

# Применение «Имунофана» в комплексном методе фармако-физиотерапевтической коррекции бесплодия и невынашивания беременности

Р.С. Синюта, О.П. Виноградова, И.У. Меркулова, Н.А. Андреева, С.Н. Шибитова

Одной из актуальных проблем акушерства и гинекологии является хронический эндометрит (ХЭ), интерес к которому учёных и практиков не только не ослабевает со временем, но, благодаря совершенствованию методов диагностики, поддерживается новыми данными, появляющимися при изучении этой патологии. ХЭ продолжает оставаться terra incognita современной гинекологии (Smith M., Hagerty K.A., Skipper B. et al., 2010).

Значимость ХЭ обусловлена, прежде всего, тем, что это заболевание оказывает непосредственное влияние на репродуктивную функцию женщины и нередко служит причиной осложненного течения беременности, родов и послеродового периода, бесплодия и неудач в программах вспомогательных репродуктивных технологий. [11].

По данным разных авторов, частота ХЭ колеблется в пределах от 0,8% до 66% [1-4], составляя в среднем 15%. Adegboyega P.A. с соавторами (2010) выявили частоту встречаемости ХЭ 15,6% [13]. По результатам морфологического исследования биоптата эндометрия, частота встречаемости ХЭ составляет от 2,3% до 19,2%. [3,10,11,12].

В структуре гинекологических заболеваний ведущее место занимают хронические воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ), из них удельный вес хронического эндометрита составляет от 3% до 73%. Хронические воспалительные заболевания органов малого таза в 80-82% случаев приводят к бесплодию, у 40-43% больных вызывают нарушение менструальной функции. [4,5].

В Пензенской области заболеваемость ВЗОМТ, за последние пять лет, выросла с 2232,3 на 100 000 женского населения в 2014г. до 2753,3 в 2018г., но в 2 раза ниже, чем в РФ (2017г. – 5562,8). Ежегодно регистрируется около 10 000 женщин с впервые в жизни установленным диагнозом из данной нозологической группы.

Механизм развития ХЭ соответствует хроническому продуктивному интерстициальному воспалению, главным признаком которого является инфильтрация мононуклеарами, особенно макрофагами, лимфоцитами и плазматическими клетками, пролиферация фибробластов, во многих случаях – нарастающий фиброз и слабо выраженная деструкция (альтерация) ткани.

Воспаление в эндометрии вызывает выраженную реакцию тканей, деструкцию сопровождающуюся повреждением эпителия с изменением структуры и функции эндометрия, нарушением пролиферации и нормальной циклической трансформации ткани [15,16].

Одно из ведущих мест в патогенезе ХЭ занимает постинфекционный аутоиммунный синдром, формирующийся в результате образования инфламмасом (inflammasome от англ. inflammation, воспаление). Эти цитоплазматические мультимерные белковые образования приводят к запуску воспалительной реакции при контакте клетки с микроорганизмами. Инфламмасомы привлекают в очаг воспаления каспазу-1, накапливая на своей поверхности молекулы данного фермента до критической концентрации. Активная каспаза-1 стимулирует созревание и секрецию провоспалительных интерлейкинов IL-1 $\beta$  и IL-18, а также высвобождение белков, участвующих в тканевой репарации и цитопротекторных процессах.

У части пациенток после элиминации инфекционного возбудителя инфламмасомы не разрушаются и поддерживают безмикробное (асептическое) воспаление путем стимуляции продукции каспазы и провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли, IL-1 $\beta$  и IL-18). Вероятно, поэтому зачастую при ХЭ не удается выделить вызвавший данное заболевание инфекционный патоген в результате чего воспаление признается неспецифическим. [6].

Несмотря на большое число вариантов предлагаемого лечения, в настоящее время не существует «универсального» метода терапии.

Целью настоящего исследования является изучение патогенетических особенностей течения хронического воспалительного процесса в эндометрии и разработка персонализированного способа коррекции нарушений репродуктивной функции при хроническом эндометрите, с использованием препарата «Имунофан».

### **Материалы и методы исследования:**

В работе с пациентками соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией ВМА «Этические принципы научных и медицинских исследований с участием человека» (с поправками 2008 года), «Правилами клинической практики в Российской Федерации» (Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ №266 от 19.06.2003 г.), Национальным стандартом РФ «Надлежащая клиническая практика» (2005).

Было изучено состояние здоровья 44 пациенток фертильного возраста, с различными нарушениями репродуктивной функции. Отбор пациенток для исследования осуществлялся в соответствии с критериями включения и исключения.

Критерии включения: фертильный возраст женщины (18-45 лет); ХЭ, подтвержденный гистологическим исследованием; информированное добровольное согласие пациентки, оформленное в письменном виде.

Критерии исключения: аденомиоз, гиперпластические процессы эндометрия; прием комбинированных оральных контрацептивов; наличие внутриматочных контрацептивов в полости матки; постабортный, послеродовой период; наличие опухолевых и опухолевидных образований яичников; хронические инфекционные и аутоиммунные

заболевания; экстрагенитальная патология в стадии декомпенсации; местное или системное использование антибактериальных и/или иммуномодулирующих препаратов менее чем за 3 месяца до настоящего исследования; отказ пациентки от участия в исследовании.

В группу контроля были включены 20 женщин фертильного возраста обратившиеся в отделение экстренной гинекологии с заболеваниями, не связанными с нарушением репродуктивной функции и без гистологически подтвержденного хронического эндометрита.

Оценку клинического состояния пациенток проводили на основе данных обследования, согласно приказу Минздрава России от 01.11.2012 N 572Н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «Акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)».

Всем пациенткам было проведено комплексное обследование, которое включало в себя: подробный сбор анамнеза, общий и гинекологический осмотр, простую и расширенную кольпоскопию, цитологическое исследование мазков с экзо- и эндоцервикса, бактериологическое исследование шейки матки, определение уровня половых гормонов, УЗИ органов малого таза на 5-7 день менструального цикла, а также ультразвуковое исследование с доплерометрией сосудов матки на 5-7 день после овуляции, морфологическое исследование эндометрия, полученного путем пайпель-биопсии на 7-9 день менструального цикла при проведении офисной гистероскопии, определение уровня каспаз 1,3 и интерлейкина 1.

Особое внимание при сборе анамнеза жизни и заболевания уделялось становлению менструальной функции, использованию контрацептивных средств, наличию в прошлом инфекций, передаваемых половым путем и других инфекционных заболеваний. А так же интересовали особенности течения и исходы беременностей, наличие самопроизвольных выкидышей или неразвивающихся беременностей в анамнезе, искусственных абортов, бесплодия. Уточняли наличие гинекологических заболеваний, оперативных вмешательств на органах малого таза.

При гинекологическом осмотре проводили оценку состояния слизистой оболочки влагалища и шейки матки, наличие патологических выделений из половых путей, величину, консистенцию, болезненность матки и придатков.

Эхографическое исследование органов малого таза осуществлялось на ультразвуковом сканере «Logiq 5 pro» (США) всем пациенткам на 5-7 день менструального цикла с помощью конвексных и трансвагинальных датчиков с частотой 2,5-5,5 МГц. Прицельное внимание уделялось эхографическим критериям ХЭ, разработанным В.Н. Демидовым (1993), к которым относятся: утолщение эндометрия, повышение эхогенности эндометрия различной величины и формы в пролиферативную фазу, атрофия эндометрия, неровный контур эндометрия, неоднородная эхоструктура эндометрия, неровность линии смыкания эндометрия передней и задней стенок матки, неравномерное расширение полости матки

в пролиферативную фазу за счет нарушения проницаемости сосудов гиперэхогенные включения в проекции базального слоя, синехии в полости матки, диффузно-очаговые и кистозные изменения субэндометриальной зоне миометрия, расширение вен миометрия >3 мм и параметрия >5 мм [2].

У всех женщин проводилось обследование на генитальную инфекцию для верификации этиологии воспалительного процесса с помощью реагентов для определения ДНК микроорганизмов в биологических образцах. Получение материала осуществляли в соответствии с «Забор, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанными Центральным НИИ эпидемиологии МЗ РФ и утвержденными МЗ РФ (Москва, 2003 г.).

Эндометрий получали путем пайпель-биопсии на 7-9 день менструального цикла. Полученный биоптат фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и заливали в парафин. С каждого парафинового блока получали серийные плоскопараллельные срезы толщиной в 5–7 мкм. Для выполнения гистологических исследований срезы после предварительного депарафинирования окрашивались по общепринятым специальным методикам, изложенным в ряде руководств [1,7,8,9]. Тканевые срезы для проведения обзорной микроскопии окрашивались гематоксилином и эозином. Морфологическое исследование материала осуществляли в световом микроскопе при увеличении от  $\times 70$  до  $\times 1000$  на основании алгоритмизации, обеспечивающей наиболее достоверную верификацию патологического процесса.

Для оценки иммунологических показателей у женщин исследовались показатели уровня каспаз 1, 3 а также IL-1 $\beta$  в биоптате эндометрия. Для определения уровня IL-1 $\beta$  использовались методология и реагенты ЗАО «Вектор-Бест» (п. Кольцово, Новосибирская обл.). Уровень каспаз 1 и 3 определяли в биоптате эндометрия, полученного путём пайпель-биопсии использовали реактивы Cloud-Clone corp.(США).

Исследование концентрации IL-1 $\beta$  и уровня каспаз 1, 3 в тестируемом материале производили согласно инструкциям по применению наборов реагентов для иммуноферментного анализа фирмы-производителя (ЗАО «Вектор-Бест», Россия, Cloud-Clone corp. (США), предназначенных для количественного определения CASP3 сэндвич-методом ИФА в гомогенатах тканей, клеточных лизатах, супернатантах клеточных культур и других биологических жидкостях человека. Определение уровня каспазы 1, каспазы 3 проводили с целью определения их экспрессии в условия патологического состояния эндометрия, обусловленного хроническим воспалением.

Статистическая обработка полученных данных исследования проводилась на персональном компьютере, так же в процессе работы был использован стандартный пакет StatisticaforWindows версия 10, а так же MicrosoftExcel 2003. Достоверность различий между показателями оценивалась при помощи критерия Стьюдента.

Сравнительный анализ пациенток в разных возрастных категориях показал преобладание возрастного интервала 28-32 лет.

Следующим этапом был анализ социально-медицинских характеристик пациенток с хроническим эндометритом. Принималось во внимание образование, занятость, семейное положение.

Анализ социальных данных пациенток в исследуемой группе и группе контроля зависимости от места работы, семейного положения и уровня образования не выявил.

Таблица 1

### Клиническая характеристика обследуемых женщин

Показатель (кол-во женщин)	Группа контроля (n=20)	Исследуемая группа (n=44)
Sterilis I	0	9 (20,5%)
Sterilis II	0	13 (29,5%)
Самопроизвольный выкидыш	3 (15%)	12 (27,3%)
Замершая беременность	1 (5%)	10 (22,7%)
Срочные роды	18 (90%)	23 (52,3%)
Преждевременные роды	2 (10%)	6 (13,6%)
Операции на органах малого таза в анамнезе*	12 (60%)	25 (56,8%)
ИППП в анамнезе	5 (25%)	14 (31,8%)

\* за исключением операций проведенных для данной работы

### Проведенное лечение

Комплексный метод лечения подразумевает под собой использование этиопатогенетической фармакотерапии с назначением циклической гормональной терапии, препаратов улучшающих микроциркуляцию, антикоагулянтов, препарата «Имунофан» (аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинин (arginil-alfa-aspartil-lysil-valil-tyrosil-arginine) в виде вагинальных свечей с целью иммунокоррекции, и физиотерапевтическое воздействие на область живота трех физических факторов (от аппаратов Радиус 01, электрофорез с грязевыми прокладками Милта и УЗТ-01), следующих один за другим в течение 10 минут ежедневно на курс 10-12 процедур, начиная с 5 по 7 день менструального цикла.

«Имунофан» относится к группе иммуномодулирующих лекарственных средств. Иммунная недостаточность является важным патогенетическим фактором, способствующим развитию ХЭ, развивающегося на фоне дезадаптации иммунной системы и вторичного иммунного дефицита. Фармакологическое действие препарата основано на достижении 3 основных эффектов: коррекции иммунной системы, восстановления баланса окислительно-антиокислительной реакции организма и ингибирования множественной лекарственной устойчивости, опосредованной белками трансмембранного транспортного насоса клетки.

Действие препарата проявляется в течение 2–3 часов после введения (быстрая фаза) и длится на протяжении 4 месяцев (средняя и медленная фазы). Быстрая фаза начинается через 2–3 часа после применения Имунофана и длится до 2–3 дней. Прежде всего, она

характеризуется детоксикационным эффектом, нормализации процессов перекисного окисления липидов и усилении антиоксидантной защиты посредством активизации синтеза лактоферрина и церулоплазмينا и стимуляции активности каталазы. Средняя фаза после введения препарата начинается через 2–3 дня и длится до 7–10 дней. В этот период усиливаются реакции фагоцитоза, и происходит гибель внутриклеточных бактерий и вирусов. Медленная фаза начинается на 7–10-й день и длится около 4 месяцев. В это время отмечается иммунорегуляторный эффект Имунофана, который способствует восстановлению нарушенных параметров гуморального и клеточного иммунитета. Также наблюдается активизация продуцирования специфических антител, и нормализуется иммунорегуляторный индекс.

## Обсуждение полученных результатов

Анализируя исследуемые нами показатели для интерпретации полученных результатов лечения женщин с ХЭ использовались следующие данные:

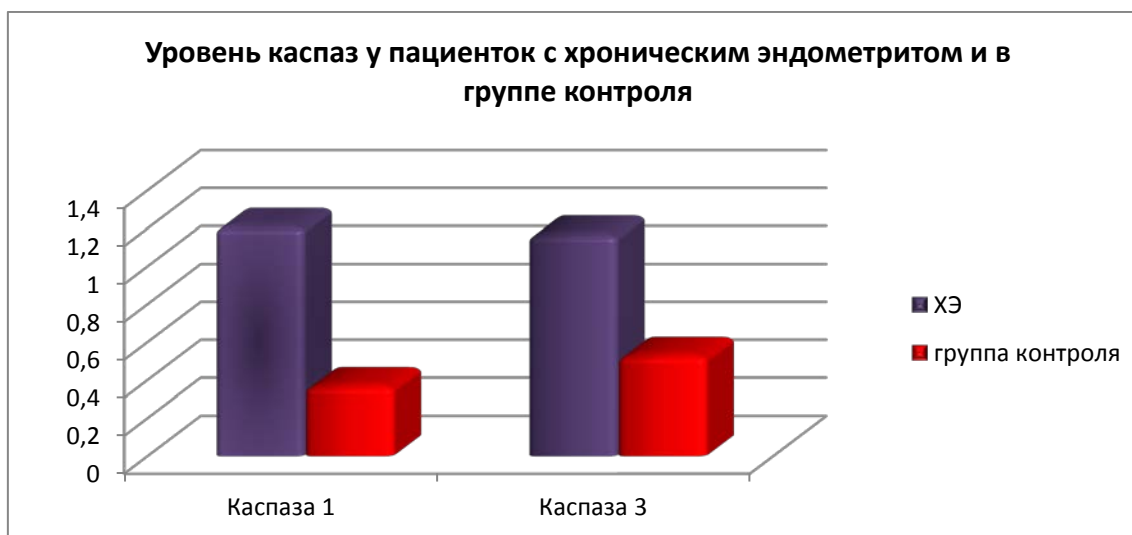
Таблица 2

Уровень исследуемых показателей у пациенток с ХЭ

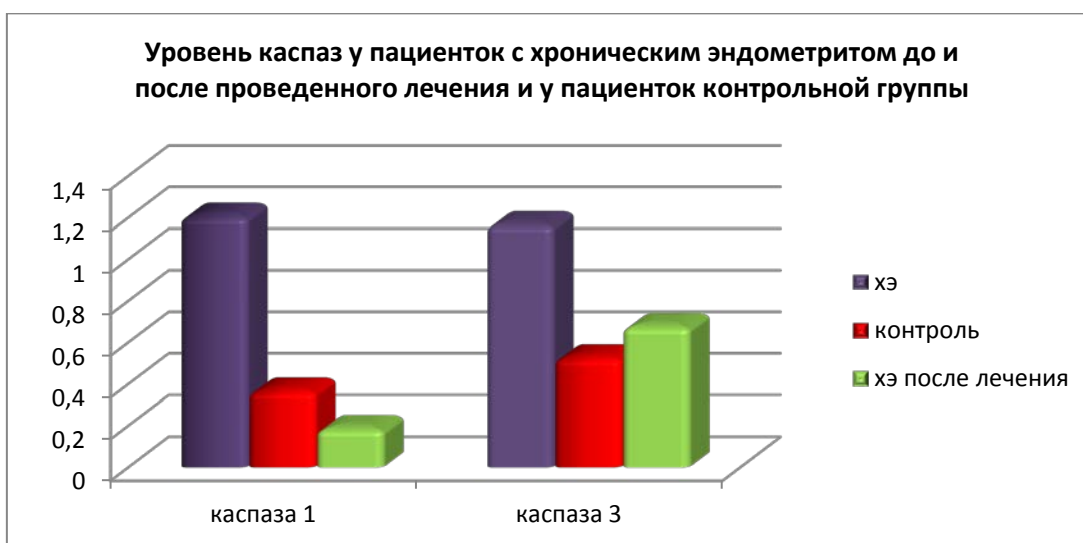
	IL-1 $\beta$		Каспаза 1		Каспаза 3	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Группа контроля	12,4 $\pm$ 1,68		0,37 $\pm$ 0,19*		0,53 $\pm$ 0,29**	
Исследуемая группа	14,02 $\pm$ 7,0	11,06 $\pm$ 5,2	1,21 $\pm$ 0,65*	0,19 $\pm$ 0,10*	1,17 $\pm$ 0,49**	0,68 $\pm$ 0,20**

\* p $\leq$ 0,05, \*\* p $\leq$ 0,01

Примечание: Оценка статистической достоверности изменений активности каспазы 1 и 3 проводилась в соответствии с критериями Уилкоксона-Манна-Уитни. Символом \* и \*\* маркированы группы, в которых активность каспаз достоверно отличается от группы контроля (различия полагаются достоверными с p < 0,05).



Значения исследуемых показателей в исследуемой группе до проведенного лечения выше, чем в группе контроля, что подтверждает наличие воспалительного процесса (IL-1 $\beta$ , Каспаза 1) и усиление процессов апоптоза (Каспаза 3).



Анализируя полученные результаты, возможно сделать вывод о положительном результате проведенного лечения на основании:

- снижения уровня Каспазы 1 и ИЛ 1, что свидетельствует о снижении активности воспалительного процесса в эндометрии
- снижения уровня Каспазы 3, свидетельствующее о снижении чрезмерной активности процессов апоптоза, что приводит к нормализации пролиферации клеток в эндометрии.

### **Эффективность предлагаемого лечебного метода.**

Одним из основных критериев эффективности комплексного фармако-физиотерапевтического лечения хронического эндометрита с использованием препарата «Имунофан» у женщин репродуктивного возраста следует считать возможность получить желаемую беременность и родить здорового ребенка.

В течение 3-6 месяцев после проведенного курса лечения у 29 (65,9%) женщин исследуемой группы наступила беременность (при этом ни одна из них не прервалась), что говорит об эффективности комплексного лечения с использованием «Имунофана».

### **Заключение.**

Таким образом, предложенный комплексный лечебный метод фармако-физиотерапевтической коррекции при бесплодии и невынашивании беременности с использованием препарата «Имунофан» может быть использован в арсенале коррекционных способов этиопатогенетической терапии хронического эндометрита.

## Список используемой литературы:

1. Автандилов, Г.Г. Основы патологоанатомической практики: руководство / Г.Г. Автандилов. – М.: РМАПО, 1994. – 512 с.
2. Демидов, В.Н. Эхографические критерии хронического эндометрита /В.Н. Демидов // Ультразвуковая диагностика в акушерстве, гинекологии и перинатологии. – 1993. – № 4. – С. 21–27.
3. Дубницкая, Л.В. Хронический эндометрит: возможности диагностики и лечения / Л.В. Дубницкая, Т.А. Назаренко // Consilium Medicum. – 2007. - № 9 (6). – С. 45–52.
4. Кузнецова А.В. Хронический эндометрит/ А.В. Кузнецова// Архив патологии. – 2000. – Т.62. – №3. – С. 48–52.
5. Кузнецова А.В. Морфологические особенности хронического эндометрита/А.В. Кузнецова, С.В. Пауков, И.Н. Волощук, Е.М. Демидова, С.М. Казарян// Архив патологии. – 2001. –№5. – С. 8–13.
6. Кузнецова А.В., Пауков В.С., Волощук И.Н. и др. Изменения компонентов внеклеточного матрикса и его регуляторов в эндометрии женщин с хроническим невынашиванием, беременности // Арх. патол. – 2002. – Вып. 1. – С. 18-22.
7. Лили, Р. Д. Патогистологическая техника и практ. гистохимия / Р. Д. Лили. – Москва, 1969. – 645 с.
8. Пирс, Э. Гистохимия. Теоретическая и прикладная: пер. с англ. / Э. Пирс. – Москва: Иностран. лит-ры, 1962. – 962 с.
9. Саркисов, Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Петров. – Москва, 1996. – 554 с.
10. Унанян, А.Л. Хронический эндометрит: этиопатогенез, диагностика, клиника и лечение. Роль антифиброзирующей терапии. / А.Л. Унанян, Ю.М. Коссович // Лечащий врач. – 2012. – № 11. – С. 35–40.
11. Шуршалина, А.В. Клинико-морфологические особенности хронического эндометрита у женщин с нарушением репродуктивной функции: дис. д-ра мед. наук: 14.01.01 / Шуршалина Анна Владимировна. – М., 2007. – 280 с.
12. Шуршалина, А.В. Роль хронического эндометрита в развитии патологии репродуктивной функции / А.В. Шуршалина // Российский медицинский журнал. – 2007. - № 4. –С. 25-27.
13. Adegboyega, P.A. Relationship between eosinophils and chronic endometritis / P.A. Adegboyega, Y. Pei, J. McLarty // Hum Pathol. – 2010. – Vol. 41. – P. 33 – 37
14. Bayer-Garner, I.B. Plasma cells in chronic endometritis are easily identified when stained with syndecan-1 / I.B. Bayer-Garner, S. Korourian // Mod. Pathol. – 2001. – Vol. 14. – P. 877–879.
15. Buckley C.H. Biopsy pathology of the endometrium / C.H. Buckley, H. Fox // NY.: Arnold, 2002.;
16. Calucci L. Effects of gammairradiation on the free radical and antioxidant contents in nine aromatic herbs and spices / L. Calucci, C. Pinzino, M. Zandomenighi, A. Capocchi, S. Ghirin – ghelli, F. Saviozzi, S.Tozzi, L. Galleschi // J. Agric. Food. Chem. – 2003. – Vol.12. – N4. – P. 927–934.



17. Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilisation / E.B. Johnston-MacAnanny [ et al.] // Fertil. Steril. – 2010. – Vol. 93 (2). – P. 437–441.;
18. Romero, R. Can endometrial infection/inflammation explain implantation failure, spontaneous abortion, and preterm birth after in vitro fertilization? / R. Romero, J. Espinoza, M. Mazor // Fertil. Steril. – 2004. – Vol. 82. – P. 799–804.
19. Sharkey, A.M. The endometrium as a cause of implantation failure /A.M. Sharkey, S.K. Smith//Best Practis and Reseach Clin. Obstet. and Gynecol. – 2003. – Vol. 17 (2). – P. 289-307.