

ПРОБЛЕМА «ТОНКОГО» ЭНДОМЕТРИЯ В РЕПРОДУКТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ: ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ПОДГОТОВКИ ПАЦИЕНТОК К ПРОГРАММАМ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

© О.В. Лысенко^{1,2}, Т.А. Рождественская^{1,2}

¹ Учреждение образования «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь;

² Центр семейного здоровья БИНА, г. Витебск, Республика Беларусь

Для цитирования: Лысенко О.В., Рождественская Т.А. Проблема «тонкого» эндометрия в репродуктивной медицине: опыт применения рекомбинантного интерлейкина-2 человека для подготовки пациенток к программам вспомогательных репродуктивных технологий // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66. – № 4. – С. 46–50. doi: 10.17816/JOWD66446-50

Поступила в редакцию: 06.06.2017

Принята к печати: 10.07.2017

■ **Введение.** В настоящее время хронический эндометрит является одной из причин репродуктивных потерь, занимая в структуре внутриматочной патологии у пациенток с бесплодием первое место. Персистирующие повреждения эндометрия, приводящие к нарушению нормальной циклической трансформации и рецептивности эндометрия, создают условия для развития бесплодия и невынашивания. «Тонкий» эндометрий отрицательно сказывается на репродуктивной функции, в связи с чем в настоящее время ведется много исследований, посвященных лечению таких женщин перед применением вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). **Цель** — обосновать возможность применения рекомбинантного интерлейкина-2 человека у пациенток позднего репродуктивного возраста с «тонким» эндометрием перед применением ВРТ. **Материалы и методы.** Обследовано 64 женщины позднего репродуктивного возраста. Первую основную группу составили 25 женщин с гистологически подтвержденным хроническим эндометритом; группу сравнения составили 20 пациенток с эндометрием ранней стадии фазы пролиферации; вторую основную группу — 19 пациенток с «тонким» эндометрием, имеющих показания для проведения экстракорпорального оплодотворения. У женщин первой основной группы и группы сравнения произведен забор венозной крови из кубитальной вены и аспириатов из полости матки для определения концентрации интерлейкина-2, интерлейкина-4, фактора некроза опухоли — альфа, интерлейкина-1 β , интерлейкина-6, интерлейкина-8, интерлейкина-10, интерферона- γ методом твердофазного иммуноферментного анализа. Женщинам второй основной группы проводилось трансвагинальное ультразвуковое исследование в первую и вторую фазы менструального цикла до и после лечения рекомбинантным интерлейкином-2 человека. Статистическая обработка данных осуществлялась с применением прикладного программного пакета Statistica 6.0 (StatSoft, Ink. 1994-2001), адаптированного для медико-биологических исследований. Во всех случаях критическое значение уровня значимости принималось $p < 0,05$ (5%). **Результаты.** Установлено, что в аспириатах из полости матки у женщин позднего репродуктивного возраста с хроническим эндометритом достоверно снижены концентрации интерлейкина-2, интерлейкина-10 и повышены концентрации фактора некроза опухоли — альфа, интерлейкина-1 β , интерлейкина-6 и интерлейкина-8. Все изменения, характерные для хронического эндометрита, происходят именно на локальном уровне. После лечения рекомбинантным интерлейкином-2 человека пациенток с бесплодием и хроническим эндометритом толщина эндометрия статистически значимо увеличивается. **Выводы.** Применение рекомбинантного интерлейкина-2 человека у пациенток с «тонким» эндометрием может стать оптимальной схемой терапии, что требует дальнейшего изучения.

■ **Ключевые слова:** хронический эндометрит; тонкий эндометрий; лечение.

THE PROBLEM OF "THIN" ENDOMETRIUM IN REPRODUCTIVE MEDICINE: EXPERIENCE OF APPLICATION OF RECOMBINANT INTERLEUKIN-2 TO PREPARE PATIENTS TO ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES PROGRAMS

© O.V. Lysenko^{1,2}, T.A. Rozhdzestvenskaya^{1,2}

¹ Vitebsk State Medical University;

² Family Health Center BINA

For citation: Lysenko OV, Rozhdzestvenskaya TA. The problem of "thin" endometrium in reproductive medicine: experience of application of recombinant Interleukin-2 to prepare patients to assisted reproductive technologies programs. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2017;66(4):46-50. doi: 10.17816/JOWD66446-50

Received: 06.06.2017

Accepted: 10.07.2017

■ **Introduction.** “Thin” endometrium is known affect negatively to reproductive function. Treatment of “thin” endometrium remains a problem and subject of future major studies. **Aim.** To justify the possibility of applying of recombinant interleukin-2 person late reproductive age patients with “thin” endometrium before using assisted reproductive technologies. **Materials and Methods.** We examined a total of 64 late reproductive age women. Three groups of patients were analyzed. The first investigated group included 25 women with histologically proven chronic endometritis; the comparison group included 20 patients with endometrium of the early proliferative phase; the second investigated group included 19 patients with “thin” endometrium, with indications for the conduct of in vitro fertilization. Interleukin 2, interleukin-4, tumor necrosis factor alpha, interleukin-1 β , Interleukin-6, interleukin-8, interleukin-10, IFN- γ concentrations were determined by enzyme linked immunosorbent assay in serum and aspirates from the uterine cavity in first investigated group and comparison group. Vaginal ultrasonic examination was made for women of second investigated group in first and second phase of menstrual cycle before and after recombinant human interleukin-2 treatment. Statistical data processing was performed using application software package Statistica 6.0 (StatSoft, Ink. 1994–2001), adapted for biomedical research. $P < 0.05$ was considered significant. **Results.** Were found that concentrations of interleukin 2, interleukin-10 significantly reduced and concentrations of tumor necrosis factor alpha, interleukin-1 β , Interleukin-6 and interleukin-8 significantly increased in aspirates from the uterine cavity in women of late reproductive age with chronic endometritis. All changes occur at the local level in chronic endometritis. Endometrial thickness a statistically significant increase after use of recombinant human interleukin-2 in patients with infertility and chronic endometritis. **Conclusions.** Application of recombinant interleukin-2 in patients with “thin” endometrium can become optimal schema therapy, which requires further study.

■ **Keywords:** chronic endometritis; thin endometrium; treatment.

Введение

В настоящее время хронический эндометрит (ХЭ) является одной из причин репродуктивных потерь, причем в структуре внутриматочной патологии у пациенток с бесплодием он занимает первое место, составляя 65,2 %. Хронический эндометрит — это клинко-морфологический синдром, при котором в результате персистирующего повреждения эндометрия инфекционным агентом возникают множественные вторичные морфофункциональные изменения, нарушающие циклическую трансформацию и рецептивность слизистой оболочки тела матки [1]. При гистероскопически и гистологически подтвержденном ХЭ удается выделить возбудителя в 73,1 % случаев. Чаще встречаются бактериальные инфекции (58,0 %), включая грамотрицательные бактерии, *Ureaplasma urealyticum* найдена в 10,0 % случаев, *Chlamydia* — в 2,7 % случаев [2].

Персистирующие повреждения эндометрия, приводящие к нарушению нормальной циклической трансформации и рецептивности эндометрия, создают условия для развития бесплодия и невынашивания. Многие исследователи обращают внимание на существующий при данной патологии иммунный дисбаланс на мукозальном (эндометрий) уровне, выражающийся в нарушении секреции регуляторных цитокинов, натуральных киллеров, лимфоцитов, секреторных иммуноглобулинов, ростовых факторов и др., что, в свою очередь, снижает имплантационную способность эмбрионов.

Эндотоксины грамотрицательных бактерий стимулируют выработку провоспалительных цитокинов, что может вызвать повреждение эмбриона, отсутствие имплантации или самопроизвольный аборт [3–5]. Показано, что назначение антибактериальной терапии при хроническом эндометрите может оказать благоприятное действие на исход последующей беременности при неоднократных необъяснимых неудачах имплантации [6, 7].

В своей повседневной практике врач гинеколог-репродуктолог не всегда имеет возможность выставить диагноз хронического эндометрита, тогда как пациентки с «тонким» эндометрием, диагностика которого не представляет затруднений, встречаются все чаще, что связано с применением агрессивной тактики ведения женщин с гинекологической патологией в странах постсоветского пространства в конце XX в. «Тонкий» эндометрий, как известно, отрицательно сказывается на репродуктивной функции, в связи с чем в настоящее время ведется много исследований, посвященных лечению таких женщин перед применением вспомогательных репродуктивных технологий [8, 9]. Лечение «тонкого» эндометрия до настоящего времени остается проблемой и темой будущих крупных исследований [10].

Цель — обосновать возможность применения рекомбинантного интерлейкина-2 человека у пациенток позднего репродуктивного возраста с «тонким» эндометрием перед применением вспомогательных репродуктивных технологий.

Материалы и методы

Для обоснования возможности использования рекомбинантного интерлейкина-2 человека у женщин с хроническим эндометритом, клиническими проявлениями которого являются бесплодие и изменение толщины эндометрия («тонкий» эндометрий), мы воспользовались данными ранее проведенного нами исследования, когда был произведен забор венозной крови из кубитальной вены и аспириатов из полости матки для определения концентрации регуляторных цитокинов у 104 пациенток репродуктивного возраста без репродуктивных проблем, поступивших в плановом порядке в гинекологическое отделение для проведения гистероскопии и раздельного диагностического выскабливания на 5–7-й день менструального цикла. После получения результатов патоморфологического исследования соскобов было отобрано 45 женщин позднего репродуктивного возраста. Отобранные пациентки были разделены на две группы: 25 женщин с гистологически подтвержденным хроническим эндометритом (первая основная группа) и 20 — с эндометрием ранней стадии фазы пролиферации (группа сравнения). Результаты гистологических заключений оставшихся 59 пациенток в рамках настоящего исследования не анализировались ввиду наличия другой патологии эндометрия. Забор аспирационного содержимого производился при помощи аспирационных зондов «Юнона» (Витебск – Санкт-Петербург). Определение интерлейкина-2 (ИЛ-2), интерлейкина-4 (ИЛ-4), фактора некроза опухолей – альфа (ФНО- α), интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-8 (ИЛ-8), интерлейкина-10 (ИЛ-10), интерферона- γ (ИФН- γ) производили по общепринятой методике, основанной на методе твердофазного иммуноферментного анализа при помощи наборов реагентов производства АО «Вектор-Бест» (Россия). Расчет концентраций ИЛ-2 произведен при помощи пакета Statgraphics Plus 5.0, адаптированного для медико-биологических исследований.

Основываясь на полученных в предварительной части исследования данных, нами обследовано 19 женщин с «тонким» эндометрием (вторая основная группа), находящихся на лечении в Центре семейного здоровья БИНА, имеющих показания для проведения экстракорпорального оплодотворения. Всем пациенткам второй основной группы выполнялось трансвагинальное ультразвуковое исследование органов малого таза в 2D-режиме в первую

и вторую фазы менструального цикла до и после лечения рекомбинантным интерлейкином-2 человека.

Статистическая обработка данных осуществлялась с применением прикладного программного пакета Statistica 6.0 (StatSoft, Ink. 1994–2001), адаптированного для медико-биологических исследований. При использовании описательной статистики определялись параметры: выборочное среднее (M); среднее квадратическое отклонение (SD); медиана (Me), 25-й квартиль (25), 75-й квартиль (75). Полученные результаты интерпретировались путем определения их статистической значимости. Во всех случаях критическое значение уровня значимости принималось $p < 0,05$ (5 %).

Результаты

Средний возраст пациенток первой основной группы составил 39,0 (35,0; 41,0) года, второй основной группы — 39,5 (34,0; 41,0) года, группы сравнения — 39,0 (35,0; 41,0) года. Таким образом, группы были сопоставимы по возрасту ($p > 0,05$).

В таблице 1 представлены данные о концентрациях отдельных про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови пациенток позднего репродуктивного возраста первой основной группы и группы сравнения.

Как видно из таблицы 1, в сыворотке крови концентрации исследуемых нами цитокинов статистически не различаются между собой.

Данные о концентрациях отдельных про- и противовоспалительных цитокинов в аспириатах из полости матки обследованных пациенток представлены в таблице 2.

Установлено (табл. 2), что в аспириатах из полости матки у женщин позднего репродуктивного возраста с ХЭ содержание ИЛ-2, ИЛ-10 достоверно ниже, а концентрации ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ИЛ-8 достоверно выше, чем в группе сравнения. Порога статистической значимости относительно концентраций ИЛ-4 и ИФН- γ в аспириатах из полости матки не достигнуто. Таким образом, все изменения, характерные для ХЭ, происходят именно на локальном уровне.

Толщина эндометрия пациенток второй основной группы составила в первую фазу менструального цикла (10–12-й день) $4,7 \pm 1,3$ мм, во вторую (20–23-й день) — $5,2 \pm 1,3$ мм. Толщина эндометрия статистически не различалась между фазами цикла ($p > 0,05$).

Пациенткам второй основной группы был назначен рекомбинантный интерлейкин-2 че-

Таблица 1

Концентрации цитокинов в сыворотке крови обследованных женщин

Table 1

Serum cytokines concentration of investigated women

Показатель	Первая основная группа, <i>n</i> = 25	Группа сравнения, <i>n</i> = 20	<i>p</i>
ИЛ-2, пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	0,0 (0,0; 8,3)	0,00 (0,00; 4,9)	> 0,05
ИЛ-4, пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	> 0,05
ФНО- α , пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	0,0 (0,0; 0,5)	0,0 (0,0; 2,0)	> 0,05
ИЛ-1 β , пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	8,7 (0,0; 111,7)	0,0 (0,0; 98,0)	> 0,05
ИЛ-6, пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	1,9 (0,0; 8,9)	2,0 (0,00; 8,8)	> 0,05
ИЛ-8, пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	10,0 (1,9; 56,4)	10,1 (2,8; 41,2)	> 0,05
ИЛ-10, пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	0,00 (0,0; 6,0)	0,0 (0,0; 5,9)	> 0,05
ИФН- γ , пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	35,3 (0,0; 140,7)	11,7 (0,0; 143,9)	> 0,05

Таблица 2

Концентрации цитокинов в аспиратах из полости матки обследованных женщин

Table 2

Cytokines concentration in aspirates from the uterine cavity of investigated women

Показатель	Первая основная группа, <i>n</i> = 25	Группа сравнения, <i>n</i> = 20	<i>p</i>
ИЛ-2, пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	1,0 (0,0; 44,1)	130,4 (85,5; 200,4)	< 0,0001
ИЛ-4, пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	174,4 (26,3; 643,4)	180,0 (41,9; 576,6)	> 0,05
ФНО- α , пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	75,3 (61,6; 129,8)	16,5 (0,0; 55, 1)	< 0,0001
ИЛ-1 β , пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	300,0 (105,0; 555,9)	0,0 (0,0; 151,5)	< 0,0001
ИЛ-6, пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	445,1 (309,9; 1004,5)	120,2 (75,4; 365,8)	< 0,0001
ИЛ-8, пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	1193,93 (657,7; 1348,9)	309,0 (160,0; 604,9)	< 0,0001
ИЛ-10, пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	20,5 (0,00; 61,4)	278,90 (189,1; 371,3)	< 0,0001
ИФН- γ , пг/мл, <i>Me</i> (25; 75)	311,2 (205,2; 480,4)	293,5 (190,7; 399,1)	> 0,05

ловека производства ООО «БИОТЕХ» (Санкт-Петербург). Препарат назначался в дозе 500 000 МЕ внутривенно капельно на 400 мл физиологического раствора 1 раз в 3 суток, всего 5 инфузий.

Через месяц толщина эндометрия в этой группе составила в первую фазу $6,6 \pm 1,2$ мм (статистически значимо больше, чем до лечения, $p < 0,05$), во вторую — $7,1 \pm 1,0$ мм (статистически значимо больше, чем до лечения, $p < 0,05$). Через 2 месяца толщина эндометрия в этой группе составила в первую фазу $7,5 \pm 1,1$ мм (статистически значимо больше, чем до лечения, $p < 0,05$), во вторую — $7,4 \pm 1,2$ мм (статистически значимо больше, чем до лечения, $p < 0,05$). Таким образом, толщина эндометрия статистически значимо увеличивается после лечения рекомбинантным интерлейкином-2 человека.

Обсуждение

Учитывая, что «тонкий» эндометрий может являться симптомом хронического эндометрита, для терапии нами выбран рекомбинантный интерлейкин-2 человека (согласно инструкции по применению). Выбор препарата основывался на статистически значимом снижении концентрации интерлейкина-2 на локальном уровне при хроническом эндометрите (первая основная группа) по отношению к группе сравнения. Предпочтение в выборе препарата подтверждалось также данными гистологического исследования соскобов эндометрия, полученных у женщин первой основной группы: наличием гистологических признаков хронического эндометрита (инфильтраты, состоящие преимущественно из полиморфноядерных лейкоцитов, лимфоидных элементов, плазматических клеток, гистиоцитов).

Полученные данные свидетельствуют о том, что адекватная иммунотерапия способствует нормализации цитокинового баланса на локальном уровне, что клинически выражается в статистически значимом увеличении толщины эндометрия.

Выводы

Применение рекомбинантного интерлейкина-2 человека у пациенток с «тонким» эндометрием может стать оптимальной схемой терапии, что требует дальнейшего изучения.

Дополнительная информация

Информация о конфликте интересов.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов, связанных с рукописью.

Информация о финансировании. Научная работа финансировалась из средств республиканского бюджета.

Информация о вкладе каждого автора.

О.В. Лысенко — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, написание текста; Т.А. Рождественская — дизайн исследования, сбор материалов, анализ полученных данных.

Литература

1. Зароченцева Н.В., Аршакян А.К., Меньшикова Н.С., Титченко Ю.П. Хронический эндометрит: этиология, клиника, диагностика, лечение // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2013. – Т. 13. – № 5. – С. 21–27. [Zarochentseva NV, Arshakyan AK, Menshikova NS, Titchenko YuP. Chronic endometritis: etiology, clinical presentation, diagnosis, treatment. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa*. 2013;13(5): 21-7. (In Russ.)]
2. Cicinelli E, De Ziegler D, Nicoletti R, et al. Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies. *Fertil Steril*. 2008;89:677-84. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.03.074.
3. Park HJ, Kim YS, Yoon TK, Lee WS. Chronic endometritis and infertility. *Clin Exp Reprod Med*. 2016;43(4):185-92. doi: 10.5653/cerm.2016.43.4.185.
4. Bulmer JN, Williams PJ, Lash GE. Immune cells in the placental bed. *Int J Dev Biol*. 2010;54:281-94. doi: 10.1387/ijdb.082763jb.
5. Tortorella C, Piazzolla G, Matteo M, et al. Interleukin-6, interleukin-1 β , and tumor necrosis factor α in menstrual effluents as biomarkers of chronic endometritis. *Fertil Steril*. 2014;101:242-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.09.041.
6. McQueen DB, Bernardi LA, Stephenson MD. Chronic endometritis in women with recurrent early pregnancy loss and/or fetal demise. *Fertil Steril*. 2014;101:1026-30. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.12.031.
7. Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, et al. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Hum Reprod*. 2015;30:323-30. doi: 10.1093/humrep/deu292.
8. Lee D, Jo JD, Kim SK, et al. The efficacy of intrauterine instillation of granulocyte colony-stimulating factor in infertile women with a thin endometrium: A pilot study. *Clin Exp Reprod Med*. 2016;43(4):240-6. doi: 10.5653/cerm.2016.43.4.240.
9. Kunicki M, Łukaszuk K, Liss J, et al. Granulocyte colony stimulating factor treatment of resistant thin endometrium in women with frozen-thawed blastocyst transfer. *Syst Biol Reprod Med*. 2017;63(1):49-57. doi: 10.1080/19396368.2016.1251505.
10. Lebovitz O, Orvieto R. Treating patients with “thin” endometrium – an ongoing challenge. *Gynecol Endocrinol*. 2014;30(6):409-14. doi: 10.3109/09513590.2014.906571.

■ Адреса авторов для переписки (Information about the authors)

Ольга Викторовна Лысенко — д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры акушерства и гинекологии Учреждения образования «Витебский государственный медицинский университет», врач акушер-гинеколог, репродуктолог Центра семейного здоровья БИНА, г. Витебск, Республика Беларусь.
E-mail: lysenko_o_v@mail.ru.

Татьяна Анатольевна Рождественская — канд. мед. наук, старший преподаватель кафедры акушерства и гинекологии Учреждения образования «Витебский государственный медицинский университет», врач акушер-гинеколог Центра семейного здоровья БИНА, г. Витебск, Республика Беларусь.

Olga V. Lysenko — doctor of medical sciences, docent, professor of department of obstetrics and Gynecology of Vitebsk State Medical University, obstetrician-gynecologist, reproductologist of Family Health Center BINA, Vitebsk, Republic of Belarus.
E-mail: lysenko_o_v@mail.ru.

Tatyana A. Rozhdzestvenskaya — candidate of medical sciences, senior lecturer of department of obstetrics and Gynecology of Vitebsk State Medical University, obstetrician-gynecologist of Family Health Center BINA, Vitebsk, Republic of Belarus.