

## СИНТЕЗ И ПРОДУКЦИЯ TH2 ЦИТОКИНОВ НА СИСТЕМНОМ И ЛОКАЛЬНОМ УРОВНЕ У ПАЦИЕНТОК С БЕСПЛОДИЕМ И ЭНДОМЕТРИОЗОМ

© 2019 г. А. К. Красильникова, А. И. Малышкина, Н. Ю. Сотникова,  
Ю. С. Анциферова

*E-mail: niimid.immune@mail.ru*

*ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени В. Н. Городкова»  
Минздрава России, Иваново, Россия*

Поступила: 26.02.2019. Принята: 12.03.2019

Установлено, что независимо от степени тяжести заболевания на системном уровне повышен синтез IL-4, внутриклеточная экспрессия IL-4 и IL-6 в общей популяции лимфоцитов и в популяции Т-хелперов, а в перитонеальной жидкости увеличен уровень IL-6<sup>+</sup> лимфоцитов. Изменения синтеза, внутриклеточной экспрессии и сывороточного содержания IL-4 были пропорциональны степени тяжести эндометриоза. При эндометриозе I–II стадий повышалась внутриклеточная продукция IL-5 в общей популяции лимфоцитов и в пуле Т-хелперов, с эндометриозом III–IV стадий увеличивался синтез IL-6 периферическими лимфоцитами, сывороточный уровень IL-4, а также IL-4<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>IL-4<sup>+</sup> лимфоцитов и sCD30 в перитонеальной жидкости.

**Ключевые слова:** эндометриоз, Т-хелперы 2 типа, цитокины, периферическая кровь, перитонеальная жидкость, бесплодие

DOI: 10.31857/S102872210006689-2

**Адрес:** 153045 Иваново, ул. Победы, д. 20, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, отдел акушерства и гинекологии, Красильникова Ангелина Ксенофонтовна. Тел./факс: +8 920 345 68 09 (моб.).

**E-mail:** brasilia71@mail.ru

### Авторы:

**Красильникова А. К.**, к.м.н., ст.н.с. отдела акушерства и гинекологии ФГБУ «ИВ НИИ Мид им. В. Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия;

**Малышкина А. И.**, д.м.н., профессор, директор ФГБУ «ИВ НИИ Мид им. В. Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия;

**Сотникова Н. Ю.**, д.м.н., проф. зав. лабораторией клинической иммунологии ФГБУ «ИВ НИИ Мид им. В. Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия;

**Анциферова Ю. С.**, д.б.н., в.н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «ИВ НИИ Мид им. В. Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия.

Эндометриоз является широко распространенным и одним из самых загадочных гинекологических заболеваний. Несмотря на это единой теории патогенеза эндометриоза все еще не существует. Наиболее важную роль отводят иммунным механизмам развития эндометриоза и связанного с ним бесплодия. Доказано, что

у пациенток с эндометриозом наряду с изменениями в функционировании клеток врожденного иммунитета [1] отмечаются аутоиммунные нарушения, определяющие повышенную выработку аутоантител различной природы [2]. Нами была проведена оценка показателей, характеризующих активность гуморального звена иммунитета, а именно особенностей синтеза и продукции цитокинов IL-4, IL-5 и IL-6 лимфоцитами крови и перитонеальной жидкости, непосредственно участвующих в активации В-лимфоцитов, которые являются активными продуцентами аутоантител.

Исследование проводилось на базе эндоскопического отделения ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава России. Было обследовано 453 женщины, из них 103 здоровые фертильные женщины с реализованной репродуктивной функцией (контрольная группа), 264 женщины с I–II стадиями эндометриоза или «малыми» формами и бесплодием и 86 женщин с III–IV стадиями эндометриоза или распространенными формами и бесплодием по классификации ASF. Ве-

нозную кровь и перитонеальную жидкость забирали до проведения оперативного лечения. Экспрессию мРНК IL-4, IL-5 и IL-6 периферическими и перитонеальными лимфоцитами определяли методом РТ ПЦР в реальном времени, относительное содержание CD4<sup>+</sup>IL-4<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>IL-5<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>IL-6<sup>+</sup> – методом проточной цитометрии в лимфоцитарном гейте, концентрацию IL-4, IL-6 и уровень sCD3 в сыворотке крови и перитонеальной жидкости – методом ИФА. Популяцию периферических лимфоцитов получали, используя негативную магнитную сепарацию. Статистический анализ данных осуществляли с оценкой достоверности различий между показателями с помощью t-критерия Стьюдента и критерия Манна-Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Возраст женщин соответствовал активному репродуктивному возрасту. У женщин с эндометриозом и бесплодием, достоверно чаще, чем в контроле, встречались аллергические реакции в анамнезе (в группе с эндометриозом I–II стадией – у 21,2%,  $p=0,000$ ; в группе с эндометриозом III–IV стадии – 16,3%,  $p=0,01$ ), заболевания желудочно-кишечного тракта (13,2% с I–II стадиями эндометриоза,  $p=0,03$ ), что согласуется с данными литературы [3].

При эндометриозе и бесплодии независимо от степени тяжести на системном уровне была выше, чем в контроле, экспрессия лимфоцитами мРНК IL-4 ( $p=0,015$  при I–II стадии эндометриоза,  $p=0,002$  при III–IV стадии) и мРНК IL-6 ( $p<0,05$ ). Достоверных изменений в синтезе IL-4 и IL-6 перитонеальными лимфоцитами выявлено не было.

У женщин с эндометриозом и бесплодием в крови было повышено содержание IL-4<sup>+</sup> лимфоцитов, CD4<sup>+</sup>IL-4<sup>+</sup>, IL-6<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>IL-6<sup>+</sup> ( $p=0,000$  во всех случаях), а в перитонеальной жидкости – только уровня IL-6<sup>+</sup> лимфоцитов ( $p=0,027$  при I–II стадии эндометриоза,  $p=0,001$  при III–IV стадии).

Ряд показателей коррелировал со стадией эндометриоза. Так, изменения синтеза, внутриклеточной экспрессии и сывороточного содержания IL-4 были пропорциональны степени тяжести эндометриоза и максимально проявлялись при эндометриозе III–IV стадий. Для пациенток с распространенным эндометриозом было характерно достоверное повышение экспрессии мРНК IL-4 и IL-6 периферическими лимфоцитами ( $p=0,003$ ,  $p<0,05$  соответственно),

увеличение сывороточной концентрации IL-4 ( $p=0,038$ ), а также повышение относительно содержания IL-4<sup>+</sup> лимфоцитов и CD4<sup>+</sup>IL-4<sup>+</sup> клеток ( $p=0,038$  в обоих случаях) по сравнению с аналогичными показателями группы с «малыми» формами эндометриоза. Также было повышено содержание молекул, регулирующих активность гуморальных иммунных реакций, в частности уровня растворимой формы sCD30 в перитонеальной жидкости по сравнению с контролем ( $p=0,014$ ).

Отличительной чертой женщин с эндометриозом I–II стадий, по нашим данным, было повышение внутриклеточной продукции IL-5 в общей популяции периферических лимфоцитов и Т-хелперов по сравнению с показателями здоровых фертильных женщин ( $p=0,000$  и  $p=0,018$  соответственно).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, при эндометриозе на системном и локальном уровне по нашим данным была усилена активность Т-хелперов 2 типа за счет повышенного синтеза и продукции цитокинов 2-го типа IL-4, IL-5, IL-6 и растворимой формы CD30, которые играют важную роль в регуляции иммунных механизмов развития эндометриоза и связанного с ним бесплодия, что полностью согласуется с литературными данными [4]. Максимальная степень их изменения при III–IV стадиях эндометриоза может косвенно свидетельствовать о значимости активности Th2-зависимых иммунных реакций в патогенезе эндометриоза. А установленное достоверное усиление внутриклеточной экспрессии CD4<sup>+</sup> лимфоцитами IL-5 при «малых» формах эндометриоза может оказывать влияние на развитие у них бесплодия за счет индукции процессов антителогенеза и выработки аутоантител В1 клетками несмотря на минимальные анатомические изменения брюшины.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Красильникова А. К., Малышкина А. И., Сотникова Н. Ю., Анциферова Ю. С. Особенности функционального состояния фагоцитов крови у пациенток с эндометриозом I–II стадии и бесплодием. [Krasilnikova A. K., Makyshkina A. I., Sotnikova N. Yu., Antziferova Yu. S. The functional state of peripheral phagocytes in patients with endometriosis of I–II stage and infertility. // Russian Bulletin of the obstetrician-gynecologist. 2017. Vol. 17. № 3. p. 9–14.]
2. Красильникова А. К., Абдуллаева Л. Х., Малышкина А. И., Сотникова Н. Ю., Анциферова Ю. С. Осо-

- бенности регуляции гуморального иммунного ответа на системном и локальном уровнях при эндометриозе. Таврический медико-биологический вестник. 2017. Т. 20. № 2–2. С. 58–62. [Krasilnikova A. K., Abdulaeva L. H., Makyshkina A. I., Sotnikova N. Yu., Antziferova Yu. S. The features of regulation of humoral immune response at systemic and local level during endometriosis. Tauride Medical-Biological Herald. 2017. Vol. 20. № 2–2. P. 58–62.]
3. Jess T., Frisch M., Jørgensen K. T., Pedersen B. V., Nielsen N. M. Increased risk of inflammatory bowel disease in women with endometriosis: a nationwide Danish cohort study. *Gut* 2012;61(9):1279–83.
  4. Szylo K., Tchorzewski H., Banasik M., Glowacka E., Lewkowicz P., KamerBartosinska A. The involvement of T lymphocytes in the pathogenesis of endometriotic tissues overgrowth in women with endometriosis. *Mediators Inflamm.*— 2003.— Vol. 12, № 3.— P. 131–138.

## Th2 TYPE CYTOKINES SYNTHESIS AND PRODUCTION AT SYSTEMIC AND LOCAL LEVEL IN PATIENTS WITH INFERTILITY AND ENDOMETRIOSIS

© 2019 A. K. Krasilnikova, A. I. Makyshkina, N. Yu. Sotnikova, Yu. S. Antziferova

*E-mail: niimid.immune@mail.ru*

*Federal State Budget Establishment «Ivanovo research institute of maternity and childhood by V. N. Gorodkov» of Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia*

**Received:** 26.02.2019. **Accepted:** 12.03.2019

It has been established that during endometriosis, regardless of the severity of the disease, at the systemic level IL-4 synthesis, intracellular expression of IL-4 and IL-6 were increased in the total lymphocyte and in the T-helper population, and in the peritoneal fluid the level of IL-6<sup>+</sup> lymphocytes was increased. Changes in the synthesis, intracellular expression and the serum IL-4 content were proportional to the severity of endometriosis. In endometriosis stages I–II the intracellular production of IL-5 increased in the total lymphocyte population and in the T-helper pool. In endometriosis III–IV the IL-6 synthesis by peripheral lymphocytes increased, as well as the serum level of IL-4, the amount of IL-4<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>IL-4<sup>+</sup> lymphocytes and sCD30 in the peritoneal fluid.

*Key words:* endometriosis, T-helpers type 2, cytokines, peripheral blood, peritoneal fluid, infertility

### Авторы:

**Krasilnikova A. K.**, ✉ Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher of the Department of Obstetrics and Gynecology Federal State Budget Establishment «Ivanovo research institute of maternity and childhood by V. N. Gorodkov» of Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia. **E-mail:** brasilia71@mail.ru;

**Makyshkina A. I.**, Doctor of Medical sciences, professor, the director of Federal State Budget Establishment «Ivanovo research institute of maternity and childhood by V. N. Gorodkov» of Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia;

**Sotnikova N. Yu.**, Doctor of Medical sciences., professor, head of the laboratory of clinical immunology of Federal State Budget Establishment «Ivanovo research institute of maternity and childhood by V. N. Gorodkov» of Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia;

**Antziferova Yu. S.**, Doctor of Biological Sciences, the leading scientific researcher of the laboratory of clinical immunology of Federal State Budget Establishment «Ivanovo research institute of maternity and childhood by V. N. Gorodkov» of Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia.