

НУГУМАНОВА ОЛЬГА РАШИДОВНА

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО
ЭНДОМЕТРИТА ЗА СЧЕТ КОРРЕКЦИИ ЛОКАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ
ФАКТОРОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА**

3.1.4. Акушерство и гинекология

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор

Доброхотова Юлия Эдуардовна

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор

Кузнецова Ирина Всеволодовна

ООО «Витбиомед+», заместитель генерального директора по научно-исследовательской работе

Доктор медицинских наук, профессор

Зуев Владимир Михайлович

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), кафедра акушерства и гинекологии №1 лечебного факультета, профессор

Ведущая организация:

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии»

Защита диссертации состоится «__» _____ 2023 года в 14:00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.058.08 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н. И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1 и на сайте <http://rsmu.ru/>

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Ученый секретарь

Диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

 **Хашукоева Асият Зулчифовна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В послании Президента РФ Федеральному Собранию в 2020 году были обозначены приоритетные направления развития страны на ближайшие годы. Среди них первостепенное значение имеют укрепление здоровья населения и улучшение демографических показателей. Сохранение каждой наступившей беременности является приоритетной задачей, а разработка и внедрение новых методов преодоления бесплодия становится крайне актуальным.

В структуре причин бесплодия хронический эндометрит занимает лидирующие позиции, составляя до 87% (Шуршалина А. В., 2012; Сухих Г. Т., 2013; Зуев В. М., 2022; Hyun Jong Park, 2016; Kitaya K., 2018). Точный механизм развития хронического эндометрита до конца не изучен, и именно с этим связано отсутствие эффективных методов его лечения. Догма о том, что полость матки является стерильной, была развенчана в исследованиях различных авторов (Толибова Г. Х., 2018; Romero R., 2004; Verstraelen H., 2016; Kimura F., 2019; Cicinelli E., 2014, 2019). В норме представители лактобациллярной флоры присутствуют в эндометрии и не оказывают негативного влияния на его функционирование. Проникновение же условно-патогенных и патогенных микроорганизмов может стать причиной развития инфекционного процесса с последующей его хронизацией.

Разноречивость и фрагментированность имеющихся данных не позволяет однозначно установить причины, по которым иммунная система не справляется с элиминацией возбудителя. Предполагается, что несостоятельность местного иммунитета, являющегося первым звеном защиты организма, может явиться основной причиной хронизации воспалительного процесса, а разработка методов его коррекции может повысить эффективность терапии хронического эндометрита и улучшить репродуктивные исходы у пациенток.

Степень разработанности темы исследования

Как типовой патологический процесс, хронический эндометрит является самоподдерживающейся системой, в основе которой лежит дисбаланс в продукции иммунокомпетентных клеток и провоспалительных цитокинов. Длительная бессимптомная персистенция возбудителей в ткани приводит к изменению не только ее структуры, но и функции, с нарушением пролиферации, циклической трансформации и ангиогенеза. Для предотвращения колонизации бактериями полости матки существуют защитные механизмы, ограничивающие бактериальную пролиферацию и инвазию (Kitaya K., 2018; Mlodzik N., 2020).

В настоящее время имеются разрозненные данные об экспрессии факторов врожденного иммунитета клетками эндометрия при его хроническом воспалении. Известно, что на фоне постоянной антигенной стимуляции клеток повышена

экспрессия мРНК генов, отвечающих за синтез цитокинов, факторов роста и Толл-подобных рецепторов (Бурменская О. В., 2014; Кузнецова И. В., 2016). В других работах доказана иницирующая роль вирусной инфекции, которая запускает каскад патологических реакций с дисбалансом экспрессии TLR рецепторов (Коссович Ю. М., 2018). Дисрегуляция в системе врожденного иммунитета была доказана в патогенезе развития тубоовариальных образований и сальпингита, но не изучена при хроническом эндометрите.

В настоящее время продолжается разработка темы хронического эндометрита, что связано с отсутствием однозначного понимания механизмов его возникновения. Изучение состояния врожденного иммунитета эндометрия и разработка возможностей его коррекции путем проведения экзогенной цитокинотерапии продолжает быть актуальным.

Цель исследования

Повысить эффективность терапии хронического эндометрита путем модулирования локальной экспрессии факторов врожденного иммунитета.

Задачи исследования

1. Провести сравнительную оценку биоценоза влагалища и эндометрия у пациенток с хроническим эндометритом после проведения стандартной антибактериальной терапии.
2. Определить влияние экзогенной цитокинотерапии на количественную характеристику, видовой состав микрофлоры влагалища и эндометрия.
3. Оценить рецептивность эндометрия у пациенток с хроническим эндометритом до и после экзогенной цитокинотерапии.
4. Определить влияние цитокинотерапии на выраженность хронического воспаления на основании изучения количества иммунокомпетентных клеток в эндометрии и особенностей экспрессии факторов врожденного иммунитета у пациенток с хроническим эндометритом.
5. Изучить процессы ангиогенеза при хроническом воспалении и разработать возможности их коррекции.
6. Оценить клиническую эффективность экзогенной цитокинотерапии по критерию наступления беременности и разработать алгоритм ведения пациенток с хроническим эндометритом с учетом роли и места цитокинотерапии.

Научная новизна

В результате исследования установлено, что у пациенток с хроническим эндометритом пристеночная и просветная флора во влагалище не идентичны по количественному и качественному составу, а проведение экзогенной цитокинотерапии улучшает показатели биоценоза.

Выявлено, что в большинстве случаев при хроническом эндометрите после стандартной терапии в полости матки отсутствует бактериальная флора, но

имеются внутриклеточные включения вирусов простого герпеса и Эпштейна – Барр.

Установлен дисбаланс в экспрессии факторов врожденного иммунитета в эндометрии у пациенток с хроническим эндометритом и обоснована необходимость его коррекции путем добавления к комплексному лечению экзогенной цитокинотерапии.

Изучено влияние цитокинотерапии на нормализацию процессов ангиогенеза при хроническом эндометрите в виде увеличения площади распределения сосудистой сети и нормализации экспрессии рецепторов к сосудисто-эндотелиальному фактору роста, что позволяет улучшить репродуктивные исходы.

Теоретическая и практическая значимость работы

Проведенное комплексное исследование позволило расширить теоретические знания о состоянии врожденного иммунитета и ангиогенеза в эндометрии пациенток с хроническим эндометритом. Дополнены представления о звеньях патогенеза хронического эндометрита и уточнены возможности цитокинотерапии в его коррекции.

Установлен характер морфологических и иммунологических изменений в эндометрии, определена экспрессия сосудисто-эндотелиального фактора роста и его рецепторов и установлена взаимосвязь между интенсивностью их продукции и выраженностью воспаления.

Оценено влияние экзогенной цитокинотерапии на улучшение процессов ангиогенеза в эндометрии, которое проявляется значительным увеличением площади распределения сосудистой сети и нормализацией экспрессии рецепторов к сосудисто-эндотелиальному фактору роста.

Доказана целесообразность проведения экзогенной цитокинотерапии в комплексном лечении хронического эндометрита на основании клинко-морфологического и иммунологического исследований.

Оптимизирован алгоритм ведения пациенток с хроническим эндометритом, позволивший увеличить частоту наступления спонтанной и индуцированной беременности.

Методология и методы исследования

Работа проводилась с использованием когортного проспективного метода с применением наблюдения, сравнения, измерения данных, полученных клиническими, лабораторными и инструментальными методами, в соответствии с международными стандартами качественной клинической практики (ICH-GCP), с соблюдением принципов доказательной медицины Хельсинской декларации и была одобрена локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России.

Положения, выносимые на защиту

1. У пациенток с хроническим эндометритом после проведения стандартной антибактериальной терапии биоценоз влагалища характеризуется большим разнообразием условно-патогенных микроорганизмов, пристеночная и просветная флора не идентичны по количественному и качественному составу и не коррелируют с внутриматочной микробиотой. При этом внутриматочная бактериальная флора малочисленна и в 30% отсутствует, кроме того, у 55% выявляются представители семейства герпес-вирусов. Экзогенная цитокиноterapia, вне зависимости от ее длительности, приводит к снижению контаминации микроорганизмами влагалища и полости матки.

2. Для пациенток с хроническим эндометритом характерно нарушение структуры и функции эндометрия, проявляющееся дисбалансом в экспрессии факторов врожденного иммунитета, нарушением рецептивности ткани и снижением интенсивности процессов ангиогенеза. Своевременная диагностика и комплексная терапия с включением экзогенной цитокинотерапии позволяет нормализовать процессы внутриклеточной регуляции и улучшить ангиогенез в эндометрии.

3. Комплексная оценка основных патогенетических механизмов развития хронического эндометрита с учетом оценки клеточных, инфекционных, иммунологических и ангиогенных факторов позволяет разработать персонализированную модель медицинского сопровождения женщин для повышения эффективности терапии и восстановления репродуктивной функции.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность представленных результатов обеспечена использованием современных методик сбора и обработки информации, соответствующих поставленным задачам методов статистического анализа. При статистической обработке использовали пакет программ STATISTICA (StatSoft Inc., США, версия 7.0). Результаты описания количественных признаков представлены в виде ($M \pm \sigma$), где M – выборочная средняя величина, а σ – выборочное стандартное отклонение. Применены непараметрические аналоги t-теста – тест Манна – Уитни, ранговый однофакторный анализ Крускала – Уоллиса, критерий χ^2 (с поправкой Йетса – df) при помощи составления таблиц сопряженности 2×2 и с построением произвольных таблиц сопряженности, ранговый коэффициент корреляции Спирмена ($\pm r$). Критический уровень значимости принимали $\leq 0,05$.

Апробация диссертации

Основные результаты работы доложены и обсуждены на: II, III и IV международном междисциплинарном саммите «Женское здоровье» (Москва 2019, 2020 и 2021); XX Юбилейном всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2019); VI Общероссийской конференции «Инфекции и

инфекционный контроль в акушерстве и гинекологии» (Москва, 2019); XIII Общероссийском научно-практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи, 2020); VI форуме «Шейка матки и вульвовагинальные болезни» (Москва, 2020); конференции «Репродуктивный потенциал России «Казанские чтения» (Казань, 2020); школе-интенсиве «Эндометрий: контраверсии клинической практики» (Москва, 2020); конференции «Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству» (Санкт-Петербург, 2021).

Апробация диссертационной работы состоялась на совместной научно-практической конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и врачей гинекологического отделения ГБУЗ «Городская клиническая больница №1 имени Н.И. Пирогова» Департамента здравоохранения города Москвы 15 февраля 2022 года, протокол № 3.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в формулировании цели и задач исследования, в разработке дизайна работы, сборе материала, его систематизации и обобщении полученных результатов, а также в подготовке основных публикаций по выполненной работе.

Диссертант лично участвовал в ведении пациенток с хроническим эндометритом и бесплодием, а также самостоятельно производил забор материала для исследования. Анализ медицинской документации, статистическая обработка данных, их систематизация и обобщение, а также разработка алгоритма полностью осуществлялись автором исследования.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 3, 4 и 5 паспорта специальности.

Реализация и внедрение полученных результатов в практику

Результаты диссертационного исследования внедрены в лечебную практику консультативно-диагностического отделения и женских консультаций ГБУЗ ГКБ № 40 Департамента здравоохранения города Москвы (главный врач – д. м. н. Проценко Д. Н.), ГБУЗ ГКБ имени А. К. Ерамишанцева Департамента здравоохранения города Москвы (главный врач – к. м. н. Габриелян А. Р.). Материалы научной работы используются в цикле лекций и практических занятий для студентов и ординаторов на кафедре акушерства и гинекологии лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России.

Публикации

По материалам проведенных исследований опубликовано 5 работ в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации основных результатов диссертационных работ на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 156 страницах печатного текста, состоит из введения, четырех глав, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 222 источника (74 отечественных и 148 зарубежных), иллюстрирована 33 таблицами, 30 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Научная работа выполнена на базе кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России (заведующий кафедрой – д. м. н., профессор Ю. Э. Доброхотова): в консультативно-диагностическом отделении родильного дома ГБУЗ ГКБ № 40 Департамента здравоохранения города Москвы.

В исследование были включены 123 пациентки, которые дали письменное информированное согласие на участие, использование биологического материала и обработку персональных данных. Были сформированы основная ($n = 83$) и контрольная ($n = 40$) группы. **Критерии включения пациенток в основную группу:** репродуктивный возраст (25–40 лет); заинтересованность в наступлении беременности; наличие гистологически и иммуногистохимически подтвержденного хронического эндометрита; отсутствие гистологического улучшения после проведения 14-дневного курса антибактериальной терапии хронического эндометрита; бесплодие (исключены эндокринный, анатомический (пороки матки, миома матки, аденомиоз), трубно-перитонеальный и мужской факторы); отсутствие инфекцией, передающихся половым путем, воспалительного и невоспалительного патологического процесса во влагалище и на шейке матки; отсутствие внутриматочных вмешательств в течение 3 месяцев до момента включения в исследование; отсутствие значимой соматической патологии (иммунодефицит, сахарный диабет, ожирение, гипотиреоз, системные заболевания). **Критерии включения пациенток в контрольную группу:** репродуктивный возраст; заинтересованность в наступлении беременности; отсутствие в анамнезе беременностей, инфекций, передающихся половым путем, внутриматочных вмешательств, ВМС, значимой гинекологической и соматической патологии.

Комплексное обследование пациенток включало: сбор анамнеза, оценку социального статуса, наследственности, соматического здоровья, менструальной и

репродуктивной функции. Все пациентки прошли общеклиническое, клинико-лабораторное и инструментальное обследование. Качественный и количественный анализ микрофлоры включал изучение просветного и пристеночного биоценоза влагалища, а также флоры эндометрия до и после окончания цитокинотерапии. Для оценки просветного микробиоценоза забор материала производили из заднего свода влагалища стерильным ватным тампоном; для оценки пристеночной флоры взятие материала проводили из заднего свода влагалища цервикальной цитощеткой (Симур цитощетка одноразовая, тип D) после удаления поверхностной слизи. Полученный материал помещали в пробирки с транспортной средой Эймса с углем и в течение 1,5–2 часов доставляли в лабораторию МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского, где производилось бактериологическое исследование. Изучение маточной микробиоты проводили с использованием молекулярно-биологического метода ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ) при помощи тест-системы «Фемофлор» (ООО «НПО ДНК-Технология»). Материал из полости матки получали путем пайпель-аспирационной биопсии, выполненной на 20–24-й дни цикла. Для исключения контаминации образца влагалищной флорой, проводили антисептическую обработку стенок влагалища и шейки матки, после чего в полость матки вводили стерильный зонд Pipelle de Cornier.

Изучение экспрессии генов факторов врожденного иммунитета проводили на кафедре иммунологии МБФ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова (зав. кафедрой – д. м. н., профессор Ганковская Л. В.). Методом ПЦР в режиме реального времени определялась экспрессия генов TLR4, TLR2, NBD1-дефенсина и TNF в клетках эндометрия. Уровень противомикробного пептида HNP1-3 оценивался методом иммуноферментного анализа (набор Human HNP1-3, NuscultBiotech).

Гистологическое и ИГХ исследование проводилось в патологоанатомическом отделении ГБУЗ «Городская клиническая больница № 40» Департамента здравоохранения г. Москвы. При ИГХ оценивалось количество пиноподий, экспрессия рецепторов к эстрогенам α и прогестерону, их соотношение в баллах по методике гистологического счета Histochemical Score, инфекционные агенты (ЦМВ, ВПГ 1-го и 2-го типов, вирус Эпштейна – Барр, ВПЧ), маркеры хронического эндометрита (CD138, CD20, CD8, CD4, CD56, HLA-DRII, MUC-1, маркеры ангиогенеза (VEGF-A, VEGFR 1 и 2, CD34).

В исследование были включены пациентки с гистологически подтвержденным хроническим эндометритом, у которых не было достигнуто излечение после проведения курса стандартной антибактериальной терапии. В ходе работы, пациентки основной группы случайным образом были рандомизированы на две подгруппы. В первой подгруппе (n = 40) цитокинотерапия проводилась в течение 20 дней после окончания менструального кровотечения (1

менструальный цикл), во второй подгруппе ($n = 43$) – в течение 40 дней (2 менструальных цикла). С лечебной целью был использован препарат в свечах для местного применения Суперлимф, 25 ЕД в 1 свече (активное вещество белково-пептидный комплекс свиных лейкоцитов, производитель Компания «Центр Иммунотерапии «Иммунохелп»).

Результаты исследования и их обсуждение

Средний возраст пациенток был $34,2 \pm 1,6$ лет. В структуре экстрагенитальных заболеваний у всех женщин существенное место занимала патология органов ЖКТ (27,9% в основной группе и 20,1% в контрольной). Суммарно заболевания органов мочевыделительной (13,2% и 4,1%) и дыхательной систем (15,3% и 5,2%) встречались значительно чаще у пациенток основной группы по сравнению с контрольной ($p \leq 0,05$).

Средний возраст менархе у женщин основной группы был $12,7 \pm 1,1$ лет, у пациенток контрольной группы – $12,1 \pm 2,4$ года. Наиболее распространенными гинекологическими заболеваниями у обследованных женщин были эктопия шейки матки (31,5% в основной группе и у 22,5% пациенток контрольной группы) и кандидозный вагинит (у 48,8% и 50,4% соответственно). Бесплодие и хронический эндометрит отмечены только у пациенток основной группы, что объясняется критериями включения. Длительность бесплодия составляла от 1,5 до 9 лет, в среднем $3 \pm 0,7$ года. Пациентки контрольной группы не имели в анамнезе беременностей и внутриматочных вмешательств. У 40,7% пациенток основной группы в анамнезе были физиологические влагалищные роды, искусственный аборт в сроке до 12 недель имели 17,1%. Самопроизвольный выкидыш отмечен у 6,6%, из них в 80,3% он произошел до 8 недель гестации.

Результаты бактериологического исследования

Исследование включало оценку транзитной (просветной) и индигенной (пристеночной) флоры влагалища. Показатели обсемененности флорой в контрольной группе соответствовали состоянию нормоценоза, а присутствующие условно-патогенные микроорганизмы высевались в незначительных субпороговых концентрациях. Анализ исследования микробиоценоза влагалища у пациенток основной группы до проведения цитокинотерапии не выявил значимых различий между подгруппами. В просветном и в пристеночном слое отмечен повышенный рост бактероидов, протей, пептострептококков, пропионибактерий, актиномицет, бацилл, превотелл, псевдомонад и энтеробактерий, которые отсутствовали у пациенток контрольной группы. На Рисунках 1, 2 графически отображены различия в качественном и количественном составе микрофлоры пациенток основной группы до и после цитокинотерапии.

Качественный состав просветного влагалищного биоценоза у пациенток с хроническим эндометритом не имел принципиальных изменений после 20-

дневного курса экзогенной цитокинотерапии, за исключением псевдомонад, которые перестали выявляться. Изменения зафиксированы в количестве микроорганизмов: значительно снизился титр стрептококков (в 1,5 раз), энтеробактера (в 1,7 раз), бактероидов (в 1,6 раз), пропионибактерий (в 1,4 раза), стафилококков (в 1,4 раза) и превотелл (в 1,5 раз) [$p < 0,05$]

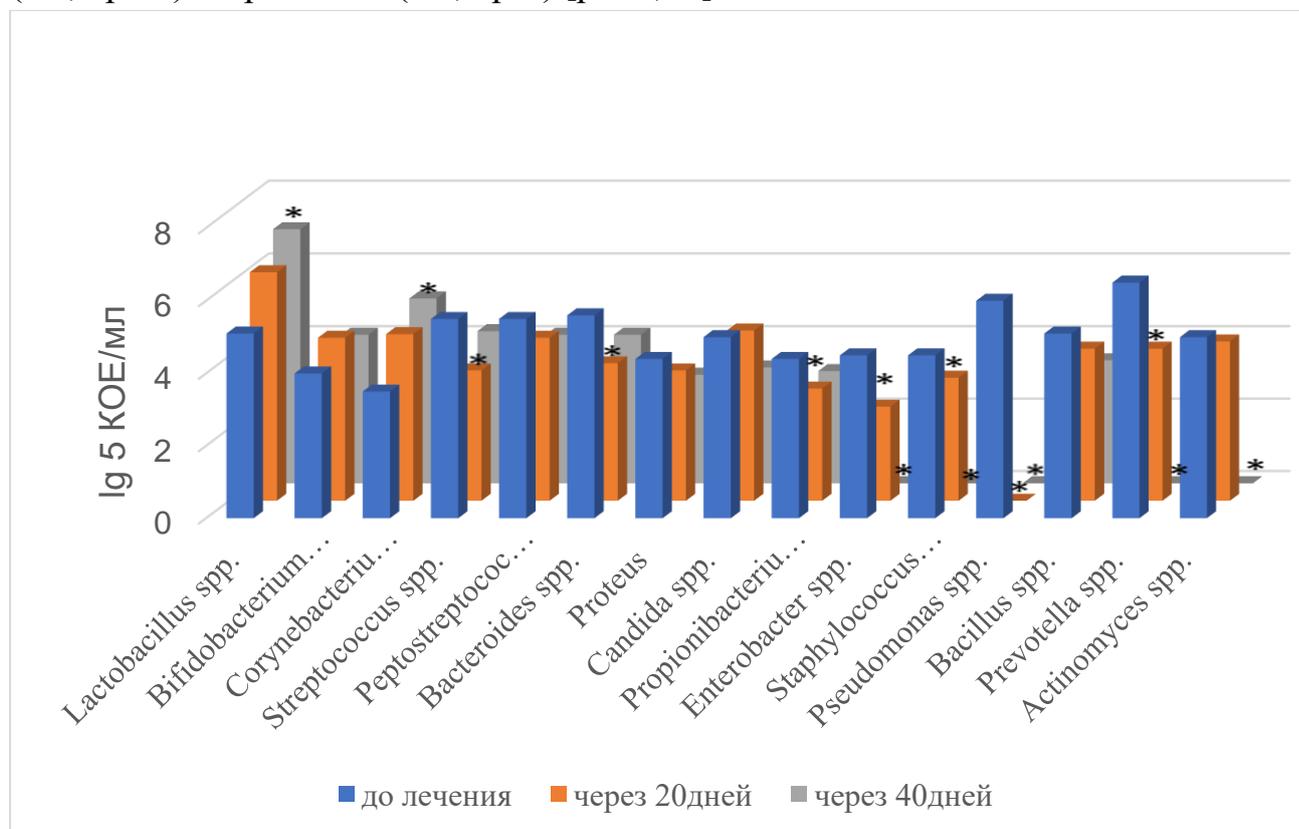


Рисунок 1 – Просветный микробиоценоз влагалища у пациенток основной группы до и после экзогенной цитокинотерапии (* – $p < 0,05$ при сравнении с показателями до лечения)

В случае проведения 40-дневного курса цитокинотерапии в просветном слое влагалища значительно увеличилось количество лактобактерий (в 1,3 раза) и коринебактерий (в 1,4 раза) ($p < 0,05$), отсутствовал рост энтеробактера, стафилококков, превотелл и актиномицет.

В пристеночном слое влагалища у пациенток с хроническим эндометритом после 20 дней цитокинотерапии энтеробактер и псевдомонады не определялись, значительно повысился титр лактобактерий (в 1,4 раза) и коринебактерий (в 1,3 раз), и снизился рост стрептококков (в 1,7 раз), стафилококков (в 1,7 раз), бактероидов (в 1,8 раз), превотелл (в 1,6 раз) и протей (в 1,4 раза) ($p < 0,05$). Через 40 дней цитокинотерапии у пациенток с хроническим эндометритом в пристеночном слое влагалища значительно снизился титр пептострептококков в 1,7 раз, грибов рода *Candida* в 1,5 раз, псевдомонад и бацилл в 2,3 и 2,5 раз соответственно ($p < 0,05$). Отсутствовал рост энтеробактера, стафилококков, превотелл и актиномицет.

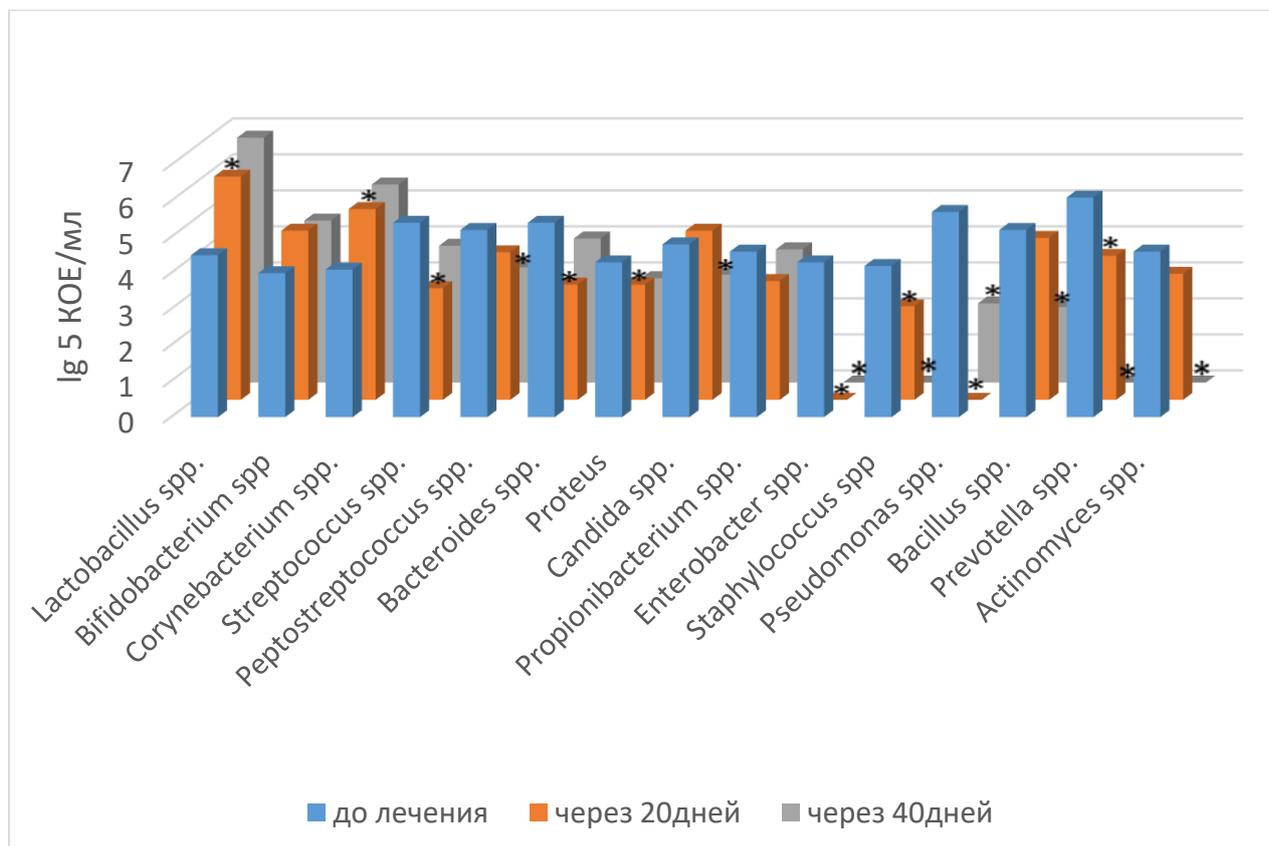


Рисунок 2 – Пристеночный микробиоценоз влагалища у пациенток основной группы до и после терапии (* – $p < 0,05$ при сравнении с показателями до лечения)

Помимо оценки микробиоценоза влагалища, была исследована флора эндометрия (Таблица 1). В группе здоровых женщин у 89,9% пациенток в эндометрии отсутствовали представители бактериальной или грибковой флоры. Только у 10,1% обнаружены *Lactobacillus spp.* и *Atopobium vaginae*.

Таблица 1 – Внутриматочный биоценоз у пациенток основной группы

| ДНК микроорганизмов | Основная группа, первая подгруппа (n = 43) | | Основная группа, вторая подгруппа (n = 40) | |
|------------------------------|--|---------------------------|--|---------------------------|
| | До лечения, ГЭ/мл, М±S | После лечения, ГЭ/мл, М±S | До лечения, ГЭ/мл, М±S | После лечения, ГЭ/мл, М±S |
| Lactobacillus spp. | 4,6±1,2x10 ⁴ | 5,1±0,4x10 ³ * | 4,1±0,8x10 ⁴ | 4,9±0,8x10 ³ |
| Gardnerella vaginalis | 3,1±0,9x10 ³ | 1,0±0,1x10 ³ * | 2,4±0,4x10 ³ | 1,2±0,2x10 ² * |
| Atopobium vaginae | 5,2±0,7x10 ³ | 2,2±0,3x10 ³ * | 5,0±0,4x10 ³ | 0* |
| Enterobacteriaceae | 2,5±0,7x10 ³ | 1,0±0,2x10 ³ | 2,9±0,2x10 ³ | 0* |
| Candida albicans | 3,1±0,4x10 ⁶ | 0* | 2,1±0,1x10 ⁵ | 0* |
| Candida glabrata | 2,2±0,3x10 ⁵ | 0* | 0 | 0 |
| Candida krusei | 2,0±0,1x10 ⁵ | 0* | 0 | 0 |

Примечание – * – $p < 0,05$ при сравнении с показателями до лечения

У 1/3 пациенток с хроническим эндометритом до проведения цитокиноterapiи бактерии отсутствовали, а в остальных образцах преобладали лактобактерии, вагинальный атопобиум, энтеробактер и грибы рода *Candida*. Таким образом, несмотря на подтвержденный морфологический диагноз хронического воспаления, лактобациллярная флора оставалась доминирующей. Низкий процент выявления бактериальной флоры в полости матки может быть связан с проведением антибактериальной терапии при первичной диагностике хронического эндометрита. По окончании цитокиноterapiи отмечено снижение контаминации эндометрия вне зависимости от ее длительности. Наилучшие результаты были получены во второй подгруппе, где в случае 40 дней цитокиноterapiи у 67,5% пациенток сохранялись лишь лактобактерии, а у 5,1% – гарднерелла вагиналис.

Результаты иммунологического исследования

До и после цитокиноterapiи методом ПЦР в режиме реального времени в ткани эндометрия была определена экспрессия генов TLR2, TLR4, фактора некроза опухоли (TNF α), дефенсинов альфа (HNP1-3) и бета (HBD1). При оценке показателей были отмечены как избыточная, так и недостаточная их продукция (Таблица 2).

Таблица 2 – Экспрессия генов факторов врожденного иммунитета в эндометрии пациенток первой подгруппы основной группы

| Исследуемый показатель | Первая подгруппа основной группы (n = 43) | | p | Контрольная группа (n = 40) 10 ³ копий/мл |
|------------------------|---|--|--|---|
| | Экспрессия до терапии 10 ³ копий/мл | Экспрессия после терапии 10 ³ копий/мл | | |
| TLR 2 | 1381,58±216,24 | 1001,91±381,11 | p1 < 0,05 p2 = 0,04 p3 = 0,02 | 1225,64±109,15 |
| TLR 4 | 501,56±163,21 | 849,38±174,32 | p1 = 0,05 p2 = 0,05 p3 = 0,04 | 610,7±94,212 |
| TNF alfa | 2517,95±413,07 | 2980,74±391,54 | p1 = 0,05 p2 = 0,04 p3 = 0,03 | 2218,79±305,21 |
| HBD 1 | 1163,72±211,02 | 2452,51±139,81 | p1 < 0,001 p2 = 0,04 p3 = 0,007 | 1354,79±199,20 |
| HNP1-3 (нг/мл) | 7,23±1,13 | 11,49±2,09 | p1 < 0,001 p2 = 0,001 p3 = 0,001 | 9,84±1,23 |

Примечание – p1 – при сравнении показателей до и после терапии; p2 – при сравнении показателей до терапии с контрольной группой; p3 – при сравнении показателей после терапии с контрольной группой

Проведение цитокиноterapiи оказало модулирующее действие в зависимости от исходных значений. В первой подгруппе основной группы, где

цитокиноterapia длилась в течение 20 дней, отмечено статистически достоверное увеличение уровня экспрессии гена TNF α в 2,2 раза (при его исходно низком количестве), в 1,2 раза при умеренной его продукции, а при исходно высокой экспрессии концентрация TNF α практически не изменялась. При изначально сниженной экспрессии гена HBD1 уровень его экспрессии на фоне проводимой терапии увеличивался более значимо (в 5,1 раз), при умеренной экспрессии – в 1,6 раза, а при изначально его высокой экспрессии – в 0,7 раза.

Во второй подгруппе основной группы после 40 дней цитокинотерапии было выявлено значимое снижение уровня экспрессии гена TLR2 в 1,5 раза при его исходно высокой продукции и повышение в 1,8 раз при низкой. Статистически значимое увеличение экспрессии гена TNF α отмечено в 2,0 раза при исходно сниженной его продукции и в 1,5 раза при умеренной. Анализ данных показал значимое увеличение уровня экспрессии гена HBD1 в 4,2 раза, в 1,8 раз и в 0,5 раз при исходно низкой, средней и высокой продукции соответственно ($p < 0,01$). После лечения в эндометрии большинства (82,7%) пациенток отмечено значимое увеличение уровня экспрессии противомикробных пептидов HNP1-3 ($p < 0,05$) (Таблица 3).

Таблица 3 – Экспрессия генов факторов врожденного иммунитета в эндометрии пациенток второй подгруппы основной группы

| Исследуемый показатель | Вторая подгруппа основной группы (n = 40) | | p | Контрольная группа (n = 40) 10 ³ копий/мл |
|------------------------|---|--|-------------------------------------|---|
| | Экспрессия до терапии 10 ³ копий/мл | Экспрессия после терапии 10 ³ копий/мл | | |
| TLR 2 | 1416,79±311,71 | 1210,2±248,32 | p1 = 0,04 p2 = 0,03 p3 = 0,47 | 1225,64±109,15 |
| TLR 4 | 512,39±156,19 | 631,84±141,14 | p1 = 0,05 p2 = 0,04 p3 = 0,49 | 610,7±94,212 |
| TNF alfa | 2470,51±618,74 | 2950,53±355,29 | p1 < 0,05 p2 = 0,05 p3 = 0,04 | 2218,79±305,21 |
| HBD 1 | 1102,09±309,22 | 1870,23±618,14 | p1 < 0,05 p2 = 0,04 p3 = 0,02 | 1354,79±199,20 |
| HNP1-3 (нг/мл) | 7,07±1,22 | 13,11±1,56 | p1 < 0,05 p2 = 0,05 p3 < 0,05 | 9,84±1,23 |

Примечание – p1 – при сравнении показателей до и после терапии; p2 – при сравнении показателей до терапии с контрольной группой; p3 – при сравнении показателей после терапии с контрольной группой

В результате исследования было выявлено, что у пациенток с хроническим эндометритом имеется дисбаланс в продукции факторов врожденного иммунитета,

являющийся следствием длительного воспалительного процесса. В большинстве наблюдений при хроническом эндометрите отмечена сниженная экспрессия генов TLR4, HBD1 и HNP1-3, а экспрессия TLR2 и TNF α в большинстве случаев была повышена. Цитокиноterapia оказывает иммуномодулирующее действие, нормализуя продукцию факторов врожденного иммунитета в ткани в зависимости от их исходных показателей. При ее продолжительности в 2 менструальных цикла были получены более выраженные изменения в изучаемых факторах: экспрессия генов факторов врожденного иммунитета нормализовалась для TLR2 и TLR4. Уровень экспрессии фактора некроза опухоли и альфа-дефенсина превышали показатели группы контроля в 1,3 раза, а бета-дефенсина – в 1,4 раза (Рисунок 3).

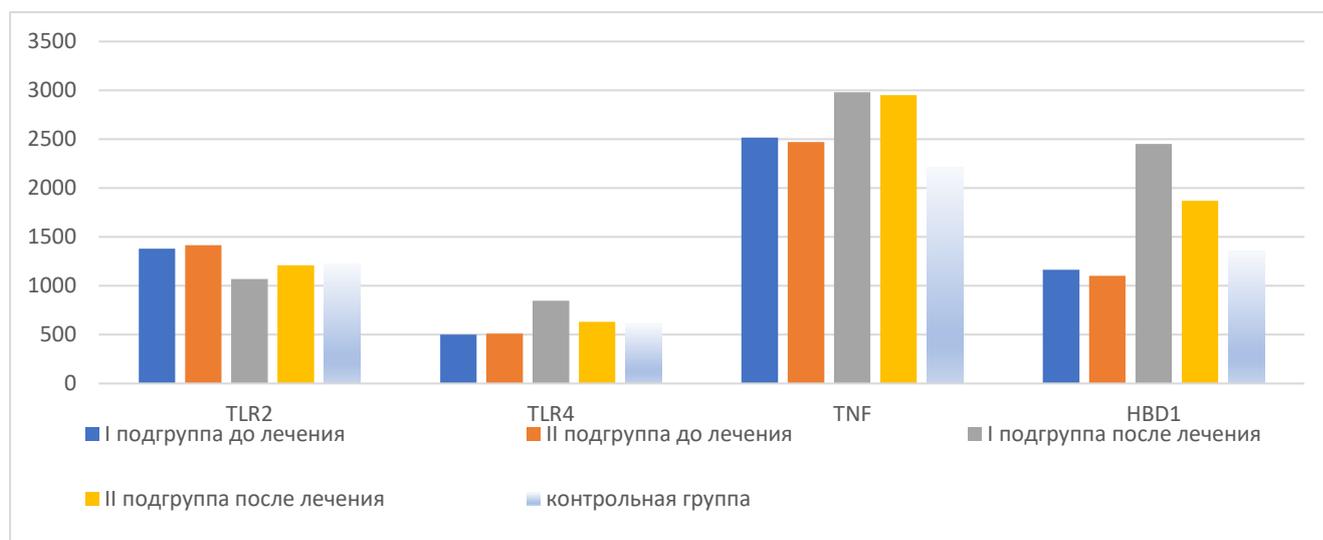


Рисунок 3 – Динамика экспрессии генов факторов врожденного иммунитета в эндометрии пациенток основной группы

Результаты гистологического и иммуногистохимического исследования

Гистологическое исследование ткани эндометрия, полученной путем пайпель-аспирационной биопсии на 20-24 день цикла, у всех пациенток основной группы подтвердило диагноз хронического эндометрита. В 77,1% случаев зафиксировано несоответствие и отставание зрелости эндометрия от дня менструального цикла. У 86,3% пациенток были обнаружены внутриклеточные включения вирусных агентов, при этом у каждой 3-й было сочетание вирусов простого герпеса с вирусом Эпштейна-Барр. Количество пиноподий на поверхности клеток эндометрия было значимо снижено в обеих подгруппах основной группы, составив 29,9 и 28,4% соответственно (Таблицы 4,5).

При проведении 20-дневного курса цитокинотерапии отмечено улучшение рецептивности эндометрия за счет увеличения количества рецепторов к эстрогенам и прогестерону примерно в 1,3 раза, а после терапии в течение 40 дней количество пиноподий повысилось в 1,6 раз, рецепторов к эстрогенам в 1,8 раза, рецепторов к прогестерону – в 1,5 раз ($p < 0,05$). Сравнительный анализ эффективности двух

курсов терапии выявил, что при продолжительности лечения в 40 дней количество пиноподий возросло на 5% от показателей 20-ти дневного лечения, при этом число рецепторов к прогестерону приближалось к показателям нормы.

Таблица 4 – Результаты иммуногистохимического исследования эндометрия у пациенток первой подгруппы

| Фактор | Первая подгруппа основной группы (n = 43) | | Контрольная группа (n = 40) |
|--|---|-----------------|-----------------------------|
| | До терапии | После терапии | |
| Оценка рецептивности эндометрия (баллы) | | | |
| Пиноподии, % | 29,9±7,4** | 37,3±11,9*,** | 53,4±17,5 |
| ER стромы | 45,9±17,9** | 57,8±11,6*,** | 67,5±12,1 |
| ER эпителия желез | 32,3±11,4*** | 49,9±12,2*,** | 74±18,6 |
| PR стромы | 87,1±14,9** | 119,7±15,1*,** | 131,5±12,2 |
| PR эпителия желез | 65,3±17,1** | 84,8±22,8*,** | 108,3±25,1 |
| PR/ER в строме | 1,86±0,1** | 2,01±0,4* | 1,95±0,6 |
| Инфекционные агенты (частота, %) | | | |
| CMV | 1 (2,3%)* | 0* | 0 |
| HSV I | 20 (46,51%)** | 3 (6,95%)*,** | 1 (2,5%) |
| HSV II | 11 (25,58%)** | 13 (30,23%)* | 0 |
| HPV | 2 (4,65%)* | 0* | 0 |
| EpsB | 24 (55,81%)** | 11 (25,58%)*,** | 1 (2,5%) |
| Маркеры хронического эндометрита (частота, %) | | | |
| CD138 | 37 (86%)* | 21 (48,8%)*,** | 3 (6,9%) |
| CD20 | 23 (53,5%)* | 16 (37,2%)*,** | 2 (4,7%) |
| CD8 | 24 (55,8%)* | 27 (62,8%)** | 4 (9,3%) |
| CD4 | 24 (55,8%)* | 41 (95,3%)*,** | 4 (9,3%) |
| CD56 | 22 (51,2%)* | 21 (48,8%)** | 4 (9,3%) |
| HLA-DRII | 35 (81,4%)* | 24 (55,8%)*,** | 3 (6,9%) |
| MUC-1 | 16 (37,2%)* | 21 (48,8%)* | 21 (52,5%) |
| Маркеры хронического эндометрита (количество клеток, среднее арифметическое) | | | |
| CD20 | 8,25** | 6,12*,** | 3,61 |
| CD8 | 16,37** | 13,23*,** | 4,94 |
| CD56 | 14,11** | 11,52*,** | 3,21 |
| CD4 | 5,58** | 13,84*,** | 6,12 |
| HLA-DRII | 13,16** | 6,12*,** | 3,18 |
| <i>Примечание:</i> – * p < 0,05 при сравнении с показателями до терапии; ** – p < 0,05 при сравнении с показателями контрольной группы | | | |

При проведении цитокинотерапии в течение 20 дней качественная детекция CD 138 в виде мембранного окрашивания снижалась в 1,76 раз ($p < 0,01$), частота выявления CD20 снизилась в 1,4 раза, HLA-DRII в 1,5 раз ($p < 0,05$), при этом количество Т-лимфоцитов хелперов возросло в 1,7 раз и MUC-1 в 1,3 раза. Однако нормативных значений не было достигнуто ни в одном случае. Было установлено значительное снижение частоты обнаружения ВПГ 1-го типа (в 6,6 раз) и вируса Эпштейна – Барр (в 2,2 раза) ($p < 0,01$).

Таблица 5 – Результаты иммуногистохимического исследования эндометрия у пациенток второй подгруппы

| Фактор | Вторая подгруппа основной группы (n = 40) | | Контрольная группа (n = 40) |
|---|---|----------------|-----------------------------|
| | До терапии | После терапии | |
| Оценка рецептивности эндометрия (баллы) | | | |
| Пиноподии, % | 27,5±9,1** | 42,6±17,4*,** | 53,4±17,5 |
| ER стромы | 46,1±13,7** | 59,9±8,4*,** | 67,5±12,1 |
| ER эпителия желез | 29,7±10,2** | 52,4±16,1*,** | 74±18,6 |
| PR стромы | 80,8±11,3** | 126,2±13,5*,** | 131,5±12,2 |
| PR эпителия желез | 66,8±14,7** | 95,3±17,4*,** | 108,3±25,1 |
| PR/ER в строме | 1,73±0,8 | 2,14±0,9 | 1,95±0,6 |
| Инфекционные агенты (частота, %) | | | |
| CMV | 2 (5%)** | 1 (2,5%)** | 0 |
| HSV I | 17 (42,5%)** | 1 (2,5%)* | 1 (2,5%) |
| HSV II | 10 (25%)** | 7 (17,5%)** | 0 |
| HPV | 1 (2,5%)** | 0* | 0 |
| EpsB | 22 (55%)** | 6 (15%)*,** | 1 (2,5%) |
| Маркеры хронического эндометрита (частота, %) | | | |
| CD138 | 33 (82,5%)** | 18 (45%)*,** | 3 (6,9%) |
| CD20 | 25 (62,5%)** | 16 (40%)*,** | 2 (4,7%) |
| CD8 | 20 (50%)** | 11 (27,5%)*,** | 4 (9,3%) |
| CD4 | 20 (50%)** | 22 (55%)** | 4 (9,3%) |
| CD56 | 20 (50%)** | 16 (40%)*,** | 4 (9,3%) |
| HLA-DRII | 31 (77,5%)** | 12 (30%)*,** | 3 (6,9%) |
| MUC-1 | 14 (35%)** | 18 (45%) | 21 (52,5%) |
| Маркеры хронического эндометрита (количество клеток, среднее арифметическое) | | | |
| CD20 | 7,17** | 4,11* | 3,61 |
| CD8 | 17,38** | 5,02* | 4,94 |
| CD56 | 16,15** | 7,32*,** | 3,21 |
| CD4 | 8,64** | 9,05** | 6,12 |

| | | | |
|--|---------|-------|------|
| HLA-DRII | 14,34** | 4,25* | 3,18 |
| <i>Примечание:</i> – * $p < 0,05$ при сравнении с показателями до терапии; ** – $p < 0,05$ при сравнении с показателями контрольной группы | | | |

После 40 дней экзогенной цитокинотерапии частота выявления CD 138 снизилась в 1,8 раз, и на основании данного маркера полное морфологическое излечение было достигнуто у 55% пациенток ($p < 0,05$). Кроме того, частота выявления активированных В-лимфоцитов снизилась в 1,6 раз, HLA-DRII – в 2,6 раз, НК-клеток в 1,3 раза, а цитотоксических Т-лимфоцитов в 1,8 раза ($p < 0,05$). Также отмечено значимое снижение количества клеток с экспрессией антигенов вируса. Для вируса Эпштейна – Барр оно уменьшилось в 3,7 раз, а для ВПГ 1-го типа – в 17 раз ($p < 0,01$).

Анализ частоты выявления маркеров хронического эндометрита показал, что длительность терапии в большей степени влияет на количество иммунокомпетентных клеток в эндометрии и приближает их показатели к нормативным значениям. При сопоставлении полученных результатов у пациенток с хроническим эндометритом была выявлена обратная корреляционная связь между повышением экспрессии генов факторов врожденного иммунитета со снижением детекции CD138, CD20 и количеством включений вируса Эпштейна-Барр.

Результаты исследования процессов ангиогенеза у пациенток с хроническим эндометритом

До и после цитокинотерапии была оценена интенсивность процессов ангиогенеза на основании изучения VEGF-A, VEGFR-1 и 2, CD 34. Случайным способом были отобраны по 15 образцов из первой и второй подгруппы в основной группе, и 10 образцов эндометрия у пациенток контрольной группы.

Результаты исследования показали, что процессы ангиогенеза были нарушены во всех образцах ткани пациенток с хроническим эндометритом и проявлялись снижением в 1,5 раза экспрессии рецепторов сосудисто-эндотелиального фактора роста на фоне значимого увеличения концентрации самого VEGF-A в 1,7 раз, что отражает степень выраженности тканевой гипоксии. При проведении курса цитокинотерапии в течение 20 дней экспрессия рецепторов VEGFR-1 возросла в 1,3 раза, VEGFR-2 изменилась незначительно. Через 40 дней терапии уровень экспрессии рецепторов увеличился в среднем в 1,4 раза и достигал уровня контрольной группы (Рисунок 4).

На фоне хронического эндометрита было выявлено снижение процессов неоваскуляризации, среднее количество клеток, экспрессирующих CD34, было снижено в среднем в 2,3 раза. После 20 и 40 дней цитокинотерапии было отмечено, что количество клеток с антигеном CD34 возросло в 1,6 и 1,9 раз соответственно.

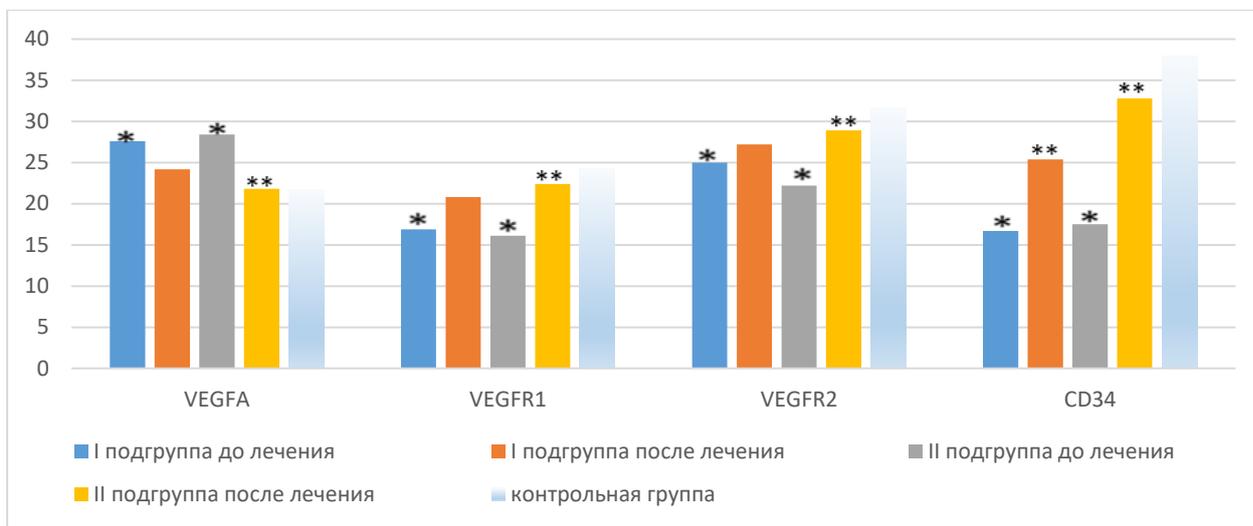


Рисунок 4 – Экспрессия маркеров васкулогенеза у пациенток с хроническим эндометритом (* – $p < 0,05$ при сравнении с показателями с контрольной группы, ** - $p < 0,05$ при сравнении с показателями до цитокинотерапии)

При проведении цитокинотерапии было выявлено улучшение ангиогенеза в ткани, отражающееся в повышении плотности распределения трансмембранного белка CD34, который является маркером образования новых сосудов. Проведенный анализ установил, что между VEGF-A и CD34 в ткани эндометрия при хроническом воспалении имеется прямая средней силы корреляционная связь ($r = 0,52$, $p < 0,05$). Через 20 дней терапии были выявлены средней силы прямые связи между показателями уровня экспрессии VEGF-A и VEGFR-2 ($r = 0,52$, $p < 0,05$) и CD 34 ($r = 0,73$, $p < 0,05$), а через 40 дней терапии средней силы корреляций между VEGF-A и VEGFR-2 ($r = 0,88$, $p < 0,05$) и CD 34 ($r = 0,76$, $p < 0,05$). Взаимосвязь между экспрессией VEGF-A и VEGFR-2 обусловлена механизмом, согласно которому именно рецепторы VEGFR-2 связывают молекулы сосудисто-эндотелиального фактора роста и обеспечивает формирование новых сосудов.

Репродуктивные исходы у пролеченных пациенток

После окончания курсов цитокинотерапии проводился анализ репродуктивных исходов в течение 1 года. Суммарная частота наступивших беременностей составила 50,6%. В обеих подгруппах преобладало спонтанное наступление беременности, при этом у 44% пациенток беременность наступила в течение первых 3 месяцев после окончания лечения, у 24% - в течение полугода. ВРТ проводились со следующего цикла после окончания лечения, после 1 цикла ЭКО беременность наступила у 11%, у 29% - во втором цикле. Течение гестационного процесса значимо чаще осложнялось у пациенток после 20-ти дневного курса терапии и проявлялось невынашиванием беременности (30%) и преждевременными родами (10%) ($p = 0,017$). Расчет частоты наступления беременностей к родам составил в первой подгруппе 63,2%, во второй подгруппе после 40 дней цитокинотерапии – статистически значимее – 86,9%. (Таблица 6).

Таблица 6 – Особенности течения беременности и родов у пациенток с хроническим эндометритом

| Осложнения беременности | Первая подгруппа (n=13) | Вторая подгруппа (n=20) | p-value |
|---|--------------------------------|--------------------------------|----------------|
| Угроза прерывания беременности | 4 (30,7%) | 3 (15%) | 0,050 |
| Рвота беременных | 2 (15,4%) | 3 (15%) | 0,962 |
| Анемия | 1 (7,7%) | 2 (10%) | 0,366 |
| ОРВИ | 2 (15,4%) | 3 (15%) | 0,962 |
| Бессимптомная бактериурия | - | 1 (5%) | 0,581 |
| ИЦН | 1 (7,7%) | - | 0,581 |
| Умеренная преэклампсия | - | 1 (5%) | 0,581 |
| Задержка роста плода | - | 1 (5%) | 0,581 |
| Нарушение маточно-плацентарного кровотока | - | 1 (5%) | 0,581 |
| Маловодие | 1 (7,7%) | - | 0,581 |
| Многоводие | - | 1 (5%) | 0,581 |
| Угрожающие преждевременные роды | 3 (23,1%) | 4 (20%) | 0,784 |
| ГСД | - | 1 (5%) | 0,581 |
| Особенности родов | Первая подгруппа (n=6) | Вторая подгруппа (n=9) | p-value |
| Своевременные роды | 5 (83,3%) | 9 (100%) | 0,034 |
| Преждевременные роды | 1(16,7%) | - | 0,611 |
| Кесарево сечение | - | 2 (22,2%) | 0,250 |
| Слабость родовой деятельности | - | 1 (11,1%) | 0,423 |
| Преждевременное излитие околоплодных вод | 1 (16,7%) | 2 (22,2%) | 0,491 |
| Дистресс плода | - | 2 (22,2%) | 0,254 |

Частота своевременных родов была практически идентичной в обеих подгруппах. Все новорожденные были рождены живыми, со средней оценкой по шкале Апгар 8/9 баллов.

Результаты проведенного исследования позволили нам уточнить алгоритм ведения пациенток с хроническим эндометритом с включением в него курсов экзогенной цитокинотерапии (Рисунок 5).

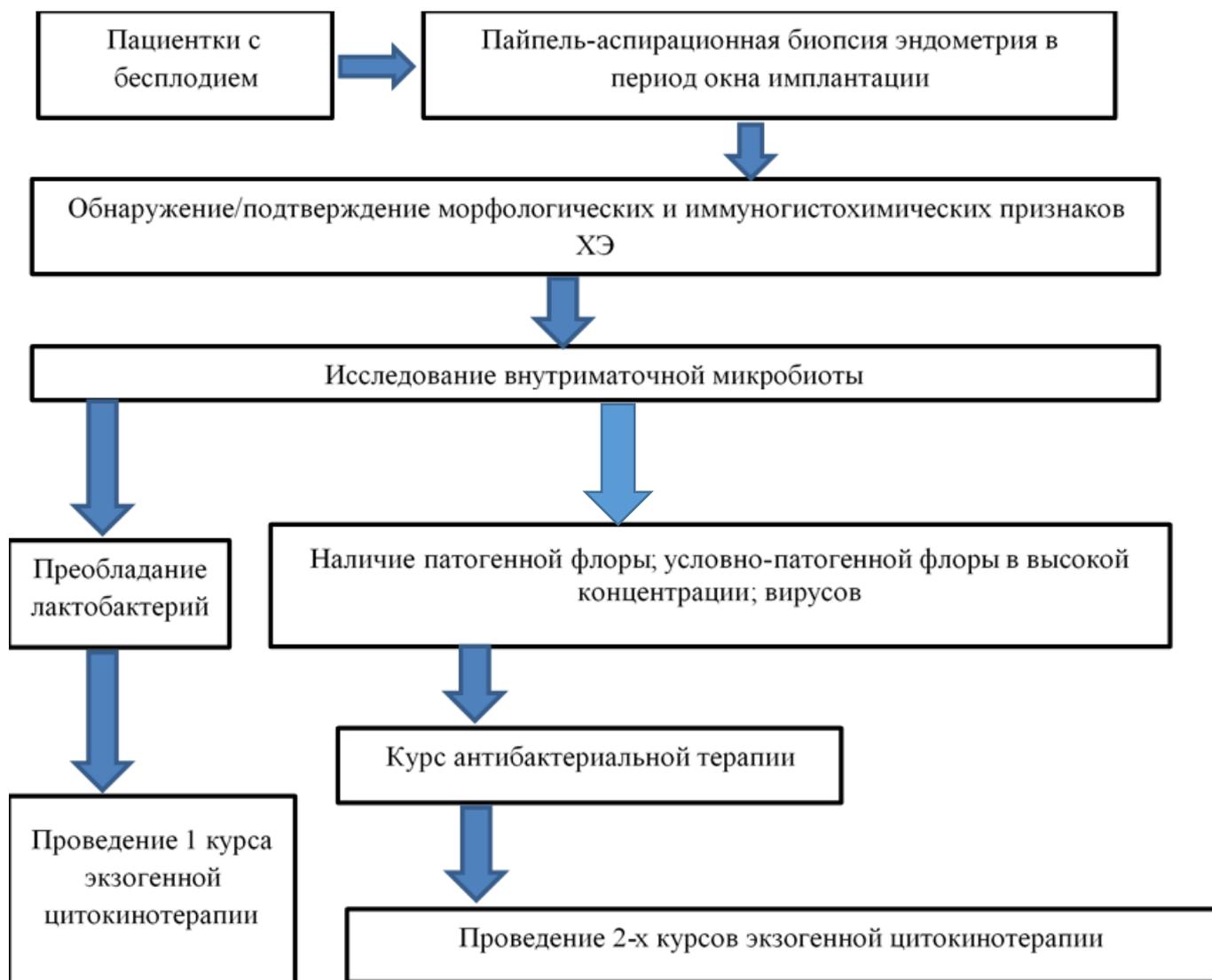


Рисунок 5 – Алгоритм ведения пациенток с хроническим эндометритом

Таким образом, в проведенном нами исследовании показано, что проведение экзогенной цитокинотерапии эффективно влияет на восстановление экспрессии факторов врожденного иммунитета, что приводит к купированию хронического воспаления и нормализации рецептивности ткани, нормализации паракринных и аутокринных механизмов клеточного взаимодействия и способствует восстановлению репродуктивной функции.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Результаты проведенного исследования дают основу для дальнейшей разработки алгоритмов ведения пациенток с бесплодием и хроническим эндометритом. Целесообразно продолжить исследование влияния различных вариантов фармакологической нормализации цитокинового профиля, для повышения фертильности пациенток с вирусно-бактериальной этиологией хронического эндометрита.

ВЫВОДЫ

1. Микробиоценоз просветного и пристеночного слоев влагалища у пациенток с хроническим эндометритом после стандартной антибактериальной терапии характеризуется дефицитом лактобактерий и большим видовым разнообразием условно-патогенной анаэробной флоры. Проведение цитокинотерапии в течение 40 дней наиболее эффективно и приводит к увеличению количества лактобактерий и коринебактерий (в 1,4 раза), снижению роста стрептококков, пептострептококков и бактероидов (в 1,7 раз), пропионибактерий и грибов рода *Candida* (в 1,5 раза), протей (в 1,6 раза), псевдомонад (в 2,5 раза), полному отсутствию роста энтеробактерий, стафилококков, превотелл и актиномицет.

2. Микробиоценоз матки у пациенток с хроническим эндометритом после курса стандартного антибактериального лечения в 44% наблюдений не коррелирует с влагалищным и представлен лактобактериями (в 74,4%), вагинальным атопобиумом, энтеробактером, грибами рода *Candida* (в 3,2%-18,6% наблюдений), ВПГ 1-2-го типов (в 72,3%) и вирусом Эпштейна – Барр (в 56,2%). Элиминация бактерий после 20-ти и 40-дневных курсов цитокинотерапии произошла у 30,1 и 35,4% пациенток, ВПГ 1-2-го типов у 34,1 и 46,8%, а вируса Эпштейна – Барр у 29,9 и 40,1% соответственно.

3. Хронический эндометрит сопровождается снижением экспрессии эстрогеновых (в 1,5 раза в строме, в 2,3 в железах) и прогестероновых рецепторов (в строме в 1,5 раза, а в железах в 1,7 раз), количества пиноподий (в 2 раза). После 20-дневной терапии количество рецепторов к эстрогенам и прогестерону возрастает в 1,3 раза, но не достигает показателей нормы. После 40-дневного курса терапии количество пиноподий повышается в 1,6 раз, количество рецепторов к эстрогенам увеличивается в железах и строме в 1,8 и в 1,3 раза, а к прогестерону – в 1,4 и в 1,6 раз, что приводит к количественной нормализации прогестероновых рецепторов в железах и в строме эндометрия.

4. Цитокинотерапия оказывает влияние на качественный и количественный состав иммунокомпетентных клеток в эндометрии при его хроническом воспалении с наибольшей эффективностью при 40 дневном курсе. Так, после 20 дней лечения количество CD138 снижается в 1,76 раз, CD20 в 1,4 раза, а CD4 увеличивается в 1,3 раза, при этом уровень CD8 и CD56 не меняется. Через 40 дней лечения выявлено снижение CD138 в 1,8 раз, CD 20 в 1,8 раз, CD 56 в 1,3 раза, CD8 в 1,6 раз, при этом полное восстановление состава клеток достигнуто у 55% пациенток.

5. При хроническом эндометрите формируется выраженный дисбаланс в экспрессии генов факторов врожденного иммунитета, характеризующийся высоким уровнем экспрессии генов TLR2 и фактора некроза опухоли альфа, и низкой продукцией генов TLR4 и дефенсинов. Экзогенная цитокинотерапия

оказывает иммуномодулирующее действие. Так, через 20 дней терапии в 1,6 раз снижается экспрессия гена TLR2 и повышается экспрессия генов TLR4 (в 3 раза), TNF α (в 2,2 раза), дефензина HBD1 (в 5 раз). При увеличении длительности терапии до 40 дней отмечено дальнейшее модулирование экспрессии генов факторов врожденного иммунитета – увеличение в 2 раза экспрессии генов TLR4 и TNF α , при снижении экспрессии гена TLR2 в 1,8 раз.

6. Хронический эндометрит проявляется снижением экспрессии рецепторов VEGF (R1 в 2 раза, R2 в 1,5 раза) и плотности распределения сосудистой сети CD34 в 2,3 раза на фоне значимого увеличения концентрации сосудисто-эндотелиального фактора роста VEGF-A (в 1,7 раз). Проведение курсов цитокинотерапии в течение 20 и 40 дней характеризуется повышением экспрессии рецепторов VEGFR-1 и VEGFR-2 в 1,4 раза, на фоне снижения самого VEGF-A в 1,2 и в 1,4 раза и увеличением плотности распределения сосудистой сети CD34 до 2 раз.

7. Комплексное лечение пациенток с хроническим эндометритом с включением экзогенной цитокинотерапии в течение 20 и 40 дней позволяет увеличить частоту наступления беременностей до 63,2% и 86,9% соответственно.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Обследование пациенток с хроническим эндометритом должно включать бактериологическое и молекулярно-биологическое исследование с оценкой состояния микробиоценоза влагалища и полости матки. Забор материала из полости матки может проводиться при помощи пайпель-аспирационной биопсии после соответствующей обработки влагалища и шейки матки антисептическими препаратами. Для определения длительности цитокинотерапии объем обследования должен быть дополнен тестами для выявления вируса простого герпеса 1-го и 2-го типов и вируса Эпштейна – Барр.

2. При выявлении дисбиотических нарушений и инфекционно-воспалительных проявлений во влагалище и полости матки следует проводить санацию антибактериальными препаратами, с учетом этиологии и чувствительности.

3. Учитывая доказанный дисбаланс в экспрессии факторов врожденного иммунитета у пациенток с хроническим эндометритом, целесообразно проведение экзогенной цитокинотерапии. Пептидно-белковый комплекс цитокинов («Иммунохелп», Россия) вводится во влагалище по окончании менструального кровотечения, по 1 свече на ночь в течение 20 дней на протяжении 1 или 2 менструальных циклов. Наибольшая эффективность достигается при терапии в течение 2 менструальных циклов (40 дней). Препарат разрешен к применению на фоне беременности, в связи с чем использование контрацепции не является обязательным.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ
ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Нугуманова, О. Р. Коррекция нарушений ангиогенеза при хроническом эндометрите: пилотное исследование / Ю. Э. Доброхотова, Е. И. Боровкова, О. Р. Нугуманова, И. М. Боровков, А. Р. кызы Аллахвердиева, А. Д. Шишкина // **Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.** – 2020. – Т. 18, № 5. – С. 5–12.
2. Нугуманова, О. Р. Что известно о факторах врожденного иммунитета / Ю. Э. Доброхотова, Е. И. Боровкова, О. Р. Нугуманова, А. Р. кызы Аллахвердиева, А. Д. Шишкина, И. М. Боровков // **Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.** – 2020. – Т. 19, № 6. – С. 50–59.
3. Нугуманова, О. Р. Экзогенная цитокинотерапия в лечении пациенток с хроническим эндометритом / Ю. Э. Доброхотова, Л. В. Ганковская, Е. И. Боровкова, О. Р. Нугуманова // **Акушерство и гинекология.** – 2021. – № 2. – С. 125–132.
4. Нугуманова, О. Р. Хронический эндометрит: возможности терапии и профилактики / Ю. Э. Доброхотова, Е. И. Боровкова, О. Р. Нугуманова // **Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.** – 2021. – Т. 20, № 4. – С. 115–122.
5. Нугуманова, О. Р. Оценка целесообразности профилактической предоперационной санации влагалища для предотвращения контаминации полости матки влагалищной микрофлорой / Ю. Э. Доброхотова, Е. И. Боровкова, З. С. Зайдиева, В. В. Романовская, О. Р. Нугуманова // **Акушерство и гинекология.** – 2022. – № 8. – С. 156–166.