

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА АУТОИММУННОГО ЭНДОМЕТРИТА

Т.Б. Шанина, О.Л. Молчанов, А.А. Шмидт, А.М. Иванов

Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова, Санкт-Петербург.

Телефон: 8 (962) 698-70-90 E-mail: tatiana-borisovna@mail.ru

Проведено изучение показателей системного иммунитета у 51 пациентки с аутоиммунным эндометритом, хроническим эндометритом и отсутствием эндометрита по данным иммуногистохимического исследования. При наличии аутоиммунного эндометрита, иммунологический ответ характеризуется снижением в крови уровня содержания цитотоксических лимфоцитов $CD3^+CD8^+$, снижением уровня Т-киллеров $CD3^+CD16^+CD56^+$, увеличением иммунорегуляторного индекса $CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$, повышением содержания в сыворотке Ig A и ИФН- γ , что подтверждает аутоиммунный тип воспаления. Дифференциальную диагностику хронического воспаления в эндометрии необходимо проводить при помощи оценки местного иммунного состояния иммуногистохимическим методом, и оценки общего иммунного статуса, для патогенетически обоснованных комплексных программ иммунотерапии.

Ключевые слова: аутоиммунный эндометрит, хронический эндометрит, иммуногистохимический метод.

CLINICAL AND LABORATORY DIAGNOSIS OF AUTOIMMUNE ENDOMETRITIS

N.B. Shanina, O.L. Molchanov, A.A. Shmidt, A.M. Ivanov

Military Medical Academy named after SM Kirov

The article deals with the result of study systemic immunity indications of 51 patients with autoimmune endometritis, chronic endometritis and the absence of endometritis, according to the immunohistochemical method. With the presence of autoimmune endometritis, immunological response is characterized with a decrease of cytotoxic lymphocytes ($CD3^+CD8^+$), the decrease of T-killer cells ($CD3^+CD16^+CD56^+$), the increase of immunoregulation index ($CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$), the increase of Ig A and IFN- γ in the blood, which confirms the autoimmune type of inflammation. Differential diagnosis of chronic inflammation in the endometrium is needed by assessing the local immune status

by immunohistochemical method and by assessing the overall immune status to apply the pathogenetically substantiated program of immunotherapy.

Key words: autoimmune endometritis, chronic endometritis, immunohistochemical method.

Неспецифический хронический эндометрит (НХЭ) - это перманентный воспалительный процесс с аутоиммунным компонентом, характеризующийся повреждением чувствительности к гормональному влиянию, как следствие - морфологическими изменениями: отставанием эндометрия в развитии и гиперпластическими процессами [3]. НХЭ выявляется у 20-60% женщин при бесплодии и в 23-35% случаев при невынашивании беременности первого триместра [4]. НХЭ часто не имеет отчетливых клинических проявлений и диагностируется случайно при скрининговом обследовании.

Для диагностики хронического эндометрита используют стандартный гистологический метод, учитывающий совокупность общих морфологических признаков хронического воспаления: наличие очаговой лимфо-лейкоцитарной инфильтрации, очагового фиброза стромы, наличие плазматических клеток и склеротических изменений стенок спиральных артерий [2]. Выявление плазматических клеток в строме эндометрия, по мнению многих морфологов, является обязательным критерием для постановки диагноза «хронический эндометрит» (ХЭ) [1]. Иммуногистохимическое обследование эндометрия с определением показателей местного иммунитета (лимфоцитов с маркерами CD16⁺, CD56⁺ и HLA-DR используется для установления наличия воспалительного процесса и особенности самого воспалительного процесса - наличие аутоиммунного эндометрита (АЭ) [5]. Без количественного изучения функционально активных лимфоцитов эндометрия и параметров системного иммунитета невозможно составить правильное представление о типе и механизмах развития иммунного ответа [3]. Данные литературы, касающиеся изменений параметров местного и системного иммунитета при хронических воспалительных процессах эндометрия, в частности при АЭ, малочисленны [7].

Цель исследования - повысить эффективность диагностики аутоиммунного эндометрита на основе изучения местного и системного иммунитета у женщин с нарушением репродуктивной функции.

Материалы и методы. На базе клиники акушерства и гинекологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова была обследована 51 пациентка с

нарушением репродуктивной функции (бесплодие первичное, вторичное). В исследование не включали пациенток с системными аутоиммунными заболеваниями, острым воспалительным процессом и пациенток, применявших иммуномодулирующую и гормональную терапию в последние 6 месяцев. Группу контроля составили 11 женщин с сохранной фертильностью. Наряду с общеклиническим обследованием, у всех женщин произведена оценка микроценоза урогенитального тракта, наличие скрытых инфекций диагностировали методом полимеразной цепной реакции. Пациенткам с нарушением репродуктивной функции осуществлялась биопсия эндометрия на 5-9 день менструального цикла с последующим гистологическим и иммуногистохимическим исследованием. Оценка параметров системного иммунитета производилась как у женщин с репродуктивными нарушениями, так и у женщин из группы контроля.

Местный иммунитет эндометрия изучали в биоптатах эндометрия иммуногистохимическим методом с помощью моноклональных антител фирмы Novocastra. С целью оценки характера иммунного ответа были подсчитаны количественные показатели субпопуляции NK-клеток CD16⁺, CD56⁺ и лимфоциты, несущие маркеры активации иммунного ответа HLA DR⁺ по описанной методике [5].

Для исследования состояния общего иммунитета в качестве материала использовали периферическую кровь. Субпопуляции лимфоцитов CD20⁺, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD56⁺, а также иммунокомпетентные клетки, экспрессирующие маркеры активации CD25⁺, CD95⁺, HLA-DR⁺ исследовали в сыворотке крови методом проточной цитометрии на цитофлюориметре «Cytomics FC500» фирмы «Beckman Coulter». Определяли количество В-лимфоцитов, фагоцитарную активность нейтрофилов и иммунорегуляторный индекс. Оценка уровней сывороточных иммуноглобулинов М (IgM), G (IgG), А (IgA), проводили турбодинамическим методом. Для определения уровня продукции цитокинов (ИЛ-1β, ИНФ-γ, ИНФ-α, ИЛ-2, -4, -6, -8, -10, -17, -18) использовались тест-системы БЕСТ фирмы «Вектор».

Статистическая обработка данных включала применение критерия Шапиро-Уилка, теста на симметрию и эксцесс для проверки соответствия данных закону нормального распределения. Сравнение категориальных показателей в группах проведено с помощью χ²-критерия и точного критерия Фишера. Для сравнительного межгруппового анализа количественных данных в зависимости от типа распределения переменной использовались t-тест либо критерий Манна-Уитни. Статистически значимые результаты расчётов корректировались с учетом поправки Бонферрони на множественные сравнения. Статистический анализ проводился с помощью программного пакета AtteStat и PAST.

Результаты и обсуждения. Полученные результаты исследования эндометрия иммуногистохимическим методом позволили разделить обследованных женщин с репродуктивными нарушениями на 3 группы (n=51, 100%). В 1 группу (n=20, 39.2%) вошли пациентки с АЭ (при количестве клеток, экспрессирующих CD56+ выше 10, и при количестве клеток, экспрессирующих CD16+ и HLA-DR(II)+ от 0 до 10 в поле зрения). Во 2-ю группу (n=20, 39.2%) вошли пациентки с ХЭ (при количестве клеток, экспрессирующих CD16+ выше 10, и при количестве клеток, экспрессирующих CD56+ и HLA-DR(II)+ от 0 до 10 в поле зрения). В 3-ю группу (n=11, 21.6%) вошли пациентки с отсутствием эндометрита (при количестве клеток, экспрессирующих CD56+, CD16+, HLA-DR(II)+ от 0 до 10 в поле зрения).

По результатам серологического исследования частота перенесенных инфекций вагинального тракта у пациенток с АЭ составила 70 % (14), у пациенток с ХЭ – 90 % (18) и с отсутствием эндометрита – 36% (4). В клинической группе с АЭ 9 (45%) женщин указали на перенесенную бактериально-вирусную инфекцию (Urealyticum – ВПЧ высокого риска, Urealyticum - Вирус простого герпеса). В клинической группе с ХЭ 15 (75%) женщин указали на перенесенную уреоплазменную инфекцию. Преобладание в анамнезе перенесенной бактериально-вирусной микст-инфекции у женщин с АЭ, верифицированным иммуногистохимическим методом, свидетельствует в пользу научной гипотезы о зависимости иммунного ответа от стадии воспалительного процесса: при рецидивирующих хронических инфекциях иммунный ответ осуществляется Th2 лимфоцитами, а при ремиссии развивается цитокиновый ответ по Th1 типу, с подавлением Th2 ответа.

При выполнении гистологического исследования эндометрия у пациенток с АЭ в 75% преобладала очаговая лимфо-лейкоцитарная инфильтрация в строме и в 50% имел место очаговый фиброз стромы. У пациенток с ХЭ в 90% преобладал отек стромы и в 50% - фиброз стромы. У пациенток с неподтвержденным иммуногистохимическим методом ХЭ в 18% имел место отек стромы. Не смотря на общепринятые морфологические критерии ХЭ [6], гистологический метод диагностики обладает низкой точностью, так как наличие только одного или двух критериев воспаления всегда вызывает сомнение у морфологов в постановке диагноза ХЭ [10].

При сопоставлении показателей системного иммунитета, наиболее выраженные изменения наблюдались в группе пациенток с АЭ. В данной группе при оценке показателей клеточного звена иммунитета наблюдалось снижение уровня цитотоксических лимфоцитов CD3⁺CD8⁺, снижение уровня Т-киллеров CD3⁺CD56⁺, повышение уровня Т-хелперов CD3⁺CD4⁺, увеличение иммунорегуляторного

индекса $CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$, повышенный уровень активированных Т-лимфоцитов $CD3^+HLA-DR^+$ и повышение уровня В1-клеток $CD19^+CD5^+CD27^+CD45^+$. При оценке показателей гуморального иммунитета в периферической крови наблюдалось повышение иммуноглобулина А. При исследовании уровня продукции цитокинов в сыворотке крови наблюдалось повышение уровня интерферона- γ (ИФН- γ).

Выявленные особенности системного иммунитета подтверждают наличие аутоиммунного компонента воспаления. Снижение количества специфических цитотоксических лимфоцитов $CD3^+CD8^+$, вероятно, за счет их миграции в эндометрий и проявления цитотоксической активности. Повышение IgA в крови указывает на выраженность гуморального ответа при эндометрите, сопровождающегося сверхзащитой слизистых. ИФН- γ - провоспалительный цитокин, продуцируемый преимущественно при Th-1 типе ответа, способен стимулировать аутопрезентацию, т.е. представление антигенов клетками ткани, в частности эпителием эндометрия. Преобладание цитокинов Th-I в крови способствует активации и пролиферации цитотоксических NK-клеток и их миграции в эндометрий [9].

При оценке показателей клеточного иммунитета в периферической крови женщин ХЭ наблюдалось повышение уровня NK-клеток, экспрессирующих маркер активации $HLA-DR$ $CD56^+HLA-DR^+$, повышенный уровень активированных Т-лимфоцитов $CD3^+HLA-DR^+$. Так же, при оценке показателей гуморального иммунитета в периферической крови у пациенток с ХЭ наблюдалось повышение Ig G. Ig G содержится не только в сосудистом русле, но и легко проникают в экстраваскулярное пространство, где осуществляют защитную функцию благодаря токсиннейтрализующей, вируснейтрализующей, опсонизирующей и бактерицидной активности. Повышение содержания Ig G характерно для периода реконвалесценции воспалительного процесса и для острого периода инфекции при вторичном иммунном ответе [8].

Показатели системного иммунитета у пациенток с отсутствием ХЭ по данным иммуногистохимического исследования не выходили из диапазона нормальных значений.

Заключение. Таким образом, у женщин с нарушением репродуктивной функции с АЭ, верифицированным иммуногистохимическим методом, критериями патоморфологических изменений эндометрия, являются: во-первых – очаговая лимфо-лейкоцитарная инфильтрация стромы; во-вторых – очаговый фиброз стромы, так же в эндометрии преобладает активность лимфоцитов, экспрессирующих маркеры естественных киллерных клеток $CD56^+$. При наличии АЭ, иммунологический ответ характеризуется снижением в крови уровня содержания цитотоксических

лимфоцитов $CD3^+CD8^+$, снижением уровня Т-киллеров $CD3^+CD16^+CD56^+$, увеличением иммунорегуляторного индекса $CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$, так же повышением содержания в сыворотке Ig A и повышенной продукции ИФН- γ , что свидетельствует о наличии процессов аутоагрессии по механизму антителозависимой цитотоксичности. Дифференциальную диагностику нарушений репродуктивной функции у женщин с ХЭ необходимо проводить при помощи оценки местного иммунного состояния в эндометрии иммуногистохимическим методом и оценки общего иммунного статуса для патогенетически обоснованных комплексных программ иммунотерапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Данусевич И.Н. Основные маркеры дизрегуляции иммунной, эндокринной систем и свободнорадикального окисления липидов у женщин с репродуктивными нарушениями, ассоциированными с хроническим воспалением эндометрия: Дис. ... д-ра мед. наук / И.Н. Данусевич. – Иркутск, 2014. – С. 58-59.
2. Кузнецова А.В. Хронический эндометрит / А.В. Кузнецова // Архив патологии. – 2000. – №3. – С.48-52.
3. Михнина Е.А. Морфофункциональное состояние эндометрия у женщин с бесплодием и невынашиванием беременности: Дис. ... д-ра мед. наук / Е.А. Михнина. – СПб., 2009. – С. 9-218.
4. Оптимизация патогенетической терапии у женщин с привычным невынашиванием беременности 1 триместра, с учетом иммуноморфологических особенностей эндометрия/ В.В. Гнипова, В.М. Сидельникова, А.А. Агаджанова [и др.] // Материалы V Российского форума "Мать и дитя". – М., 2003. – С. 51-52.
5. Патент РФ 2003104391/15 Способ диагностики хронического эндометрита и характера воспаления / Е.А. Михнина, В.Н. Эл-линиди, Н.М. Калинина [и др.]. – Заявл. 02.10.2003; опубл. 09.10.2004.
6. [Сухих, Г.Т.](#) Иммуноморфологические особенности эндометрия у женщин с хроническим эндометритом / Г.Т. [Сухих](#), А.В. Шуршалина, В.Н. Верясов // [Бюл. эксп. биол. и мед.](#) – 2006. – [Т. 141, № 1](#). – С. 113–115.
7. Эл-линиди В.Н., Калинина Н.М. Иммуноморфология эндометрия. Лечение бесплодия: нерешенные проблемы. – Саратов, 2001. – С. 158-162.
8. Spencer T.E. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy / T.E. Spencer, R.C. Burghardt, G.A. Johnson [et al] // Anim Reprod Sci. – 2004. – Vol.82-83. – P. 537-550.
9. Dosiou, C. Natural killer cells in pregnancy and recurrent pregnancy loss: endocrine and immunologic perspectives. / C. Dosiou, L.C. Giudice // Endocr.Rev. – 2004. – Vol.26,N1. – P. 44-62.
10. Kerr-Leighton, J.A. Chronic endometritis plasma cells in the hysterectomy specimens of HIV-infected women: A retrospective analysis / J.A. Kerr-Leighton // Infect. Dis. Obstet. Gynecol. – 1998. – Vol. 6, № 4. – P. 186-190.