

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 618.145-007.415-06:618.177]-092:612.017.1.064]-085

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

## НАРУШЕНИЯ СИСТЕМНЫХ РЕАКЦИЙ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОК С БЕСПЛОДИЕМ И ЭНДОМЕТРИОЗОМ I–II СТАДИИ И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ КОРРЕКЦИИ ПРЕПАРАТОМ ЛИКОПИД

ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, 153045, г. Иваново, Россия

Определяли характер синтеза и экспрессии ряда PRR рецепторов и провоспалительных цитокинов моноцитами 68 пациенток с бесплодием и эндометриозом I–II стадии, поступивших на оперативное лечение. В зависимости от ведения послеоперационного периода женщины были разделены на две подгруппы: 29 женщин, получавших традиционную терапию, и 39 женщин, которые в послеоперационном периоде дополнительно получали Ликопид. Observation женщин проводили дважды: до лапароскопии и через 1 месяц после лечения. Материалом для исследования служила периферическая кровь. У пациенток с эндометриозом в популяции моноцитов было выявлено повышенное содержание TLR2+ и TNF $\alpha$ + клеток, усиленная экспрессия мРНК RAGE и сниженная внутриклеточная продукция IL-1 $\beta$  по сравнению с показателями здоровых женщин. Через 1 месяц после лечения с применением Ликопида у пациенток отмечали нормализацию внутриклеточной продукции моноцитами IL-1 $\beta$ , тогда как при традиционном ведении послеоперационного периода изменений показателей функционального состояния моноцитов выявлено не было. Наступление беременности после лапароскопии при традиционном ведении послеоперационного периода отмечали у тех пациенток, у которых изначально отсутствовали выраженные иммунные нарушения. Успех хирургического лечения бесплодия у женщин, получавших Ликопид, не зависел от изначального иммунологического фона, а определялся характером ответа моноцитов на Ликопид. Наступление беременности отмечали в тех случаях, когда через 1 месяц после лечения с применением Ликопида у пациенток повышался уровень TLR2+ моноцитов, усиливалась экспрессия мРНК NOD2 и снижалась экспрессия мРНК RAGE моноцитами.

**Ключевые слова:** эндометриоз; бесплодие; моноциты; TLR2; RAGE; провоспалительные цитокины; Ликопид.

**Для цитирования:** Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Малышкина А.И., Красильникова А.К. Нарушения системных реакций врожденного иммунитета у пациенток с бесплодием и эндометриозом I–II стадии и возможность их коррекции препаратом Ликопид. Иммунология. 2016; 37 (1): 17–21. DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-1-17-21.

Sotnikova N.Yu., Antsiferova Yu.S., Malyshkina A.I., Krasilnikova A.K.

## IMPAIRMENT OF THE SYSTEM INNATE IMMUNE REACTIONS IN INFERTILE PATIENTS WITH ENDOMETRIOSIS OF I–II STAGE AND POSSIBILITY OF ITS CORRECTION BY DRUG LIKOPID

FSBE «V.N. Gorodkov Ivanovo's Research Institute of Maternity and Childhood» Healthy Ministry of Russia, 153045, Ivanovo, Russia

Estimation of the synthesis and expression of some PRR receptors and proinflammatory cytokines by monocytes of 68 infertile women with endometriosis of I–II stage, received surgical treatment was performed. Depending on treatment in postsurgical period women were divided on two subgroups: 29 women with traditional treatment and 39 women who received additionally Likopid. Observation of women was carried out twice: before laparoscopy and 1 month after surgery. Peripheral blood was used as the material for investigation. The monocytes of patients with endometriosis were characterized by the high content of TLR2+ and TNF $\alpha$ + cells, increased expression of RAGE mRNA and decreased intracellular production of IL-1 $\beta$  comparing to the control values. Through 1 month after treatment with Likopid the normalization of the intracellular production of IL-1 $\beta$  was seen, but after traditional treatment the changes of the monocytes functional state parameters were not observed. Ongoing pregnancy after laparoscopy and traditional postsurgical treatment was noted in patients with initially normal immune parameters. The success of the surgical treatment of infertility in women who received Likopid did not depend on the initial immune background but was associated with the response of monocytes for Likopid treatment. Achievement of pregnancy was seen in women who show the increase of TLR2+ monocytes, NOD2 mRNA expression and decrease the RAGE mRNA expression by monocytes through 1 month after treatment.

**Key words:** endometriosis; infertility; monocytes; TLR2; RAGE; proinflammatory cytokines; Likopid.

**Citation:** Sotnikova N.Yu., Antsiferova Yu.S., Malyshkina A.I., Krasilnikova A.K. Impairment of the system innate immune reactions in infertile patients with endometriosis of I–II stage and possibility of its correction by drug Likopid. Immunologiya. 2016; 37 (1): 17–21. DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-1-17-21.

**For correspondence:** Sotnikova Natalia Yurievna, Dr. med. Sciences, Professor, head, laboratory of clinical immunology «V.N. Gorodkov Ivanovo's Research Institute of Maternity and Childhood», Healthy Ministry of Russia, E-mail: niimid.immune@mail.ru

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Funding.** The study had no sponsorship.

Received 12.05.15  
Accepted 18.06.15

**Для корреспонденции:** Сотникова Наталья Юрьевна, д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией клинической иммунологии ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, E-mail: niimid.immune@mail.ru



## Введение

Эндометриоз, одно из наиболее распространенных гинекологических заболеваний, диагностируется у 10–15% всех женщин репродуктивного возраста и характеризуется эктопическим ростом эндометриальной ткани вне мест ее нормального расположения, преимущественно в брюшной полости [1]. Основными клиническими проявлениями эндометриоза являются болевой синдром и бесплодие. Общепринятым методом лечения пациенток с эндометриозом и бесплодием в настоящее время является лапароскопическое удаление очагов эндометриоза. Однако эффективность хирургического лечения бесплодия у этих пациенток остается пока еще сравнительно невысокой и составляет по данным разных авторов 30–50% [2, 3]. В связи с этим особую актуальность приобретает поиск новых подходов к лечению бесплодия, связанного с эндометриозом.

Считают, что в основе патогенеза эндометриоза лежит локальное воспаление [4]. Показано, что при эндометриозе в перитонеальной полости резко повышается содержание активированных макрофагов, продуцирующих многочисленные провоспалительные цитокины, факторы роста и активные формы кислорода. Существует гипотеза, что эти изменения ведут к развитию локального воспаления, которое, с одной стороны, создает условия, способствующие имплантации и эктопическому росту эндометрия в брюшной полости, а с другой стороны, может оказывать негативное влияние на репродуктивные процессы [1, 5]. У пациенток с эндометриозом отмечают также наличие признаков субклинического системного воспаления [6], однако механизмы его реализации пока еще изучены мало.

Известно, что основную роль в регуляции воспаления и поддержания тканевого гомеостаза играют фагоцитарные клетки. Адекватная активация фагоцитов в результате взаимодействия их PRR рецепторов (pattern-recognition receptors) с патогенами экзогенного (PAMP – pathogen-associated molecular patterns) или эндогенного (DAMP – damage-associated molecular patterns) происхождения с последующей индукцией синтеза провоспалительных цитокинов определяет своевременную реакцию фагоцитов на изменения гомеостаза [7]. Наиболее хорошо охарактеризованные PRRs – это TLRs, Toll-подобные рецепторы, и NLRs, NOD-подобные рецепторы [8]. TLRs экспрессируются как на клеточной мембране фагоцитов, так и во внутриклеточных компартментах [7]. NOD-подобные рецепторы являются цитоплазматическими PRRs. [8]. Функционально близкими к TLRs рецепторам являются RAGE молекулы (рецепторы конечных продуктов гликозилирования). Последние реагируют с эндогенными лигандами небактериальной природы, высвобождающимися во внеклеточное пространство при апоптозе и некрозе клеток, а также при стрессе, и непосредственно участвуют в развитии воспалительных реакций [9]. Основной результат взаимодействия TLRs, NLRs и RAGE с их специфическими лигандами – активация ядерного фактора-κB (NF-κB) в результате которой индуцируется трансактивация генов важнейших провоспалительных факторов, таких как COX-2, iNOS, TNF-α, IL-1 и IL-6 [7]. Работы последних лет свидетельствуют о важной роли NF-κB в патофизиологии эндометриоза [10]. Экспериментальные данные показали, что этот ядерный фактор способствует усилению транскрипции генов, регулирующих инвазию, ангиогенез и пролиферацию эндометриальных клеток. При этом экспрессия NF-κB резко усилена в ткани очагов эндометриоза и в перитонеальных макрофагах пациенток с эндометриозом [10]. Однако механизмы, приводящие к активации NF-κB в макрофагах при эндометриозе, до сих пор не выявлены. Данные о характере функционирования различных PRR рецепторов в фагоцитах крови и перитонеальной жидкости практически отсутствуют.

Учитывая уже имеющиеся литературные и наши соб-

ственные данные о нарушениях функционирования клеток врожденного иммунитета при эндометриозе и связанном с ним бесплодии, мы предположили, что направленная коррекция функций фагоцитов может оказать позитивное влияние на репродуктивную функцию пациенток с наружным генитальным эндометриозом. Одним из немногих препаратов с доказанным активирующим воздействием на фагоциты является Ликопид. Показано, что входящий в его состав глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП) стимулирует фагоциты через NOD2 рецепторы [11], а также усиливает экспрессию макрофагами “рецепторов-мусорщиков” [12]. Для лечения эндометриоза и связанного с ним бесплодия Ликопид ранее не применяли.

В связи с этим целью данной работы было выявить влияние Ликопада на уровень экспрессии PRR молекул и внутриклеточную продукцию провоспалительных цитокинов моноцитами при эндометриозе и оценить эффективность использования Ликопада в комплексной терапии раннего послеоперационного периода у пациенток с бесплодием и эндометриозом I–II стадии.

## Материал и методы

Исследование проводили на базе эндоскопического отделения ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России. Всего было обследовано 68 пациенток с бесплодием, обусловленным эндометриозом I–II стадии, поступивших на оперативное лечение (основная группа). Всем пациенткам была произведена лапароскопия, при которой был диагностирован наружный генитальный эндометриоз I–II степени по классификации ASF и проведена деструкция очагов. Контрольную группу составили 16 здоровых фертильных женщин, которые не имели гинекологической патологии на момент обследования и поступили на хирургическую стерилизацию по социальным показаниям. В зависимости от ведения раннего послеоперационного периода 68 женщин основной группы методом случайного выбора были разделены на две подгруппы: 29 женщин с традиционным ведением послеоперационного периода (назначались антибактериальные и обезболивающие препараты) (I подгруппа) и 39 женщин, которые в раннем послеоперационном периоде в дополнение к традиционной терапии получали иммуномодулирующий препарат Ликопид (регистрационный № 015 494/01) *per os* в дозе 10 мг 1 раз в сутки в течение первых десяти дней послеоперационного периода (II подгруппа).

Обследование женщин проводили дважды: при поступлении в стационар для проведения хирургического лечения и через 1 мес после лечения. Материалом для исследования служила гепаринизированная периферическая венозная кровь. Для оценки исхода лечения динамическое наблюдение за состоянием репродуктивной функции женщин основной группы проводили в течение одного года после лапароскопии. Исследования были одобрены локальным этическим комитетом и выполняли с информированного согласия пациенток.

Из периферической крови выделяли популяции мононуклеарных клеток (МНК), используя стандартную процедуру центрифугирования в градиенте плотности фикола-урографина. В популяции моноцитов определяли мембранную экспрессию TLR2 молекулу и внутриклеточную продукцию цитокинов IL-1β и TNFα с помощью моноклональных антител (mAT) методом проточной цитофлуориметрии на приборе FACScan (Becton Dickinson, USA). В исследовании использовали следующие mAT: конъюгированные с флюоресцентной меткой (FITC) анти-TLR2 и анти-IL-1β антитела, конъюгированные с фикоэритрином (PE) анти-TNFα и анти-CD14 антитела (Beckman Coulter, USA). Процедуру окрашивания и фиксации клеток проводили стандартным способом в соответствии с указаниями фирмы-разработчика. При оценке внутриклеточной продук-



ции цитокинов моноцитами предварительно проводили процедуру фиксации и пермебиализации клеточной мембраны с использованием коммерческого набора Fixative Solution IOTest®3 10X Concentrate (Beckman Coulter, USA). Анализ результатов проводили в программе «CELLQuest Pro» (Becton Dickinson, USA). Анализировали клетки в моноцитарном гейте, который устанавливали на основании окрашивания клеток анти-CD14-антителами.

Для количественного определения экспрессии мРНК NOD2 и RAGE моноцитами крови использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в масштабе реального времени. Предварительно получали чистую популяцию моноцитов из фракции МНК периферической крови методом магнитной сепарации с использованием магнитных частиц, конъюгированных с анти-CD14-антителами (Dynabeads® CD14, Invitrogen by Life Technologies AS, Oslo, Norway). Выделение тотальной РНК из CD14+ клеток с помощью набора реагентов кДНК проводили, используя набор «RNA-экстракт-5» (ООО «ГеноТехнология», Москва, Россия). Уровень экспрессии моноцитами мРНК NOD2, RAGE и  $\beta$ 2-микроглобулина (гена домашнего хозяйства) определяли с помощью наборов реагентов производства ЗАО «Синтол» (Москва, Россия). Серию десятикратных разведений последовательностей клонированных генов использовали в качестве стандартов. Реакцию амплификации проводили в соответствии с протоколами фирмы-разработчика на амплификаторе с оптической насадкой iCycler iQ (BIO-RAD Laboratories, California, USA). В каждом образце определяли количество копий нуклеотидов  $\beta$ 2-микроглобулина и специфических генов с помощью стандартных кривых, построенных при использовании программного обеспечения амплификатора iCycler iQ. Затем количество копий пар нуклеотидов специфического гена делили на количество копий пар  $\beta$ 2-микроглобулина для получения нормализованного значения экспрессии гена. Результаты представлены как нормализованное количество копий пар нуклеотидов специфического гена  $\cdot 10^3/\text{мкл}$  для всех изученных генов.

Полученные результаты представлены в виде среднего арифметического и ошибки среднего арифметического. Статистический анализ данных осуществляли по общепринятым методам вариационной статистики после проверки рядов на нормальность распределения. В зависимости от типа распределения данных достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по *t*-критерию Стьюдента или непараметрическому *U*-критерию Манна-Уитни. Статистический анализ осуществляли с помощью программы Statistica 6.0.

## Результаты и обсуждение

У пациенток с эндометриозом в крови было повышено относительное содержание TLR2+ и TNF $\alpha$ + моноцитов и снижено количество моноцитов, продуцирующих внутриклеточно IL-1 $\beta$  по сравнению с показателями здоровых женщин ( $p = 0,015$ ,  $p = 0,009$  и  $p = 0,000$ , соответственно) (табл. 1). Кроме того, отличительной чертой женщин основной группы являлся высокий уровень экспрессии моноцитами мРНК RAGE ( $p = 0,000$ ).

Выявленные нами иммунные нарушения, с одной стороны, могут быть связаны с механизмами развития эндометриоза. Высокий уровень синтеза и экспрессии сигнальных рецепторов (TLR2, RAGE) и продукции провоспалительного цитокина TNF $\alpha$  моноцитами может лежать в основе развития системных воспалительных реакций, создавая благоприятные условия для роста эктопического эндометрия [4]. С другой стороны, угнетение внутриклеточной продукции IL-1 $\beta$  моноцитами может служить одной из причин развития бесплодия у пациенток с «малыми» формами наружного генитального эндометриоза, поскольку этот цитокин играет важную роль в обеспечении эффективности различных этапов репродуктивного процесса [13].

На следующем этапе нашего исследования мы оценили динамику изменения иммунологических показателей у пациенток с различным ведением раннего послеоперационного периода. Анализ данных показал, что у женщин, получавших традиционную терапию в раннем послеоперационном периоде, через 1 мес после лапароскопии значительных изменений показателей функционального состояния моноцитов отмечено не было. Наблюдение за состоянием репродуктивной функции пациенток этой подгруппы показало, что наступление беременности при традиционном ведении послеоперационного периода в течение первого года после лапароскопии было отмечено у 7 из 29 женщин, то есть эффективность лечения бесплодия в этой подгруппе составила 24%. У пациенток, получавших в раннем послеоперационном периоде Ликопид, через 1 месяц после лечения отмечалось статистически значимое повышение уровня внутриклеточной продукции IL-1 $\beta$  моноцитами ( $p = 0,000$ ). В то же время в этой подгруппе сохранялись высокие значения мембранной экспрессии моноцитами TLR2 молекул, внутриклеточной продукции ими TNF $\alpha$  и экспрессии мРНК RAGE (см. табл. 1). Впоследствии беременность наступила у 13 из 39 пациенток этой подгруппы. Таким образом, включение иммуномодулятора в курс послеоперационной реабилитации хотя и несколько повысило эффективность лечения бесплодия у пациенток с эндометриозом (до 33,3%), однако это повышение не было статистически значимым по сравнению с показателем эффективности традиционного лечения.

Мы попытались выявить взаимосвязь между исходным иммунологическим фоном и успехом последующего восстановления репродуктивной функции в подгруппах женщин с

Таблица 1

Влияние различных видов лечения на синтез и экспрессию PRR молекул и провоспалительных цитокинов моноцитами пациенток с бесплодием и эндометриозом

Показатель	Контрольная группа ( $n = 16$ )	Женщины с бесплодием и эндометриозом до лечения ( $n = 68$ )	Подгруппа с бесплодием и эндометриозом после традиционного лечения ( $n = 29$ )	Подгруппа с бесплодием и эндометриозом после лечения с применением Ликопида ( $n = 39$ )
TLR2+, %	55,52 $\pm$ 3,35	64,82 $\pm$ 1,85 $p_1 = 0,015$	70,69 $\pm$ 3,49 $p_1 = 0,004$ $p_2 = 0,462$	76,14 $\pm$ 1,95 $p_1 = 0,000$ $p_2 = 0,000$
IL-1 $\beta$ +, %	59,98 $\pm$ 2,27	44,05 $\pm$ 1,3 $p_1 = 0,000$	48,83 $\pm$ 1,91 $p_1 = 0,001$ $p_2 = 0,258$	59,01 $\pm$ 1,47 $p_1 = 0,720$ $p_2 = 0,000$
TNF $\alpha$ +, %	54,77 $\pm$ 2,27	62,5 $\pm$ 1,17 $p_1 = 0,009$	65,15 $\pm$ 2,12 $p_1 = 0,003$ $p_2 = 0,148$	66,28 $\pm$ 1,61 $p_1 = 0,000$ $p_2 = 0,290$
мРНК RAGE, копий пар $\times 10^3/\text{мкл}$	0,44 $\pm$ 0,17	7,08 $\pm$ 1,58 $p_1 = 0,000$	5,45 $\pm$ 3,55 $p_1 = 0,201$ $p_2 = 0,826$	4,91 $\pm$ 1,62 $p_1 = 0,011$ $p_2 = 0,327$
мРНК NOD2, копий пар $\times 10^3/\text{мкл}$	0,57 $\pm$ 0,30	1,22 $\pm$ 0,36 $p_1 = 0,180$	0,68 $\pm$ 0,44 $p_1 = 0,842$ $p_2 = 0,500$	1,11 $\pm$ 0,32 $p_1 = 0,234$ $p_2 = 0,542$

Примечание.  $p_1$  – по сравнению с контрольной группой,  $p_2$  – по сравнению с основной группой до лечения.



Таблица 2

**Взаимосвязь исходных показателей функционального состояния моноцитов с успехом последующего восстановления репродуктивной функции у женщин с эндометриозом, получавших различные виды терапии в послеоперационном периоде**

Показатель	Контрольная группа (n = 16)	Женщины с эндометриозом, получавшие впоследствии традиционную терапию (n = 29)		Женщины с эндометриозом, получавшие впоследствии Ликопид (n = 39)	
		наступление беременности (n = 7)	отсутствие беременности (n = 22)	наступление беременности (n = 13)	отсутствие беременности (n = 26)
TLR2+, %	55,52±3,35	59,58±5,57 $p_1 = 0,547$	70,12±2,74 $p_1 = 0,002$ $p_2 = 0,130$	59,32±3,01 $p_1 = 0,405$	67,13±3,03 $p_1 = 0,015$ $p_2 = 0,070$
IL-1β+, %	59,98±2,27	54,34±3,86 $p_1 = 0,248$	43,59±2,78 $p_1 = 0,000$ $p_2 = 0,050$	46,67±2,22 $p_1 = 0,000$	41,39±1,98 $p_1 = 0,000$ $p_2 = 0,080$
TNFα+, %	54,77±2,27	64,35±4,04 $p_1 = 0,067$	60,25±2,30 $p_1 = 0,107$ $p_2 = 0,397$	65,35±2,93 $p_1 = 0,009$	63,02±1,79 $p_1 = 0,009$ $p_2 = 0,504$
мРНК RAGE, копий пар × 10 <sup>3</sup> /мкл	0,44±0,17	1,79±1,64 $p_1 = 0,732$	3,32±1,14 $p_1 = 0,009$ $p_2 = 0,315$	6,18±2,34 $p_1 = 0,019$	8,20±2,91 $p_1 = 0,023$ $p_2 = 0,347$
мРНК NOD2, копий пар × 10 <sup>3</sup> /мкл	0,57±0,30	1,58±1,56 $p_1 = 0,480$	1,28±0,46 $p_1 = 0,874$ $p_2 = 0,845$	0,33±0,13 $p_1 = 0,347$	1,07±0,495 $p_1 = 0,450$ $p_2 = 0,233$

Примечание.  $p_1$  – по сравнению с контрольной группой,  $p_2$  – по сравнению с группой женщин с наступившей беременностью.

различным ведением раннего послеоперационного периода. Ретроспективный анализ данных показал, что спонтанное наступление беременности у женщин с традиционным ведением послеоперационного периода отмечалось в тех случаях, когда показатели функционального состояния моноцитов пациенток не отличались от показателей здоровых фертильных женщин (табл. 2). Напротив, неуспех хирургического лечения бесплодия в этой подгруппе был ассоциирован с максимальной степенью выраженности иммунных нарушений, характерных для пациенток с эндометриозом. При изначально высоких показателях относительного содержания TLR2+ моноцитов ( $p = 0,002$ ), усиленной экспрессии мРНК RAGE ( $p = 0,009$ ) и сниженной внутриклеточной продукции IL-1β моноцитами ( $p = 0,000$ ) спонтанного наступления беременности после лапароскопического удаления очагов эндометриоза у пациенток не отмечалось (см. табл. 2).

В подгруппе женщин, получавших в раннем послеоперационном периоде наряду с традиционной терапией Ликопид, исходный иммунологический фон мало зависел от исхода лечения бесплодия. Единственным исключением являлся показатель относительного содержания TLR2+ моноцитов, который не отличался от нормативных значений у женщин с наступившей впоследствии беременностью ( $p = 0,405$ ) и был достоверно выше показателей здоровых женщин у пациенток с отсутствием положительного эффекта лечения бесплодия ( $p = 0,015$ ). Но в обеих подгруппах женщин с различным успехом восстановления репродуктивной функции содержание IL-1β+ моноцитов было ниже показателей контрольной группы ( $p = 0,000$  в обоих случаях), а уровень TNFα+ моноцитов и экспрессия моноцитами мРНК RAGE были достоверно выше,

чем у здоровых фертильных женщин (см. табл. 2).

По нашим данным, успех восстановления репродуктивной функции у пациенток после проведения курса иммуномодулирующей терапии в раннем послеоперационном периоде зависел не столько от изначального иммунологического фона, сколько от характера иммунного ответа на специфическое лечение Ликопидом. Мы проанализировали изменение иммунологических показателей у женщин через 1 мес после курса иммуномодулятора по сравнению с исходными значениями. С этой целью мы провели индивидуальный анализ данных с определением процента изменения каждого показателя (рис. 1). Было установлено, что беременность наступала в тех случаях, когда в ответ на стимуляцию Ликопидом у пациенток наблюдалось усиление экспрессии TLR2 молекул. При этом в подгруппе с наступившей беременностью значительного повышения экспрессии TLR2 рецепторов не наблюдалось, что связано с изначально высокими значениями показателя у этих пациенток. Различия в изменении экспрессии TLR2 рецепторов в двух подгруппах были статистически достоверны ( $p = 0,038$ ) (см. рисунок). Успешное наступление беременности также ассоциировалось с резким повышением уровня экспрессии мРНК NOD2 и снижением экспрессии мРНК RAGE через 1 мес после курса лечения с Ликопидом. У пациенток с наступившей беременностью отсутствовали изменения синтеза NOD2 молекул моноцитами после курса иммуномодулятора и повышалась экспрессия мРНК RAGE, что статистически достоверно отличало женщин этой группы от пациенток с наступившей впоследствии беременностью ( $p = 0,003$  и  $p = 0,032$  соответственно).

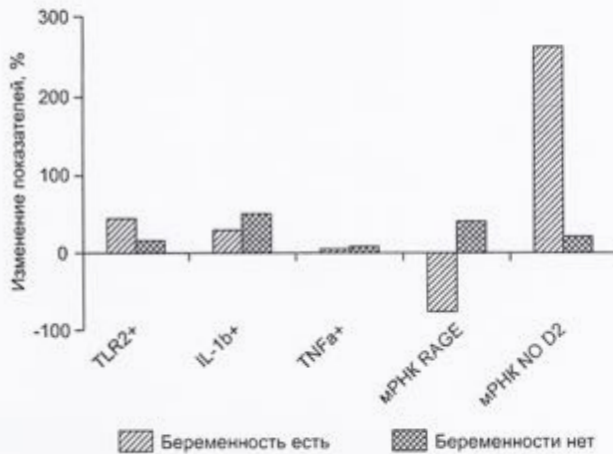
Таким образом, успех лечения с применением Ликопида отмечали только в тех случаях, когда изначально экспрессия TLR2 молекул была невысока и стимуляция препаратом приводила к усилению экспрессии TLR2, индуцируя одновременно синтез NOD2 и усиление внутриклеточной продукции IL-1β, что оказывало положительное влияние на состояние репродуктивной функции пациенток. По-видимому, в этих случаях нормализация продукции IL-1β происходит в результате восстановления проведения индуцирующего сигнала через мембранные (TLR2) и внутриклеточные (NOD2) PRR рецепторы. Следует особо отметить, что активность воспалительных реакций при этом снижается, о чем свидетельствует уменьшение экспрессии моноцитами мРНК RAGE через 1 мес после лечения.

В тех случаях, когда изначальный уровень экспрессии TLR2 рецепторов достаточно высок, отмечаемое нами усиление выработки IL-1β, по-видимому, не обусловлено дополнительной стимуляцией PRR молекул, а определяется другими механизмами, например, непосредственной активацией фактора NF-κB. Однако восстановления проведения сигнала через PRR рецепторы при этом не происходит. Напротив, дополнительная стимуляция может привести к усилению активности воспалительных реакций. Поэтому использование препарата Ликопид у пациенток с высокими значениями TLR2+ моноцитов (более 66%) по нашим данным не показано.

### Заключение

У пациенток с эндометриозом I–II стадии повышено относительное содержание TLR2+ и TNFα+ моноцитов, усилена экспрессия мРНК RAGE в пуле CD14+ клеток и снижена внутриклеточная продукция моноцитами IL-1β. При традиционном ведении послеоперационного периода у пациенток не происходит изменений показателей врожденного иммун-





Динамика показателей функционального состояния моноцитов крови у женщин, получавших иммуномодулирующую терапию в раннем послеоперационном периоде, в зависимости от последующего восстановления у них репродуктивной функции (результаты представлены как процент изменения показателей до и через 1 мес после лапароскопии).

тата. Применение Ликопида в раннем послеоперационном периоде нормализует внутриклеточную продукцию моноцитами IL-1β. Успешное восстановление репродуктивной функции при традиционном ведении послеоперационного периода отмечается у тех пациенток, у которых изначально отсутствовали выраженные иммунные нарушения. У женщин, получавших в раннем послеоперационном периоде препарат Ликопид, беременность наступала в тех случаях, когда уровень TLR2+ моноцитов до операции не превышал нормативные значения, а через 1 мес лечения в популяции моноцитов повышалась экспрессия TLR2 молекул, усиливалась экспрессия mPINK NOD2 и снижалась экспрессии mPINK RAGE. Результаты нашего исследования свидетельствуют о необходимости индивидуального подхода к назначению препарата Ликопид пациенткам с бесплодием при «малых» формах наружного генитального эндометриоза.

Исследование не имело спонсорской поддержки.  
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Macer M.L., Taylor H.S. Endometriosis and infertility. A review of the pathogenesis and treatment of endometriosis-associated infertility. *Obstet. Gynecol. Clin. N. Am.* 2012; (39): 535–49.
2. Cirpan T., Akman L., Yucebilgin M.S., Terek M.C., Kazandi M. Reproductive outcome after surgical treatment of endometriosis—retrospective analytical study. *Ginekol. Pol.* 2013; 84 (12): 1041–4.
3. Diwadkar G.B., Falcone T. Surgical management of pain and infertility secondary to endometriosis. *Semin. Reprod. Med.* 2011; 29 (2): 124–9.
4. Khoufache K., Michaud N., Harir N., Kibangou Bondza P., Akoum A. Anomalies in the inflammatory response in endometriosis and possible consequences: a review. *Minerva Endocrinol.* 2012; 37 (1): 75–92.
5. Petraglia F., Arcuri F., de Ziegler D., Chapron C. Inflammation: a link between endometriosis and preterm birth. *Fertility and Sterility.* 2012; (98): 36–40.
6. Agic A., Xu H., Finas D., Banz C., Diedrich K., Hornung D. Is endometriosis associated with systemic subclinical inflammation? *Gynecol. Obstet. Invest.* 2006; 62 (3): 139–47.
7. Turvey S.E., Broide D.H. Innate Immunity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 125:24–32.
8. Jeong E., Lee J.Y. Intrinsic and Extrinsic Regulation of Innate Immune Receptors. *Yonsei. Med. J.* 2011; 52 (3): 379–92.
9. Ibrahim Z.A., Armour C.L., Phipps S., Sukkar M.B. RAGE and TLRs: relatives, friends or neighbours? *Mol. Immunol.* 2013; 56 (4): 739–44.
10. González-Ramos R., Van Langendonck A., Defrère S., Lousse J.C., Colette S., Devoto L. et al. Involvement of the nuclear factor-κB pathway in the pathogenesis of endometriosis. *Fertil Steril.* 2010; 94 (6): 1985–94.
11. Takada H., Uehara A. Enhancement of TLR-mediated innate immune responses by peptidoglycans through NOD signaling. *Curr. Pharm. Des.* 2006; 32 (12): 4163–72.
12. Antsiferova Y., Sotnikova N., Parfenyuk E. Different effects of the immunomodulatory drug GMDP immobilized onto aminopropyl modified and unmodified mesoporous silica nanoparticles upon peritoneal macrophages of women with endometriosis. *BioMed. Res. Inter.* 2013. Article ID 924362, 10 pages. Available at: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/924362>
13. Bellehumeur C., Blanchet J., Fontaine J., Bourcier N., Akoum A. Interleukin 1 regulates its own receptors in human endometrial cells via distinct mechanisms. *Hum. Reprod.* 2009; 24 (9): 2193–204.

Получено 12.05.15  
Принято в печать 18.06.15