10^6 кл/мл и в использовали для фенотипирования методом многоцветной проточной цитометрии.

- Проведение проточной цитометрии.

Фенотип В-лимфоцитов крови и перитонеальной жидкости определяли с помощью моноклональных антител (мАТ) методом трехцветной проточной цитофлюориметрии на приборе FACScanto II (Becton Dickinson, USA). Панель мАТ, использованных в работе, приведен в таблице 2.2.1.

Таблица 2.2.1.

Панель мАТ, использованных в исследовании

№ п/п	мАТ	Фирма-производитель	Флюорохромная метка
1.	CD20	Beckman Coulter, USA	FITC, APC
2.	CD19	eBioscience, USA	PerCP-Cy5.5
3.	CD5	eBioscience, USA	FITC
4.	CD38	Beckman Coulter, France	PE
5.	CD27	Beckman Coulter, France	PE
6.	IgD	Beckman Coulter, USA	FITC

7.	CD86	Beckman Coulter, USA	PE
8.	IL-10	eBioscience, USA	PE

FITC – флюоресцеинизотиоцианат, PE – фикоэритрин, PerCP-Cy5.5 – перидинин хлорофилл протеин комбинированный с цианином, APC – аллофикоцианин

При проведении мембранного окрашивания клеток к 50 мкл суспензии выделенных мононуклеаров крови и перитонеальной жидкости добавляли по 5 мкл необходимых мАТ, клетки инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин. После окончания времени инкубации клетки отмывали в 1 мл фосфатного буфера, фиксировали с помощью фиксатора Cell Fix (eBioscience, USA) и анализировали на проточном цитофлюориметре. При определении внутриклеточной экспрессии IL-10 проводили предварительную процедуру фиксации и пермеабелизации клеточной мембраны с использованием коммерческого набора Intra Prep™ (Beckman Coulter, USA) в соответствии с рекомендациями фирмы-разработчика.

Анализ результатов проводили в программе "Diva" (Becton Dickinson, USA). С использованием точечных диаграмм распределения событий в координатах FSC/SSC устанавливали лимфоцитарный гейт, в котором оценивали относительное содержание CD20+, CD19, CD20+CD5+ В-лимфоцитов. В лимфоцитарном гейте затем проводили второе гейтирование В-лимфоцитов по экспрессии CD20 или CD19 маркеров. В CD20+ гейте определяли относительное содержание CD86+ и IL-10+ лимфоцитов, в CD19+ гейте – оценивали уровень CD38+CD20- лимфоцитов (плазматических клеток), уровень CD27- наивных и CD27+ клеток памяти, а также уровень IgD+, IgD-, CD27-IgD+, CD27-IgD-, CD27+IgD+, CD27+IgD- В-лимфоцитов.

- Иммуноферментные исследования.

В сыворотке крови и в перитонеальной жидкости методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли концентрацию фактора

APRIL, содержание иммуноглобулинов основных классов IgG, IgA и IgM, уровень анти-овариальных антител, антител к Zona Pellucida, гистону, бета-2-гликопротеину I, фосфатидил-этаноламину, фосфатидил-холину. Кроме того, в сыворотке пациенток основных клинических групп наблюдения оценивали наличие антител к возбудителям бактериально-вирусных инфекций: IgM антител к HSV1, 2 и CMV, IgM и EA-IgG антител к EBV, IgM и IgG антител к *Toxoplasma gondii*, IgM, IgA и IgG антител к *Chlamydia trachomatis*, IgA и IgG антител к *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis*, IgG антител к *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae*. Список использованных в работе тест-систем с указанием производителя приведен в таблице 2.2.2. Проведение ИФА и интерпретация результатов осуществлялись в соответствии с указаниями фирмы-разработчика тест-систем. В работе использовался микропланшетный ридер Multiscan EX (Labsystems, Finland).

Таблица 2.2.2.

Тест-системы, использованные при проведении иммуноферментного анализа

№ п/п	Исследуемый показатель	Фирма-производитель
1.	APRIL	eBioscience, Австрия
2.	Иммуноглобулины IgG, IgA, IgM	«Вектор Бест» (Новосибирск, Россия)
3.	Антитела к Zona Pellucida	BIOSERV Diagnostics, Germany
4.	Анти-овариальные антитела	BIOSERV Diagnostics, Germany
5.	Антитела к гистону	ORGENTEC, Germany
6.	Антитела к бета-2-гликопротеину I (IgG/IgM)	ORGENTEC, Germany
7.	Антитела к фосфатидил-этаноламину IgG	IBL International, Germany

8.	Антитела к фосфатидил-холину IgG	IBL International, Germany
9.	IgM антитела к HSV1 2	«Вектор Бест» (Новосибирск, Россия)
10.	IgM антитела к CMV	«Вектор Бест» (Новосибирск, Россия)
11.	IgM и IgG антитела к EBV	«Вектор Бест» (Новосибирск, Россия)
12.	IgM, IgA и IgG антитела к Chlamydia trachomatis	«Вектор Бест» (Новосибирск, Россия)
13.	IgM и IgG антитела к Toxoplasma gondii	«Вектор Бест» (Новосибирск, Россия)
14.	IgA и IgG антитела к Ureaplasma urealyticum	«Вектор Бест» (Новосибирск, Россия)
15.	IgA и IgG антитела к Mycoplasma hominis	«Вектор Бест» (Новосибирск, Россия)
16.	IgG антитела к Chlamydia pneumoniae	«Вектор Бест» (Новосибирск, Россия)
17.	IgG антитела к Mycoplasma pneumoniae	«Вектор Бест» (Новосибирск, Россия)

Морфологические методы исследования.

Проводилась обзорная гистология. Материал фиксировали в 10%-нейтральном растворе формалина в течение 72 часов. после стандартной парафиновой проводки готовились срезы толщиной 4-5 мкм, окрашивались гематоксилином Эрлиха с докраской эозином и заключались в бальзам. В обзорных препаратах изучалась межлочечная ткань, сосудистое русло и мышечный компонент.

2.3. Статистическая обработка данных

Статистический анализ осуществлялся в пакете прикладных программ «Statistica 6.0.», «MicrosoftOffice 2010», «MedCalc» и «OpenEpi».

Математический анализ проводился по общепринятым методам вариационной статистики после проверки рядов на нормальность распределения по критериям Колмогорова — Смирнова, Лиллифорса и Шапиро — Уилка. Если распределение показателей соответствовало нормальному, данные представляли в виде средней величины и стандартной ошибки средней ($M \pm m$), достоверность различий показателей в группах определялась по t-критерию Стьюдента и считали достоверными при $p < 0,05$. В случае несоответствия распределения количественных признаков закону нормального распределения данные представляли в виде медианы с указанием 25-го и 75-го перцентилей ($Me(Q25\%–Q75\%)$), проверку статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий количественных признаков осуществляли с помощью непараметрических критериев Вальда — Вольфовица, Колмогорова — Смирнова, Манна — Уитни и считали достоверными при статистической значимости $p < 0,05$.

Для оценки факторов риска развития эндометриоза рассчитывали относительный риск (ОР) с 95% доверительным интервалом (ДИ 95%). Поиск точки разделения и расчет чувствительности и специфичности проводился на основании построения кривой операционных характеристик (ROC-анализ). При проведении корреляционного анализа силу корреляционных связей оценивали по шкале Чеддока, согласно которой слабая связь регистрируется при значениях R от 0,3, средняя связь - при значениях R от 0,5 и сильная корреляционная связь – при значениях R от 0,7 и выше.

Глава 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН

В условиях гинекологической клиники ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава России были обследованы 243 женщины, поступившие на оперативное лечение по поводу бесплодия в гинекологическую клинику. Всем пациенткам была проведена лечебно-диагностическая лапароскопия. По результатам лапароскопии были выделены следующие клинические группы наблюдения:

1. 1 основная группа - 161 женщина с эндометриозом 1-2 стадии (по классификации Американского общества фертильности, 1985 год), (код по МКБ - N80.3 - эндометриоз тазовой брюшины).
2. 2 основная группа - 53 женщины с эндометриозом 3-4 стадии (по классификации Американского общества фертильности, 1985 год), (код по МКБ - N80.3 -эндометриоз тазовой брюшины).
3. Группа сравнения - 29 женщин с бесплодием, обусловленным трубно-перитонеальным фактором (код по МКБ – N 97.1 - женское бесплодие трубного происхождения).
4. Контрольная группа - 60 здоровых фертильных женщин, поступивших на хирургическую стерилизацию по социальным показаниям согласно федеральному закону «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21 ноября 2011 года, №323-ФЗ.

Данные, характеризующие возрастной состав обследованных женщин, представлены в таблице 3.1. Как видно из приведенных данных, возраст женщин был сравним во всех группах и колебался от 21 до 42 лет. Средний возраст составил $30,1 \pm 0,64$ года в контрольной группе, $29,43 \pm 0,27$ года – у женщин с эндометриозом 1-2 стадии, $29,3 \pm 0,52$ года – у женщин с эндометриозом 3-4 стадии, в группе сравнения – $29,59 \pm 0,63$ года, ($p > 0,05$). Основная часть женщин была в возрасте 26–30 лет: в контрольной группе – 50%, в группе с эндометриозом I-II стадии– 47,02%: в группе с эндометриозом с 3-4 стадии– 43,4%, в группе сравнения – 48,28%, что также

не имело достоверной разницы ($p > 0,05$). Нужно отметить, что в группах женщин с «малыми» и распространенными формами эндометриоза достоверно чаще, чем в контрольной группе, встречались женщины в возрасте 31-35 лет ($p < 0,01$ и $p < 0,02$ соответственно). При этом женщины в возрасте старше 35 лет достоверно чаще встречались в контрольной группе, чем в основных группах и группе сравнения ($p < 0,02$, $p < 0,001$ и $p < 0,001$, соответственно), что объясняется одним из условий стерилизации (федеральный закон «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21 ноября 2011 года, N 323-ФЗ).

Таблица 3.1.

Сравнительная характеристика возрастного состава пациенток основных клинических групп наблюдения

Возраст	Контрольная группа n=60		1 группа – эндометриоз 1-2 стадия n=161		2 группа – эндометриоз 3-4 стадия n=53		3 группа – сравнения – трубно-перитонеальный фактор бесплодия n=29	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Средний возраст	30,1 ± 0,64		29,43 ± 0,27		29,3 ± 0,52		29,59 ± 0,63	
До 25 лет	8	13,3	21	13,04	10	18,87	4	13,79
26-30 лет	30	50	76	47,02	23	43,4	14	48,28
31-35 лет	11	18,3	64	39,75 $p1 < 0,01$	20	37,73 $p1 < 0,02$	11	37,93
Старше 35 лет	11	18,3	0	0 $p1 < 0,001$	0	0 $p1 < 0,001$	0	0 $p1 < 0,001$

Примечание: $p1$ - дано по сравнению с контрольной группой.

Данные по становлению, характеру менструальной функции и среднему возрасту начала половой жизни у обследуемых женщин представлены в таблице 3.2. Как видно из представленных результатов средний возраст менархе достоверно не различался по группам и составил в контрольной группе - $13 \pm 0,17$ года, в группе с эндометриозом 1-2 стадии – $13,04 \pm 0,10$

года, в группе с эндометриозом 3-4 стадии – $13,11 \pm 0,17$ года, в группе с трубно-перитонеальным фактором бесплодия – $13,45 \pm 0,29$ года ($p > 0,05$ во всех случаях). У большинства женщин во всех группах отмечалось своевременное менархе. Раннее менархе (до 9 лет) во всех группах женщин отсутствовало. Позднее менархе (старше 16 лет) в группе контроля выявлено у 2 (3,3%) женщин, в группе с эндометриозом 1-2 стадии выявлено у 1 (0,62%), в группе с эндометриозом 3-4 стадии – у 1 (1,9%) в группе сравнения — у 2 (6,9%) пациенток ($p > 0,05$ во всех случаях).

Средняя продолжительность менструального цикла также не различалась у женщин клинических групп наблюдения и составила в контрольной группе - $28,83 \pm 0,28$ дня, в группе с эндометриозом 1-2 стадии – $28,44 \pm 0,16$ дня, в группе с эндометриозом 3-4 стадии – $27,6 \pm 0,35$ дня, в группе с трубно-перитонеальным фактором бесплодия – $28,17 \pm 0,24$ дня ($p > 0,05$ во всех случаях). Достоверных различий по средней продолжительности менструального кровотечения у обследованных пациенток нами выявлено не было. В контрольной группе этот показатель составил $4,98 \pm 0,14$ дня, в группе с эндометриозом 1-2 стадии – $4,8 \pm 0,09$ дня, в группе с эндометриозом 3-4 стадии – $5,1 \pm 0,16$ дня, в группе с трубно-перитонеальным фактором бесплодия – $5,17 \pm 0,23$ дня ($p > 0,05$ во всех случаях). Гиперполименорея были отмечены в анамнезе у 13 (21,67%) женщин контрольной группы, у 28 (17,39%) женщин с эндометриозом 1-2 стадии, у 18 (34,6%) женщин с эндометриозом 3-4 стадии и у 7 (24,14%) женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. Частота встречаемости гиперполименореи у пациенток основных клинических групп наблюдения и у пациенток группы сравнения достоверно не отличались от показателей контрольной группы ($p > 0,05$ во всех случаях).

Нарушения менструального цикла по типу олигоменореи не встречались среди женщин обследованных групп. Альгоменорея встречалась достоверно чаще у пациенток 1 и 2 основных клинических групп и в группе сравнения, чем у женщин контрольной группы. Так, альгоменорея имела

место у 10 женщин контрольной группы и у 84 женщин с «малыми» формами эндометриоза, (52,17% против 16,67%; ОР 1,474; ДИ 95% 1,26-1,724; $p < 0,001$), у 48 женщин с распространенными формами эндометриоза (90,6% против 16,67%; ОР 9,103; ДИ 95% 3,915-21,17; $p < 0,001$), у 12 женщин с хроническим сальпингитом (41,38% против 16,67%; ОР 2,15; ДИ 95% 1,227-3,765; $p < 0,05$). Кроме того, в группе женщин с 3-4 стадией эндометриоза частота альгоменореи была достоверно выше, чем в группе с эндометриозом 1-2 стадии и в группе сравнения ($p < 0,001$ в обоих случаях).

Средний возраст начала половой жизни в анализируемых группах был сопоставим: в контрольной группе он составил $18,28 \pm 0,23$ года, в группе с эндометриозом 1-2 стадии – $18,37 \pm 0,18$ года, в группе с эндометриозом 3-4 стадии – $18,13 \pm 0,18$ года, в группе с трубно-перитонеальным фактором бесплодия – $18,3 \pm 0,19$ года ($p > 0,05$ во всех случаях). Сексуальный дебют до 18 лет в группах также достоверно не отличался: в контрольной группе этот показатель был отмечен у 15 (25%) женщин, в группе с эндометриозом 1-2 стадии – у 37 (22,98%) женщин, в группе с эндометриозом 3-4 стадии – у 9 (16,98%) женщин, в группе с трубно-перитонеальным фактором бесплодия – у 6 (20,7%) женщин ($p > 0,05$ во всех случаях) (Таблица 3.2.).

Таблица 3.2.

Становление, характер менструальной функции и начала половой жизни у пациенток основных клинических групп наблюдения

Показатель	Контроль- ная группа n=60	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадий) n=161	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадий) n=53	Группа сравнения (трубно- перитонеальн ый фактор бесплодия) n=29
Средний возраст menarche, лет	$13 \pm 0,17$	$13,04 \pm 0,10$	$13,11 \pm 0,17$	$13,45 \pm 0,29$
Средняя продолжитель- ность менст- руального цикла, дней	$28,83 \pm 0,28$	$28,44 \pm 0,16$	$27,6 \pm 0,35$	$28,17 \pm 0,24$

Средняя длительность менструальных кровотечений, дней	4,98± 0,14		4,8± 0,09		5,1± 0,16		5,17± 0,23	
Средний возраст начала половой жизни, лет	18,28± ,23		18,37± 0,18		18,13± 0,18		18,3± 0,19	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Menarche, раннее	0	0	0	0	0	0	0	0
своевременное	58	96,7	160	99,4	52	98,1	27	93,1
позднее	2	3,3	1	0,62	1	1,9	2	6,9
Гиперполименорея	13	21,67	28	17,39	18	34,6	7	24,14
Олигоменорея	0	0	0	0	0	0	0	0
Альгоменорея	10	16,67	84	52,17 p1<0,001	48	90,6 p1<0,001 p2<0,001 p3<0,001	12	41,38 p1<0,05
Относительный риск (95% ДИ)			1,474 (1,26-1,724)		9,103 (3,915-21,17)		2,15 (1,227-3,765)	
Сексуальный дебют до 18 лет	15	25	37	22,98	9	16,98	6	20,7

Примечание: : p1 - дано по сравнению с контрольной группой, p2 – дано по сравнению с группой сравнения, p3 – дано по сравнению с группой женщин с эндометриозом 1-2 стадии.

При анализе репродуктивной функции обследованных женщин (Таблица 3.3.) было выявлено, что среди пациенток с «малыми» и распространенными формами эндометриоза и с трубно-перитонеальным фактором бесплодия беременностей в анамнезе было достоверно меньше по сравнению с группой контроля (44,01%, 26,4%, 62,1% и 100%, p<0,001, p<0,001, p<0,01, соответственно). Следует также отметить, что у женщин с эндометриозом 3-4 стадии беременностей было достоверно меньше по сравнению с группами женщин с эндометриозом 1-2 стадии и трубно-перитонеальным фактором бесплодия (p<0,01, p<0,02, соответственно).

Среднее количество беременностей на женщину в исследуемых группах составило $2,22 \pm 0,36$ в контрольной группе, $0,66 \pm 0,07$ в группе с эндометриозом 1-2 стадии, $0,39 \pm 0,11$ в группе эндометриоза 3-4 стадии, $2,87 \pm 0,23$ в группе с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. В группе с эндометриозом 1-2 стадии этот показатель был достоверно меньше по сравнению с группой контроля и группой сравнения ($p < 0,001$ в обоих случаях), а в группе с эндометриозом 3-4 стадии – достоверно меньше по сравнению с группами контроля, сравнения и 1 основной клинической группой ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,05$ соответственно). Своевременные роды были у 60 (100%) женщин в контрольной группы, 32 (19,88%) женщин с эндометриозом 1-2 стадии, 7 (13,2%) женщин с эндометриозом 3-4 стадии и у 8 (27,6%) женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. Этот показатель был достоверно ниже в основных группах и группе сравнения по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$ во всех случаях).

Артифициальными абортами беременность прерывали 14 (23,3%) женщин группы контроля, 27 (16,77%) женщин из группы с эндометриозом 1-2 стадии, 10 (18,87%) женщин с эндометриозом 3-4 стадии, 12 (41,4%) женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. Женщины с «малыми» и распространенными формами эндометриоза делали медицинские аборт достоверно реже по сравнению с группой с трубно-перитонеальным фактором бесплодия ($p < 0,02$, $p < 0,05$ соответственно).

Ранние самопроизвольные выкидыши происходили у женщин во всех группах: у 9 (15%) женщин группы контроля, у 29 (18,01%) женщин из группы с эндометриозом 1-2 стадии, у 3 (5,66%) женщин с эндометриозом 3-4 стадии, у 3 (10,3%) женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. При этом нами было выявлено, что достоверно чаще они случались в группе с эндометриозом 1-2 стадии по сравнению с группой женщин с эндометриозом 3-4 стадии ($p < 0,01$). Поздние самопроизвольные выкидыши были отмечены только у 6 (3,73%) женщин с «малыми» формами эндометриоза, что достоверно чаще по сравнению с другими группами ($p < 0,02$ во всех

случаях). Преждевременные роды в анамнезе отмечены у одной женщины (0,62%) из группы эндометриоза 1-2 стадии, что достоверно не отличалось от других групп ($p > 0,05$).

Все женщины контрольной группы были фертильными, а женщины основных групп и группы сравнения были бесплодны ($p < 0,001$ во всех случаях). Первичное бесплодие было у 90 (56%) женщин с «малыми» формами эндометриоза, у 39 (73,6%) женщин с распространенными формами эндометриоза и у 11 (38%) пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. При этом у женщин с распространенным эндометриозом первичное бесплодие встречалось достоверно чаще, чем у женщин с эндометриозом 1-2 стадии и с трубно-перитонеальным фактором бесплодия ($p < 0,01$, $p < 0,02$, соответственно). Вторичное бесплодие достоверно реже встречалось среди женщин с распространенным эндометриозом (26,4%) по сравнению с группой женщин с «малыми» формами эндометриоза (44%) и группой сравнения (62%) ($p < 0,01$, $p < 0,02$ соответственно). Средняя продолжительность бесплодия в основных клинических группах наблюдения составила: в группе с эндометриозом 1-2 стадии – $3,71 \pm 0,18$ года, в группе с эндометриозом 3-4 стадии – $3,85 \pm 0,3$ года, в группе с трубно-перитонеальным фактором бесплодия – $4,4 \pm 0,69$ года. Бесплодие длительностью до 3-х лет встречалось у 54 (33,54%) женщин с «малыми» формами эндометриоза, у 22 (41,5%) женщин с распространенными формами эндометриоза и у 12 (41,4 %) пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия, что достоверно в группах не различалось ($p > 0,05$ во всех случаях). Бесплодие длительностью 3-5 лет было отмечено нами у 80 (49,69%) женщин с «малыми» формами эндометриоза и у 18 (34%) женщин с распространенными формами эндометриоза, что статистически значимо отличало эту группу от 1-ой основной группы ($p < 0,05$). Частота встречаемости бесплодия длительностью более 5 лет была сравнимой во всех сравниваемых клинических группах наблюдения: 16,77% у пациенток с

«малыми» формами эндометриоза, 24,5% у пациенток с распространенным эндометриозом и 27,6% в группе сравнения ($p > 0,05$ во всех случаях).

Таблица 3.3.

Характеристика репродуктивной функции пациенток основных клинических групп наблюдения

Показатель	Контроль ная группа n=60		1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадий) n=161		2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадий) n=53		Группа сравнения (трубно- перитонеаль ный фактор бесплодия) n=29	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Среднее количество беременностей	2,22±0,36		0,66±0,07 p1<0,001 p2<0,001		0,39±0,11 p1<0,001 p2<0,001 p3<0,05		2,87±0,23	
Средняя длительность бесплодия, годы	0		3,71 ± 0,18		3,85 ± 0,3		4,4 ± 0,69	
Беременности в анамнезе	60	100	71	44,01 p1<0,001	14	26,4 p1<0,001 p2<0,01 p3<0,02	18	62,1 p1<0,01
Своевременные роды	60	100	32	19,8 p1<0,001	7	13,2 p1<0,001	8	27,6 p1<0,001
Артифициальные аборты	14	23, 3	27	16,77 p2<0,02	10	18,87 p2<0,05	12	41,4
Ранние выкидыши	9	15	29	18,01	3	5,66 p3<0,01	3	10,3
Поздние самопроизвольные выкидыши	0	0	6	3,73 p1<0,02 p2<0,02	0	0 p3<0,02	0	0
Преждевременные роды	0	0	1	0,62	0	0	0	0
Бесплодие в том числе: первичное	0	0	161	100 p1<0,001	52	100 p1<0,001	29	100 p1<0,001
вторичное			90	56	39	73,6 p2<0,01 p3<0,02	11	38
			71	44	14	26,4 p2<0,01 p3<0,02	18	62
Бесплодие до 3 лет 3-5 лет	0		54	33,54	22	41,5	12	41,4
			80	49,69	18	34 p3<0,05	9	31

более 5 лет		27	16,77	13	24,5	8	27,6
-------------	--	----	-------	----	------	---	------

Примечание: p1 - дано по сравнению с контрольной группой, p2 – дано по сравнению с группой сравнения, p3 – дано по сравнению с группой женщин с эндометриозом 1-2 стадии.

Характеристика используемых способов контрацепции обследованными женщинами представлена в Таблице 3.4. Контрацепцию не использовали 16 (26,7%) женщин контрольной группы, 136 (84,5%) женщин с эндометриозом 1-2 стадии, 44 (80%) женщин 3-4 стадии эндометриоза и 27 (93,1%) женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. При этом женщины основных клинических групп и группы сравнения применяли контрацепцию достоверно реже по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$ во всех случаях). КОК принимали 9 (15%) женщин из контрольной группы, 6 (3,73%) женщин с эндометриозом 1-2 стадии, 2 (3,77%) женщины с эндометриозом 3-4 стадии, 2 (6,9%) женщины с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. Этот метод контрацепции женщины с «малыми» и распространенными формами эндометриоза применяли достоверно реже по сравнению с контрольной группой ($p < 0,02$, $p < 0,05$, соответственно). ВМС использовали 7 (11,67%) женщин контрольной группы, в других группах этот метод контрацепции не применялся ($p < 0,01$ во всех случаях). Барьерный метод контрацепции применяли 28 (46,67%) женщин контрольной группы, 22 (13,66%) женщины с эндометриозом 1-2 стадии, 10 (18,87%) женщин с эндометриозом 3-4 стадии, 4 (13,79%) женщины с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. Женщины из контрольной группы достоверно чаще выбирали барьерный метод контрацепции по сравнению с женщинами основных групп и группы сравнения ($p < 0,001$ по сравнению с «малыми» формами эндометриоза, $p < 0,01$ по сравнению с распространенным эндометриозом и хроническим сальпингитом).

Таблица 3.4.

Характеристика способов контрацепции, используемых пациентками основных клинических групп наблюдения

	Контроль-	1 основная	2 основная	Группа
--	-----------	------------	------------	--------

Показатель	ная группа n=60		группа (эндометриоз 1-2 стадий) n=161		группа (эндометриоз 3-4стадий) n=53		сравнения (трубно- перитонеальный фактор бесплодия) n=29	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Не использовали контрацепцию	16	26,7	136	84,5 $p_1 < 0,001$	44	80 $p_1 < 0,001$	27	93,1 $p_1 < 0,001$
КОК	9	15	6	3,73 $p_1 < 0,02$	2	3,77 $p_1 < 0,05$	2	6,9
ВМС	7	11,67	0	0 $p_1 < 0,01$	0	0 $p_1 < 0,01$	0	0 $p_1 < 0,01$
Барьерный метод контрацепции	28	46,67	22	13,66 $p_1 < 0,001$	10	18,87 $p_1 < 0,01$	4	13,79 $p_1 < 0,01$

Примечание: p_1 - дано по сравнению с контрольной группой, p_2 – дано по сравнению с группой сравнения, p_3 – дано по сравнению с группой женщин с эндометриозом 1-2 стадии.

При анализе структуры гинекологической патологии в анамнезе (Таблица 3.5.) было выявлено, что воспалительные заболевания органов малого таза встречались у 6 (10%) женщин контрольной группы и у 49 (30,43%) женщин с «малыми» формами эндометриоза, что было достоверно чаще по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$, ОР 1,32; ДИ 95% 1,148-1,519). В группе женщин с распространенным эндометриозом этот показатель был отмечен у 7 (13,21%) пациенток, что было достоверно реже, чем у женщин с эндометриозом 1-2 стадии ($p < 0,02$). Более половины пациенток группы сравнения (55,2%) перенесли воспалительные заболевания органов малого таза, что отличало их как от женщин контрольной группы ($p < 0,001$; ОР 3,748; ДИ 95% 2,16-6,503), так и от пациенток с эндометриозом 1-2 стадии ($p < 0,02$) и с распространенным эндометриозом ($p < 0,001$).

Неинвазивные заболевания шейки матки достоверно реже встречались в группе с трубно-перитонеальным фактором бесплодия (3,45%) по сравнению с контрольной группой (26,67%) и с основными группами наблюдения (16,15% и 28,3%) ($p < 0,01$ во всех случаях).

Миома матки в анамнезе не была диагностирована у обследованных женщин. Кистозные изменения в яичниках (функциональные, эндометриодные кисты,) в анамнезе по данным УЗИ достоверно чаще встречались в группе женщин с распространенным эндометриозом (13,21%) по сравнению с группой женщин с «малыми» формами эндометриоза (1,24%) ($p < 0,01$). Гиперпролактинемия достоверно чаще встречалась у женщин с эндометриозом 1-2 стадии (7,45%) по сравнению с женщинами из контрольной группы (0%) ($p < 0,01$).

Таблица 3.5.

Частота гинекологической патологии в анамнезе пациенток основных клинических групп наблюдения

Показатель	Контроль-ная группа n=60		1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадий) n=161		2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадий) n=53		Группа сравнения (трубно-перитонеаль- ный фактор бесплодия) n=29	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Воспалительные заболевания органов малого таза	6	10	49	30,43 $p1 < 0,001$ $p2 < 0,02$	7	13,21 $p2 < 0,001$ $p3 < 0,01$	16	55,2 $p1 < 0,001$
Относительный риск (95% ДИ)			1,32 (1,148-1,519)				3,748 (2,16-6,503)	
Неинвазивные заболевания шейки матки	16	26,67	26	16,15 $p2 < 0,01$	15	28,3 $p2 < 0,01$	1	3,45 $p1 < 0,001$
Миома матки	0	0	0	0	0	0	0	0
Кистозно изменённые яичники	5	8,33	2	1,24	7	13,21 $p3 < 0,01$	2	6,9
Гиперпролактинемия	0	0	12	7,45 $p1 < 0,001$	3	5,66	2	6,9

Примечание: $p1$ - дано по сравнению с контрольной группой, $p2$ – дано по сравнению с группой сравнения, $p3$ – дано по сравнению с группой женщин с эндометриозом 1-2 стадии.

Данные, характеризующие наличие экстрагенитальной патологии в анамнезе обследованных женщин, приведены в Таблице 3.6. Как видно из

представленных результатов, у 16,67% женщин контрольной группы, 14,9% женщин с эндометриозом 1-2 стадии, 9,43% женщин с эндометриозом 3-4 стадии и 6,9% женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия встречалась патология желудочно-кишечного тракта (хронический гастрит, хронический гастродуоденит) ($p > 0,05$ во всех случаях). Хронические заболевания нервной системы, включавшие в себя в основном остеохондроз и вегетососудистую дистонию, встречались у 3 (1,86%) женщин с «малыми» формами эндометриоза, 1 (3,45%) женщины с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. В контрольной группе и группе женщин с распространенным эндометриозом этой патологии выявлено не было ($p > 0,05$ во всех случаях). Также нами не было выявлено достоверных различий по частоте встречаемости сердечно-сосудистых заболеваний среди пациенток всех групп наблюдения: эта патология была отмечена у 7 (11,67%) женщин контрольной группы, у 14(8,69%) женщин с эндометриозом 1-2 стадии, у 2 (3,77%) женщин с эндометриозом 3-4 стадии и у 2 (6,9%) женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия ($p > 0,05$ во всех случаях).

Хронические заболевания мочевыводящей системы достоверно чаще встречались у женщин с эндометриозом 3-4 стадии (15,08%) по сравнению с группой контроля (3,33%) ($p < 0,05$). У женщин с «малыми» формами эндометриоза достоверно чаще, чем при распространенном эндометриозе встречались заболевания дыхательной системы, в частности, бронхиальная астма ($p < 0,05$). Кроме того, эта группа характеризовалась более высокой частотой встречаемости заболеваний щитовидной железы по сравнению с контрольной группой ($p < 0,02$) и с группой пациенток с распространенным эндометриозом ($p < 0,05$). Женщины 1 основной группы также характеризовались повышенной частотой аллергических реакций по сравнению с контрольной группой) ($p < 0,05$). У пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия достоверно чаще, чем в контрольной группе, в анамнезе отмечались оперативные вмешательства на органах

брюшной полости по сравнению с контрольной группой ($p < 0,02$, ОР 1,138; ДИ 95% 3,822).

Таблица 3.6.
Структура экстрагенитальной патологии в анамнезе пациенток основных клинических групп наблюдения

Показатель	Контроль-ная группа n=60		1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадий) n=161		2 основная группа (эндометриоз 3-4стадий) n=53		Группа сравнения (трубно- перитонеальный фактор бесплодия) n=29	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Хронические заболевания желудочно-кишечного тракта	10	16,67	24	14,9	5	9,43	2	6,9
Хронические заболевания нервной системы	0	0	3	1,86	0	0	1	3,45
Хронические заболевания мочевыделительной системы	2	3,33	14	8,69	8	15,08 $p1 < 0,05$	3	10,34
Относительный риск (95% ДИ)					1,831 (1,253-2,677)			
Хронические заболевания дыхательной системы	7	11,67	18	11,18	2	3,77 $p3 < 0,05$	3	10,34
Хронические заболевания сердечно-сосудистой системы	7	11,67	14	8,69	2	3,77	2	6,9

Заболевания щитовидной железы	1	1,67	13	8,07 p1<0,02	1	1,9 p3<0,05	1	3,45
Аллергические реакции	6	10	32	19,88 p1<0,05	7	13,2	4	13,9
Относительный риск (95% ДИ)			1,195 (1,011-1,411)					
Оперативные вмешательства	19	31,67	67	39,75	20 3	7,74	17	58,6 p1<0,02
Относительный риск (95% ДИ)							2,086 (1,138-3,822)	

Примечание: p1 - дано по сравнению с контрольной группой, p2 – дано по сравнению с группой сравнения, p3 – дано по сравнению с группой женщин с эндометриозом 1-2 стадии.

Мы оценили результаты гистологического исследования биоптатов эндометрия обследованных женщин (Таблица 3.7.), которые показали, что у 76,4% женщин с эндометриозом 1-2 стадии, 67,9% женщин с эндометриозом 3-4 стадии и 68,9% женщин группы сравнения эндометрий соответствовал фазе менструального цикла ($p > 0,05$ во всех случаях). У женщин 2 основной группы железисто-кистозная гиперплазия эндометрия встречалась достоверно чаще по сравнению с 1 основной группой (47,2% против 26,7%, $p < 0,01$) и не отличалась от группы сравнения (31%). В группе женщин с трубным фактором достоверно чаще диагностировался хронический эндометрит (72,4%) по сравнению с группами женщин с «малыми» (37,3%, $p < 0,001$) и распространенными (43,4%, $p < 0,01$) формами эндометриоза.

Таблица 3.7.

Результаты гистологического исследования биоптатов эндометрия пациенток основных клинических групп наблюдения

Анализируемый показатель	Контрольная группа	1 основная группа (эндометриоз 1-2)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадий)	Группа сравнения
--------------------------	--------------------	-------------------------------------	--	------------------

	n = 60		стадий) n=161		n=53		n = 29	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Соответствует фазе менструального цикла	0	0	123	76,4	36	67,9	20	68,9
Железисто-кистозная гиперплазия эндометрия	0	0	43	26,7	25	47,2 p3<0,01	9	31,0
Хронический эндометрит	0	0	60	37,3 p2<0,001	23	43,4 p2<0,01	21	72,4

Примечание: p2 – дано по сравнению с группой сравнения, p3 – дано по сравнению с группой женщин с эндометриозом 1-2 стадии.

Нами также была проведена оценка инфекционного статуса пациенток основных клинических групп (Таблица 3.8.). Женщины всех групп были обследованы на наличие антител класса IgA, IgM, IgG к таким инфекциям, как: HSV 1-2 типа, CMV, EBV, Ureaplasma urealyticum, Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis, Toxoplasma gondii, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia pneumoniae (Таблица 8). Наличие маркеров острого вирусного инфицирования (IgM антитела к HSV 1-2 типа, CMV, EBV) было выявлено у 38,64% женщин контрольной группы, 54,21% женщин с эндометриозом 1-2 стадии, 57,58% женщин с эндометриозом 3-4 стадии, 68% женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. Достоверных отличий по этому показателю у пациенток 1 и 2 основных групп по сравнению с контрольной группой нами выявлено не было ($p > 0,05$ во всех случаях). В группе сравнения маркеры острого вирусного инфицирования были выявлены у 68% женщин, что было достоверно чаще, чем в контрольной группе ($p < 0,05$, OR 2,188; ДИ 95% 1,091-4,384). Маркеры острого бактериального инфицирования (IgM антитела к Chlamydia trachomatis, IgA антитела к Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum) были отмечены у 29,55% здоровых фертильных женщин, 39,25% женщин с «малыми» формами

эндометриоза, 27,27% женщин с распространенным эндометриозом и у 64% женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. Достоверные различия по этому показателю отмечались в группе сравнения, где этот показатель был выше, чем у женщин контрольной группы ($p < 0,01$; ОР 2,452; ДИ 95% 1,265-4,754) и у пациенток с эндометриозом 1-2 и 3-4 стадий ($p < 0,05$, $p < 0,01$, соответственно).

Хроническое бактериальное инфицирование, которое мы диагностировали по наличию IgG антител к *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Toxoplasma gondii*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, было выявлено у 78,5% женщин с эндометриозом 1-2 стадии, что достоверно чаще, чем в контрольной группе (25%) ($p < 0,05$; ОР 1,361; ДИ 95% 1,019-1,819). У женщин с эндометриозом 3-4 стадии маркеры хронического бактериального инфицирования выявлялись в 66,67%, что статистически не отличалось от показателей контрольной группы ($p > 0,05$). Следует особо отметить, что практически у всех пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия выявлялись маркеры хронического бактериального инфицирования (в 92% случаях), что достоверно отличало эту группу как от контрольной группы ($p < 0,01$, ОР 4,694; ДИ 95% 1,219-18,072), так и от 2-ой основной группы наблюдения ($p < 0,02$). Сочетание хронического и острого бактериального инфицирования отмечалось у 25% женщин контрольной группы, у 35,5% женщин 1-ой основной группы, у 21,21% пациенток 2-ой основной группы и у 64% женщин группы сравнения. Достоверные различия по этому показателю отмечались в группе сравнения, где этот показатель был выше, чем в контрольной группе ($p < 0,01$; ОР 2,765, ДИ 95% 1,432-5,341) и в группах женщин с эндометриозом 1-2 стадии и с эндометриозом 3-4 стадий ($p < 0,02$, $p < 0,01$ соответственно). Сочетание бактериальной и вирусной инфекции чаще, чем у здоровых фертильных женщин (22,7%), было отмечено у женщин с «малыми» формами эндометриоза (42,99%), ($p < 0,02$; ОР 1,279; ДИ 95% 1,054-1,552), и у

пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия (60%) ($p < 0,01$; ОР 2,64; ДИ 95% 1,403-4,966).

Таблица 3.8.

Характеристика частоты встречаемости маркеров бактериально-вирусного инфицирования у пациенток основных клинических групп наблюдения

Показатель	Контроль- ная группа n=44		1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадий) n=107		2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадий) n=33		Группа сравнения (хронически й сальпингит) n=25	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Острое вирусное инфицирование	17	38,64	58	54,21	19	57,58	17	68 $p1 < 0,05$
Относительный риск (95% ДИ)							2,188(1,091- 4,384) $p < 0,05$	
Острое бактериальное инфицирование	13	29,55	42	39,25 $p2 < 0,05$	9	27,27 $p2 < 0,01$	16	64 $p1 < 0,01$
Относительный риск (95% ДИ)							2,452(1,265- 4,754) $p < 0,05$	
Хроническое бактериальное инфицирование	26	59,1	84	78,5 $p1 < 0,05$	22	66,67 $p2 < 0,02$	23	92 $p1 < 0,01$
Относительный риск (95% ДИ)			1,361(1,019- 1,819) $p < 0,05$				4,694(1,219- 18,072) $p < 0,05$	
Хроническое и острое бактериальное инфицирование	11	25	38	35,5 $p2 < 0,02$	7	21,21 $p2 < 0,01$	16	64 $p1 < 0,01$
Относительный риск (95% ДИ)							2,765(1,432- 5,341)	
Сочетание бактериальной и вирусной инфекции	10	22,7	46	42,99 $p1 < 0,02$	13	39,39	15	60 $p1 < 0,01$
Относительный риск (95% ДИ)			1,279(1,054- 1,552) $p < 0,05$				2,64(1,403- 4,966) $p < 0,05$	

Примечание: $p1$ - дано по сравнению с контрольной группой, $p2$ – дано по сравнению с группой сравнения, $p3$ – дано по сравнению с группой женщин с эндометриозом 1-2 стадии.

Таким образом, пациентки с эндометриозом 1-2 стадий, составившие 1-ю основную клиническую группу наблюдения, характеризовались более высокой частотой встречаемости по сравнению с женщинами контрольной группы альгоменореи, воспалительных заболеваний органов малого таза, гиперпролактинемии, заболеваний щитовидной железы, аллергических реакций в анамнезе, маркеров хронической бактериальной инфекции, а также сочетания наличия маркеров вирусного и бактериального инфицирования. У этих пациенток достоверно реже были в анамнезе своевременные роды, и они реже использовали контрацепцию по сравнению со здоровыми женщинами. Пациенток 1-ой клинической группы отличало от группы женщин с бесплодием, обусловленным трубно-перитонеальным фактором, сниженная частота медицинских аборт в анамнезе и воспалительных заболеваний органов малого таза, а также меньшее число случаев наличия маркеров острой бактериальной инфекцией и сочетания острого и хронического бактериального инфицирования.

Факторами риска, ассоциированными с эндометриозом 1-2 стадий, по нашим данным являются воспалительные заболевания органов малого таза (ОР 3,9 ДИ 95% 1,6-9,8); аллергические реакции в анамнезе (ОР 1,195, ДИ 1,011-1,411); наличие маркеров хронической бактериальной инфекции (ОР 1,362 1,019-1,819); и сочетание бактериальной и вирусной инфекции (ОР 1,279 ДИ 95% 1,054-1,552).

У женщин 2-й основной клинической группы наблюдения достоверно чаще, чем у здоровых фертильных женщин, была диагностирована альгоменорея, заболевания мочевыделительной системы, но реже отмечались беременности и своевременные роды в анамнезе. По сравнению с группой с трубно-перитонеальным фактором бесплодия у женщин с эндометриозом 3-4 стадии достоверно чаще диагностировались альгоменорея и первичное бесплодие, но реже отмечались воспалительные заболевания органов малого таза в анамнезе, вторичное бесплодие острые и с меньшей частотой выявлялись маркеры хронического бактериального инфицирования и их

сочетание. Факторами риска, ассоциированными с развитием распространенных форм эндометриоза и бесплодия, являются заболевания мочевыводящей системы (хронический пиелонефрит) (ОР 1,831 ДИ 1,253-2,677).

Между собой пациенток 1-ой и 2-ой клинических групп отличало то, что у женщин с «малыми» формами эндометриоза по сравнению с женщинами с распространенными формами эндометриоза достоверно чаще в анамнезе отмечались воспалительные заболевания малого таза, заболевания дыхательной системы и щитовидной железы, у этих женщин чаще диагностировалось вторичное бесплодие. При этом женщины с эндометриозом 3-4 стадии чаще, чем пациентки с эндометриозом 1-2 стадий, предъявляли жалобы на альгоменорею, у них было меньше беременностей, ранних и поздних выкидышей в анамнезе и чаще отмечалось первичное бесплодие.

Женщин группы сравнения отличало от женщин контрольной группы наличие альгоменореи, меньшее количество беременностей и своевременных родов в анамнезе, частые воспалительные заболевания органов малого таза и оперативные вмешательства на органах брюшной полости, у этих женщин чаще по сравнению со здоровыми выявлялись маркеры острого и хронического бактериального инфицирования и их сочетание, маркеры острой вирусной инфекции и ее сочетание с бактериальной. Факторами риска, ассоциированными с трубно-перитонеальным бесплодием, являлись воспалительные заболевания малого таза (ОР 11,1 ДИ 95% 3,6-33,8); оперативные вмешательства в анамнезе (ОР 3,1, ДИ 95% 1,-7,7); острое (ОР 2,45, ДИ 95% 1,275-4,755) и хроническое (ОР 4,694, ДИ 95% 1,219-18,072) бактериальное инфицирование и их сочетание (ОР 2,765, ДИ 95% 1,432-5,312), наличие острой вирусной инфекции (ОР 2,18, ДИ 95% 1,1-4,4) и сочетание ее с бактериальной (ОР 2,64, ДИ 95% 1,403-4,966).

Глава 4. ОСОБЕННОСТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ И АКТИВАЦИИ В-ЛИМФОЦИТОВ НА СИСТЕМНОМ И ЛОКАЛЬНОМ УРОВНЕ У ПАЦИЕНТОК С БЕСПЛОДИЕМ И ЭНДОМЕТРИОЗОМ

В настоящее время широко распространена гипотеза о том, что развитие эндометриоза связано с аутоиммунными нарушениями, ведущими к усиленной выработке аутоантител, которые играют важную роль как в механизмах формирования эндометриоидных очагов, так и в нарушении репродуктивной функции у пациенток с эндометриозом [22; 62; 114]. Как известно, основной клеточной популяцией иммунокомпетентных клеток, участвующих в развитии гуморальных иммунных реакций, являются В-лимфоциты и образующиеся из них плазматические клетки [169; 37]. Уровень их активации и особенности дифференцировки непосредственно связаны с выработкой антител, в том числе и аутоантител. Однако при эндометриозе до сих пор остается практически не изученным функциональное состояние В-лимфоцитов. Нет данных о содержании наивных В-лимфоцитов, клеток памяти и плазматических клеток в периферической крови и в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и бесплодием. Не изучен процесс регуляции активности В-лимфоцитов при эндометриозе. В связи с этим, в нашем исследовании мы оценили особенности общего содержания В-лимфоцитов (CD19+, CD20+ клетки), В1-лимфоцитов (CD20+CD5+ клетки), плазматических клеток (CD19+CD20-CD38+ лимфоциты). Нами также был проведен анализ особенностей системной и локальной дифференцировки В-лимфоцитов при эндометриозе, для чего мы определяли общее содержание В-клеток памяти (CD19+CD27+) и наивных В-лимфоцитов (CD19+CD27-). По последним данным литературы более полное представление о характере функционирования наивных В-лимфоцитов и В-клеток памяти дает изучение особенностей экспрессии на их поверхности IgD молекул. В связи с этим, мы провели оценку содержания классических наивных CD19+IgD+CD27-B-

клеток и переключенных В-клеток памяти с фенотипом CD19+IgD-CD27+, а также уровня непереключенных CD19+IgD+CD27+ клеток памяти и двойных негативных CD19+IgD-CD27- В-лимфоцитов. Уровень активации В-лимфоцитов определяли по экспрессии в пуле CD20+ лимфоцитов CD86 молекул. Особенности регуляции реакций гуморального звена иммунитета мы оценивали по количеству регуляторных В-клеток (CD20+IL-10+), а также по содержанию в периферической крови и в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и бесплодием фактора APRIL.

4.1. Особенности дифференцировки и активации В-лимфоцитов крови у пациенток с бесплодием и эндометриозом

Данные, характеризующие общее содержание В-лимфоцитов и плазматических клеток в периферической крови пациенток с эндометриозом и бесплодием, представлены в таблицах 4.1.1-4.1.5. Как видно из приведенных данных, общее содержание В-лимфоцитов, которое мы оценивали по уровню клеток с фенотипом CD20+ и CD19+, в периферической крови пациенток с эндометриозом различной степени тяжести достоверно не отличалось от показателей контрольной группы и группы сравнения (Таблица 4.1.1., 4.1.2.). Различий по этим параметрам у женщин группы сравнения и контрольной группы нами также отмечено не было ($p > 0,05$, во всех случаях).

Таблица 4.1.1.

Характеристика содержания CD19+лимфоцитов в периферической крови пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель	Контрольная группа (n=31)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=35)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=26)	Группа сравнения (трубный фактор) (n=27)
CD19+	4,7 (3,8-5,6)	4,4 (3,8-5,6)	4,6 (4,3-5,1)	4,6 (3,3-5,1)

Примечание: данные представлены в виде медиан с указанием перцентилей (Me (Q25%-Q75%)).

Содержание В1-клеток в периферической крови женщин с «малыми» формами эндометриоза было достоверно выше по сравнению с контролем ($p=0,005$) и группой сравнения ($p=0,000$). В группе женщин с распространенными формами эндометриоза этот показатель был также достоверно повышен по сравнению с контрольной группой ($p=0,005$) и с группой женщин с трубным фактором бесплодия ($p=0,001$). Содержание В1-лимфоцитов в группе сравнения не отличалось от аналогичного в группе здоровых женщин ($p > 0,05$) (Таблица 4.1.2.).

Уровень плазматических CD19+CD20-CD38+ клеток у пациенток с эндометриозом 1-2 стадии был более, чем в 2 раза повышен по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы ($p=0,003$) и группы сравнения ($p=0,021$). В группе женщин с эндометриозом 3-4 стадии содержание плазматических клеток было выше, чем у здоровых фертильных женщин группой контроля ($p = 0,026$), но не отличалось от такового у пациенток с трубным фактором бесплодия ($p > 0,05$). Мы также не выявили значительных различий в содержании плазматических клеток у женщин группы сравнения и у здоровых женщин ($p > 0,05$) (Таблица 4.1.2.).

Таблица 4.1.2.

Характеристика содержания CD20+В-лимфоцитов, В-1 лимфоцитов и плазматических клеток в периферической крови пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, %	Контрольная группа (n=31)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=36)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=27)	Группа сравнения (трубный фактор) (n=27)
CD20+	4,76±0,32	4,18±0,17	4,70±0,25	4,40±0,36
CD20+CD5+	1,5±0,11	2,03±0,14 p1=0,005 p2=0,000	2,45±0,28 p1=0,005 p2=0,001	1,24±0,13
CD19+CD20- CD38+	2,03±0,38	5,58±1,06 p1=0,003 p2=0,021	4,62±1,03 p1=0,026	2,89±0,39

Примечание: p1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения.

Анализ данных, характеризующих особенности дифференцировки периферических В-лимфоцитов при эндометриозе, показал, что в периферической крови пациенток с эндометриозом 1-2 стадии содержание В-клеток памяти с фенотипом CD19+CD27+ было достоверно ниже, а количество наивных CD19+CD27- В-лимфоцитов, напротив, было значительно выше показателей женщин группы контроля ($p=0,001$ в обоих случаях) и группы сравнения ($p=0,000$ в обоих случаях) (Таблица 4.1.3.). Аналогичные изменения были выявлены в группе женщин с эндометриозом 3-4 стадии: уровень В-клеток памяти в этой группе был снижен, а содержание наивных В-лимфоцитов - повышено по сравнению с группой здоровых женщин и группой женщин с трубным фактором бесплодия ($p=0,000$ во всех случаях).

Анализ субпопуляций наивных В-лимфоцитов и клеток памяти с различной экспрессией IgD молекул показал, что у женщин с «малыми» формами эндометриоза отмечалось значительное увеличение пула «классических» непереключенных наивных CD19+IgD+CD27- В-лимфоцитов и снижение содержания переключенных клеток памяти CD19+IgD-CD27+ по сравнению с аналогичными показателями здоровых женщин ($p=0,006$, $p=0,032$, соответственно). От группы сравнения пациентки I основной группы отличались более высоким содержанием непереключенных наивных В-клеток и сниженным уровнем двойных негативных CD19+IgD-CD27- лимфоцитов ($p=0,000$, $p=0,010$, соответственно) (Таблица 4.1.3.).

У женщин с распространенными формами эндометриоза отмечались те же изменения, что и при «малых» формах эндометриоза: содержание переключенных CD19+IgD-CD27+ В-клеток памяти было снижено, а уровень непереключенных наивных CD19+IgD+CD27- В-лимфоцитов был повышен по сравнению с показателями здоровых женщин ($p=0,001$, $p=0,032$, соответственно). Уровень IgD- клеток памяти и наивных В-лимфоцитов был выше, а IgD+ наивных В-лимфоцитов – выше, чем у пациенток с трубным

фактором бесплодия ($p=0,046$, $p=0,030$, $p=0,001$, соответственно) (Таблица 4.1.3.).

У пациенток группы сравнения не было выявлено изменений параметров, характеризующих дифференцировку В-лимфоцитов, по сравнению с показателями контрольной группы ($p > 0,05$ во всех случаях) (Таблица 4.1.3.).

Таблица 4.1.3.

Характеристика содержания наивных клеток и клеток памяти в популяции периферических В-лимфоцитов у пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, %	Контрольная группа (n=31)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=36)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=27)	Группа сравнения (трубный фактор) (n=27)
CD19+ CD27+	33,09±1,32	26,45±1,11 $p_1=0,000$ $p_2=0,000$	24,90±1,27 $p_1=0,000$ $p_2=0,000$	32,71±1,03
CD19+ CD27-	66,98±1,34	73,55±1,12 $p_1=0,000$ $p_2=0,000$	75,05±1,27 $p_1=0,000$ $p_2=0,000$	67,29±1,03
CD19+ IgD-CD27+	22,81±1,23	19,02±1,15 $p_1=0,032$	18,09±1,68 $p_1=0,032$ $p_2=0,046$	22,48±1,26
CD19+ IgD+CD27+	10,45±0,67	9,05±0,95	9,26±0,91	9,71±0,82
CD19+ IgD+CD27-	42,21±1,58	50,11±2,13 $p_1=0,006$ $p_2=0,000$	50,01±2,30 $p_1=0,009$ $p_2=0,001$	39,34±1,56
CD19+ IgD-CD27-	24,59±1,48	22,72±1,35 $p_2=0,017$	22,78±1,73 $p_2=0,030$	28,73±1,98

Примечание: p_1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p_2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения.

Для уточнения особенностей дифференцировки В-лимфоцитов при эндометриозе мы проанализировали уровень CD19+ лимфоцитов в зависимости от наличия или отсутствия мембранной экспрессии IgD молекул (Таблица 4.1.4.). Нами были выявлены однонаправленные изменения содержания IgD+ и IgD- В-лимфоцитов в периферической крови пациенток с эндометриозом как 1-2, так и 3-4 стадий: уровень IgD+ В-лимфоцитов лимфоцитов был выше, а IgD- В-клеток - ниже, чем у здоровых женщин

($p=0,009$, $p=0,029$, $p=0,021$, $p=0,031$, соответственно) и женщин с трубным фактором бесплодия ($p=0,000$, $p=0,001$, $p=0,000$, $p=0,000$, соответственно).

Таблица 4.1.4.

Особенности содержания CD19+IgD+, CD19+IgD-клеток в популяции В-лимфоцитов крови пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, %	Контрольная группа (n=21)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=13)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=14)	Группа сравнения (трубный фактор) (n=20)
CD19+IgD+	52 (49,9-56,4)	56,9 (54,9-65,9) $p_1=0,009$ $p_2=0,000$	58,3 (52,1-64,2) $p_1=0,021$ $p_2=0,000$	48,7 (47,6-51,5)
CD19+IgD-	48(43,6-51)	43,2(36-46,4) $p_1=0,029$ $p_2=0,001$	41,7(35,8-48,2) $p_1=0,031$ $p_2=0,000$	51,65(48,5-52,6)

Примечание: данные представлены в виде медиан с указанием перцентилей (Me (Q25%-Q75%)).

p_1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p_2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения.

В таблице 4.1.5. представлены данные, характеризующие особенности экспрессии костимуляторной молекулы CD86 в пуле CD20+ клеток, что позволяет судить об уровне активации В-лимфоцитов. Нами было установлено, что содержание активированных CD86+ В-лимфоцитов в периферической крови обеих женщин обеих групп с эндометриозом, а также у пациенток с трубным фактором бесплодия было повышено по сравнению с показателем женщин контрольной группы ($p=0,004$, $p=0,000$, $p=0,018$ соответственно).

Таблица 4.1.5.

Характеристика содержания активированных В-лимфоцитов в периферической крови пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, %	Контрольная группа (n=31)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=34)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=27)	Группа сравнения (трубный фактор) (n=22)
CD20+	11,96±1,19	17,47±1,45	20,04±1,87	21,57±3,63
CD86+		$p_1=0,004$	$p_1=0,000$	$p_1=0,018$

Примечание: p_1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p_2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения.

Таким образом, в периферической крови женщин с эндометриозом вне зависимости от стадии процесса было выявлено высокое содержание В1-клеток, плазматических, IgD+ В-клеток и наивных CD19+CD27- лимфоцитов преимущественно в пуле классических непереключенных В-лимфоцитов при сниженном уровне клеток памяти в популяции переключенных IgD- В-лимфоцитов и уменьшении общего количества IgD- В-лимфоцитов по сравнению с контролем и группой сравнения. От пациенток группы сравнения женщин основных клинических групп наблюдения отличало сниженное содержание IgD-CD27- В-лимфоцитов. Уровень активированных CD20+CD86+ В-лимфоцитов был повышен в крови пациенток с эндометриозом и с трубным фактором бесплодия.

4.2. Особенности дифференцировки и активации В-лимфоцитов перитонеальной жидкости у пациенток с бесплодием и эндометриозом

Для уточнения особенностей функционирования В-лимфоцитов в перитонеальной полости, где они могут непосредственно контактировать с клетками эндометриоидных очагов, мы провели оценку содержания различных популяций В-лимфоцитов и особенностей их дифференцировки в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и бесплодием. Полученные данные представлены в таблицах 4.2.1- 4.2.4.

Как видно из приведенных результатов, общее содержание В-лимфоцитов, оцениваемое по экспрессии маркеров CD19 и CD20, в перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом 1-2 стадии и в группе женщин с эндометриозом 3-4 стадии не отличалось от показателей контрольной группы ($p > 0,05$ во всех случаях) (Таблицы 4.2.1., 4.2.2).

Таблица 4.2.1.

Характеристика содержания CD19+-лимфоцитов в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, %	Контрольная группа (n=13)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=34)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=24)	Группа сравнения (трубный фактор) (n=25)
CD19+	2,2(1,9-2,5)	2,2(1,6-2,8) p2=0,004	2,1(1,5-2,95) p2=0,012	1,4(1,1-1,7) p1=0,010

Примечание: данные представлены в виде медиан с указанием перцентилей (Me (Q25%-Q75%)).

p1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения.

Уровень CD20+CD5+ В1-лимфоцитов в перитонеальной жидкости женщин 1 основной группы был достоверно повышен по сравнению с показателем группы контроля ($p=0,032$), тогда как у пациенток 2 основной группы этот показатель не имел статистически значимых отличий от контрольных значений ($p>0,05$). Содержание плазматических клеток в перитонеальной жидкости женщин как с «малыми», так и с распространенными формами эндометриоза было достоверно выше, чем у здоровых женщин ($p=0,000$, $p=0,001$ соответственно). Для пациенток группы сравнения было характерно сниженное как по сравнению с контрольной группой, так и с показателями обеих групп пациенток с эндометриозом содержание CD19+ лимфоцитов ($p=0,010$, $p=0,004$, $p=0,012$, соответственно) (Таблица 4.2.1.). Уровень CD20+, CD20+CD5+ лимфоцитов и содержание плазматических клеток в перитонеальной жидкости пациенток этой клинической группе был значительно ниже показателей женщин с эндометриозом как 1-2 стадии ($p=0,000$, $p=0,032$, $p=0,000$, соответственно), так и 3-4 стадии ($p=0,000$, $p=0,005$ и $p=0,036$, соответственно) (Таблица 4.2.2.).

Таблица 4.2.2.

Характеристика содержания В-лимфоцитов и плазматических клеток в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, %	Контрольная группа (n=13)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=34)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=25)	Группа сравнения (трубный фактор) (n=25)
CD20+	2,45±0,24	2,69±0,16 p2=0,000	2,73±0,19 p2=0,000	1,68±0,17
CD20+CD5+	1,53±0,34	2,47±0,18 p1=0,032 p2=0,000	2,29±0,20 p2=0,005	1,44±0,19
CD19+CD20- CD38+	3,03±0,53	6,67±0,74 p1=0,000 p2=0,042	7,48±1,15 p1=0,001 p2=0,036	4,58±0,68

Примечание: p1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения.

Изменения дифференцировки В-лимфоцитов в перитонеальной жидкости были аналогичны описанным выше особенностям дифференцировки периферических В-лимфоцитов: в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом как 1-2, так и 3-4 стадий содержание В-клеток памяти было достоверно ниже, а количество наивных В-лимфоцитов – выше, чем в контрольной группе и в группе сравнения ($p=0,000$ во всех случаях). Следует отметить, что выявленные изменения коррелировали со стадией эндометриоза и при распространенном эндометриозе были выражены значительно сильнее, чем при «малых» формах эндометриоза ($p=0,042$, $p=0,028$, соответственно) (Таблица 4.2.3.). Изменения в пуле клеток памяти при эндометриозе происходили как за счет «классических» переключенных IgD- В-лимфоцитов, так и за счет непереключенных клеток. Так, содержание и CD19+IgD-CD27+ клеток, и CD19+IgD+CD27+ лимфоцитов у пациенток с «малыми» и распространенными формами эндометриоза было выше, чем у здоровых женщин ($p=0,049$, $p=0,037$, $p=0,014$, $p=0,005$, соответственно) и женщин группы сравнения ($p=0,024$, $p=0,005$, $p=0,019$, $p=0,001$,

соответственно) (Таблица 4.2.3.). Изменение содержания наивных В-лимфоцитов в обеих группах пациенток с эндометриозом происходило только в пуле непереключенных IgD- клеток и характеризовалось значительным повышением этого показателя как по сравнению с контрольной группой ($p=0,005$, $p=0,016$), так и по сравнению в группой пациенток с трубным фактором бесплодия ($p=0,000$, $p=0,001$, соответственно). Изменений в содержании IgD-негативных наивных В-клеток у женщин как основных групп, так и группы сравнения мы не отметили ($p>0,05$, во всех случаях). Выраженные изменения в экспрессии IgD молекул В-лимфоцитами были отмечены нами только у пациенток с эндометриозом 1-2 стадий. В этой группе количество IgD+ В-лимфоцитов было выше, а IgD- - напротив, ниже показателей группы сравнения ($p=0,011$, $p=0,010$, соответственно).

Таблица 4.2.3.

Особенности содержания наивных клеток и клеток памяти в популяции В-лимфоцитов перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, %	Контрольная группа (n=13)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=34)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=24)	Группа сравнения (трубный фактор) (n=25)
CD19+CD27+	41,25±2,45	28,96±1,41 $p1=0,000$ $p2=0,000$	25,10±1,20 $p1=0,000$ $p2=0,000$ $p3=0,042$	38,39±1,66
CD19+CD27-	58,82±2,46	70,92±1,46 $p1=0,000$ $p2=0,000$	75,14±1,17 $p1=0,000$ $p2=0,000$ $p3=0,028$	61,72±1,69
CD19+IgD- CD27+	18,95±2,64	12,34±1,71 $p1=0,049$ $p2=0,024$	11,76±1,85 $p1=0,037$ $p2=0,019$	18,25±1,81
CD19+ IgD+CD27+	22,98±2,52	14,81±1,69 $p1=0,014$ $p2=0,005$	13,28±1,74 $p1=0,005$ $p2=0,001$	21,69±1,55
CD19+ IgD+CD27-	28,6±4,24	44,51±2,67 $p1=0,005$ $p2=0,000$	43,17±3,69 $p1=0,016$ $p2=0,001$	26,09±1,65
CD19+ IgD-CD27-	29,68±3,22	28,33±2,8	30,60±3,89	34,00±1,99
CD19+IgD+	51,58±3,99	59,32±3,65	56,44±3,73	47,78±1,96

		p2=0,011		
CD19+IgD-	48,63±4,01	40,67±3,63 p2=0,010	43,59±3,74	52,25±1,96

Примечание: p1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения, p3 – коэффициент достоверности различий с группой женщин с эндометриозом 1-2 стадий.

Нами было установлено, что содержание активированных В-лимфоцитов в перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом 1-2 стадии и 3-4 стадии, а также у пациенток с трубным фактором бесплодия было выше, чем у здоровых фертильных женщин по сравнению с контрольной группой (p=0,022, p=0,011, p=0,045 соответственно) (Таблица 4.2.4.).

Таблица 4.2.4.

Характеристика содержания активированных CD86+В-лимфоцитов в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, %	Контрольная группа (n=13)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=33)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=25)	Группа сравнения (трубный фактор) (n=22)
CD20+CD86+	19,3±1,85	25,62±1,89 p1=0,022	26,37±1,83 p1=0,011	25,44±2,29 p1=0,045

Примечание: p1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой.

Таким образом, в перитонеальной жидкости обеих групп пациенток с бесплодием и эндометриозом повышено количество плазматических лимфоцитов, наивных классических CD19+IgD+CD27- В-лимфоцитов и снижено содержание IgD+ и IgD- клеток памяти по сравнению как контрольной группой, так и с группой сравнения. Изменения количества наивных В-лимфоцитов и В-клеток памяти в перитонеальной жидкости зависели от стадии заболевания и были выражены сильнее при распространенном эндометриозе. Только для женщин с эндометриозом 1-2 стадии было характерно повышение общего количества В1 лимфоцитов по сравнению с контрольной группой и увеличение IgD+ В-клеток при сниженном содержании IgD- В-лимфоцитов по сравнению с группой с

трубным фактором бесплодия. У пациенток с группы сравнения уровень перитонеальных В-лимфоцитов, В-1 лимфоцитов и плазматических клеток был существенно снижен по сравнению с показателями инфертильных пациенток с эндометриозом. Для всех женщин с бесплодием независимо от его этиологии было характерно высокое содержание активированных CD86+ В-лимфоцитов в перитонеальной жидкости.

4.3. Регуляция активности В-лимфоцитов на системном и локальном уровне при эндометриозе и связанном с ним бесплодии

Для выявления возможных факторов, влияющих на регуляцию дифференцировки и активности В-лимфоцитов на системном и локальном уровне при эндометриозе, мы оценили содержание регуляторных В-лимфоцитов с фенотипом CD20+IL-10+ в периферической крови и перитонеальной жидкости пациенток обследованных клинических групп наблюдения. Полученные результаты представлены в таблицах 4.3.1. - 4.3.2.

Нами было установлено, что у пациенток с эндометриозом вне зависимости от его стадии в периферической крови женщин было значительно снижено количество регуляторных В-лимфоцитов как по сравнению с контрольной группой, так и по сравнению с женщинами с трубным фактором бесплодия ($p=0,000$ во всех случаях) (Таблица 4.3.1.) Следует отметить, что в группе сравнения уровень CD20+IL-10+ лимфоцитов тоже был ниже, чем у здоровых фертильных женщин ($p=0,049$).

Таблица 4.3.1.

Характеристика содержания регуляторных CD20+IL-10+В-лимфоцитов в периферической крови пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, %	Контрольная группа (n=29)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=25)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=20)	Группа сравнения (трубный фактор) (n=19)
CD20+IL-10+	30,59±1,37	14,66±1,00 p1=0,000 p2=0,000	17,14±1,60 p1=0,000 p2=0,000	26,91±1,19 p1=0,049

Примечание: p_1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p_2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения.

В перитонеальной жидкости мы выявили изменения, аналогичные тем, которые отмечались на системном уровне. Так, по нашим данным, у пациенток 1-й и 2-й основных клинических групп наблюдения достоверно снижался уровень CD20+IL-10+ лимфоцитов по сравнению с контрольной группой ($p=0,001$, $p=0,000$) и группой сравнения ($p=0,002$, $p=0,000$) (Таблица 4.3.2.).

Таблица 4.3.2.

Особенности содержания регуляторных CD20+IL-10+В-лимфоцитов в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель	Контрольная группа (n=11)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=24)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=19)	Группа сравнения (трубный фактор) (n=18)
CD20+IL-10+	29,9 (25,9-36,3)	16,35 (13,15-27,25) $p_1=0,001$ $p_2=0,002$	15,4 (11,7-21,4) $p_1=0,000$ $p_2=0,000$	23,5 (21,8-30,8)

Примечание: данные представлены в виде медиан с указанием перцентилей (Me (Q25%-Q75%)).

p_1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p_2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения.

Известно, что важную роль в развитии В-зависимого иммунного ответа играет фактор APRIL, который индуцирует пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов [53]. Анализ особенностей продукции APRIL у пациенток с эндометриозом и бесплодием (таблица 4.3.3.) показал, что при эндометриозе 1-2 стадий содержание этого фактора как на системном, та и на локальном уровне достоверно не отличалось от показателей контрольной группы. В то же время в перитонеальной жидкости пациенток с распространенным эндометриоза уровень APRIL был достоверно снижен по сравнению с контрольными значениями ($p=0,043$). В перитонеальной жидкости пациенток группы сравнения мы выявили достоверное снижение

уровня APRIL по сравнению с контрольной группой ($p=0,015$). Следует также отметить, что у пациенток с хроническим сальпингитом системная и локальная продукция этого фактора была ниже, чем у пациенток с эндометриозом 1-2 стадий ($p=0,045$, $p=0,020$). (Таблица 4.3.2.)

Таблица 4.3.3.

Особенности системной и локальной продукции APRIL у пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, нг/мл	Контрольная группа (n=7)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=16)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=12)	Группа сравнения (трубный фактор) (n=8)
Периферическая кровь	1,52 (1,242-1,906)	1,356 (1,064-3,508) $p_2=0,045$	1,407 (0,698-1,969)	0,945 (0,854-1,664)
Перитонеальная жидкость	4,076 (3,754-5,916)	2,828 (2,113-4,161) $p_2=0,020$	2,588 (2,154-3,008) $p_1=0,043$	1,468 (1,238-2,686) $p_1=0,015$

Примечание: данные представлены в виде медиан с указанием перцентилей (Me (Q25%-Q75%)).

p_1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p_2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения.

Таким образом, для пациенток с бесплодием и эндометриозом вне зависимости от его стадии характерно снижение активности регуляторных В-лимфоцитов с фенотипом CD20+IL10+ как по сравнению с показателями здоровых женщин, так и по сравнению с показателями женщин с трубным фактором бесплодия. Значительных изменений в системной и локальной продукции APRIL при эндометриозе не выявлено. Только в группе пациенток с распространенным эндометриозом концентрация APRIL в перитонеальной жидкости была ниже контрольных значений. Для женщин с хроническим сальпингитом было характерно сниженное по сравнению с пациентками с эндометриозом 1-2 стадий сывороточный и перитонеальный уровень APRIL. Кроме того, в этой группе концентрация APRIL в перитонеальной жидкости была значительно снижена по сравнению с показателями здоровых женщин.

4.4. Взаимосвязь показателей, характеризующих активацию и дифференцировку В-лимфоцитов крови и перитонеальной жидкости, с особенностями течения бесплодия у пациенток с эндометриозом

Для выявления возможного участия В-лимфоцитов в механизмах развития бесплодия у женщин с эндометриозом мы провели дифференцированный анализ изученных иммунологических показателей от ряда клинических параметров. Учитывая литературные данные о влиянии инфекции на процесс дифференцировки В-лимфоцитов, мы проанализировали иммунологические показатели у пациенток с наличием и отсутствием в периферической крови маркеров вирусного и бактериального инфицирования, но существенных изменений при этом выявлено не было (данные не приведены). Достоверные изменения со стороны В-лимфоцитов были получены при сравнении подгрупп пациенток с различной длительностью бесплодия и с наличием или отсутствием у них беременностей в анамнезе.

В таблицах 4.4.1.- 4.4.2. представлены данные, характеризующие особенности активации и дифференцировки В-лимфоцитов у пациенток основных клинических групп и группы сравнения при различной длительности периода бесплодия (1-2 года, 3-5 лет и более 5 лет). Нами было установлено, что в периферической крови женщин с эндометриозом 1-2 стадии с увеличением продолжительности бесплодия наблюдалось повышение общего количества В-лимфоцитов: при длительности бесплодия более 5 лет уровень CD20+ и CD19+ лимфоцитов у этих женщин достоверно превышал аналогичные показатели пациенток с периодом бесплодия 1-2 года ($p=0,043$, $p=0,050$), а количество CD20+ клеток было также выше показателей подгруппы с длительностью бесплодия 3-5 лет ($p=0,029$). Противоположная направленность изменений была выявлена нами для В1 и плазматических клеток. Так, уровень этих популяций резко снижался у тех пациенток с «малыми» формами эндометриоза, у которых длительность периода бесплодия превышала 5 лет, приближаясь к уровню контрольных значений.

Для плазматических клеток было выявлено статистически значимое снижение их содержания у пациенток с длительностью бесплодия более 5 лет как по сравнению с группой пациенток с минимальной длительностью бесплодия (1-2 года) ($p=0,020$), так и по сравнению с женщинами, период бесплодия у которых составил 3-5 лет ($p=0,017$). Уровень переключенных наивных В-лимфоцитов с фенотипом CD19+IgD-CD27- также снижался с увеличением длительности периода бесплодия у пациенток с «малыми» формами эндометриоза (Таблица 4.4.1.). У пациенток с длительностью бесплодия более 5 лет этот показатель был достоверно ниже, чем у здоровых женщин и женщин с длительностью периода бесплодия 1-2 года ($p=0,008$, $p=0,009$, соответственно).

В группе женщин с эндометриозом 3-4 стадии мы выявили зависимость содержания активированных CD86+ В-лимфоцитов от длительности бесплодия. Так, по нашим данным, уровень активации периферических В-клеток не изменялся при минимальной длительности бесплодия (1-2 года), но резко повышался при бесплодии длительностью 3-5 лет как по сравнению с контрольными значениями, так и по сравнению с подгруппой пациенток с бесплодием 1-2 года ($p=0,000$, $p=0,001$, соответственно) (Таблица 4.4.1.). В подгруппе с периодом бесплодия, длившемся более 5 лет, уровень CD20+CD86+ лимфоцитов оставался высоким и был достоверно выше контрольных значений ($p=0,042$).

В группе сравнения мы также выявили зависимость количества периферических CD86+ В-лимфоцитов от длительности периода бесплодия. Однако у этих пациенток максимальные значения этого показателя мы отмечали при минимальной длительности периода бесплодия (1-2 года), когда уровень CD20+CD86+ лимфоцитов был достоверно выше контрольных значений ($p=0,031$). При увеличении длительности бесплодия уровень активированных В-лимфоцитов у пациенток с трубным фактором бесплодия снижался, приближаясь к контрольным значениям.

Таблица 4.4.1.

Взаимосвязь показателей, характеризующих активацию и дифференцировку В-лимфоцитов крови, с длительностью бесплодия у пациенток с эндометриозом и трубным фактором

Показатель, %	Контрольная группа	Длительность бесплодия		
		1-2 года	3-5 лет	>5 лет
		Эндометриоз 1-2 стадии		
CD20+	4,76±0,32 (n=31)	4,85±0,23 (n=17)	4,63±0,21 (n=12)	5,28±0,40 (n=5) p2=0,043 p3=0,029
CD19+	5,00±0,32 (n=31)	4,98±0,25 (n=17)	5,13±0,42 (n=12)	5,62±0,49 (n=5) p2=0,050
CD20+CD5+	1,50±1,11 (n=31)	2,92±0,23 (n=17) p1=0,023	2,96±0,16 (n=12) p1=0,001	1,73±0,23 (n=5)
CD19+CD20- CD38+	2,03±0,38 (n=31)	6,32±1,57 (n=17) p1=0,036	5,84±1,32 (n=12) p1=0,033	1,58±0,36 (n=5) p2=0,020 p3=0,017
CD19+IgD- CD27-	24,59±1,48 (n=31)	23,41±1,41 (n=17)	14,05±3,27 (n=12)	17,1±1,2 (n=5) p1=0,008 p2=0,009
		Эндометриоз 3-4 стадии		
CD20+CD86+	11,93±1,18 (n=31)	15,94±1,91 (n=13)	26,00±1,60 (n=5) p1=0,000 p2=0,001	22,66±4,39 (n=9) p1=0,042
		Трубный фактор бесплодия		
CD20+CD86+	11,93±1,18 (n=31)	26,43±5,83 (n=12) p1=0,031	16,03±3,62 (n=6)	15,30±6,92 (n=4)

Примечание: p1 - коэффициент достоверности различий по сравнению с контролем, p2 – коэффициент достоверности различий по сравнению с длительностью бесплодия 1-2 года, p3 – коэффициент достоверности различий по сравнению с длительностью бесплодия 3-5 лет.

Данные, характеризующие результаты анализа показателей перитонеальной жидкости, приведены в таблице 4.4.2. У женщин 1 основной группы мы выявили значительное уменьшение количества плазматических клеток в перитонеальной жидкости при длительности бесплодия более 5 лет.

В этой подгруппе уровень CD19+CD20-CD38+ лимфоцитов не отличался от контрольных значений, тогда как при меньшей длительности периода бесплодия (1-2 года и 3-5 лет) этот показатель был существенно выше контроля ($p=0,001$, $p=0,047$, соответственно) (Таблица 4.4.2.). Аналогичные изменения были выявлены для регуляторных В-лимфоцитов и непереключенных В-клеток памяти. Эти показатели коррелировали с длительностью периода бесплодия, были максимальными при бесплодии, отмеченным в течение 1-2 лет, и резко снижались у пациенток с длительностью бесплодия более 5 лет. Мы выявили достоверное уменьшение уровня регуляторных В-лимфоцитов при длительности бесплодия более 5 лет по сравнению с аналогичным параметром у пациенток с периодом бесплодия 1-2 года ($p=0,022$). Количество CD19+IgD+CD27+ клеток памяти у женщин с «малыми» формами эндометриоза и бесплодием, длившемся более 5 лет, было ниже, чем у женщин данной группы с длительностью бесплодия 1-2 года и 3-5 лет ($p=0,008$, $p=0,018$).

В группе женщин с распространенными формами эндометриоза мы выявили резкое увеличение в перитонеальной жидкости уровня В-лимфоцитов, В1 клеток и активированных CD20+CD86+ лимфоцитов в подгруппе с длительностью бесплодия 3-5 лет. Эти показатели у женщин данной подгруппы были достоверно выше аналогичных параметров как в контрольной группе ($p=0,002$, $p=0,003$, $p=0,009$, соответственно), как и в подгруппе пациенток с эндометриозом и бесплодием длительностью 1-2 года ($p=0,001$, $p=0,006$, $p=0,020$) (Таблица 4.4.2.). С увеличением длительности бесплодия свыше 5 лет эти показатели несколько снижались, приближаясь к уровню контрольных значений.

В группе женщин с трубным фактором бесплодия мы выявили взаимосвязь локального уровня регуляторных В-лимфоцитов и активированных CD20+CD86+ клеток с длительностью периода бесплодия. У этих женщин в период длительности бесплодия 1-2 года отмечались минимальные значения показателя CD20+IL-10+ клеток и максимальные -

CD20+CD86+ лимфоцитов, что достоверно отличало пациенток данной подгруппы от здоровых женщин ($p=0,028$, $p=0,012$, соответственно). С увеличением длительности периода бесплодия активация В-лимфоцитов снижалась, а уровень регуляторных В-лимфоцитов, напротив, повышался, что приближало оба показателя к контрольным значениям (Таблица 4.4.2.).

Таблица 4.4.2.

Взаимосвязь показателей, характеризующих активацию и дифференцировку В-лимфоцитов перитонеальной жидкости, с длительностью бесплодия у пациенток с эндометриозом и трубным фактором

Показатель, %	Контрольная группа	Длительность бесплодия		
		1-2 года	3-5 лет	>5 лет
		Эндометриоз 1-2 стадии		
CD19+CD20- CD38+	3,03±0,53 (n=13)	7,47±1,06 (n=17) $p1=0,001$	6,25±1,37 (n=12) $p1=0,047$	4,92±1,22 (n=5)
CD20+IL-10+	30,28±1,90 (n=13)	21,46±2,54 (n=17) $p1=0,012$	20,24±3,22 (n=12) $p1=0,018$	14,18±0,99 (n=5) $p1=0,000$ $p2=0,022$
CD19+IgD+ CD27+	22,98±2,51 (n=12)	14,68±2,11 (n=8) $p1=0,021$	18,18±2,92 (n=5)	6,90±0,20 (n=5) $p1=0,000$ $p2=0,008$ $p3=0,018$
		Эндометриоз 3-4 стадии		
CD20+	2,45±0,24 (n=13)	2,20±0,45 (n=13)	3,66±0,21 (n=5) $p1=0,002$ $p2=0,001$	3,06±0,29 (n=7) $p1=0,043$
CD20+CD5+	1,53±0,44 (n=9)	1,82±0,27 (n=6)	3,03±0,17 (n=4) $p1=0,003$ $p2=0,006$	2,28±0,34 (n=4)
CD20+CD86+	19,3±1,85 (n=13)	21,62±1,29 (n=13)	33,68±3,39 (n=5) $p1=0,009$ $p2=0,020$	29,99±4,56 (n=7)
		Трубный фактор бесплодия		
CD20+CD86+	19,3±1,85 (n=13)	26,08±2,21 (n=12) $p1=0,028$	20,12±3,75 (n=6)	22,50±3,38 (n=4)
CD20+IL-10+	30,28±1,90 (n=13)	23,96±1,22 (n=19) $p1=0,012$	31,32±4,30 (n=6)	28,23±4,65 (n=4)

Примечание: p_1 - коэффициент достоверности различий по сравнению с контролем, p_2 – коэффициент достоверности различий по сравнению с длительностью бесплодия 1-2 года, p_3 – коэффициент достоверности различий по сравнению с длительностью бесплодия 3-5 лет

Кроме того, в ходе анализа полученных нами данных была выявлена взаимосвязь показателей, характеризующих активность В-лимфоцитов, с видом бесплодия у пациенток основных клинических групп наблюдения (Таблица 4.4.3.). Так, нами было установлено, что в крови женщин с «малыми» формами эндометриоза и первичным бесплодием количество В-клеток памяти было достоверно ниже, а содержание наивных В-лимфоцитов было выше, чем у женщин этой группы со вторичным бесплодием и у здоровых пациенток ($p=0,026$, $p=0,027$, $p=0,000$, $p=0,000$, соответственно). При этом количество активированных CD20+CD86+ клеток в 1 основной группе у женщин с первичным бесплодием было снижено по сравнению с аналогичным показателем женщин этой группы со вторичным бесплодием ($p=0,017$) и не отличалось от такового в контрольной группе (Таблица 4.4.3.).

В группе женщин с распространенными формами эндометриоза уровень периферических CD20+CD86+ В-лимфоцитов и непереключенных CD19+IgD+CD27+ клеток памяти зависел от наличия у пациенток беременностей в анамнезе. Оба этих показателя у пациенток со вторичным бесплодием были ниже, чем в подгруппе женщин с эндометриозом 3-4 стадии и с первичным бесплодием ($p=0,038$, $p=0,011$). При этом содержание IgD-позитивных В-клеток памяти в подгруппе со вторичным бесплодием было снижено и по сравнению с контрольными значениями ($p=0,002$) (Таблица 4.4.3.).

Для пациенток группы сравнения было характерно более высокое содержание в периферической крови плазматических клеток при первичном бесплодии и повышенное содержанием IgD-негативных наивных В-лимфоцитов при вторичном бесплодии ($p=0,014$, $p=0,043$) по сравнению с соответствующими подгруппами ($p=0,014$ и $p=0,043$).

Таблица 4.4.3

Взаимосвязь показателей, характеризующих активацию и дифференцировку В-лимфоцитов периферической крови, с наличием первичного и вторичного бесплодия у пациенток с эндометриозом и трубным фактором

Показатель, %	Контрольная группа	Первичное бесплодие	Вторичное бесплодие
		Эндометриоз 1-2 стадии	
CD19+CD27+	33,09±1,32 (n=30)	24,42±1,20 (n=18) p1=0,000	29,66±1,86 (n=16) p2=0,026
CD19+CD27-	66,98±1,34 (n=30)	75,58±1,21 (n=18) p1=0,000	70,34±1,86 (n=16) p2=0,027
CD20+CD86+	11,93±1,19 (n=31)	14,09±1,79 (n=17)	20,85±2,01 (n=17) p1=0,001 p2=0,017
		Эндометриоз 3-4 стадии	
CD20+CD86+	11,93±1,19 (n=31)	22,10±2,19 (n=19) p1=0,000	14,17±2,69 (n=7) p2=0,038
CD19+IgD+ CD27+	10,45±0,67 (n=22)	10,05±1,03 (n=11)	6,33±0,64 (n=7) p1=0,002 p2=0,011
		Трубный фактор бесплодия	
CD19+CD20- CD38+	2,03±0,38 (n=30)	4,20±0,70 (n=10) p1=0,016	2,01±0,28 (n=15) p2=0,014
CD19+IgD- CD27-	24,59±1,48 (n=22)	23,66±2,56 (n=7)	31,46±2,44 (n=13) p1=0,026 p2=0,043

Примечание: p1 - коэффициент достоверности различий по сравнению с контролем, p2 – коэффициент достоверности различий по сравнению с первичным бесплодием.

При дифференцированном анализе показателей функционального состояния перитонеальных В-лимфоцитов у пациенток с первичным и вторичным бесплодием было установлено, что у пациенток с «малыми» формами эндометриоза отмечались такие же изменения, как и в периферической крови (Таблица 4.4.4.). Так, у женщин этой группы при первичном бесплодии в максимальной степени было снижено содержание В-клеток памяти и повышено - количество наивных В-лимфоцитов по

сравнению с контрольной группой ($p=0,000$ в обоих случаях) и с подгруппой со вторичным бесплодием ($p=0,005$ в обоих случаях). При этом пациентки со вторичным бесплодием характеризовались минимальными изменениями со стороны В-клеток памяти и наивных В-лимфоцитов, тогда как количество CD20+CD86+ лимфоцитов у этих пациенток было значительно повышено как по сравнению с показателями пациенток с первичным бесплодием, так и по сравнению с контрольными значениями ($p=0,050$, $p=0,017$).

Хотелось бы отметить, что изменения со стороны активированных В-лимфоцитов у женщин с распространенным эндометриозом имели другую направленность. Так, во второй основной группе наблюдения уровень этих клеток был максимальным при первичном бесплодии, что отличало эту подгруппу от здоровых женщин и от пациенток со вторичным бесплодием ($p=0,001$, $p=0,000$, соответственно) (Таблица 4.4.4.). У женщин с эндометриозом 3-4 стадии и вторичным бесплодием в перитонеальной жидкости мы выявили значительно более высокое, чем при первичном бесплодии, содержание непереключенных IgD+ В-клеток памяти ($p=0,047$) и сниженный по сравнению с контрольными значениями уровень классических клеток памяти с фенотипом CD19+IgD-CD27+ ($p=0,043$).

У пациенток группы сравнения было выявлено более высокое содержание активированных В-лимфоцитов при вторичном бесплодии по сравнению с подгруппой женщин с первичным бесплодием и с контрольной группой ($p=0,031$, $p=0,019$ соответственно).

Таблица 4.4.4.

Взаимосвязь показателей, характеризующих активацию и дифференцировку В-лимфоцитов перитонеальной жидкости, с наличием первичного и вторичного бесплодия у пациенток с эндометриозом и трубным фактором

Показатель, %	Контрольная группа	Первичное бесплодие	Вторичное бесплодие
		Эндометриоз 1-2 стадии	
CD19+CD27+	41,25±2,45 (n=13)	25,15±1,65 (n=17) $p_1=0,000$	32,78±1,92 (n=17) $p_1=0,012$ $p_2=0,005$
CD19+CD27-	58,82±2,46	74,85±1,64	66,99±2,04

	(n=13)	(n=17) p1=0,000	(n=17) p1=0,017 p2=0,005
CD20+CD86+	19,3±1,85 (n=13)	20,76±2,03 (n=16)	27,85±2,80 (n=17) p1=0,017 p2=0,050
Эндометриоз 3-4 стадии			
CD20+CD86+	19,3±1,85 (n=13)	29,82±1,97 (n=18) p1=0,001	17,51±1,27 (n=7) p2=0,000
CD19+IgD+ CD27+	22,98±2,52 (n=12)	11,22±1,73 (n=9) p1=0,001	19,43±2,41 (n=5) p2=0,047
CD19+IgD- CD27+	18,95±2,63 (n=12)	15,02±2,21 (n=9)	6,90±3,59 (n=5) p1=0,043
Трубный фактор бесплодия			
CD20+CD86+	19,3±1,85 (n=13)	20,13±1,84 (n=9)	29,11±3,35 (n=13) p1=0,019 p2=0,031

Примечание: p1 - коэффициент достоверности различий по сравнению с контролем, p2 – коэффициент достоверности различий по сравнению с первичным бесплодием.

Таким образом, показатели содержания различных популяций В-лимфоцитов и их активации при эндометриозе и трубным факторе бесплодия зависят от длительности периода бесплодия и от вида бесплодия. У женщин с «малыми» формами эндометриоза при длительности периода бесплодия более 5 лет в периферической крови достоверно возрастал уровень В-лимфоцитов, но снижалось плазматических клеток, а в перитонеальной жидкости при данной длительности периода бесплодия снижалось количество регуляторных В-лимфоцитов и непереключенных В-клеток памяти по сравнению с пациентками, у которых отмечался период бесплодия длительностью менее 5 лет. Зависимость иммунологических показателей от вида бесплодия у пациенток с «малыми» формами эндометриоза проявлялась как на системном, так и на локальном уровне снижением уровня В-клеток памяти, активированных В-лимфоцитов и повышением - количества наивных В-лимфоцитов при первичном бесплодии по сравнению с подгруппой женщин

со вторичным бесплодием. При распространенном эндометриозе, напротив, уровень периферических и перитонеальных CD20+CD86+ В-лимфоцитов, а также содержание непереключенных периферических CD19+IgD+CD27+ клеток памяти были выше, а уровень перитонеальных CD19+IgD+CD27+ и CD19+IgD-CD27+ лимфоцитов – ниже при первичном бесплодии по сравнению с пациентками со вторичным бесплодием. У пациенток с трубным фактором бесплодия при первичном бесплодии отмечалось более высокое содержание в крови плазматических клеток, а при вторичном бесплодии – более высокое содержание периферических CD19+IgD-CD27- наивных В-лимфоцитов и перитонеальных CD20+CD86+ активированных В-клеток.

Таким образом, суммируя полученные нами данные, характеризующие дифференцировку и активацию В-клеток крови и перитонеальной жидкости при эндометриозе и бесплодии, можно сделать заключение о том, что у пациенток с данным заболеванием вне зависимости от стадии патологического процесса на системном и локальном уровне повышено содержание В1-клеток, плазматических, наивных В-лимфоцитов и снижен уровень В-клеток памяти, регуляторных В-лимфоцитов и IgD-негативных В-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой и группой пациенток с трубным фактором бесплодия. Для всех женщин с бесплодием независимо от его этиологии характерно высокое содержание активированных CD86+ В-лимфоцитов. Значительных изменений в системной и локальной продукции APRIL при эндометриозе по сравнению с контрольной группой нами не было выявлено. У пациенток с трубным фактором бесплодия содержание APRIL в крови и перитонеальной жидкости было ниже, чем у пациенток с «малыми» формами эндометриоза и у здоровых женщин.

Глава 5. ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМНОЙ И ЛОКАЛЬНОЙ ПРОДУКЦИИ АУТОАНТИТЕЛ РАЗЛИЧНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ У ПАЦИЕНТОК С БЕСПЛОДИЕМ И ЭНДОМЕТРИОЗОМ

В работах многих авторов было продемонстрировано усиление продукции аутоантител различной природы при эндометриозе [165, 88, 67]. Но вопрос о роли аутоантител в патогенезе эндометриоза до сих пор остается открытым. Данные о взаимосвязи титра аутоантител и стадии эндометриоза противоречивы. До сих пор не изучены механизмы регуляции выработки антител и их связь с дифференцировкой В-лимфоцитов при данной патологии.

5.1. Продукция аутоантител на системном уровне при эндометриозе и связанном с ним бесплодии

Для уточнения особенностей функционального состояния В-лимфоцитов у пациенток с эндометриозом и бесплодием, мы оценили общее содержание иммуноглобулинов основных классов IgG, IgA и IgM в сыворотке крови пациенток основных клинических групп наблюдения.

Данные, характеризующие сывороточное содержание IgG, IgA и IgM, приведены в таблице 5.1.1. Анализ полученных результатов показал, что концентрация иммуноглобулинов классов IgG и IgM в сыворотке крови пациенток исследуемых групп наблюдения не различалась. Сывороточное содержание IgA антител в группе женщин с «малыми» формами эндометриоза было достоверно повышено по сравнению с контрольной группой ($p=0,000$) и группой женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия ($p=0,003$). Концентрация IgA антител в сыворотке крови женщин с распространенными формами эндометриоза также была выше, чем у здоровых женщин ($p=0,014$), но не отличалась от группы сравнения ($p>0,05$) (Таблица 5.1.1.).

Таблица 5.1.1.

Характеристика содержания иммуноглобулинов основных классов в сыворотке крови пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, г/л	Контрольная группа (n=25)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=35)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=24)	Группа сравнения (трубно-перитонеальный фактор бесплодия) (n=17)
IgG	19,48±1,14	22,55±1,35	20,00±1,81	21,91±1,89
IgA	1,99±0,18	3,28±0,19 p1=0,000 p2=0,003	2,95±0,33 p1=0,014	2,42±0,18
IgM	2,87±0,19	2,83±0,14	2,78±0,20	2,74±0,21

Примечание: p1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения.

Хотелось бы особо отметить, что нами была выявлена взаимосвязь сывороточного содержания иммуноглобулинов класса IgA с длительностью бесплодия у пациенток 1 основной клинической группы (Таблица 5.1.2.). В периферической крови женщин с эндометриозом 1-2 стадии концентрация IgA была максимально повышена в подгруппе с длительностью бесплодия 1-2 года (p=0,000), незначительно снижалась с увеличением срока бесплодия до 3-5 лет, и уменьшалась практически до нормативных значений у пациенток, период бесплодия у которых был более 5 лет.

Таблица 5.1.2.

Взаимосвязь сывороточного содержания IgA с длительностью бесплодия у пациенток с эндометриозом 1-2 стадии

Показатель, г/л	Контрольная группа	Длительность бесплодия		
		1-2 года	3-5 лет	>5 лет
Эндометриоз 1-2 стадии				
сывороточный IgA	1,98±0,17 (n=24)	4,11±0,28 (n=17) p1=0,000	3,95±0,31 (n=16) p1=0,003	3,02±0,41 (n=5)

Примечание: p1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой

Для проверки гипотезы о том, что эндометриоз по своей сути является аутоиммунным заболеванием, мы провели сравнительную оценку системной продукции аутоантител различной специфичности у здоровых фертильных женщин, у пациенток с эндометриозом и бесплодием, а также у женщин с трубным фактором бесплодия. Учитывая тот факт, что аутоантитела могут также вовлекаться в механизмы развития бесплодия при эндометриозе, в нашем исследовании мы сконцентрировали внимание на тех антителах, выработка которых может быть связана с негативным воздействием на репродуктивную функцию. Так, нами было проведено изучение продукции таких органоспецифических аутоантител, связанных с репродукцией, как анти-Zona Pellucida (ZP) и анти-овариальные антитела. Мы также оценили продукцию ряда антифосфолипидных антител, появление которых также часто ведет к развитию бесплодия и невынашивания. В нашем исследовании мы определяли сывороточное содержание анти-бета-2-гликопротеин I IgG/IgM антител, анти-фосфатидил-этанолламин IgG антител, анти-фосфатидил-холин IgG антител. Кроме того, нами было изучено сывороточное содержание анти-гистоновых антител. Полученные результаты представлены в Таблицах 5.1.3-5.1.4.

В соответствии с рекомендациями фирм-разработчиков использованных нами тест-систем для оценки продукции аутоантител повышенными значениями считаются: для анти-ZP и анти-овариальных АТ - АТ – уровень выше 10 МЕ/мл, для анти-бета-2-гликопротеин I IgG/IgM антител – 8 МЕ/мл и выше, для анти-фосфатидил-этанолламин IgG антител, анти-фосфатидил-холин IgG антител – 18 МЕ/мл и выше, и для анти-гистоновых АТ – 40 МЕ/мл и выше. Следует отметить, что значения сывороточного содержания аутоантител, превышающие диагностический порог, были отмечены у пациенток с эндометриозом только для анти-ZP-антител. Содержание аутоантител другой специфичности у женщин обследованных групп не превышало диагностически значимый порог.

По нашим данным, содержание анти-ZP-АТ в сыворотке женщин с эндометриозом 1-2 стадии было достоверно повышено по сравнению с контрольной группой ($p=0,040$), группой женщин с трубным фактором бесплодия ($p=0,002$), а также группой женщин с эндометриозом 3-4 стадии ($p=0,017$). Значительных изменений в продукции этих антител у пациенток с распространенным эндометриозом мы не выявили. При этом сывороточный уровень этих антител в группе сравнения был ниже, чем у здоровых женщин ($p=0,015$) (Таблица 5.1.2.).

Мы также оценили частоту встречаемости диагностически значимых показателей уровня анти-ZP-АТ в сыворотке крови пациенток обследованных групп. Было установлено, что в контрольной группе и группе сравнения диагностически значимых показателей уровня анти-ZP-АТ в сыворотке крови отмечено не было. Показатели, превышающие 10 U/ml, отмечались у 29,58% пациенток 1 основной группы (достоверно выше по сравнению со здоровыми женщинами и пациентками с трубным бесплодием, $p<0,001$ в обоих случаях), и в 15% случаев у пациенток 2 основной группы.

Сывороточное содержание анти-овариальных аутоантител в 1 основной группе достоверно превышало аналогичные значения в контрольной группе, группе сравнения ($p=0,000$ в обоих случаях) и во 2 основной группе ($p=0,033$). У женщин с распространенным эндометриозом уровень анти-овариальных аутоантител также был выше контрольных значений ($p=0,009$) и показателей пациенток с трубным фактором бесплодия ($p=0,004$) (Таблица 5.1.2.).

Таблица 5.1.3.

Особенности сывороточного содержания органоспецифических (анти-ZP и анти-овариальных) аутоантител у пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, U/ml	Контрольная группа (n=32)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=113)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=28)	Группа сравнения (трубно-перитонеальный фактор бесплодия) (n=27)
анти-ZP-АТ	5,295 (4,378-8,161)	7,627 (4,484-10,21)	4,7355 (3,54-7,015)	3,897 (2,817-4,879)

		p1=0,041 p2=0,002	p3=0,017	p1=0,015
анти- овариальные- АТ	3,698 (1,673-4,658)	5,376 (4,668-6,01) p1=0,0000 p2=0,0000	4,554 (3,99-5,815) p1=0,009 p2=0,004 p3=0,033	3,54 (2,678-4,472)

Примечание: данные представлены в виде медиан с указанием перцентилей (Me (Q25%-Q75%)).

p1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения, p3 - коэффициент достоверности различий с эндометриозом 1-2 стадии.

При изучении сывороточного содержания анти-фосфолипидных антител в большинстве случаев мы фиксировали отсутствие этих антител в сыворотке крови пациенток обследованных групп. При этом достоверных изменений по сравнению с контрольной группой в содержании анти-фосфатидил-холин, анти-фосфатидил-этанолламин и анти-бета-2-гликопротеин I антител у пациенток 1 основной группы и группы сравнения нам выявлено не было. Следует лишь отметить, что содержание анти-фосфатидил-холин антител при «малых» формах эндометриоза было ниже, чем при трубном факторе бесплодия ($p=0,018$). У пациенток с распространенным эндометриозом сывороточное содержание анти-фосфолипидных аутоантител не отличалось от показателей контрольной группы ($p>0,05$ во всех случаях), хотя концентрация анти-фосфатидил-этанолламин антител у них была выше, чем у женщин с 1-2 стадией эндометриоза ($p=0,018$) (Таблица 5.1.3.).

Анализ сывороточного уровня анти-гистоновых антител показал, что в обеих группах пациенток с эндометриозом продукция этих аутоантител была повышена по сравнению с контрольной группой ($p=0,000$ и $p=0,037$ соответственно).

Таблица 5.1.4.

Характеристика сывороточного содержания органонеспецифических (анти-фосфолипидных и анти-гистоновых) аутоантител у пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, U/ml	Контрольная группа	1 основная группа	2 основная группа	Группа сравнения
---------------------	-----------------------	----------------------	----------------------	---------------------

	(n=11)	(эндометриоз 1-2 стадии) (n=18)	(эндометриоз 3-4 стадии) (n=12)	(трубно- перитонеальный фактор бесплодия) (n=7)
анти- фосфатидил- холин IgG антитела	0,108 (0-0,266)	0,0415 (0-0,177) p2=0,018	0,189 (0,041-0,5)	0,328 (0,133-0,58)
Анти- фосфатидил- этаноламин IgG антитела	0 (0-0)	0 (0-0)	0,26 (0-1,65) p3=0,038	0 (0-0,195)
анти-бета-2- гликопротеин I IgG/IgM АТ	1,584 (1,42-1,904)	1,3555 (1,11-1,675)	1,51 (1,26-2,224)	1,432 (1,189-1,856)
анти- гистоновые- АТ	12,85 (7,93-17,83)	21,29 (19,71-25,48) p1=0,000	18,64 (13,85-27,63) p1=0,037	-

Примечание: данные представлены в виде медиан с указанием перцентилей (Me (Q25%-Q75%)).

p2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения, p3 – коэффициент достоверности различий с эндометриозом 1-2 стадии.

Таким образом, при эндометриозе вне зависимости от его стадии повышено сывороточное содержание иммуноглобулинов класса IgA, а также содержание анти-овариальных и анти-гистоновых аутоантител по сравнению с контрольной группой. При «малых» формах эндометриоза сывороточный уровень анти-ZP и анти-овариальных аутоантител выше, чем при распространенном эндометриозе. Для пациенток с 3-4 стадией эндометриоза характерно более высокое, чем при 1-2 стадии заболевания содержание анти-фосфатидил-этаноламин аутоантител. У пациенток с трубным фактором бесплодия было выявлено более низкое, чем у здоровых женщин сывороточное содержание анти- ZP-аутоантител.

5.2. Продукция аутоантител на локальном уровне при эндометриозе и связанном с ним бесплодии

Для оценки характера локальных гуморальных реакций при эндометриозе и связанном с ним бесплодии, мы изучили особенности содержания иммуноглобулинов основных классов и аутоантител в перитонеальной жидкости пациенток основных клинических групп наблюдения.

Как видно из результатов, приведенных в таблице 5.2.1., концентрация иммуноглобулинов IgG, IgA и IgM в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом вне зависимости от степени его тяжести не отличалась от показателей здоровых фертильных женщин ($p > 0,0$ во всех случаях). При этом в группе пациенток с трубным фактором бесплодия мы выявили достоверное повышение уровня IgG и IgA по сравнению с показателями контрольной группы ($p = 0,029$, $p = 0,021$). Кроме того, содержание иммуноглобулинов класса IgA у женщин этой клинической группы было достоверно выше аналогичных показателей пациенток 1 и 2 основных клинических групп ($p = 0,011$, $p = 0,008$).

Таблица 5.2.1.

Характеристика содержания иммуноглобулинов основных классов в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, г/л	Контрольная группа (n=11)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=9)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=12)	Группа сравнения (тубно-перитонеальный фактор бесплодия) (n=12)
IgG	6,69±1,15	9,18±1,78	7,53±1,19	11,71±1,79 $p_1 = 0,029$
IgA	0,82±0,15	0,77±0,13 $p_2 = 0,011$	0,75±0,10 $p_2 = 0,008$	1,50±0,22 $p_1 = 0,021$
IgM	0,75±0,17	0,79±0,23	0,73±0,14	1,26±0,21

p_1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p_2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения, p_3 – коэффициент достоверности различий с эндометриозом 1-2 стадии.

Изучение характера локальной продукции аутоантител, связанных с органами репродуктивной системы, показал, что содержание анти-ZP антител в перитонеальной жидкости пациенток исследуемых клинических групп не различались ($p > 0,05$ во всех случаях). Уровень анти-овариальных антител у женщин в распространенном эндометриозом был выше, чем у здоровых женщин ($p = 0,016$). У женщин с «малыми» формами эндометриоза и с трубным фактором бесплодия изменений в продукции анти-овариальных антител выявлено не было ($p > 0,05$ во всех случаях) (Таблица 5.2.2.).

Таблица 5.2.2.

Особенности содержания органоспецифических (анти-ZP и анти-овариальных) аутоантител в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, U/ml	Контрольная группа (n=16)	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) (n=34)	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) (n=35)	Группа сравнения (трубно-перитонеальный фактор бесплодия) (n=25)
анти-ZP-АТ	3,11 (2,34-4,25)	3,7 (1,74-4,96)	3,19 (1,62-5,57)	2,39 (1,83-3,32)
анти-овариальные-АТ	1,35 (0,0-3,56)	1,637 (0,76-2,72)	2,66 (1,62-3,44) $p_3 = 0,016$	2,36 (1,71-2,99)

Примечание: данные представлены в виде медиан с указанием перцентилей (Me (Q25%-Q75%)).

p_1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p_3 – коэффициент достоверности различий с эндометриозом 1-2 стадии.

Анализ содержания анти-фосфолипидных антител в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и бесплодием показал, что достоверных отличий в показателях анти-фосфатидил-холин, анти-фосфатидил-этаноламин и анти-бета-2-гликопротеин I антителах у женщин 1 и 2 основных групп наблюдения и у здоровых женщин выявлено не было (Таблица 5.2.3.). Пациентки группы сравнения также не отличались от контрольной группы по этим показателям. Следует лишь отметить, что концентрация анти-фосфатидил-этаноламин антител у женщин с трубным фактором бесплодия

была выше, чем у пациенток с «малыми» формами эндометриоза ($p=0,045$). Анализ содержания анти-гистоновых антител показал, что в группе женщин с эндометриозом 1-2 стадий уровень этих антител достоверно превышал аналогичный показатель в контрольной группе ($p=0,020$). При распространенном эндометриозе изменений в продукции анти-гистоновых антител в перитонеальной жидкости выявлено не было (Таблица 5.2.3.).

Таблица 5.2.3.

Характеристика содержания органонеспецифических (анти-фосфолипидных и анти-гистоновых) аутоантител в перитонеальной жидкости у пациенток с эндометриозом и бесплодием

Показатель, U/ml	Контрольная группа n=6	1 основная группа (эндометриоз 1-2 стадии) n=16	2 основная группа (эндометриоз 3-4 стадии) n=12	Группа сравнения (трубно-перитоальный фактор бесплодия) n=7
анти-фосфатидил-холин IgG антитела	0,22 (0,18-0,34)	0,2 (0,1-0,59)	0,21 (0,02-0,79)	0,9 (0,22-1,37)
Анти-фосфатидил-этаноламин IgG антитела	0,78 (0,0-1,23)	0,47 (0,0-1,1) $p_2=0,045$	0,57 (0,0-2,6)	3,91 (0,04-8,72)
анти-бета-2-гликопротеин I IgG/IgM АТ	1,71 (1,59-1,98)	1,96 (1,52-2,36)	1,83 (1,45-2,4)	1,4 (0,98-4,15)
анти-гистоновые-АТ	17,56 (12,61-19,79)	25,43 (19,96-26,76) $p_1=0,020$	17,91 (14,18-27,78)	-

Примечание: данные представлены в виде медиан с указанием перцентилей (Me (Q25%-Q75%)).

p_1 – коэффициент достоверности различий с контрольной группой, p_2 – коэффициент достоверности различий с группой сравнения.

Для уточнения возможной роли аутоантител перитонеальной жидкости в развитии бесплодия при эндометриозе мы проанализировали показатели содержания изученных антител в зависимости от наличия или отсутствия

различных клинических признаков. Нами было установлено, что у пациенток с эндометриозом 1-2 стадии уровень анти- ZP антител в перитонеальной жидкости был достоверно выше у пациенток с первичным бесплодием по сравнению с женщинами со вторичным бесплодием ($p=0,033$) (Таблица 5.2.4.).

Таблица 5.2.4.

Взаимосвязь показателей, характеризующих продукцию аутоантител в перитонеальной жидкости, с наличием первичного и вторичного бесплодия у пациенток с эндометриозом 1-2 стадии.

Показатель, МЕ/мл	Контрольная группа	Первичное бесплодие	Вторичное бесплодие
		Эндометриоз 1-2 стадии	
анти-ZP-AT	2,84 (2,72-3,24) (n=6)	2,28 (1,87-2,26) (n=9)	1,43 (1,12-1,63) (n=6) $p_2=0,033$

Примечание: данные представлены в виде медиан с указанием перцентилей (Me (Q25%-Q75%)). p_2 - коэффициент достоверности различий с первичным бесплодием.

Таким образом, у пациенток с «малыми» формами эндометриоза в перитонеальной жидкости повышено содержание анти-гистоновых антител, а в подгруппе пациенток с первичным бесплодием – увеличена концентрация анти-ZP аутоантител. При распространенном эндометриозе отмечается повышение локальной продукции анти-овариальных антител. Женщины группы сравнения характеризовались повышенным содержанием в перитонеальной жидкости иммуноглобулинов классов G и A при отсутствии выраженных изменений в локальной продукции аутоантител различной специфичности.

5.3. Корреляционные связи между показателями дифференцировки, активации В-лимфоцитов и продукцией аутоантител при эндометриозе и бесплодии.

Для уточнения особенностей функционирования В-лимфоцитов на системном и локальном уровне при эндометриозе, мы провели анализ корреляционных взаимосвязей между показателями, характеризующими содержание различных популяций В-лимфоцитов и продукцию аутоантител. В периферической крови здоровых женщин было выявлено 4 положительных корреляционных связи: две связи средней силы между уровнем CD20+ и CD19+CD27-, CD19+ и CD19+CD27- лимфоцитов и две сильные связи между показателями CD20+CD86+ и анти-ZP-АТ, CD20+IL-10+ и анти-ZP-АТ, ($r=0,544$, $r=0,542$, $r=0,764$, $r=0,899$, соответственно, рис. 5.3.1., 5.3.2.). Мы также отметили в этой группе 3 отрицательных корреляционных связи: две связи средней силы между показателями CD20+ и CD19+CD27+, CD19+CD27+ лимфоцитов ($r=-0,544$ и $r=-0,559$, соответственно) и одна слабая связь между CD20+CD86+ и анти-овариальными АТ ($r=-0,469$) (Таблица 5.3.1.).

Таблица 5.3.1.

Характеристика корреляционных связей между показателями дифференцировки, активации В-лимфоцитов и продукцией антител на системном уровне в контрольной группе

Связь	Силы связи (r)	p
Положительные корреляционные связи		
CD20+ ↔ CD19+CD27-	0,544	0,002
CD19+ ↔ CD19+CD27-	0,542	0,000
CD20+CD86+ ↔ анти-ZP- АТ	0,764	0,027
CD20+IL-10+ ↔ анти-ZP- АТ	0,899	0,002
Отрицательные корреляционные связи		
CD20+ ↔ CD19+CD27+	-0,544	0,002
CD19+ ↔ CD19+CD27+	-0,559	0,001
CD20+CD86+ ↔ анти-овариальные АТ	-0,469	0,021

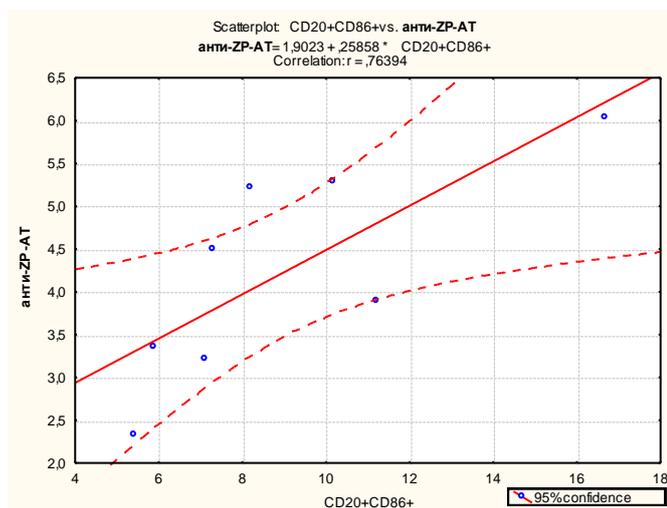


Рис. 5.3.1. Характеристика сильной положительной корреляционной связи между активированными CD20+CD86+ В-лимфоцитами и уровнем анти-ZP-AT в периферической крови здоровых женщин

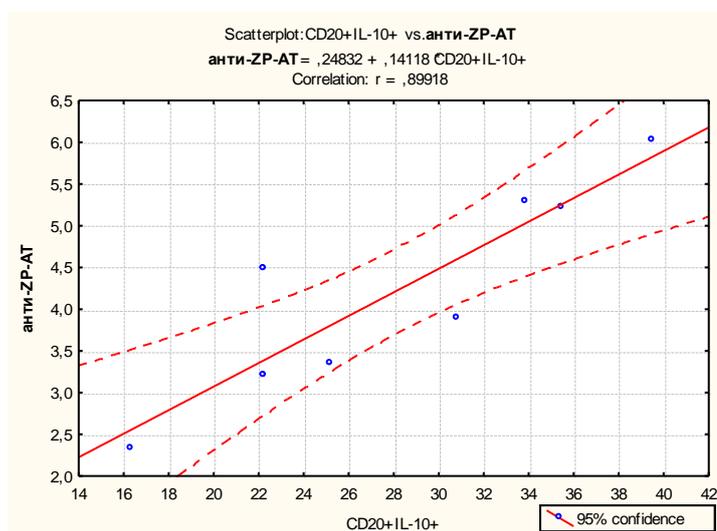


Рис. 5.3.2. Характеристика сильной положительной корреляционной связи между регуляторными CD20+IL-10+ В-лимфоцитами и уровнем анти-ZP-AT в периферической крови здоровых женщин

В периферической крови женщин 1 основной группы было выявлено пять положительных корреляционных связей, из них одна слабая связь между IgG и IgA ($r=0,327$) и четыре связи средней силы между показателями CD19+CD27+ и CD20+CD86+, уровнем анти-овариальных АТ и сывороточных IgA, анти-овариальных АТ и анти-ZP-AT, анти-ZP-AT и APRIL ($r=0,488$, $r=0,407$, $r=0,683$ и $r=0,611$, соответственно) (Таблица 5.3.2.). Кроме того на системном уровне у женщин с «малыми» формами эндометриоза было

выявлено две отрицательные корреляционные связи средней силы между CD20+CD86+ и CD19+ и CD19+CD27- лимфоцитами ($r=-0,373$ и $r=-0,478$, соответственно).

Таблица 5.3.2.

Характеристика корреляционных связей между показателями дифференцировки, активации В-лимфоцитов и продукцией антител на системном уровне в группе женщин с эндометриозом 1-2 стадий

Связь	Силы связи (r)	p
Положительные корреляционные связи		
CD20+CD86+ ↔ CD19+CD27+	0,488	0,003
IgG ↔ IgA	0,327	0,045
анти-овариальные АТ ↔ IgA	0,407	0,017
анти-овариальные АТ ↔ анти-ZP-АТ	0,683	0,002
анти-ZP- АТ ↔ APRIL	0,611	0,046
Отрицательные корреляционные связи		
CD19+ ↔ CD20+CD86+	-0,373	0,030
CD20 +CD86+ ↔ CD19+CD27-	-0,478	0,004

В периферической крови женщин 2 основной группы было выявлено 2 положительные корреляционные связи: одна слабая между анти-овариальными АТ и сывороточным содержанием IgM ($r=0,439$) и одна связь средней силы между сывороточным содержанием IgG и IgA ($r=0,601$). Кроме того в этой группе была установлена одна отрицательная корреляционная связь средней силы между регуляторными CD20+IL-10+ В-лимфоцитами и сывороточным уровнем IgA ($r=-0,671$) (Таблица 5.3.3.).

Таблица 5.3.3.

Характеристика корреляционных связей между показателями дифференцировки, активации В-лимфоцитов и продукцией антител на системном уровне в группе женщин с эндометриозом 3-4 стадий

Связь	Силы связи (r)	p
Положительные корреляционные связи		
IgG ↔ IgA	0,601	0,003
анти-овариальные АТ ↔ IgM	0,439	0,047
Отрицательные корреляционные связи		

CD20+IL-10+ ↔ IgA	-0,671	0,003
-------------------	--------	-------

В крови женщин с трубным фактором бесплодия были выявлены 3 сильные положительные корреляционные связи: между плазматическими клетками и анти-ZP-АТ, между плазматическими клетками и APRIL, между CD20+CD5+ лимфоцитами и анти-фосфатидил-холин IgG АТ ($r=0,755$, $r=0,809$ и $r=0,911$, соответственно) (Рис.5.3.3., 5.3.4., 5.3.5.). Кроме того, были отмечены 3 отрицательные корреляционные связи: слабая связь между CD19+ клетками и анти-овариальными АТ ($r=-0,461$), связь средней силы между CD20+ и анти-овариальными АТ($r= -0,555$) и сильная связь между CD20+CD5+ и анти-фосфатидил-этаноламин IgG АТ ($r=-0,965$) (Рис. 5.3.6.) (Таблица 5.3.4.).

Таблица 5.3.4.

Характеристика корреляционных связей между показателями дифференцировки, активации В-лимфоцитов и продукцией антител на системном уровне в группе женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия

Связь	Силы связи (r)	p
Положительные корреляционные связи		
CD20+CD5+ ↔ анти-фосфатидил-холин IgG антитела	0,911	0,032
CD19/CD38+CD20- ↔ APRIL	0,809	0,015
CD19/CD38+CD20- ↔ анти-ZP-АТ	0,755	0,050
Отрицательные корреляционные связи		
CD20+ ↔ анти-овариальные АТ	-0,555	0,005
CD19+ ↔ анти-овариальные АТ	-0,461	0,024
CD20+CD5+ ↔ анти- фосфатидил-этаноламин IgG антитела	-0,965	0,035

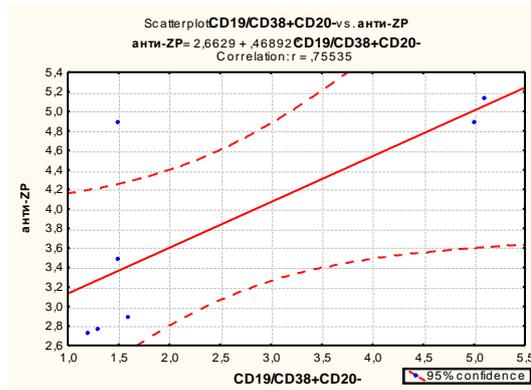


Рис. 5.3.3. Характеристика сильной положительной корреляционной связи между содержанием плазматических клеток и уровнем анти-ZP-АТ в периферической крови пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия

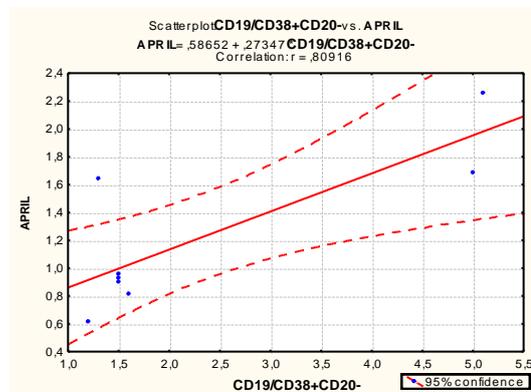


Рис. 5.3.4. Характеристика сильной положительной корреляционной связи между содержанием плазматических клеток и уровнем APRIL в периферической крови пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия

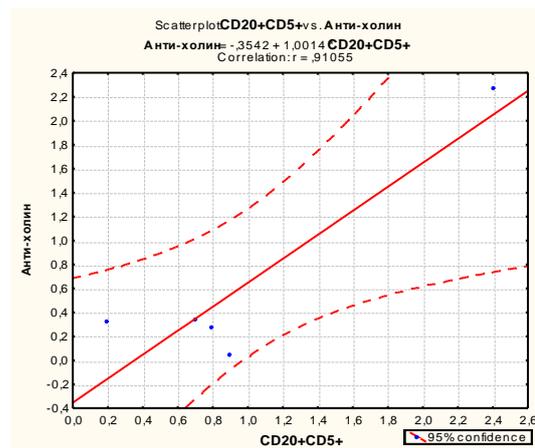


Рис. 5.3.5. Характеристика сильной положительной корреляционной связи между содержанием В1-лимфоцитов и анти-фосфатидил-холин IgG антителами в периферической крови пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия

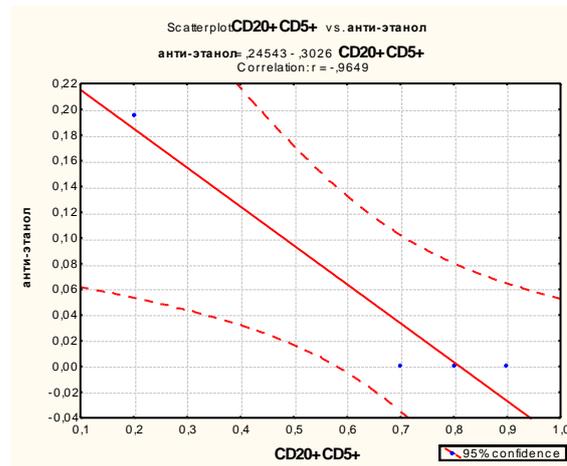


Рис. 5.3.6. Характеристика сильной отрицательной корреляционной связи между содержанием В1-лимфоцитов и анти- фосфатидил-этаноламин IgG антителами в периферической крови пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия

При оценке корреляционных взаимосвязей между показателями, характеризующими дифференцировку и активацию В-лимфоцитов, а также продукцию аутоантител на локальном уровне, было установлено, что в перитонеальной жидкости здоровых женщин отмечались две положительные корреляционные связи: одна связь средней силы между уровнем CD19+ и CD20+ IL-10+ лимфоцитами ($r=0,618$) и одна сильная связь между количеством плазматических CD19+CD38+CD20- клеток и активированных CD20+CD86+ В-лимфоцитов ($r= 0,813$) (Таблица 5.3.5.).

Таблица 5.3.5.

Характеристика корреляционных связей между показателями дифференцировки, активации В-лимфоцитов и продукцией антител в перитонеальной жидкости у женщин контрольной группы

Связь	Силы связи (r)	p
Положительные корреляционные связи		
CD19+ ↔ CD20+ IL-10+	0,618	0,043
CD19+CD38+CD20- ↔ CD20+CD86+	0,813	0,001

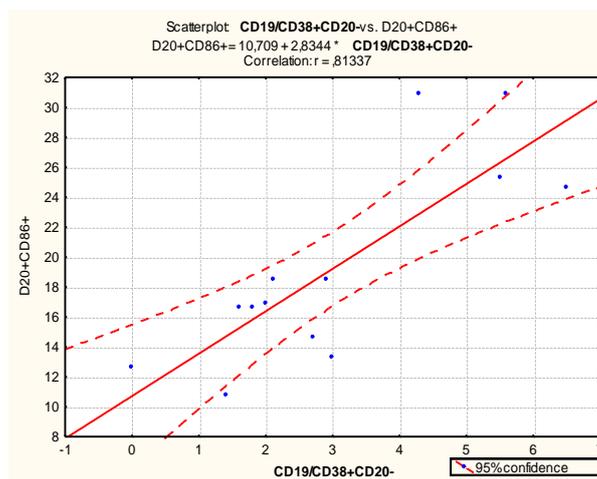


Рис. 5.3.7. Характеристика сильной положительной корреляционной связи между плазматическими и активированными В-клетками в перитонеальной жидкости контрольной группы

В перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом 1-2 стадии была установлена одна отрицательная корреляционная связь средней силы между количеством активированных клеток и уровнем анти-ZP-АТ ($r = -0,6754$) (Таблица 5.3.6.).

Таблица 5.3.6.

Характеристика корреляционных связей между показателями дифференцировки, активации В-лимфоцитов и продукцией антител в перитонеальной жидкости у женщин 1 основной группы

Связь	Силы связи (r)	p
Отрицательные корреляционные связи		
CD20+CD86+ ↔ анти-ZP-АТ	-0,6754	0,008

В перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом 3-4 стадии были выявлены две положительные корреляционные связи средней силы между уровнем APRIL и CD19+ лимфоцитов и между APRIL и количеством активированных CD20+CD86+ В-лимфоцитов ($r = 0,686$ и $r = 0,610$, соответственно) (Таблица 5.3.7.).

Таблица 5.3.7.

Характеристика корреляционных связей между показателями дифференцировки, активации В-лимфоцитов и продукцией антител в перитонеальной жидкости у женщин 2 основной группы

Связь	Силы связи (r)	p
-------	----------------	---

Положительные корреляционные связи		
CD19+ ↔ APRIL	0,686	0,020
CD20+CD86+ ↔ APRIL	0,610	0,035

В перитонеальной жидкости женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия было отмечено наличие двух положительных корреляционных связей: одной сильной связи между уровнем CD19+CD27- и APRIL (Рис.5.3.8.) и одной связи средней силы между количеством CD20+CD86+ и CD20+IL-10+ В-лимфоцитов ($r=0,763$ и $r=0,555$, соответственно). Была также выявлена одна сильная отрицательная корреляционная связь между содержанием CD19+CD27+ лимфоцитов и APRIL ($r=-0,763$) (Таблица 5.3.8.).

Таблица 5.3.8.

Характеристика корреляционных связей между показателями дифференцировки, активации В-лимфоцитов и продукцией антител в перитонеальной жидкости у группы сравнения

Связь	Силы связи (r)	p
Положительные корреляционные связи		
CD19+CD27- ↔ APRIL	0,763	0,000
CD20+CD86+ ↔ CD20+IL-10+	0,555	0,021
Отрицательные корреляционные связи		
CD19+CD27+ ↔ APRIL	-0,763	0,028

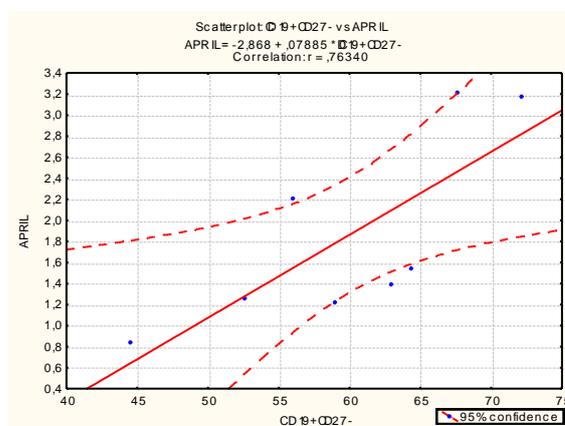


Рис. 5.3.8. Характеристика сильной положительной корреляционной связи между наивными В-клетками и APRIL в перитонеальной жидкости женщин с трубным фактором бесплодия

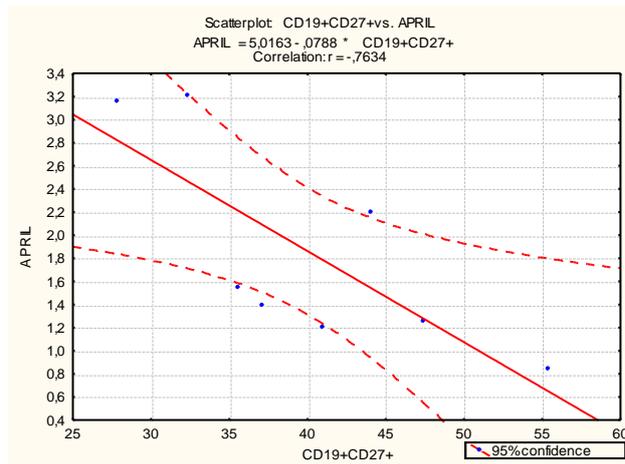


Рис. 5.3.9. Характеристика сильной отрицательной корреляционной связи между В-клетками памяти и APRIL в перитонеальной жидкости женщин с трубным фактором бесплодия

Таким образом, в группах женщин с эндометриозом как на системном, так и на локальном уровне корреляционные связи отличались меньшим количеством и меньшей силой по сравнению с контролем и группой сравнения. В группах здоровых женщин и с трубным фактором бесплодия эти связи выявлялись в большом количестве и были преимущественно сильными. Снижение количества и силы корреляционных связей у пациенток 1 и 2 основных клинических групп позволяет говорить о нарушении процесса дифференцировки В-лимфоцитов и его регуляции при эндометриозе и связанном с ним бесплодии.

**Глава 6. ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
ПОКАЗАТЕЛЕЙ АКТИВНОСТИ ГУМОРАЛЬНЫХ ИММУННЫХ
РЕАКЦИЙ В КАЧЕСТВЕ КРИТЕРИЕВ ДИАГНОСТИКИ
ЭНДОМЕТРИОЗА И СВЯЗАННОГО С НИМ БЕСПЛОДИЯ**

При анализе полученных иммунологических данных нами был выявлен ряд параметров, которые различались у пациенток с бесплодием различной этиологии. Для решения вопроса о возможности практического использования выявленных изменений нами был проведен ROC анализ, который позволил выявить наиболее чувствительные и специфические показатели, которые можно применять в качестве дополнительных дифференциально-диагностических критериев эндометриоза у пациенток с бесплодием.

Следует подчеркнуть, что при анализе данных было установлено, что все выявленные нами иммунологические различия не зависели от стадии эндометриоза, были однонаправленными как при «малых», так и при распространенных формах эндометриоза. В связи с этим, выявленными нами диагностические параметры относятся ко всем пациенткам с эндометриозом, вне зависимости от его стадии. Данные, характеризующие наиболее чувствительные и специфичные показатели, различающиеся при бесплодии, обусловленным эндометриозом и трубно-перитонеальным фактором а также пограничные значения этих показателей представлены в таблице 6.1.

Таблица 6.1.

Данные ROC-анализа различий иммунологических показателей пациенток с бесплодием, обусловленным эндометриозом и трубно-перитонеальным фактором.

Показатель	Диагностический критерий эндометриоза	Точность метода, %	Чувствительность, %	Специфичность, %	Площадь под Roc-кривой
CD20+IL10+	≤18,7%	82,8	77,8	100,0	0,917
CD19+CD27+	≤28,3%	74,4	72,1	84,0	0,820

CD19+IgD+	>51,6%	87,2	92,6	80,0	0,894
CD20+CD5+	>1,3%	76,1	80,0	68,2	0,813
анти- овариальные АТ	>4,583 МЕ/мл	77,3	71,6	92,6	0,866
APRIL	$\geq 0,964$ нг/мл	84,3	84,0	71,4	0,743

Как видно из представленных данных, одним из показателей, который различался в группах пациенток с бесплодием различной этиологии, является относительное содержание регуляторных В-лимфоцитов с фенотипом CD20+IL-10+. У пациенток с бесплодием и эндометриозом этот показатель был ниже, чем при трубно-перитонеальном бесплодии. Нами было установлено пограничное значение показателя относительного содержания CD20+IL-10+ лимфоцитов крови, которое составило 18,7% (Таблица 6.1.). Площадь AUC при данном пороговом значении для регуляторных В-лимфоцитов составила 0,917, чувствительность – 77,8% и специфичность – 100,0% (рисунок 6.1). При количестве регуляторных В-лимфоцитов равном или меньшем 18,7% мы можем с точностью 82,8% диагностировать эндометриоз у женщин с бесплодием.

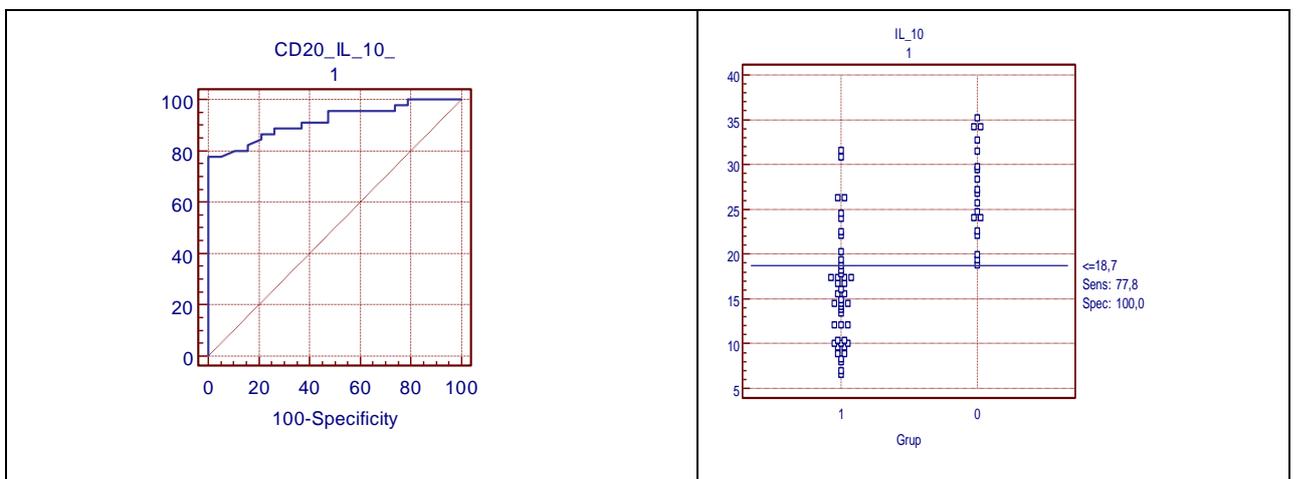


Рис. 6.1. Данные ROC-анализа содержания CD20+IL10+ лимфоцитов у женщин с бесплодием, обусловленным эндометриозом и трубно-перитонеальным фактором.

(Примечание: 1 – группа с бесплодием и эндометриозом; 0 – группа с бесплодием, обусловленным трубно-перитонеальным фактором).

Еще одним показателем, который значительно различается у женщин с эндометриозом и трубно-перитонеальным фактором, было относительное содержание CD19+CD27+ клеток памяти. Содержание этого пула клеток при эндометриозе также было ниже, чем при трубно-перитонеальном факторе бесплодия. Пороговое значение относительного содержания CD19+CD27+ лимфоцитов – 28,3%, площадь AUC для этого показателя составила 0,820, точность – 74,4%, чувствительность – 72,1% и специфичность – 84% (рисунок 6.2). При значениях относительного количества CD19+CD27+ В-лимфоцитов в периферической крови пациенток с бесплодием 28,3% и менее можно диагностировать эндометриоз с точностью - 74,4%.

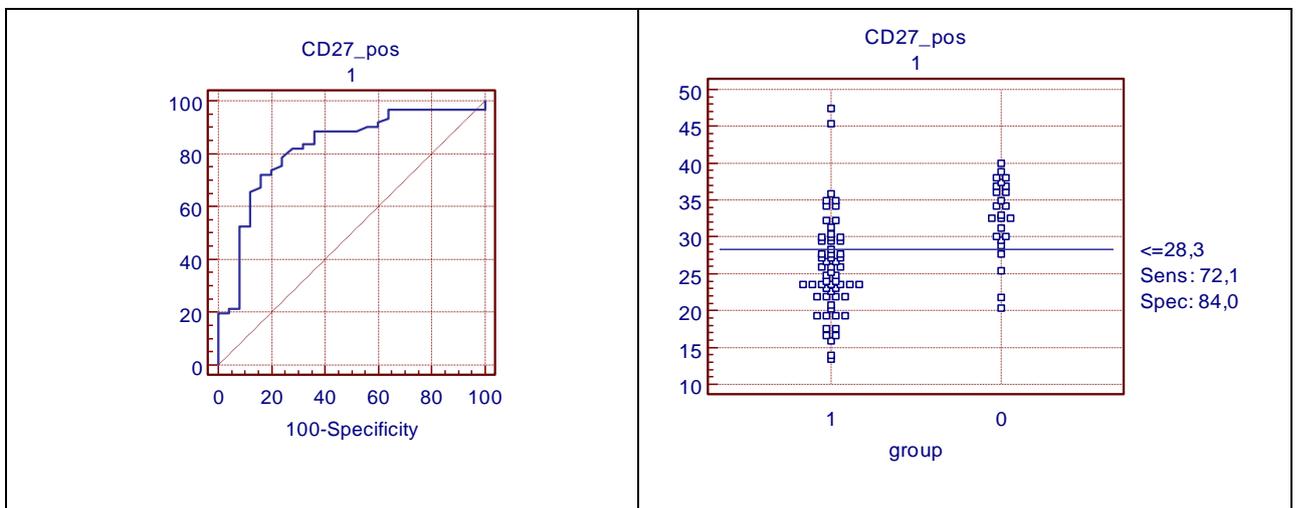


Рис. 6.2. Данные ROC-анализа содержания CD19+CD27+ лимфоцитов у женщин с бесплодием, обусловленным эндометриозом и трубно-перитонеальным фактором.

(Примечание: 1 – группа с бесплодием и эндометриозом; 0 – группа с бесплодием, обусловленным трубно-перитонеальным фактором).

Анализ иммунологических данных показал, что общее содержание IgD+ лимфоцитов в пуле CD19+ В-клеток у пациенток с эндометриозом выше, чем у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. Пороговое значение CD19+IgD+ лимфоцитов составило 51,6% и более, площадь AUC - 0,894. (рисунок 6.3).

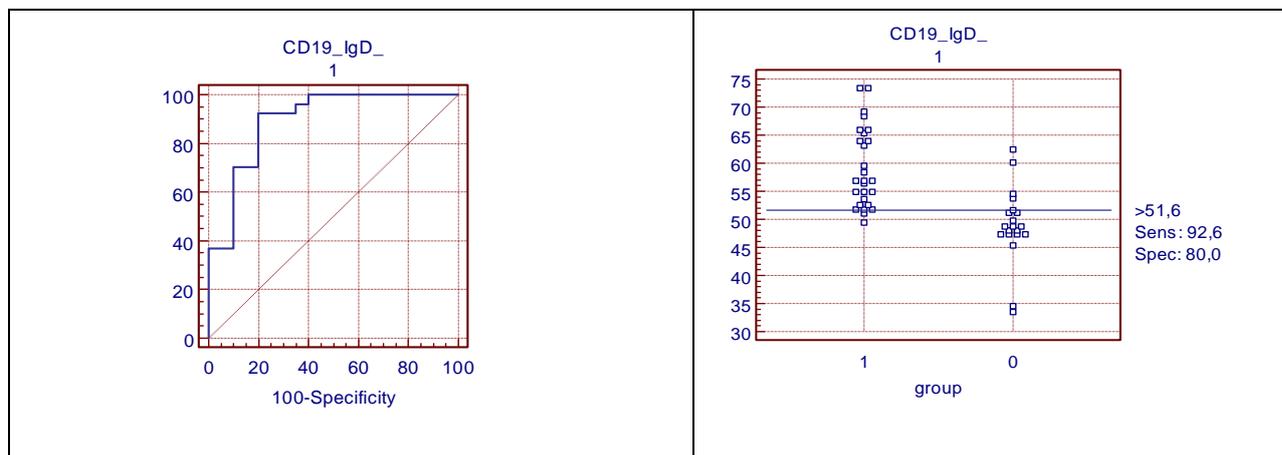


Рис. 6.3. Данные ROC-анализа содержания CD19+IgD+ лимфоцитов у женщин с бесплодием, обусловленным эндометриозом и трубно-перитонеальным фактором.

(Примечание: 1 – группа с бесплодием и эндометриозом; 0 – группа с бесплодием, обусловленным трубно-перитонеальным фактором).

Для определения возможности использования этого показателя в качестве критерия диагностики эндометриоза при бесплодии неясного генеза, мы провели ретроспективный анализ этого показателя у 47 пациенток с бесплодием. Высокие значения (51,6% и более) были выявлены у 29 пациенток, и впоследствии диагноз эндометриоза был установлен при проведении лапароскопии у 25 женщин. Низкие значения показателя CD19+IgD+ лимфоцитов отмечались у 18 пациенток, и только у 2 из них был впоследствии выявлен эндометриоз. Таким образом, точность критерия оставила 87,2%, чувствительность - 92,6%, специфичность – 80,0% (Таблица 6.1.). На основании полученных результатов нами был разработан новый способ диагностики эндометриоза у женщин с бесплодием. Выбор данного параметра для диагностики эндометриоза при бесплодии основан на

оптимальном сочетании точности, чувствительности и специфичности метода. Получен патент на изобретение «Способ диагностики эндометриоза у женщин с бесплодием» от 15.06.2018 № 2 657 802.

Среди других иммунологических показателей, обладающих диагностической ценностью, следует выделить уровень относительного содержания CD20+CD5+ лимфоцитов. Пограничное значение относительного содержания в крови В1-лимфоцитов для пациенток с эндометриозом и бесплодием составило 1,3% и выше, площадь AUC при этом равна 0,813, точность – 76,1%, чувствительность – 80% и специфичность – 68,2% (Таблица 6.1., рисунок 6.4).

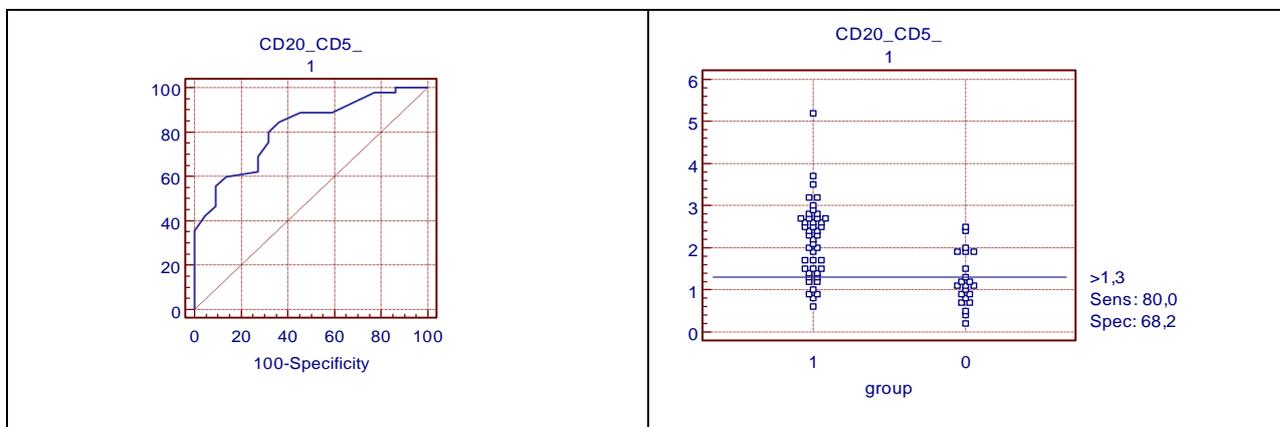


Рис. 6.4. Данные ROC-анализа содержания CD20+CD5+ лимфоцитов у женщин с бесплодием, обусловленным эндометриозом и трубно-перитонеальным фактором.

(Примечание: 1 – группа с бесплодием и эндометриозом; 0 – группа с бесплодием, обусловленным трубно-перитонеальным фактором).

Уровень сывороточного содержания анти-овариальных антител у пациенток с бесплодием и эндометриозом по нашим данным превышал аналогичный показатель у женщин с трубно-перитонеальным фактором. При проведении ROC-анализа было выявлено, что при пороговом значении для данного показателя 4,583 МЕ/мл, площадь AUC для данного показателя равна 0,866, точность – 77,3%, чувствительность - 71,6%, специфичность – 92,6% (рисунок 6.5).

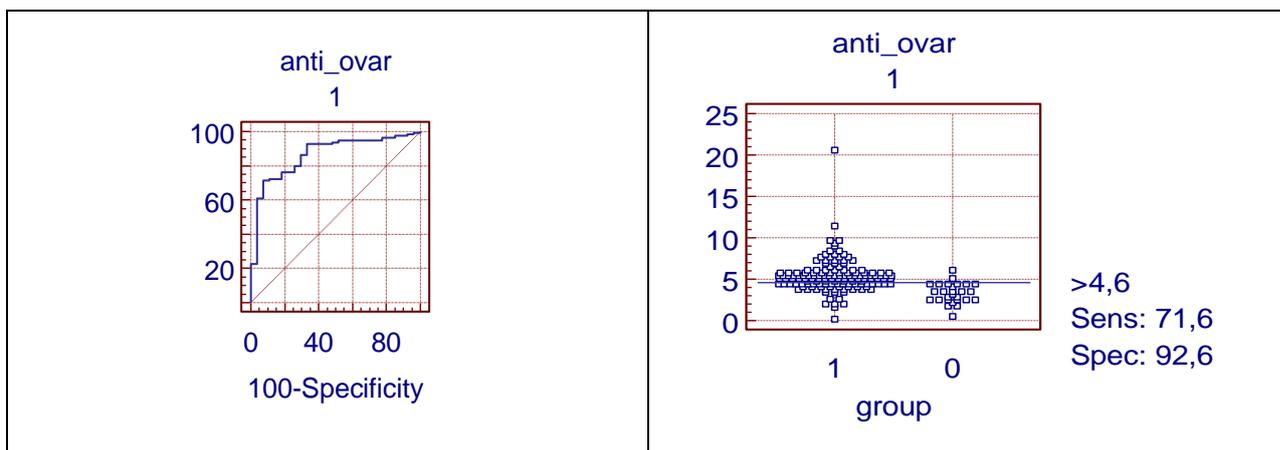


Рис. 6.5. Данные ROC-анализа содержания анти-овариальных АТ у женщин с бесплодием, обусловленным эндометриозом и трубно-перитонеальным фактором.

(Примечание: 1 – группа с бесплодием и эндометриозом; 0 – группа с бесплодием, обусловленным трубно-перитонеальным фактором).

И еще один из изученных нами иммунологических параметров обладал диагностической ценностью при определении этиологии бесплодия. Анализ сывороточного содержания регуляторного фактора APRIL у пациенток с эндометриозом и трубно-перитонеальным фактором показал, что при значении сывороточного содержания APRIL более 0,964 нг/мл, площадь AUC для этого параметра составляет 0,743, точность – 83,4%, чувствительность – 84,0% и специфичность – 71,4% (рисунок 6.6).

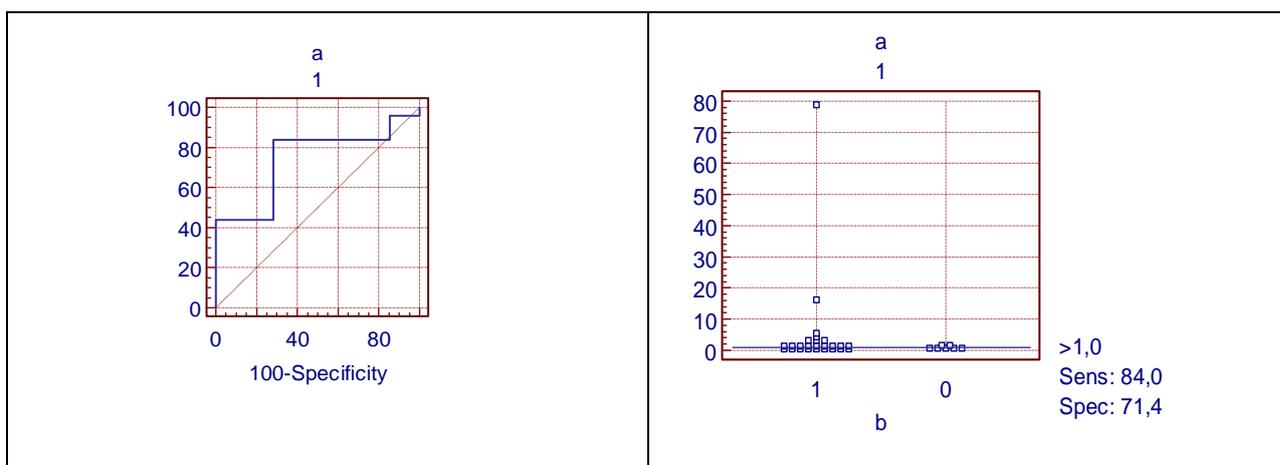


Рис. 6.6. Данные ROC-анализа содержания APRIL у женщин с бесплодием, обусловленным эндометриозом и трубно-перитонеальным фактором.

(Примечание: 1 – группа с бесплодием и эндометриозом; 0 – группа с бесплодием, обусловленным трубно-перитонеальным фактором).

Таким образом, определение ряда иммунологических показателей, характеризующих особенности дифференцировки и регуляции активности В-лимфоцитов периферической крови, таких как CD20+IL10+, CD19+CD27+, CD19+IgD+, CD20+CD5+, анти-овариальные антитела, APRIL, позволяет диагностировать эндометриоз у пациенток с бесплодием неясного генеза. Наибольшей диагностической значимостью обладает показатель CD19+IgD+ лимфоцитов, в связи с чем, именно этот параметр был использован нами при разработке нового «Способа диагностики эндометриоза у женщин с бесплодием», который может быть рекомендован для широкого практического использования.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как известно, в структуре женского бесплодия ведущее место занимают гормональный фактор (в 35-40% случаев), трубный фактор (в 20-30% случаев, а по данным некоторых исследований до 74%), а также эндометриоз [46]. По данным разных авторов эндометриоз диагностируется у 20-50% пациенток с бесплодием неясного генеза [69]. В современных условиях частота диагностики эндометриоза при бесплодии возросла до 80%, что связано с широким применением, а также доступностью такого метода диагностики как лапароскопия. Принято считать, что в основе патогенеза эндометриоза лежат аутоиммунные нарушения, которые сопровождаются усиленной продукцией аутоантител различной специфичности [159]. Однако работы, посвященные изучению характера функционирования В-лимфоцитов при эндометриозе и связанном с ним бесплодии, в настоящее время практически отсутствуют. В нашей работе была поставлена цель выявить механизмы участия периферических и перитонеальных В-лимфоцитов в развитии аутоиммунных реакций у женщин с бесплодием, связанным с эндометриозом, и на основании полученных результатов разработать новые критерии диагностики этой патологии.

В условиях гинекологической клиники ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава России нами были обследованы 243 женщины, поступившие на оперативное лечение по поводу бесплодия. У 161 женщины при проведении лапароскопии был диагностирован эндометриоз I-II стадии согласно классификации ASF (1 основная группа), у 53 женщин - III-IV стадии согласно классификации ASF (2 основная группа), у 29 женщин был выявлен трубно-перитонеальный фактор бесплодия (группа сравнения). В контрольную группу вошли гинекологически здоровые фертильные женщины (n=60).

Средний возраст женщин основных групп наблюдения, группы сравнения и контроля был сопоставим, и колебался от 21 до 42 лет. Во всех группах преобладали пациентки активного репродуктивного возраста, а

именно - 26-30 лет. В контрольной группе таких женщин было 50%, в группе с эндометриозом 1-2 стадии – 47,02%: в группе с эндометриозом с 3-4 стадии – 43,4%, в группе сравнения – 48,28%. Достоверных различий в группах поэтому показателю выявлено не было. В контрольной группе встречались женщины старше 35 лет, что объясняется показаниями стерилизации. Эти результаты согласуются с данными литературы, также утверждающими, что эндометриоз диагностируется у женщин активного репродуктивного возраста [14; 69; 18; 158].

Средний возраст менархе составил в группе женщин с эндометриозом 1-2 стадии – $13,04 \pm 0,10$ года, в группе с эндометриозом 3-4 стадии – $13,11 \pm 0,17$ года, что достоверно не отличалось от контроля и группы сравнения. Женщины контрольной, 1 и 2 основных групп и группы сравнения были сопоставимы по длительности менструального цикла, которая составила по группам $28,83 \pm 0,28$, $28,44 \pm 0,16$, $27,6 \pm 0,35$ и $28,17 \pm 0,24$ дня, и продолжительности менструальных кровотечений, которое было равно $4,98 \pm 0,14$, $4,8 \pm 0,09$, $5,1 \pm 0,16$ и $5,17 \pm 0,23$ дням, соответственно. Также не было выявлено достоверных различий в возрасте начала половой жизни, частоте встречаемости аномальных маточных кровотечений и олигоменореи ($p < 0,05$ во всех случаях).

В ходе анализа характера менструальной функции было установлено, что у пациенток 1 и 2 основных клинических групп и в группе сравнения достоверно чаще имели место болезненные менструации (52,17%, 90,6%, 41,38%, $p=0,001$, $p=0,001$, $p=0,05$ соответственно), чем у женщин контрольной группы (21,67%). Причем нами отмечено, что в группе женщин с 3-4 стадией эндометриоза частота альгоменореи была достоверно выше, чем в группе с эндометриозом 1-2 стадии и в группе сравнения ($p=0,001$ в обоих случаях). Наши данные хорошо согласуются с мнением многих авторов о том, что альгоменорея является одной из главных жалоб женщин с эндометриозом [51]. В своем исследовании Tasuku Harada к причинам возникновения боли при эндометриозе отнес перитонеальные поражения, вызывающие

воспалительную реакцию с секрецией простагландинов, цитокинов, гистамина и кинина. Глубокий инфильтративный эндометриоз, сам по себе разрушающий ткани и нервные волокна, вызывает болевые ощущения. Также возможно раздражение брюшины детритом разорвавшихся эндометриоидных кист [154].

При анализе репродуктивной функции обследованных женщин нами были выявлены следующие особенности. Среднее количество беременностей на женщину в группах пациенток с эндометриозом ($0,66 \pm 0,07$ и $0,39 \pm 0,11$ в 1 и 2 основных группах, соответственно) было достоверно меньше по сравнению со здоровыми женщинами ($2,22 \pm 0,36$) и женщинами с трубным фактором бесплодия ($2,87 \pm 0,23$, $p < 0,001$ во всех случаях). Также нами было отмечено что этот показатель в группе пациенток с эндометриозом 3-4 стадии был достоверно ниже по сравнению с группой женщин с 1-2 стадией эндометриоза ($p < 0,05$). Своевременных родов в основных группах (19,8%, 13,2%) и группе сравнения (27,6%) было достоверно меньше по сравнению с контрольной группой (100%, $p < 0,001$ во всех случаях). Преждевременные роды в анамнезе отмечены у одной женщины из группы эндометриоза 1-2 стадии, что достоверно не отличалось от других групп.

Ранние и поздние самопроизвольные выкидыши достоверно чаще наблюдались в группе женщин с «малыми» формами эндометриоза, ранние – по сравнению с группой с распространенными формами ($p < 0,01$), поздние – по сравнению с другими группами наблюдения ($p < 0,02$ во всех случаях). Литературные данные по влиянию эндометриоза на исход беременностей, достаточно противоречивы. Так, Barbosa et al. (2014), опираясь на 18 исследований у 2324 женщин, обнаружили небольшое и умеренное увеличение риска выкидыша среди беременных женщин с эндометриозом [91]. В мета-анализе 2015 года, в который было включено меньшее число данных, Хамдан и др. не выявили никакой разницы в частоте выкидышей у пациенток с эндометриозом [99]. В своем исследовании Pietro Santulli (2016) с коллегами проанализировал частоту самопроизвольных выкидышей среди

женщин с выкидышами в анамнезе с проведенной лапароскопией. Сравнивались группы пациенток с различными стадиями эндометриоза и женщины без эндометриоза. По данным ученых самый высокий показатель предыдущих выкидышей приходился на случаи поверхностного эндометриоза. [97]. Выдвинуто несколько гипотез, объясняющие это явление: ранние метаболически активные поражения могут демонстрировать более высокий уровень молекулярных нарушений, таких как воспаление [68], по сравнению с фиброзными поражениями прогрессирующего эндометриоза [50]. Нарушение репродуктивной функции у женщин с тяжелым эндометриозом приводит к общему снижению числа беременностей и, как следствие, снижению частоты выкидышей [20]. Выявленная нами повышенная частота ранних и поздних самопроизвольных выкидышей у пациенток с «малыми» формами эндометриоза может быть связана с иммунологическими нарушениями, поскольку, по мнению многих авторов эндометриоз сопровождается иммунологическими нарушениями, которые приводят к развитию осложнений беременности, как в ранние, так и поздние сроки [9].

Артифициальными абортами беременность прерывали 23,3% женщин группы контроля, 16,77% женщин из группы с эндометриозом 1-2 стадии, 18,87% женщин с эндометриозом 3-4 стадии. У пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия этот показатель составил 41,4%, что достоверно чаще, чем у женщин с эндометриозом различных стадий ($p < 0,02$, $p < 0,05$ соответственно). Этот факт хорошо согласуется с мнением многих авторов, о том, что причиной трубного бесплодия является восходящая инфекция, возникающая во время проведения внутриматочных манипуляций, в частности медицинских аборт [83].

Бесплодие длительностью 3-5 лет было диагностировано у 49,69% женщин с «малыми» формами эндометриоза, что достоверно чаще по сравнению с женщинами с распространенными формами (34%, $p < 0,05$). Данный факт может быть объяснен трудностями диагностики эндометриоза 1-

2 стадии, так как основной жалобой у женщин с «малыми» формами эндометриоза, как правило, является бесплодие, и у этих женщин нет каких-либо ярких клинических проявлений, тогда как эндометриоз 3-4 стадии сопровождается выраженной альгоменореей и имеет свои ультразвуковые признаки, позволяющие его заподозрить в более ранние сроки. В своем исследовании Luciana Pardini Chamié et al. (2011) пришли к выводу, что наиболее характерными ультразвуковыми признаками распространенного эндометриоза являются перитонеальные фиброзные узелки, кисты яичников со старым геморрагическим содержимым и спайки. Громова Т.С. с соавторами также утверждают, что трансвагинальное ультразвуковое исследование является высоко чувствительным и специфичным методом исследования, позволяющим заподозрить распространенные формы эндометриоза, кроме того МРТ диагностика также является эффективным методом диагностики эту патологию [2].

В группе женщин с «малыми» формами эндометриоза первичное бесплодие встречалось несколько чаще (56%), чем вторичное (44%), а у женщин с распространенным эндометриозом первичное бесплодие (73,6%) встречалось достоверно чаще, а вторичное (26,4%) реже по сравнению с группой женщин с «малыми» формами эндометриоза ($p < 0,02$ в обоих случаях) и группой сравнения (38% и 62%, $p < 0,01$ в обоих случаях). Этот факт согласуется с мнением авторов, что, в целом, у женщин с эндометриозом чаще диагностируется первичное бесплодие [83; 56; 68]. Максимальная частота первичного бесплодия у женщин с распространенным эндометриозом может быть обусловлена тем, что при эндометриозе 3-4 стадии отмечаются грубые анатомические нарушения в малом тазу, которые изначально препятствуют процессу зачатия [50].

Большинство женщин двух основных клинических групп и группы сравнения (84,5%, 80% и 93,1% соответственно) не использовали методы контрацепции, что достоверно чаще, чем в контрольной группе (26,7%, $p < 0,001$ во всех случаях). Особо следует отметить, что женщины основных

групп реже использовали КОК (3,73% и 3,77% соответственно) в качестве способа контрацепции по сравнению со здоровыми женщинами (15%, $p=0,02$, $p=0,05$ соответственно), что, возможно, способствовало прогрессированию эндометриоза. Доказано, что применение гормональной контрацепции способствует переходу эндометриоза в стадию ремиссии, а диеногест в составе препарата «Визанна» используется после лапароскопической деструкции и иссечения очагов эндометриоза для предупреждения рецидива патологии [7; 4; 12; 13].

Анализ структуры гинекологической патологии в анамнезе обследованных женщин показал, что в группе женщин с «малыми» формами эндометриоза достоверно чаще по сравнению с контролем и группой женщин с распространенными формами встречались воспалительные заболевания малого таза. До проведения предоперационной санации женщин нами был оценен их инфекционный статус. Анализ полученных данных показал, что в 1 основной группе достоверно чаще встречались маркеры хронического бактериального инфицирования (78,5%) и сочетание маркеров вирусного и бактериального (42,99%) инфицирования по сравнению с контролем (25% и 22,7%, $p<0,05$, $p<0,02$ соответственно). Оценка шансов показала, что наличие маркеров хронической бактериальной инфекции увеличивают риск бесплодия, ассоциированного с «малыми» формами эндометриоза в 1,362 раза (95%, ДИ 1,019-1,819); а сочетание бактериальной и вирусной инфекции в 1,279 раза (95% ДИ 1,054-1,552). Возможно, локальная инфекция способствует иммунологическим изменениям, способствующим развитию эндометриоза, что предполагалось в ряде работ [131; 113; 25; 134]. Наличие в анамнезе воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин 1 основной группы могло также быть причиной высокой частоты невынашивания среди женщин данной группы.

Большая часть пациенток из группы сравнения также имели в анамнезе воспалительные заболевания органов малого таза, что достоверно отличало этих женщин от пациенток основных клинических групп наблюдения и от

контрольной группы. Данные результаты вполне логичны, поскольку именно данная патология является основной причиной формирования трубно-перитонеального фактора бесплодия [23]. Нами были посчитаны шансы, согласно которым, воспалительные заболевания малого таза повышают риск развития малых форм эндометриоза в 1,32 раза (1,148-1,519) и риск развития трубного бесплодия 3,748 раза (95%; ДИ – 2,16-6,503).

В группе женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия достоверно чаще выявлялись маркеры острого (64%, $p < 0,01$) и хронического бактериального инфицирования (92%, $p < 0,01$) и их сочетание (64%, $p < 0,01$), маркеры острой вирусной инфекции (68%, $p < 0,05$) и ее сочетание с бактериальной (60%, $p < 0,01$) по сравнению со здоровыми женщинами (29,55%, 59,1%, 25%, 38,64%, 22,7%). Следует отметить, что в структуре острого бактериального инфицирования пациенток с сальпингитом доминировала *Chlamydia trachomatis*, IgM антитела к которой выявлялись в 40% случаев, тогда как в других клинических группах наблюдения этот показатель не превышал 5%. Как известно, самой распространенной причиной повреждения труб являются воспалительные заболевания органов малого таза, которые в последние годы вызвано главным образом инфекцией *Chlamydia trachomatis*. Поражение труб после одного эпизода тазовой инфекции составляет приблизительно 12%, 23% после двух эпизодов и 54% после трех эпизодов. [168; 144]. Факторами риска, ассоциированными с трубно-перитонеальным бесплодием, оказались острое (ОР 2,45, ДИ 95% 1,275-4,755) и хроническое (ОР 4,694, ДИ 95% 1,219-18,072) бактериальное инфицирование и их сочетание (ОР 2,765, ДИ 95% 1,432-5,312), наличие острой вирусной инфекции (ОР 2,18, ДИ 95% 1,1-4,4) и сочетание ее с бактериальной (ОР 2,64, ДИ 95% 1,403-4,966). Таким образом, инфекционный фактор может приводить к развитию бесплодия у пациенток с хроническим сальпингитом, а также с «малыми» формами эндометриоза. Нарушение фертильности у женщин с распространенным эндометриозом, по-видимому, в

меньшей степени зависит от наличия инфекций, передающихся преимущественно половым путем.

У женщин 1 основной группы достоверно чаще в анамнезе диагностировалась гиперпролактинемия по сравнению контрольной группой. В исследованиях Seddigheh Esmaeilzadeh (2015г.) было показано, что уровень пролактина значительно выше в группе женщин с бесплодием, обусловленным эндометриозом по сравнению с контрольной группой, в которую вошли женщины с бесплодием, обусловленным другими причинами [27]. Гиперпролактинемия может возникать при эндометриозе как следствие локальной гиперэстрогемии [15], а также как следствие стресса, возникающего вследствие дисменореи при эндометриозе. В свою очередь пролактин является индуктором ангиогенеза, являющимся важным звеном развития эндометриоидных инфильтратов [39], и подавляет овуляцию, формируя относительную гиперэстрогемию и недостаточность прогестерона, также способствующих развитию эндометриоза [135]/ Таким образом, можно предположить, что гиперпролактинемия и наружный генитальный эндометриоз - это патологические процессы, провоцирующие развитие друг друга.

В группе женщин с распространенными формами эндометриоза чаще встречались кистозно-измененные яичники (функциональные и эндометриоидные кисты), диагностированные при проведении УЗИ, что согласуется с данными авторов о том, что трансвагинальное ультразвуковое исследование или магнитно-резонансная томография позволяют обнаружить эндометриому яичников на 3 или 4 стадии эндометриоза. Эндометриоз 1 и 2 стадии может быть диагностирован только путем визуализации при лапароскопии либо лапаротомии [2].

Среди экстрагенитальной патологии у женщин с «малыми» формами эндометриоза отмечена повышенная частота аллергических реакций по сравнению с контрольной группой и заболеваний дыхательной системы, а именно, бронхиальной астмы, по сравнению с группой женщин с

распространенными формами эндометриоза. Эти данные согласуются с результатами исследований многих авторов, указывающих на ассоциацию эндометриоза с этими заболеваниями [10]. При подсчете шансов оказалось, что наличие аллергических реакций в анамнезе пациентки увеличивает риск развития «малых» форм эндометриоза в 1,195 раза (95%; ДИ – 1,011-1,411). Matalliotakis I. с соавторами (2012 г.) провел исследование, доказывающее, что женщины с эндометриозом часто страдают аутоиммунными воспалительными заболеваниями, аллергией и астмой, а также показал, что общий риск развития эндометриоза у женщин с позитивным аллергическим анамнезом был 4.28 (95%, ДИ 2,9-6,3) [81].

Также у женщин 1 основной группы достоверно чаще с контролем и 2 основной группой встречались заболевания щитовидной железы, среди которых преобладал аутоиммунный тиреоидит. Многие исследователи пытались сравнить распространенность заболеваний щитовидной железы среди здоровых женщин и пациенток с эндометриозом. Так исследование 2007 года, проведенное С.А. Petta с соавторами, не выявило достоверных отличий в частоте выявления аутоиммунного тиреоидита и гипотиреоза у женщин с эндометриозом по сравнению со здоровыми женщинами [167]. Тогда как современное исследование Jin-Sung Yuk с коллегами (2016 г.) выявило связь между болезнью Грейвса и эндометриозом [77].

В группе женщин с распространенным эндометриозом достоверно чаще выявлялись хронические заболевания мочевыводящей системы по сравнению с контрольной группой, что, по мнению многих авторов, объясняется наличием выраженного инфильтративного поражения брюшины при эндометриозе, которое часто локализуется в области мочеточников и задней стенки мочевого пузыря, способствуя развитию воспалительных процессов этой системы [150]. А в анамнезе женщин группы сравнения достоверно чаще по сравнению с контрольной группой были оперативные вмешательства на органах малого таза, что могло повлечь за собой формирование спаечного процесса, препятствующего фертилизации

женщины [168]. При подсчете относительных рисков, оказалось, что оперативные вмешательства на органы брюшной полости увеличивают риск трубно-перитонеального бесплодия в 2,086 раза (95%, ДИ 1,138-3,822).

Таким образом, анализ клинико-anamnestических данных показал, что эндометриоз диагностируется в основном у женщин активного репродуктивного возраста, основной жалобой которых являлось бесплодие. При анализе анамнестических данных у женщин с «малыми» формами эндометриоза чаще выявлялись аллергические реакции и заболевания с аутоиммунным компонентом, что подтверждает предположение о том, что в патогенезе эндометриоза присутствуют аутоиммунные нарушения. Кроме этого, у женщин с 1-2 стадией эндометриоза имели место частые воспалительные заболевания органов малого таза, что говорит в пользу участия воспалительного компонента в развитии данной патологии. У женщин с распространенными формами эндометриоза обратили на себя внимание выраженная дисменорея, преобладание первичного бесплодия, частые заболевания мочевыделительной системы. Все эти факты могут быть объяснены выраженными анатомическими нарушениями в малом тазу (спаечный процесс, глубокая инфильтрация очагов, эндометриоидные кисты яичников), характерными для эндометриоза 3-4 стадии, которые могут препятствовать реализации репродуктивной функции женщины. В тоже время, группа сравнения характеризовалась преобладанием пациенток с вторичным бесплодием, частыми абортами, оперативными вмешательствами на органах брюшной полости, высокой частотой воспалительных заболеваний органов малого таза преимущественно хламидийной этиологии, способствующих нарушению проходимости маточных труб, тем самым нарушая естественный процесс зачатия. Опираясь на полученные клинико-anamnestические данные, мы можем предположить, что в патогенезе бесплодия при «малых» формах эндометриоза основная роль принадлежит иммунным нарушениям, при распространенных формах – анатомическим

изменениям, а при трубном бесплодии – воспалительному компоненту, приводящему к нарушению проходимости маточных труб.

Для более полного понимания механизмов, определяющих развитие бесплодия у пациенток с эндометриозом, особый интерес представляет уточнение роли иммунных нарушений в этом процессе. Гипотеза об участии иммунологических факторов как в развитии самого эндометриоза, так и в нарушении фертильности при эндометриозе была выдвинута достаточно давно [111; 132]. Интенсивные исследования в этом направлении ведутся и в настоящее время. К настоящему времени считается доказанной роль цитокинов и факторов роста, а также макрофагов перитонеальной жидкости в патогенезе эндометриоза [42; 139; 129]. Первые работы, посвященные вовлечению в патологический процесс при эндометриозе В-лимфоцитов и продуцируемых ими антител, появились еще в конце прошлого века [103; 29]. Однако механизмы, определяющие нарушение функции В-лимфоцитов и ведущие к продукции ими аутоантител, до сих пор до конца не ясны. В литературе отсутствуют данные о характере дифференцировки В-лимфоцитов и факторах, вовлекающихся в этот процесс, при эндометриозе и связанном с ним бесплодии. В связи с этим, в ходе нашего исследования мы оценили содержание периферических и перитонеальных В-лимфоцитов, находящихся на разных стадиях дифференцировки, активированных В-лимфоцитов, регуляторных В-лимфоцитов, плазматических клеток, продуцирующих антитела, и попытались установить взаимосвязь между уровнем зрелости В-клеток и продукцией аутоантител при эндометриозе и связанном с ним бесплодии. Для более полного понимания механизмов нарушения фертильности при эндометриозе, в качестве группы сравнения мы использовали показатели бесплодных пациенток с трубно-перитонеальным фактором.

Анализ данных, характеризующих дифференцировку В-лимфоцитов на системном и локальном уровне, показал, что у всех женщин с эндометриозом вне зависимости от стадии процесса в периферической крови и в

перитонеальной жидкости было повышено количество наивных классических CD19+CD27- лимфоцитов и снижено содержание CD19+ CD27+ клеток памяти. Данные изменения отмечались как по сравнению с контрольной группой, так и с группой сравнения и были характерны только для пациенток с эндометриозом и бесплодием. Выраженность изменений на системном уровне не зависела от стадии эндометриоза, а в перитонеальной жидкости изменения содержания наивных В-лимфоцитов и В-клеток памяти были выражены сильнее при распространенном эндометриозе.

Как известно, наивные В-лимфоциты представляют собой популяцию циркулирующих В-лимфоцитов, не контактировавших с антигеном, а В-клетки памяти - это активированные В-лимфоциты, встречавшиеся с определенным антигеном, и способные в случае повторного проникновения этого антигена к быстрой дифференцировке и продукции высокоспецифичных антител. Эти две популяции различаются по экспрессии CD27 молекул, которые отсутствуют на мембране наивных В-лимфоцитов и экспрессируется В-клетками памяти. Соответственно, наивные В-лимфоциты имеют фенотип CD19+CD27-, а клетки памяти - CD19+CD27+ [87]. Исследования многих авторов свидетельствуют о том, что изменения в балансе наивных лимфоцитов и В-клеток памяти сопровождается многие аутоиммунные заболевания, такие как системный склероз, ревматоидный артрит и системная красная волчанка, для которых характерно высокое содержание наивных В-лимфоцитов и сниженный уровень В-клеток памяти [142; 93; 6]. Таким образом, полученные нами результаты в целом согласуются с выдвинутой ранее гипотезой об аутоиммунной природе эндометриоза, поскольку выявленное нами нарушение дифференцировки В-лимфоцитов при эндометриозе, сопровождающееся накоплением наивных В-клеток, является характерной чертой патологических состояний с аутоиммунным компонентом. Выявленная нами связь выраженности локальных нарушений дифференцировки В-лимфоцитов со стадией эндометриоза также свидетельствует в пользу предположения о важной роли

аутоиммунных нарушений в механизмах развития эндометриoidных гетеротопий. С другой стороны, нарушения дифференцировки В-лимфоцитов могут быть связаны и с механизмами развития бесплодия у пациенток с эндометриозом. Это предположение подтверждается данными, полученными Sung N. С соавторами (2016г.), которые в своем исследовании показали, что у женщин с бесплодием повышено относительное содержание наивных В-клеток и снижено количество В-клеток памяти [54].

Для более углубленного анализа характера дифференцировки В-лимфоцитов при эндометриозе мы оценили экспрессию IgD молекул в популяциях CD27- и CD27+ В-клеток. Нами было установлено, что у всех женщин с эндометриозом вне зависимости от стадии заболевания в периферической крови и в перитонеальной жидкости было повышено количество наивных CD19+IgD+CD27- лимфоцитов и снижено содержание CD19+IgD-CD27+ клеток памяти. Для перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом было характерно снижение пула как IgD-, так и IgD+ В-клеток памяти.

Известно, что IgD молекулы появляются на клеточной мембране зрелых В-лимфоцитов. Выходящие в кровь наивные зрелые В-лимфоциты экспрессируют IgD, но не CD27 молекулы, их принято называть «непереключенными» наивными В-лимфоцитами [123]. В дальнейшем после контакта с антигеном В-клетки дифференцируются в клетки памяти, для которых характерна потеря IgD молекул с одновременным появлением на клеточной мембране CD27 молекул. Эту клеточную популяцию принято называть классическими «переключенными» В-клетками памяти [155]. Однако небольшая часть клеток памяти продолжает экспрессировать IgD молекул и не проходят этап переключения изотипов иммуноглобулинов, в связи с чем их называют «непереключенными» В-клетками памяти [155]. К настоящему времени установлены функциональные особенности «переключенных» и «непереключенных» В-лимфоцитов.

Установлено, что в популяции классических «непереключенные» IgD+CD27- наивных В-лимфоцитов достаточно часто встречаются аутореактивные В-клетки, несущие В-клеточный рецептор, способный реагировать с антигенами собственного организма [75]. Показано, что уровень этих клеток значительно повышен при ревматоидном артрите, и коррелирует с активностью патологического процесса [75]. Увеличение в периферической крови пула «непереключенных» наивных В-лимфоцитов было также отмечено у пациентов с венозной тромбоэмболией, характеризующихся персистенцией антифосфолипидных антител, у пациентов с псориазом, а также при хроническом грануломатозе [110; 71; 21].

«Переключенные» В-клетки памяти обеспечивают быстрый и мощный антителозависимый иммунный ответ, обеспечивая быструю генерацию пула плазматических клеток в ответ на повторное поступление антигена [78]. При аутоиммунных заболеваниях часто отмечают значительное уменьшение количества именно этих высокоактивных В-клеток памяти [118]. Популяция «непереключенных» IgD+CD27+ клеток памяти, по мнению ряда авторов, формируется из активированных В-лимфоцитов под действием Т-хелперов на начальных этапах ответа на антигенную стимуляцию [172]. Значительное уменьшение этой популяции было отмечено у пациентов с антифосфолипидным синдромом [110].

Таким образом, отмеченное нами повышение уровня «непереключенных» наивных В-лимфоцитов, а также значительное падение количества «непереключенных» и «переключенных» В-клеток памяти, в максимальной степени выраженное в перитонеальной полости, подтверждает высказанное выше предположение об активации аутоиммунных реакций при эндометриозе и бесплодии, и о непосредственном вовлечении гиперактивированных В-лимфоцитов в процесс формирования и развития эндометриозных очагов.

Экспрессия IgD молекул в популяции В-лимфоцитов по нашим данным была специфична для инфертильных пациенток с эндометриозом, что

отличало их от пациенток с бесплодием другой этиологии, в частности, от пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. Нами было установлено, что у женщин с бесплодием, обусловленным эндометриозом, в периферической крови было значительно повышено относительное содержание CD19+IgD+ В-лимфоцитов по сравнению с группой сравнения. В перитонеальной жидкости достоверные отличия по этому показателю были отмечены только у женщин с «малыми» формами эндометриоза.

Известно, что IgD молекулы, образующие вместе с IgM, CD79a и CD79b молекулами комплекс В-клеточного рецептора (BCR), обеспечивают проведение активирующего сигнала в В-лимфоциты. Максимальный уровень экспрессии IgD молекул отмечается в популяции зрелых наивных В-лимфоцитов, выходящих из костного мозга в циркуляцию, до их стимуляции антигеном. [149]. Функция IgD молекул до сих пор до конца не ясна. Предполагают, что IgD-позитивные В-лимфоциты могут играть важную роль в развитии аутоиммунных реакций. Так, было установлено, что обработка В-лимфоцитов анти-IgD-антителами, ведущая к деплеции IgD+ В-клеток, определяет значительное снижение продукции аутоантител [26]. Уровень IgD молекул в сыворотке резко повышен у пациентов с аутоиммунными заболеваниями, а сам IgD может стимулировать пролиферацию мононуклеарных клеток крови, индуцировать продукцию ими провоспалительных цитокинов, активировать Т- и В-лимфоциты [172]. Выявленное нами повышенное содержание CD19+IgD+ клеток с потенциальным аутоиммунным действием может способствовать развитию аутоиммунных нарушений при эндометриозе, которые оказывают негативное влияние на состояние репродуктивной функции пациенток с эндометриозом.

По нашим данным, общее содержание В-лимфоцитов у пациенток с эндометриозом не отличалось от показателей контрольной группы, но ряд субпопуляций В-лимфоцитов при этом существенно изменялся. Так, у пациенток с бесплодием и эндометриозом вне зависимости от стадии патологического процесса на системном и локальном уровне повышено

содержание В1-лимфоцитов и плазматических клеток по сравнению с контрольной группой.

Известно, что пул В-1 лимфоцитов характеризуется фенотипом CD20+CD5+, имеет способность к быстрому Т-независимому ответу на антигены и к выработке антител широкой специфичности, что, по мнению многих авторов, сближает В-1 лимфоциты с эффекторным клеткам врожденного иммунитета [174]. Кроме того, антитела, вырабатываемые CD20+CD5 способны реагировать с антигенами собственного организма [89]. Уровень этих клеток повышен при системных аутоиммунных состояниях, таких как системная красная волчанка, антифосфолипидный синдром, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура [173; 110; 146]. Таким образом, повышенный уровень В-1 лимфоцитов также отражает высокий уровень активности аутоиммунных реакции при эндометриозе и связанном с ним бесплодии.

Плазматические клетки, уровень которых по нашим данным также повышен у пациенток с эндометриозом, представляют собой терминальную стадию дифференцировки зрелых эффекторных В-клеток. Они являются результатом клональной пролиферации активированной В-клетки после распознавания антигена, приводящими к получению как иммуноглобулин (Ig)-продуцирующих плазматических клеток, так и В-клеток памяти [90]. Наличие плазматических клеток в строме эндометрия является общепринятым критерием гистологической диагностики для хронического эндометрита [48; 72]. Ранее было показано, что уровень плазматических клеток повышен в очагах эндометриоза [86]. Данных о содержании плазматических клеток в крови и перитонеальной жидкости при эндометриозе в доступной нам литературе мы не встретили. Выявленное нами высокое содержание плазматических клеток на системном и локально уровне хорошо согласуется с данными о дифференцировки В-лимфоцитов и подтверждает высказанное выше мнение о высоком уровне напряженности гуморальных иммунных реакций при эндометриозе и связанном с ним бесплодии.

В нашем исследовании для всех женщин с бесплодием независимо от его этиологии было характерно высокое содержание активированных CD86+ В-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой. Как известно, CD86 молекулы являются костимуляторными молекулами, обеспечивающими взаимодействием В-лимфоцитов с Т-клетками в процессе развития гуморального иммунного ответа [119]. Экспрессия CD86 молекул значительно возрастает на поверхности активированных В-лимфоцитов [31]. Активированные В-клетки в больших количествах выявлялись при ревматоидном артрите, что позволило предложить использовать показатель активированных клеток В-лимфоцитов в качестве биомаркера для оценки терапевтического ответа отдельных пациентов с ревматоидным артритом [79]. Показано также, что CD19+CD86+ В-клетки связаны с более высоким риском развития инсульта и повышенным высвобождением провоспалительных цитокинов из мононуклеарных лейкоцитов [49]. Высокая активация В-клеток также может играть важную роль в развитии псориаза [43]. Таким образом, увеличение относительного содержания активированных В-лимфоцитов, характерное для аутоиммунных заболеваний, хорошо согласуется с выше приведенными данными об активации В-зависимого иммунного ответа у женщин с эндометриозом и бесплодием.

Для уточнения особенностей регуляции гуморальных иммунных реакций при эндометриозе мы оценили содержание такого важного фактора, усиливающего пролиферацию В-лимфоцитов, как APRIL (a proliferation inducing ligand, лиганд, индуцированный пролиферацией). Нами было установлено, что у женщин с «малыми» формами эндометриоза в крови и перитонеальной жидкости показатель APRIL не отличался от контрольных значений, а в группах женщин с распространенными формами эндометриоза и трубным фактором в перитонеальной жидкости этого фактора было меньше по сравнению с контрольной группой. Известно, что APRIL, относящийся к семейству TNF (tumor necrosis factor), играет важную роль в регуляции активности гуморального иммунного ответа, так как APRIL способствует

повышению жизнеспособности В-клеток, стимулирует их пролиферацию и антиген-презентирующую функцию [53]. Кроме того, APRIL индуцирует дифференцировку наивных В-лимфоцитов в долгоживущие плазматические клетки, продуцирующие антитела [17]. Эти свойства APRIL могут определять важную роль этого цитокина в развитии и поддержании целого ряда аутоиммунных заболеваний, включая системную красную волчанку, ревматоидный артрит, диабет и др. [53]. В ряде исследований было показано, что сывороточное содержание APRIL повышено у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) [28], при этом была выявлена позитивная корреляция между концентрацией APRIL в сыворотке крови и активностью патологического процесса, а также титром анти-ДНК-антител [36]. Сообщалось об увеличении сывороточного содержания APRIL при аутоиммунной гемолитической анемии [149] и при быстро прогрессирующей интерстициальной болезни легких [98]. Однако по нашим данным, значительных изменений в содержании APRIL при эндометриозе не происходит. По-видимому, этот фактор не принимает активного участия в регуляции гуморального ответа при эндометриозе и бесплодии.

В то же время, отличительной характеристикой пациенток с бесплодием и эндометриозом было низкое содержание регуляторных В-лимфоцитов с фенотипом CD20+IL-10+ как в крови, так и в перитонеальной жидкости. Известно, что регуляторные В-лимфоциты, Breg или B10 лимфоциты – это субпопуляция В-лимфоцитов, обладающая супрессивным действием за счет высокого уровня продукции IL-10 и/или TGF β [116]. В настоящее время доказана важная роль регуляторных В-лимфоцитов в развитии аутоиммунной патологии. По данным разных авторов у пациентов с аутоиммунными заболеваниями отмечаются изменения количества и функционального состояния Breg, причем существует обратная зависимость между уровнем Breg и активностью патологического процесса [120]. Нарушение активности регуляторных В-лимфоцитов из-за сниженной продукции IL-10 было выявлено у пациентов с СКВ, низкий уровень Breg отмечен при

ревматоидном артрите, диабете 1 типа, псориазе [112]. Существует мнение, что угнетение активности регуляторных В-лимфоцитов при аутоиммунной патологии происходит в результате длительного постоянного контакта этих клеток с провоспалительными цитокинами, продукция которых резко повышена при аутоиммунных реакциях. В конечном итоге функционально неполноценные Breg теряют способность к поддержанию иммунотолерантности и к супрессии воспаления [112]. Хорошо известно, что отличительной чертой эндометриоза является усиленная продукция многочисленных провоспалительных цитокинов, наиболее сильно выраженная в перитонеальной полости [73]. Можно предположить, что измененный локальный цитокиновый фон негативно влияет на функциональную активность регуляторных В-лимфоцитов и приводит к снижению уровня этих лимфоцитов как на системном, так и на локальном уровне. Все это определяет срыв регуляции В-зависимых реакций и является одним из пусковых механизмов, ведущих к несбалансированной активации В-лимфоцитов при эндометриозе.

Для того, чтобы определить, насколько особенности функционирования В-лимфоцитов связаны с развитием бесплодия при эндометриозе, мы проанализировали изученные иммунологические параметры в зависимости от характер бесплодия. Мы провели дифференцированный анализ иммунологических данных у пациенток с различной длительностью периода бесплодия (1-2 года, 3-5 лет и более 5 лет), а также в зависимости от наличия у пациенток с эндометриозе беременностей в анамнезе.

Анализ иммунологических данных в зависимости от длительности бесплодия показал, что наиболее выраженные изменения отмечались у женщин с «малыми» формами эндометриоза. У этих пациенток с увеличением длительности бесплодия от 1-2 лет до 5 лет в крови прогрессивно повышалось содержание В-лимфоцитов (как CD19+, так и CD20+), лимфоцитов и снижалось количество плазматических клеток, а в перитонеальной жидкости – падал уровень регуляторных В-лимфоцитов и

CD19+IgD+CD27+ клеток памяти. То есть, максимально выраженные нарушения со стороны В-лимфоцитов отмечались на начальных этапах развития бесплодия, а с увеличением продолжительности бесплодия активность клеток с потенциальной аутоиммунной активностью снижалась. Можно предположить, что развитие бесплодия у пациенток с «малыми» формами эндометриоза определяется изначально высокой гиперпродукцией аутоантител, негативно влияющих на репродуктивные процессы

Анализ данных у пациенток с первичным и вторичным бесплодием показал, что у женщин с «малыми» формами эндометриоза при первичном бесплодии отмечалось максимально высокое содержание наивных В-лимфоцитов и низкое - CD20+CD86+ лимфоцитов. При распространенном эндометриозе количество активированных В-клеток было максимальным при первичном бесплодии, что отличало эту подгруппу от здоровых женщин и от пациенток со вторичным бесплодием. Полученные результаты позволяют предположить, что развитие первичного и вторичного бесплодия при «малых» и распространенных формах эндометриоза ассоциировано с различными механизмами. Складывается впечатление, что первичное бесплодие при эндометриозе 1-2 стадии в большей мере связано с изначально имевшимися у женщины аутоиммунными нарушениями, тогда как у женщин с эндометриозом 3-4 стадии высокие показатели активированных клеток свидетельствуют в пользу активного воспалительного процесса, скорее всего связанного с обширным поражением брюшины инфильтрирующими эндометриоидными очагами. Вторичное бесплодие у женщин с «малыми» формами эндометриоза также, по-видимому, обусловлено воспалительными реакциями. Возможно, перенесенные воспалительные заболевания органов малого таза у женщин 1 основной группы стали причиной иммунологических изменений воспалительного характера, повлекших за собой развитие бесплодия. Нужно отметить факт, что у женщин с распространенным эндометриозом вторичное бесплодие встречалось значительно реже первичного, и, по-видимому, возникло в результате длительного

асептического воспаления, повлекшего за собой иммунологические нарушения, препятствующие реализации репродуктивной функции.

Таким образом, нарушение дифференцировки В-лимфоцитов с усилением их активации при угнетении функции регуляторных В-лимфоцитов может играть важную роль как в механизмах развития эндометриоза, так и связанного с ним бесплодия. Выявленные нами изменения во многом схожи с теми, которые наблюдаются при различных аутоиммунных заболеваниях. Для более четкого понимания значимости аутоиммунных нарушений в патогенезе эндометриоза и связанного с ним бесплодия, мы провели сравнительную оценку системной и локальной продукции аутоантител различной специфичности у здоровых фертильных женщин и у пациенток с бесплодием, обусловленным эндометриозом и трубным фактором.

Вначале мы оценили содержание иммуноглобулинов основных классов IgG, IgA и IgM в крови и перитонеальной жидкости пациенток основных клинических групп наблюдения. Результаты исследования показали, что при эндометриозе вне зависимости от его стадии было повышено сывороточное содержание IgA по сравнению с контрольной группой. Эти данные хорошо согласуются с нашими результатами, свидетельствующими о высоком уровне плазматических клеток, продуцирующих антитела, у пациенток с эндометриозом. Анализ сывороточного содержания IgA в зависимости от длительности бесплодия у пациенток 1 основной клинической группы показал, что концентрация IgA была максимально повышена в подгруппе с длительностью бесплодия 1-2 года, незначительно снижалась с увеличением срока бесплодия до 3-5 лет, и уменьшалась практически до нормативных значений у пациенток, период бесплодия у которых был более 5 лет. Данные изменения прямо коррелируют с динамикой плазматических клеток и свидетельствуют о том, что усиление выработки антител непосредственно связано с высоким уровнем плазматических клеток при эндометриозе.

На следующем этапе нашего исследования мы оценили концентрацию ряда органоспецифических и органонеспецифических аутоантител в сыворотке крови и перитонеальной жидкости пациенток основных клинических групп наблюдения.

Мы изучили продукцию таких органоспецифических аутоантител, как анти-овариальные и анти- Zona Pellucida антитела, которые связаны с органами репродуктивной системы. Было установлено, что у всех женщин с эндометриозом было достоверно повышено сывороточное содержание как анти-ZP, так и анти-овариальных антител. Причем в группе женщин с «малыми» формами эндометриоза эти изменения были выражены в максимальной степени и отмечались как по сравнению с контролем, так и по сравнению с пациентками с распространенным эндометриозом. Отличительной характеристикой группы женщин с распространенным эндометриозом явился более высокий, чем при «малых» формах, эндометриоза, уровень анти-овариальных антител. Причем, у женщин с «малыми» формами эндометриоза в подгруппе с первичным бесплодием в перитонеальной жидкости концентрация анти-ZP антител была достоверно выше, чем у женщин с вторичным бесплодием.

Таким образом, системная выработка аутоантител, направленных против антигенов органов репродуктивной системы, при эндометриозе не коррелировала со степенью тяжести патологического процесса и была максимально выражена у пациенток с «малыми» формами эндометриоза и первичным бесплодием. Можно предположить, что выявленное нами усиление продукции органоспецифических аутоантител в большей степени определяет развитие бесплодия, а не очагов эндометриоза. Литературные данные подтверждают это предположение. Показано, что концентрации анти-овариальных и анти-ZP антител повышается у пациенток с бесплодием, и у пациенток с первичным бесплодием эти изменения более выражены, чем при вторичном бесплодии [24].

При изучении продукции органонеспецифических аутоантител мы оценили системную и локальную продукцию антител к гистонам, к фосфатидил-этаноламину, к фосфатидил-холину и бета-2-гликопротеину I. Выраженные изменения в продукции органонеспецифических аутоантител были отмечены нами только для антител к гистонам. У пациенток с эндометриозом вне зависимости от его стадии сывороточное содержание анти-гистоновых антител было достоверно выше, чем у здоровых женщин, а в перитонеальной жидкости концентрация этих антител была значительно повышена при «малых» формах эндометриоза по сравнению с контролем. Известно, что анти-гистоновые антитела относятся к антинуклеарным антителам (АНА), роль которых в развитии бесплодия в настоящее время интенсивно изучаются. В своем исследовании М. Molazadeh с соавторами (2014 г.) показали, что у женщин с привычным невынашиванием достоверно повышена концентрация антинуклеарных антител, причем более 50% этих антител были представлены анти-гистоновыми антителами [122]. Y. Li со соавторами (2015г.) исследовали особенности продукции антинуклеарных антител у женщин с бесплодием, проходивших лечение при помощи ЭКО и установили, что повышенная продукция этих антител у бесплодных больных отмечалась чаще (39,45%), чем в контрольной группе (16,13%). Высокий титр антинуклеарных ($\geq 1: 320$) был выявлен только у бесплодных пациентов. Высокий уровень продукции этих аутоантител ассоциировался с более низкой частотой наступления беременности и более частым развитием выкидышей после проведения ЭКО/ИКСИ [101]. Таким образом, наши данные согласуются с данными литературы, утверждающими, что анти-гистоновые антитела препятствуют реализации репродуктивной функции женщин.

Ранее проведенные исследования также продемонстрировали увеличение продукции аутоантител различной специфичности при эндометриозе. Так, сообщалось о том, что эндометриоз I-II стадии ассоциируется с повышением выработки антифосфолипидных антител против инозитола, кардиолипина, ZP [88]. При эндометриозе была отмечена

усиленная продукция анти-эндометриальных антител [115; 148], анти-ламинин-1 антител [22] и некоторых других аутоантител.

С одной стороны, как наши, так и литературные данные о повышении системной и локальной концентрации аутоантител хорошо укладываются в рамки существующей гипотезы об аутоиммунной природе эндометриоза. Однако следует отметить, что практически все изученные нами аутоантитела, за исключением анти-гистоновых антител, у пациенток с эндометриозом не достигали того диагностически значимого уровня, которые характерны для пациентов с истинными аутоиммунными заболеваниями. Поэтому эндометриоз, по-видимому, следует рассматривать не как истинно аутоиммунное заболевание, а скорее как состояние, которое характеризуется усиленной аутореактивностью, играющей важную роль в развитии воспалительных реакций и являющейся следствием хронической тканевой деструкции [33]. Присутствие в сыворотке пациенток с эндометриозом аутоантител может быть следствием воспалительного процесса, которому отводят ведущую роль в патофизиологии эндометриоза. Как известно, основной функцией иммунной системы является поддержание гомеостаза, основанное на распознавании «своего» и «чужого» с развитием состояния «неотвечаемости» на антигены собственного организма. Выработка аутоантител является следствием нарушения этой толерантности, поскольку аутоантитела способны реагировать на антигены собственного организма, способствуя развитию мультиорганный поражения. Однако присутствие аутоантител зафиксировано при опухолевом процессе, при массивном повреждении тканей и даже у полностью здоровых людей [55]. Срыв толерантности и образование аутоантител также часто наблюдается при воспалительном процессе, который сопровождается гибелью клеток собственного организма и накоплением во внеклеточном пространстве клеточного дебриса и отдельных молекул, способных индуцировать выработку антител. Известно, при эндометриозе происходит массивное поступление в перитонеальную полость фрагментов эндометрия и клеточного

дебриса. Таким образом, на локальном уровне увеличивается количество аутоантигенов, что приводит к активации клеток как гуморального, так и врожденного звеньев иммунитета. Известно, что антитела могут играть важную роль в активации фагоцитарных реакций, в частности, участвуя в опсонизации антигенов и запуская процесс иммунного фагоцитоза [33]. Вероятно, отмечаемая многочисленными авторами при эндометриозе повышенная активация фагоцитов, в частности, перитонеальных макрофагов, отчасти может определяться усиленной выработкой аутоантител. Поскольку воспаление, особенно локальное, является основным патофизиологическим механизмом развития эндометриоза, то усиленную продукцию аутоантител можно рассматривать как один из факторов активации фагоцитов и развития эндометриодных гетеротопий. С другой стороны, появление в циркуляции аутоантител, особенно тех, которые способны реагировать с антигенами органов репродуктивной системы, несомненно играет важную роль в развитии бесплодия, связанного с эндометриозом.

Данные корреляционного анализа подтверждают значимость нарушений реакций В-клеточного звена для эндометриоза. При анализе связей в продукции аутоантител с особенностями дифференцировки В-лимфоцитов нами не было выявлено сильных связей в группах женщин с эндометриозом как на системном, так и на локальном уровне по сравнению с контролем и группой сравнения. В группах здоровых женщин и с трубным фактором бесплодия корреляционные связи выявлялись в большом количестве и были преимущественно сильными. Снижение количества и силы корреляционных связей у пациенток 1 и 2 основных клинических групп позволяет говорить о нарушении процесса дифференцировки В-лимфоцитов и его регуляции при эндометриозе и связанном с ним бесплодии.

Большое количество иммунологических показателей, различавшихся у пациенток с бесплодием различной этиологии, позволило нам установить новые иммунологически критерии дифференциальной диагностики бесплодия, обусловленного эндометриозом и трубным фактором.

Проведенный ROC-анализ показал, что диагностировать эндометриоз при бесплодии неясной этиологии можно по сывороточному содержанию CD20+IL-10+ с точностью 82,8%, по показателю CD19+CD27+ - с точностью 74,4%, по количеству CD20+CD5+ - 76,1%, по концентрации антиовариальных антител – с точностью 77,3%, по APRIL – 84,3%. Наиболее высокую точность мы получили при анализе показателя CD19+IgD+ В-клеток периферической крови, что позволило нам разработать новый метод диагностики эндометриоза у женщин с бесплодием неясной этиологии, на который получено решение о выдаче патента на изобретение от 05.04.2018 № 2017130673.

Заключение

Анализ полученных нами данных позволяет сделать заключение, о том, что существуют клинические характеристики, отличающие женщин с бесплодием, обусловленным эндометриозом и трубно-перитонеальным фактором, причем для «малых» и распространенных форм эндометриоза есть свои особенности. Так, у пациенток с эндометриозом 1-2 стадии примерно с равной частотой диагностировалось первичное и вторичное бесплодие, чаще встречались в анамнезе аллергические реакции, соматическая патология аутоиммунного характера, воспалительные заболевания органов малого таза, гиперпролактинемия. А среди женщин с распространенным эндометриозом первичное бесплодие преобладало над вторичным, чаще отмечались жалобы на выраженную альгоменорею, чаще выявлялись заболевания мочевыделительной системы. Отличительными клиническими признаками женщин с трубным бесплодием были: преобладание пациенток с вторичным бесплодием, частые аборт, оперативные вмешательства на органах брюшной полости, высокая частота воспалительных заболеваний органов малого таза преимущественно хламидийной этиологии.

К факторам риска, которые ассоциированы с эндометриозом 1-2 стадии можно отнести: воспалительные заболевания органов малого таза,

аллергические реакции в анамнезе, наличие маркеров хронической бактериальной инфекции, и сочетание бактериальной и вирусной инфекции. Факторами риска ассоциированными с эндометриозом 3-4 стадии оказались заболевания мочевыделительной системы, с бесплодием, обусловленным трубным фактором - воспалительные заболевания малого таза, оперативные вмешательства в анамнезе, острое и хроническое бактериальное инфицирование и их сочетание, наличие острой вирусной инфекции и сочетание ее с бактериальной.

У пациенток с эндометриозом вне зависимости от стадии патологического процесса на системном и локальном уровне повышено содержание В1-клеток, плазматических, активированных CD86+ В-лимфоцитов, IgD-позитивных и наивных В-лимфоцитов и снижен уровень В-клеток памяти и регуляторных В-лимфоцитов. Показатели дифференцировки и активации периферических и перитонеальных В-лимфоцитов зависят от длительности периода бесплодия и от вида бесплодия у пациенток с эндометриозом 1-2 и 3-4 стадии.

При эндометриозе вне зависимости от его стадии повышено сывороточное содержание иммуноглобулинов класса IgA, а также содержание анти-овариальных и анти-гистоновых аутоантител по сравнению с контрольной группой.

При «малых» формах эндометриоза достоверно выше сывороточный уровень анти-ZP и анти-овариальных аутоантител по сравнению с распространенными формами эндометриоза. Для пациенток с 3-4 стадией эндометриоза характерно более высокое, чем при 1-2 стадии заболевания содержание анти-фосфатидил-этаноламин аутоантител в периферической крови. В перитонеальной жидкости у пациенток с «малыми» формами эндометриоза повышено содержание анти-гистоновых антител, а в подгруппе пациенток с первичным бесплодием – увеличена концентрация анти-ZP аутоантител. При распространенном эндометриозе отмечается максимальное повышение локальной продукции анти-овариальных антител.

Показатель относительного содержания CD19+IgD+ является диагностическим критерием эндометриоза у женщин с бесплодием.

ВЫВОДЫ

1. Факторами риска, способствующими развитию «малых» форм эндометриоза и бесплодия, являются воспалительные заболевания органов малого таза (ОР 3,9 ДИ 95% 1,6-9,8); аллергические реакции в анамнезе (ОР 1,195, ДИ 1,011-1,411); маркеры хронической бактериальной инфекции (ОР 1,362 1,019-1,819); и сочетание бактериальной и вирусной инфекции (ОР 1,279 ДИ 95% 1,054-1,552). Факторами риска, ассоциированными с развитием распространенных форм эндометриоза и бесплодия, являются заболевания мочевыводящей системы (хронический пиелонефрит) (ОР 1,831 ДИ 1,253-2,677).
2. У пациенток с эндометриозом и бесплодием вне зависимости от стадии патологического процесса на системном и локальном уровне снижено относительное содержание В-клеток памяти за счет переключенных CD19+IgD-CD27+ клеток и повышено количество наивных непереключенных CD19+IgD+CD27- В-лимфоцитов, В1-клеток и плазматических клеток по сравнению с контрольной группой и группой пациенток с трубным фактором бесплодия, также увеличено содержание CD86+ лимфоцитов относительно показателей здоровых женщин. В перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом снижено количество CD19+IgD+CD27+ В-клеток памяти. На локальном уровне изменения содержания клеток памяти и наивных В-лимфоцитов более выражены при эндометриозе 3-4 стадии по сравнению с эндометриозом 1-2 стадии.
3. При эндометриозе и бесплодии нарушена регуляция активности В-лимфоцитов за счет снижения относительного содержания CD20+IL-10+ В-клеток в периферической крови и перитонеальной жидкости вне зависимости от стадии заболевания. Уровень фактора APRIL, усиливающего пролиферацию В-лимфоцитов, в сыворотке крови у пациенток с эндометриозом и бесплодием не отличается от показателей контрольной группы и группы сравнения, а в перитонеальной жидкости –

повышен при эндометриозе 1-2 стадий по сравнению с пациентками с трубным фактором бесплодия и снижен при 3-4 стадиях эндометриоза по сравнению с контрольной группой.

4. У всех пациенток с эндометриозом повышена сывороточная концентрация IgA, анти-овариальных и анти-гистоновых антител по сравнению с показателями контрольной группы, и снижено содержание IgA в перитонеальной жидкости относительно показателей пациенток с трубным фактором бесплодия. У женщин с «малыми» формами эндометриоза отмечается максимальное сывороточное содержание анти-овариальных, анти-ZP-антител и повышенная концентрация анти-гистоновых антител в перитонеальной жидкости по сравнению с показателями контрольной группы. При распространенных формах эндометриоза уровень анти-овариальных антител в перитонеальной жидкости превышает таковой у пациенток с «малыми» формами эндометриоза.
5. Показатели активации и дифференцировки В-лимфоцитов связаны с особенностями течения бесплодия при эндометриозе. С увеличением длительности бесплодия от 1-2 лет до 5 лет и более при эндометриозе 1-2 стадии в крови прогрессивно повышается содержание CD19+ и CD20+ лимфоцитов и снижается количество плазматических клеток, а в перитонеальной жидкости – падает уровень регуляторных В-лимфоцитов и CD19+IgD+CD27+ клеток памяти. При первичном бесплодии у женщин «малыми» формами эндометриоза в крови и перитонеальной жидкости отмечается более низкое, чем при вторичном бесплодии содержание активированных В-лимфоцитов, В-клеток памяти при повышенном количестве в перитонеальной жидкости наивных В-лимфоцитов и уровня анти-ZP антител; у женщин с распространенными формами эндометриоза, не имевших беременности в анамнезе, повышено количество периферических CD20+CD86+, CD19+IgD+CD27+ В-лимфоцитов и перитонеальных CD20+CD86+, CD19+IgD-CD27+ клеток

при сниженном содержании перитонеальных CD19+IgD+CD27+ В-лимфоцитов по сравнению с женщинами со вторичным бесплодием.

6. В группах здоровых женщин и женщин с трубным фактором бесплодия выявляется максимальное количество сильных корреляционных связей между показателями, характеризующими дифференцировку, активацию В-лимфоцитов и продукцию Ig и аутоантител. У пациенток с эндометриозом различных стадий количество и сила корреляционных взаимосвязей между показателями, характеризующими В-лимфоциты, значительно снижены по сравнению с контрольной группой и группой с трубным фактором бесплодия.
7. Высокие значения показателя CD19+IgD+ В-лимфоцитов в периферической крови (более 51,6%) позволяют диагностировать эндометриоз у женщин с бесплодием с точностью – 87,2%, чувствительностью – 92,6%, специфичностью – 80,0%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При обследовании женщин с бесплодием необходимо учитывать следующие факторы риска эндометриоза 1-2 стадии: воспалительные заболевания малого таза, аллергические реакции в анамнезе, маркеры хронической бактериальной инфекции и сочетание маркеров бактериальной и вирусной инфекции, и факторы риска эндометриоза 3-4 стадии: заболевания мочеполовой системы (хронический пиелонефрит).
2. Пациенткам с бесплодием перед проведением этапа хирургического лечения рекомендуется определять относительное содержание CD19+IgD+ В-лимфоцитов, при значении этого показателя более 51,6% с точностью 87,2% можно предположить диагноз генитального эндометриоза и сразу выполнить женщине лечебно-диагностическую лапароскопию.
3. В качестве дополнительных критериев диагностики эндометриоза при бесплодии могут быть использованы значения CD20+IL10+ ($\leq 18,7\%$, точность 82,8%), CD19+CD27+ ($\leq 28,3\%$, точность 74,4%), CD20+CD5+ ($> 1,3\%$, точность 76,1%), APRIL ($\geq 0,964$ нг/мл, точность 84,3%), анти-овариальных АТ ($> 4,583$ МЕ/мл, точность 77,3%) в периферической крови.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АНА – антинуклеарные антитела

Анти-ZP-АТ – анти-Zona Pellucida антитела

АТ – антитела

ВИЧ – вирус иммунодефицита

ВМС – внутриматочная спираль

ДИ – доверительный интервал

ИФА – иммуноферментный анализ

ИКСИ – IntraCytoplasmic Sperm Injection, интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида

КОК – комбинированный оральные контрацептив

МАТ – моноклональные антитела

ОР – относительный риск

СКВ – системная красная волчанка

УЗИ – ультразвуковое исследование

ЭКГ – электрокардиограмма

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

APRIL – a proliferation inducing ligand, лиганд, индуцированный пролиферацией

В₁ – В-лимфоцитарный стимулятор

В_{reg} – В-лимфоцит регуляторный

CMV – цитомегало вирус

EBV – вирус Эпштейна-Барра

Egr1 – ранний ростовой фактор

HSD17B2 - 17 beta-гидроксистероид дегидрогеназа 2 типа

HSV – вирус простого герпеса

IL – интерлейкин

Ig – иммуноглобулин

KRAS – протоонкоген, представитель семейства белков Ras

NO – оксид азота

NOS – синтаза оксида азота

RANTES – хемокин, выделяемый Т-клетками при активации

TNF α – tumor necrosis factor фактор некроза опухолей α

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамян, Л. В. Эндометриоз: руководство для врачей / Л. В. Адамян, В. И. Кулаков, Е. Н. Андреева. – 2-е изд. – М.: Медицина, 2006. – 411 с.
2. Громова, Т. А. Роль ультразвуковой диагностики и магнитно-резонансной томографии в диагностике эндометриоза яичников и глубоких форм эндометриоза / Т. А. Громова, С. А. Леваков, Т. Д. Гуриев // *Акушерство, гинекология и репродукция*. – 2017. – Т. 11, № 2. – С. 50–56.
3. Коган, Е. А. Бесплодие при эндометриозе: каткий очерк современных представлений / Е. А. Коган, Е. О. Аكوпова, А. Л. Унанян // *Пространство и время*. – 2017. – № 1(27). – С. 251–259.
4. КОК и эндометриоз: оборона или наступление? / М. Б. Хамошина, А. В. Сорокина, М. И. Вахабова, Е. А. Калинина // *Status Praesens*. – 2014. – Т. 19, № 2. – С. 53–58.
5. Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации: федеральный закон № 323 от 21 ноября 2011 года.
6. Определение субпопуляций В-лимфоцитов периферической крови методом проточной цитофлуориметрии у здоровых лиц и больных ревматическими заболеваниями / Е. В. Супоницкая [и др.] // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2015. – № 6. – С. 30–33.
7. Опыт применения Визанны у пациенток репродуктивного возраста с наружным генитальным эндометриозом / Л. В. Колесникова [и др.] // *Проблемы репродукции*. – 2016. – № 3. – С. 101–107.
8. Протеомные механизмы в изучении эндометриоза / В. А. Линде [и др.] // *Медицинский вестник Юга России*. – 2013.
9. Роль иммунных механизмов в патогенезе невынашивания беременности / Ю. Э. Доброхотова [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2016. – № 7. – С. 5–10.
10. Семятов, С. М. Этот утомительный эндометриоз / С. М. Семятов, И. Д. Ипастова, О. Д. Руднева // *Status Praesens*. – 2014. – № 4. – С. 44–51.

11. Старцева Н. В. Клинические и иммунологические аспекты генитального эндометриоза / Н. В. Старцева // *Акушерство и гинекология*. – 1980. – № 3. – С. 23–26.
12. Шесткова, И. Г. Эндометриоз: головломка репродуктивного здоровья / И. Г. Шесткова, Т. А. Добоеева // *Status Praesens*. – 2014. – № 5. – С. 37–45.
13. Эндометриоз и комбинированная гормональная контрацепция: преимущества и риски / А. Л. Унанян [и др.] // *Эффективная фармакотерапия. Акушерство и гинекология*. – 2015. – № 1-2. – С. 53.
14. Юренева, С. В. Эндометриоз – заболевание «вне возраста» (от пубертатного периода до постменопаузы) / С. В. Юренева // *Проблемы репродукции*. – 2011. – № 4. – С. 67–74.
15. Ярмолинская, М. И. Генитальный эндометриоз: влияние гормональных, иммунологических и генетических факторов на развитие, особенности течения и выбор терапии: автореф. дис. д-ра мед. наук: 14.01.01 / Ярмолинская Мария Игоревна. – СПб., 2009. – 42 с.
16. A polymorphism in a let-7 micro-RNA binding site of KRAS in women with endometriosis / O. Grechukhina [et al.] // *EMBO Mol Med*. – 2012. – Vol. 4, № 3. – P. 206–217.
17. A proliferation-inducing ligand sustain the hroliferation of human naiv (CD27⁺) B-cells and mediates their differentiation into long-lived plasma cells in vitro via transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor and B-cell mature antigen / Y. Matsuda, M. Haneda, K. Kadomatsu, T. Kobayashi // *Cell Immunol*. – 2015. – Vol. 295, № 2. – P. 127–136.
18. A prospective cohort study of endometriosis and subsequent risk of infertility / J. Prescott [et al.] // *Human Reproduction*. – 2016. – Vol. 31, № 7. – P. 1475 – 1482.
19. Adamson, G. D. Creating solutions in endometriosis: global collaboration through the World Endometriosis Research Foundation / G. D. Adamson, S. H. Kennedy, L. Hummelshoj // *J Endometriosis*. – 2010. – № 2. – P. 3–6.

20. Adverse obstetric and perinatal outcomes in subfertile women conceiving without assisted reproductive technologies / A. M. Jaques [et al.] // *Fertil Steril.* – 2010. – № 94. – P. 2674–2679.
21. Altered pattern of Naïve and memory B cells and B1 cells in patients with chronic granulomatous disease / M. Mohsenzadegan [et al.] // *Iran J Allergy Asthma Immunol.* – 2014. – Vol. 13, № 3. – P. 157–165.
22. An association of IgG anti-laminin-1 autoantibodies with endometriosis in infertile patients / J. Inagaki [et al.] // *Hum Reprod.* – 2003. – Vol. 18, № 3. – P. 544–549.
23. Analysis of the diagnostic value of CD138 for chronic endometritis, the risk factors for the pathogenesis of chronic endometritis and the effect of chronic endometritis on pregnancy: a cohort study / Yu-qing Chen, Rui-li Fang, Yuan-na Luo, Can-qiao Luo // *BMC Womens Health.* – 2016. – № 16. – P. 60. doi: 10.1186/s12905-016-0341-3/
24. Analysis of the serum reproductive system related autoantibodies of infertility patients in Tianjin region of China / Y. Huo [et al.] // *International Journal of Clinical and Experimental Medicine.* – 2015. – Vol. 8, № 8. – P. 14048–14053.
25. Anomalies in the inflammatory response in endometriosis and possible consequences: a review / K. Khoufache [et al.] // *Minerva Endocrinol.* – 2012. – Vol. 37, № 1. – P. 75–92.
26. Anti-IgD antibody attenuates collagen-induced arthritis by selectively depleting mature B-cells and promoting immune tolerance / T. G. Nguyen [et al.] // *J Autoimmun.* – 2010. – Vol. 35, № 1. – P. 86–97.
27. Association between endometriosis and hyperprolactinemia in infertile women / M. D. Seddigheh Esmaeilzadeh [et al.] // *Iran J Reprod Med.* – 2015. – Vol. 13, № 3. – P. 155–160.
28. Association of BAFF, APRIL serum levels, BAFF-R, TACI and BCMA expression on peripheral B-cell subsets with clinical manifestations in systemic lupus erythematosus / D. C. Salazar-Camarena [et al.] // *Lupus.* – 2016. – Vol. 25, № 6. – P. 582–592.

29. Autoimmunity to endometrium and ovary in endometriosis / S. Mathur [et al.] // *Clin.Exp.Immunol.* – 1982. – Vol. 50. – P. 259–266.
30. Autoreactivity in women with endometriosis / P. V. Taylor [et al.] // *Br. J. Obstet Gynaecol.* – 1991. – Vol. 98. – P. 680–684.
31. B cells from African American lupus patients exhibit an activated phenotype / L. C. Menard [et al.] // *JCI Insight.* – 2016. – Vol. 1, № 9. – e87310.
32. B. lymphocyte stimulator –817C>T promoter polymorphism and the predisposition for the development of deep infiltrating endometriosis / A. A. de Graaff [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 94, № 3. – P. 1108–1110.
33. Barrier, B. F. O. Immunology of endometriosis / B. F. O. Barrier // *Clin Obstet Gynecol.* – 2010. – Vol. 53, № 2. – P. 397–402.
34. B-cell selection and the development of autoantibodies / N. V. Giltiay [et al.] // *Arthritis Res Ther.* – 2012. – Vol. 14, № 4. – P. S1. doi: 10.1186/ar3918.
35. Blood leukocytesubsets are modulated in patients with endometriosis / D. Gagné [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2003. – Vol. 80, № 1. – P. 43–53.
36. Boghdadi, G. Increased serum APRIL differentially correlates with distinct cytokine profiles and disease activity in systemic lupus erythematosus patients / G. Boghdadi, E. A. Elewa // *Rheumatol Int.* – 2014. – Vol. 34, № 9. – P. 1217–1223.
37. Borhis, G. Subversion of the B-cell compartment during parasitic, bacterial, and viral infections / G. Borhis, Y. Richard // *BMC Immunol.* – 2015. – Vol. 16. – P. 15. doi: 10.1186/s12865-015-0079-y.
38. Boyum, A. Isolation of mononuclear cell and granulocytes from human blood and bone marrow / A. Boyum // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 1968. – Vol. 21, № 97. – P. 77.
39. Bulun, S. E. Endometriosis: Mechanisms of disease / S. E. Bulun // *New Engl J Med.* – 2009. – Vol. 360, № 3. – P. 268–279.
40. Burney, R. O. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis / R. O. Burney, L. Giudice // *Fertility and Sterility.* – 2012. – Vol. 98. – P. 511–519.
41. Canonical Wnt signaling is critical to estrogen-mediated uterine growth / X. Hou [et al.] // *Mol Endocrinol.* – 2004. – Vol. 18, № 12. – P. 3035–3049.

42. Capobianco, A. Endometriosis, a disease of the macrophage / A.Capobianco, P. Rovere-Querini // *Frontiers in Immunology. Inflammation.* – 2013. – Vol. 4, № 9. – P. 14.
43. CD19+ B cell subsets in the peripheral blood and skin lesions of psoriasis patients and their correlations with disease severity / J. Lu, Y. Ding, X. Yi, J. Zheng // *Braz J Med Biol Res.* – 2016. – Vol. 49, № 9. – e5374.
44. Changes in the T helper cytokine profile and in lymphocyte activation at the systemic and local levels in women with endometriosis / Y. S. Antsiferova, N. Y. Sotnikova, L. V. Posiseeva, A. L. Shor // *Fertil. Steril.* – 2005. – Vol. 84, № 6. – P. 1705–1711.
45. Characterization of endometriosis-associated immune cell infiltrates (EMaICI) / C. Scheerer [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2016. – Vol. 294, № 3. – P. 657–664.
46. Child, T. Optimising the management of patients with infertility / T. Child // *Practitioner.* – 2013. – Vol. 1759, № 257. – P. 19–22.
47. Chinwe, R. Hysterosalpingographic (HSG) Pattern of Infertility in Women of Reproductive Age / R.Chinwe Onwuchekwa and K.Vaduneme Oriji // *J Hum Reprod Sci.* – 2017. – Vol. 10, №3. – P. 178–184.
48. Chronic endometritis and infertility / H. J. Park, Y. S. Kim, T. K.Yoon, W. S. Lee // *Clin Exp Reprod Med.* – 2016. – Vol. 43, № 4. – P. 185–192.
49. Circulating CD40+ and CD86+ B cell subsets demonstrate opposing associations with risk of stroke / P. T. Mantani [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2014. – Vol. 34, № 1. – P. 211-218.
50. Collagen gel contractility is enhanced in human endometriotic stromal cells: a possible mechanism underlying the pathogenesis of endometriosis-associated fibrosis / A. Yuge [et al.] // *Hum Reprod.* – 2007. – Vol. 22, № 4. – P. 938–944.
51. Comparison of patient- and physician-based descriptions of endometrisis: a qualitative study / A. Fauconnier [et al.] // *Human reproduction.* – 2013. – № 6. – P. 9–18.

52. Decreased Bcl-6 and increased Blimp-1 in the peritoneal cavity of patients with endometriosis / S G. Yeol [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2010. – Vol. 542, № 2. – P. 156–160.
53. Decreased Circulating Levels of APRIL: Questioning Its Role in Diabetes / A. Carvalho-Santos [et al.] // *PLoS ONE.* – 2015. – Vol. 10, № 10. – e0140150. doi:10.1371/journal.pone.0140150.
54. Deficiency in memory B cell compartment in a patient with infertility and recurrent pregnancy losses / N. Sung [et al.] // *J. Reprod. Immunol.* – 2016. – № 118. – P. 70–75.
55. Definition of human autoimmunity--autoantibodies versus autoimmune disease / A. Lleo [et al.] // *Autoimmun Rev.* – 2010. – Vol. 9, № 5. – P. A259–266.
56. Diagnostic laparoscopic evaluation of female factor in infertility International / V. A. Bansal [et al.] // *Journal of Medical and Health Research.* – 2017. – Vol. 3, № 9. – P. 86–89.
57. Dias, J. A. Antinuclear antibodies and endometriosis / J. A. Dias, R. M. de Oliveira, M. S. Abrao // *Int J Gynecol Obstet.* – 2006. – Vol. 93. – P. 262–263.
58. Do endometriomas induce an inflammatory reaction in nearby follicles? / H. K. Opøien [et al.] // *Hum Reprod.* – 2013. – № 28. – P. 1837–1845.
59. Du, H. Contribution of bone marrow-derived stem cells to endometrium and endometriosis / H. Du, H. S. Taylor // *Stem Cells.* – 2007. – Vol. 25, № 8. – P. 2082–2086.
60. Effect of endometrioma cystectomy on IVF outcome: a prospective randomized study / A. Demirel, S. Guven, C. Baykal, T. Gurgan // *Reprod Biomed Online.* – 2006. – № 12. – P. 639–643.
61. Effect of endometriosis on implantation rates when compared to tubal factor in fresh non donor in vitro fertilization cycles / N. Singh [et al.] // *Journal of Human Reproductive Sciences.* – 2014. – Vol. 7, № 2. – P. 143–147.
62. Eisenberg, V. H. Is there an association between autoimmunity and endometriosis? / V. H. Eisenberg, M. Zolti, D. Soriano // *Autoimmunity Reviews.* – 2011. – Vol. 11. – P. 806–814.

63. Elevated peritoneal fluid TNF- α incites ovarian early growth response factor 1 expression and downstream protease mediators: a correlation with ovulatory dysfunction in endometriosis / J. A. Birt [et al.] // *Reprod Sci.* – 2013. – Vol. 20, № 5. – P. 514–523.
64. Endometrial fluid is a specific and non-invasive biological sample for protein biomarker identification in endometriosis. / A. Ametzazurra [et al.] // *Hum Reprod.* – 2009. – Vol. 24, № 4. – P. 954–965. doi: 10.1093/humrep/den450.
65. Endometrial leukocyte subpopulations in women with endometriosis / L. D. Klentzeris, J. N. Bulmer, D. T. Liu, L. Morrison // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 1995. – Vol. 63, № 1. – P. 41–47.
66. Endometriosis and systemic lupus erythematosus: a comparative evaluation of clinical manifestations and serological autoimmune phenomena / S. G. Pasoto [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2005. – Vol. 53. – P. 85–93.
67. Endometriosis in reproductive immunology / Z. Ulcová-Gallová [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2002. – Vol. 47, № 5. – P. 269–274.
68. Endometriosis: pathogenesis and treatment / P. Vercellini, P. Viganò, E. Somigliana, L. Fedele // *Nat Rev Endocrinol.* – 2014. – Vol. 10, № 5. – P. 261–275.
69. Endometriosis: clinical features, MR imaging findings and pathologic correlation / P. V. Foti [et al.] // *Insights Imaging.* – 2018. – Vol. 9, № 2. – P. 149–172. doi: 10.1007/s13244-017-0591-0.
70. Endometriosis-associated infertility surgery and IVF a comprehensive therapeutic approach / P. N. Barri [et al.] // *Reprod Biomed Online.* – 2010. – № 21. – P. 179–185.
71. Epub ahead of print, Increased circulating follicular helper T cells and activated B cells correlate with disease severity in patients with psoriasis / J. Niu [et al.] // *J Eur Acad Dermatol Venereol.* – 2015. – Vol. 29, № 9. – P. 1791–1796.
72. Evaluation of Endometrium for Chronic Endometritis by Using Syndecan-1 in Abnormal Uterine Bleeding / V. Kannar, H. Kumar, M. Lingaiah, V. Sunita // *J Lab Physicians.* – 2012. – Vol. 4, № 2. – P. 69–73.

73. Expression of inflammatory cytokines in serum and peritoneal fluid from patients with different stages of endometriosis / Y. Y. Fan [et al.] // *Gynecol Endocrinol.* – 2018. - № 8. – P. 1–6.
74. Ferguson, B. R. Histochemistry of mucosubstances and histology of mixed mullerian pelvic lymph node glandular inclusions. Evidence for histogenesis by mullerian metaplasia of coelomic epithelium / B. R. Ferguson, J. L. Bennington, S. L. Haber // *Obstet Gynecol.* – 1969. – Vol. 33, № 5. – P. 617–625.
75. Functional anergy in a subpopulation of naive B cells from healthy humans that express autoreactive immunoglobulin receptors / J. A. Duty [et al.] // *J Exp Med.* – 2009. – Vol. 206, № 1. – P. 139–151.
76. Giudice, L. C. Endometriosis / L. C. Giudice, L. C. Kao // *Lancet.* – 2004. – Vol. 364(9447). – P. 1789–1799.
77. Graves Disease Is Associated With Endometriosis A 3-Year Population-Based Cross-Sectional Study / M. D. Jin-Sung Yuk [et al.] // *Medicine (Baltimore).* – 2016. – Vol. 95, № 10. – e2975. doi: 10.1097/MD.0000000000002975.
78. High affinity germinal center B cells are actively selected into the plasma cell compartment / T. G. Phan [et al.] // *J Exp Med.* – 2006. – Vol. 203, № 11. – P. 2419–2424.
79. High frequencies of activated B cells and T follicular helper cells are correlated with disease activity in patients with new-onset rheumatoid arthritis / J. Wang [et al.] // *British Society for Immunology, Clinical and Experimental Immunology.* – 2013. – № 174. – P. 212–220.
80. High prevalence of endometriosis in infertile women with normal ovulation and normospermic partners / C. Meuleman [et al.] // *Fertil Steril.* – 2009. – Vol. 92. – P. 68–74.
81. High rate of allergies among women with endometriosis / I. Matalliotakis, H. Cakmak, M. Matalliotakis, D. Kappou, A. Arici // *J. Obstet. Gynaecol.* – 2012. – Vol. 32, № 3. – P. 291–293.

82. High rates of autoimmune and endocrine disorders, fibromyalgia, chronic fatigue syndrome and atopic diseases among women with endometriosis: a survey analysis / N. Sinaii [et al.] // *Hum Reprod.* – 2002. – Vol. 17. – P. 2715–2724.
83. Histomorphological Patterns of Endometrium in Infertility / Shirish S. Nandedkar [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. India.* – 2015. – Vol. 65, № 5. – P. 328–334. doi: 10.1007/s13224-014-0614-4.
84. Holoch, K. J. Endometriosis and infertility / K. J. Holoch, B. A. Lessey // *Clin Obstet Gynecol.* – 2010. – Vol. 5, № 2. – P. 429–438.
85. Hormonal therapy for endometriosis: from molecular research to bedside Eur / C. Tosti [et al.] // *J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2017. – Vol. 209. – P. 61–66.
86. Human endometriosis is associated with plasma cells and overexpression of B lymphocyte stimulator / A. Hever [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2007. – Vol. 104, № 30. – P. 12451–12456.
87. Human Peripheral Blood B-Cell Compartments: A Crossroad in B-Cell Traffic / M. Perez-Andres [et al.] // *Cytometry Part B (Clinical Cytometry)* 78B (Suppl. 1):S47–S60 (2010)
88. Identification and validation of novel serum markers for early diagnosis of endometriosis / R. Gajbhiye [et al.] // *Human Reproduction.* – 2012. – Vol. 27, № 2. – P. 408–417
89. Ikaros Is a Negative Regulator of B1 Cell Development and Function / A. Macias-Garcia [et al.] // *J Biol Chem.* – 2016. – Vol. 291(17), № 22. – P. 9073–9086.
90. Immunophenotype of Normal and Myelomatous Plasma-Cell Subsets / N. Robillard, S. Wuillème, P. Moreau, M. C. Béné // *Front Immunol.* – 2014. – № 5. – P. 137.
91. Impact of endometriosis and its staging on assisted reproduction outcome: systematic review and meta-analysis / M. A. Barbosa [et al.] // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2014. – Vol. 44, № 3. – P. 261–278.

92. Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries / K. E. Nnoaham [et al.] // *Fertil Steril.* – 2011. – Vol. 96. – P. 366–373.
93. Impaired CD27⁺IgD⁺ B Cells With Altered Gene Signature in Rheumatoid Arthritis / Hu Fanlei [et al.] // *Front Immunol.* – 2018. – № 9. – P. 626.
94. Implications of immune dysfunction on endometriosis associated infertility / J. E. Miller [et al.] // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 4. – P. 7138–7147.
95. Incidence of endometriosis by study population and diagnostic method: the ENDO study / G. M. Buck Louis [et al.] // *Fertil Steril.* – 2011. – Vol. 96. – P. 360–365.
96. Increased levels of interleukin-6 and interleukin-10 in the peritoneal fluid of patients with endometriosis / J. Punnonen [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1996. – № 174. – P. 1522–1526.
97. Increased rate of spontaneous miscarriages in endometriosis-affected women / P. Santulli [et al.] // *Human Reproduction.* – 2016. – Vol. 31, № 5. – P. 1014–1023.
98. Increased Serum B Cell Activating Factor and a Proliferation-inducing Ligand Are Associated with Interstitial Lung Disease in Patients with Juvenile Dermatomyositis / N. Kobayashi [et al.] // *J Rheumatol.* – 2015. – Vol. 42, № 12. – P. 2412–2418.
99. Influence of endometriosis on assisted reproductive technology outcomes: a systematic review and meta-analysis / M. Hamdan, S. Z. Omar, G. Dunselman, Y. Cheong // *Obstet Gynecol.* – 2015. – № 125(1). – P. 79–88.
100. Intrafollicular interleukin-8, interleukin-12, and adrenomedullin are the promising prognostic markers of oocyte and embryo quality in women with endometriosis / A. K. Singh [et al.] // *J Assist Reprod Genet.* – 2016. – № 33. – P. 1363–1372.
101. Investigation of the impact of antinuclear antibody on the outcome of in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatment / Li Ying [et al.] // *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology.* – 2015. – Vol. 54, № 6. – P. 742–748.

102. Involvement of immune cells in the pathogenesis of endometriosis / G. Izumi [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* – 2018. – Vol. 44, № 2. – P. 191–198. doi: 10.1111/jog.13559.
103. Is endometriosis an autoimmune disease? / N. Gleicher, A. el-Roeiy, E. Confino, Friberg // *J. Obstet. Gynecol.* – 1987. – Vol. 70. – P. 115–122.
104. Is the oocyte quality affected by endometriosis? / A. M. Sanchez [et al.] // *A review of the literature Journal of Ovarian Research.* – 2017. – № 10. – P. 43.
105. Khorram, O. Alterations in expression of endometrial endothelial nitric oxide synthase and alpha(v)beta(3) integrin in women with endometriosis / O. Khorram, B. A. Lessey // *Fertil Steril.* – 2002. – № 78. – P. 860–864.
106. Kokcu, A. Possible effects of endometriosis-related immune events on reproductive function / A. Kokcu // *Arch Gynecol Obstet.* – 2013. – Vol. 287, № 6. – P. 1225–1233.
107. Langendonckt, A. Van Oxidative stress and peritoneal endometriosis / A. Van Langendonckt, F. Casanas-Roux, J. Donnez // *Fertility and Sterility.* – 2002. - Vol. 77, № 5. – P. 861–870.
108. Lebovic, D. I. Immunobiology of endometriosis / D. I. Lebovic, M. D. Mueller, R. N. Taylor // *Fertil Steril.* – 2001. – Vol. 75. – P. 1–10.
109. Lewis, M. The impact on ovarian reserve after laparoscopic ovarian cystectomy versus three-stage management in patients with endometriomas: a prospective randomized study / M. Lewis, V. Baker, C. Nezhat // *Fertil Steril.* – 2010. – № 94. – P. 71–77.
110. Lymphocyte Disturbances in Primary Antiphospholipid Syndrome and Application to Venous Thromboembolism Follow-Up / L. Simonin [et al.] // *Clin Rev Allergy Immunol.* – 2017. – Vol. 53, № 1. – P. 14–27.
111. Macer, M. L. Endometriosis and Infertility: A Review of the Pathogenesis and Treatment of Endometriosis-associated Infertility / M. L. Macer, H. S. Taylor // *Obstet Gynecol Clin North Am.* – 2012. – Vol. 39, № 4. – P. 535–549.

112. Maravillas-Montero, J. L. Human B Regulatory Cells: The New Players in Autoimmune Disease / J. L. Maravillas-Montero, E. Acevedo-Ochoa // *Rev Invest Clin.* – 2017. – Vol. 69, № 5. – P. 243–246.
113. Martensen, P. M. Virus Infection and Tipe I Interferon in Endometriosis / P. M. Martensen, A. L. Vestergaard, U. B. Knudsen // *Endometriosis - Basic Concepts and Current Reserch Trends* / ed. K. Chaudhury. – In *Tech.*, 2012. – 490 p.
114. Mathur, S. P. Endometrial autoantigens eliciting immunoglobulin IgG, IgA, and IgM responses in endometriosis / S. Mathur, D. E. Garza, L. F. Smith // *Fertil Steril.* – 1990. – Vol. 54. – P. 56–63.
115. Mathur, S. P. Autoimmunity in endometriosis: relevance to infertility / S. P. Mathur // *AJRI.* – 2000. – Vol. 44. – P. 89–95.
116. Mauri, C. The 'short' history of regulatory B cells / C. Mauri, M. R. Ehrenstein // *Trends Immunol.* – 2008. – Vol. 29, № 1. – P. 34–40.
117. Measurement of oxidative stress in the follicular fluid of infertility patients with an endometrioma / K. Nakagawa, M. Hisano, R. Sugiyama, K. Yamaguchi // *Arch Gynecol Obstet.* – 2016. – Vol. 293. – P.197–202.
118. Memory B cell subsets and plasmablasts are lower in early than in long-standing Rheumatoid Arthritis / L. Fedele [et al.] // *BMC Immunology.* – 2014. – № 15. – P. 28–37.
119. Memory B Cells and Response to Abatacept in Rheumatoid Arthritis. *Clin Rev* / P. Gazeau [et al.] // *Allergy Immunol.* – 2017. - Vol. 53, № 2. – P. 166-176.
120. Miyagaki, T. Regulatory B cells in human inflammatory and autoimmune disease: From mouse model to clinical research / T. Miyagaki, M. Fujimoto, S. Sato // *Int Immunol.* – 2015. – № 27. – P. 495–504.
121. Moderate and severe endometriosis is associated with alterations in the cell cycle of granulose cells in patients undergoing in vitro fertilization and embryo transfer / M. Toya [et al.] // *Fertil Steril.* – 2000. – № 73. – P. 344–350.
122. Molazadeh, M. Prevalence and clinical significance of antinuclear antibodies in Iranian women with unexplained recurrent miscarriage / M. Molazadeh, H.

- Karimzadeh, M. R. Azizi // *Iran J Reprod Med.* – 2014. – Vol. 12, № 3. – P. 221–226.
123. Novel human transitional B cell populations revealed by B cell depletion therapy / A. Palanichamy [et al.] // *J Immunol.* – 2009. – Vol. 182, № 10. – P. 5982–5993.
124. Olive, D. L. Treatment of endometriosis / D. L. Olive, E. A. Pritts // *N Engl J Med.* – 2001. – Vol. 345, № 4. – P. 266–275.
125. Ovarian endometriomas and IVF: a retrospective case-control study / F. Bongioanni [et al.] // *J. Reprod Biol Endocrinol.* – 2011. – № 9. – P. 81.
126. Ovarian fecundity in patients with endometriosis can be estimated by the incidence of apoptotic bodies / K. Nakahara [et al.] // *Fertil Steril.* – 1998. – № 69. – P. 931–935.
127. Oxidative Stress and Endometriosis: A Systematic Review of the Literature / G. Scutiero [et al.] // *Oxid Med Cell Longev.* – 2017; 2017: 7265238, 7 p.
128. PAPP-A and osteoprotegerin, together with interleukin- 8 and RANTES, are elevated in the peritoneal fluid of women with endometriosis / N. A. Bersinger [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2006. – № 195. – P. 103–108.
129. Pathogenesis of endometriosis / A. W. Nap [et al.] // *Best Practice & Research: Clinical Obstetrics & Gynecology.* – 2004. – Vol. 18, № 2. – P. 233–244.
130. Pathogenesis of Endometriosis: Interaction between Endocrine and Inflammatory Pathways / B. G. Patel [et al.] // *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology.* – 2018. – doi: 10.1016 /j.bpobgyn.2018.01.006.
131. Pathogenesis of endometriosis: the role of initial infection and subsequent sterile inflammation (Review) / H. Kobayashi, Y. Higashiura, H. Shigetomi, H. Kajihara // *Mol Med Rep.* – 2014. – Vol. 9, № 1. – P. 9–15.
132. Pathogenic mechanisms in endometriosis-associated infertility / S. Gupta [et al.] // *Fertil Steril.* – 2008. – Vol. 90, № 2. – P. 247–257.
133. Peritoneal and peripheral B-1-cell populations in patients with endometriosis / F. Chishima [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol.* – 2000. – № 26. – P. 141–149.

134. Peritoneal endometriosis is an inflammatory disease / J. C. Lousse [et al.] // Front Biosci. – 2012. – Vol. 1, № 4. – P. 23–40.
135. Pharmacologic therapies in endometriosis: a systematic review / S. R. Soares, A. Martínez-Varea, J. J. Hidalgo-Mora, A. Pellicer // Fertil Steril. – 2012. - № 98. – P. 3.
136. Pollard, J. W. Macrophages define theinvasive microenvironment in breast cancer / J. W. Pollard // J. Leukoc.Biol. – 2008. – Vol. 84. – P. 623–630.
137. Pregnancy loss and endometriosis: pathogenic role of anti-laminin-1 autoantibodies / J. Inagaki [et al.] // Ann N Y Acad Sci. – 2005. – Vol. 1051. – P. 174–184.
138. Prevalence of endometriosis in women with systemic lupus erythematosus and Sjogren’s syndrome / R. Matorras [et al.] // Lupus. – 2007. – Vol. 16. – P. 736–740.
139. Proangiogenic Tie2(+) macrophages infiltrate human and murine endometriotic lesions and dictate their growth in a mouse model of the disease / A. Capobianco [et al.] // Am J Pathol. – 2011. – Vol. 179, № 5. – P. 2651–2659.
140. Promoter –817C>T variant of B lymphocyte stimulator gene (BLyS) and susceptibility to endometriosis-related infertility and idiopathic infertility in Brazilian population. Scand / D. M. Christofolini [et al.] // J. Immunol. – 2011. – Vol. 74, № 6. – P. 628–631.
141. Promotion of angiogenesis and proliferation cytokines patterns in peritoneal fluid from women with endometriosis / H. Rakhila [et al.] // J Reprod Immunol. – 2016. -Vol. 116. – P. 1–6.
142. Reduced non-switched memory B cell subsets cause imbalance in B cell repertoire in systemic sclerosis. / D. Simon [et al.] // Clin Exp Rheumatol. – 2016. – Vol. 100, № 5. – P. 30–36.
143. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis / J. Halme [et al.] // Obstet Gynecol. – 1984. – Vol. 64, № 2. – P. –151–154.
144. Role of IgG Chlamydia antibody in predicting tubal factor infertility / D. Johnrose [et al.] // Clin Microbiol. – 2017. – Vol. 19, № 1. – P. 32-35.

145. Role of K-ras and Pten in the development of mouse models of endometriosis and endometrioid ovarian cancer / D. M. Dinulescu [et al.] // *Nat Med.* – 2005. – Vol. 11, № 1. – P. 63–70.
146. Roles of peripheral B1 cells in the individualized treatment of adult idiopathic thrombocytopenic purpura / H. Q. Luo [et al.] // *Genet Mol Res.* – 2015. – Vol. 14, № 1. – P. 21–28.
147. Schroeder, H. W. Structure and Function of Immunoglobulins / H. W. Schroeder, L. Cavacini // *J Allergy Clin Immunol.* – 2010. – Vol. 125, № 202. – S41–S52.
148. Serum antiendometrial antibodies and diagnosis of endometriosis / G. W. Randall [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* – 2007. – Vol. 58, № 4. – P. 374–378.
149. Serum BAFF and APRIL levels in patients with autoimmune hemolytic anemia and their clinical significance / Z. Z. Xu [et al.] // *Int J Hematol.* – 2015. – Vol. 102, № 4. – P. 394–400.
150. Should a detailed ultrasound examination of the complete urinary tract be routinely performed in women with suspected pelvic endometriosis? / K. Pateman [et al.] // *Hum Reprod.* – 2015. – Vol. 30, № 2. – P. 2802–2807.
151. Soluble CD23 protein in the peritoneal fluid of patients with endometriosis / O. A. Odukoya [et al.] // *Hum. Reprod.* – 1996. – № 11. – P. 2018–2021.
152. Sourial, S. Theories on the Pathogenesis of Endometriosis. International / S. Sourial, N. Tempest, D. K. Hapangama // *Journal of Reproductive Medicine.* – 2014. – Article ID 179515, 9 pages
153. Steroids and protein markers in the follicular fluid as indicators of oocyte quality in patients with and without endometriosis / D. M. Wunder, M. D. Mueller, M. H. Birkhäuser, N. A. Bersinger // *J Assist Reprod Genet.* – 2005. – № 22. – P. 257–264.
154. Tasuku Harada Dysmenorrhea and Endometriosis in Young Women / Tasuku Harada // *Yonago Acta Med.* – 2013. – Vol. 56, № 4. – P. 81–84.

155. Taylor, J. J. Heterogeneity in the differentiation and function of memory B cells / J. J. Taylor, M. K. Jenkins, K. A. Pape // Trends Immunol. – 2012. – Vol. 33, № 12. – P. 590–597.
156. The Elevated Secreted Immunoglobulin D Enhanced the Activation of Peripheral Blood Mononuclear Cells in Rheumatoid Arthritis / Wu Y. [et al.] // PLoS One. – 2016. – Vol. 27, № 11(1). – e0147788/
157. The frequency of ovulation from the affected ovary decreases following laparoscopic cystectomy in infertile women with unilateral endometrioma during a natural cycle / T. Horikawa [et al.] // J Assist Reprod Genet. – 2008. – № 25. – P. 239–244.
158. The impact of endometriosis on the outcome of Assisted Reproductive Technology / M. González-Comadran [et al.] // Reproductive Biology and Endocrinology. – 2017. – № 15. – P. 8.
159. The possible role of genetic variants in autoimmune-related genes in the development of endometriosis / B. Bianco [et al.] // Human Immunology. – 2012. – № 73. – P. 306–315.
160. The regulation of immunoglobulin production by B cells in patients with endometriosis / S. Z. Badawy [et al.] // Fertil. Steril. – 1989. – № 51. – P. 770–773.
161. The regulatory role of B cells in autoimmunity, infections and cancer: Perspectives beyond IL10 production / M. Gorosito Serrán [et al.] // FEBS Lett. – 2015. – Vol. 589, № 22. – P. 3362–3369.
162. The relationship between microvessel density, proliferative activity and expression of vascular endothelial growth factor-A and its receptors in eutopic endometrium and endometriotic lesions / V. Bourlev [et al.] // Reproduction. – 2006. – Vol. 132, № 3. – P. 501–519.
163. The role of the Hoxa10/HOXA10 gene in the etiology of endometriosis and its related infertility: a review / A. Zanatta [et al.] // J Assist Reprod Genet. – 2010. – Vol. 27, № 12. – P. 701–710.

164. The role of the oxidative stress in the endometriosis-related infertility / A. Augoulea [et al.] // *Gynecological Endocrinology*. – 2009. – Vol. 25, № 2. – P. 75–81.
165. The value of serological markers in the diagnosis and prognosis of endometriosis: a prospective case-control study / R. Socolov [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. – 2011. – Vol. 154, № 2. – P. 215–217. doi: 10.1016/j.ejogrb.2010.10.008.
166. The WNT/ β -catenin signaling pathway and expression of survival promoting genes in luteinized granulosa cells: endometriosis as a paradigm for a dysregulated apoptosis pathway / A. M. Sanchez [et al.] // *Fertil Steril*. – 2014. – № 101. – P. 1688–1696.
167. Thyroid autoimmunity and thyroid dysfunction in women with endometriosis / C. A. Petta [et al.] // *Human Reproduction*. – 2007. – Vol. 22, № 10. – P. 2693–2697.
168. Tubo-peritoneal factor of infertility: diagnosis and treatment / L. Muzii [et al.] // *La Clinica Terapeutica*. – 2010. – Vol. 161, № 1. – P. 77–85.
169. Unique properties of memory B cells of different isotypes / T Kurosaki [et al.] // *Immunol Rev*. – 2010. – Vol. 237, № 1. – P. 104–116.
170. Urinary Tract Endometriosis / A. Kołodziej, W. Krajewski, L. Dołowy, L. Hirnle // *Urol J*. – 2015. – Vol. 12, № 4. – P. 2213–2217.
171. Weed, J. C. Endometriosis. Can it produce an autoimmune response resulting in infertility? / J. C. Weed, P. C. Arquembourg // *Clin Obstet Gynecol*. – 1980. – Vol. 23. – P. 885–893.
172. Wu Yu, C. B. The relationship between CD27 negative and positive B cell populations in human peripheral blood / C. B. Wu Yu, D. Kipling, D. K. Dunn-Walters // *Front Immunol*. – 2011. – Vol. 2. – doi: 10.3389/fimmu.2011.00081.
173. Youinou, P. CD5 expression in B cells from patients with systemic lupus erythematosus / P. Youinou, Y. Renaudineau // *Crit Rev Immunol*. – 2011. – Vol. 31, № 1. – P. 31–42.

174. Zhang, X. Regulatory functions of innate-like B cells / X. Zhang // Cell Mol Immunol. – 2013. – Vol. 10, №2. – P. 113–121.