

ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ЛОКАЛЬНОГО ИММУННОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОК С ХРОНИЧЕСКИМ ЭНДОМЕТРИТОМ

Боровиков И.О., Кравцова Е.И., Булгакова В.П., Боровикова О.И.,
Бирюкова М.И.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Краснодар, Россия

Резюме. Наиболее частой причиной повторных неудач имплантации при проведении экстракорпорального оплодотворения является хронический эндометрит с нарушением рецептивности эпителиального слоя полости матки — «тонким» эндометрием. Хроническое воспаление, сопровождающееся аутоиммунными реакциями слизистой, может приводить к извращению иммунного ответа лимфоцитарных клеток с изменением каскада цитокиновых реакций, что препятствует результативности проведения деконтаминационной терапии и в дальнейшем способствует невозможности реализации репродуктивной функции пациенток. В статье рассмотрен опыт комплексной предимплантационной подготовки пациенток с повторными неудачами имплантации обусловленными хроническим эндометритом на фоне внутриматочного введения кавитированного раствора рекомбинантного интерлейкина-2 (rIL-2).

Цель исследования — оценка изменений локального иммунного статуса у пациенток с хроническим эндометритом и повторными неудачами имплантации при комплексной подготовке к протоколу экстракорпорального оплодотворения с применением кавитированного раствора rIL-2.

Проведено исследование изменений иммунного статуса полости матки пациенток с повторными неудачами имплантации на фоне хронического эндометрита при комплексной подготовке к экстракорпоральному оплодотворению размороженными эмбрионами (n = 82) — контрольная группа женщины с бесплодием с нормальной толщиной эндометрия (М-эхо более 7 мм), которым был исключен диагноз «хронический эндометрит» (n = 30). Проводимая комплексная терапия: деконтаминационная и контаминационная; заместительная гормональная терапия; внутриматочная ультразвуковая кавитация раствора rIL-2. Проведена динамическая оценка локального иммунитета биоптата эндометрия с анализом основных фракций иммунокомпетентных лимфоидных клеток, морфологического состава, фагоцитарных реакций и цитокинового статуса.

Анализ показателей статуса иммунокомпетентных клеток и цитокинового профиля эндометрия пациенток с хроническим эндометритом свидетельствует о возможной Th2-девиации локального иммунного ответа, с изменением соотношения цитокинов, приводящих к нарушениям молекулярных,

Адрес для переписки:

Боровиков Игорь Олегович
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
350063, Россия, г. Краснодар,
ул. им. Митрофана Седина, 4.
Тел.: 8 (909) 443-77-66.
E-mail: bio2302@mail.ru

Address for correspondence:

Igor O. Borovikov
Kuban State Medical University
4 Mitrofan Sedin St
Krasnodar
350063 Russian Federation
Phone: +7 (909) 443-77-66.
E-mail: bio2302@mail.ru

Образец цитирования:

И.О. Боровиков, Е.И. Кравцова, В.П. Булгакова, О.И. Боровикова, М.И. Бирюкова «Возможности коррекции локального иммунного статуса у пациенток с хроническим эндометритом» // Медицинская иммунология, 2024. Т. 26, № 2. С. 367-378.
doi: 10.15789/1563-0625-OFC-2590

© Боровиков И.О. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

I.O. Borovikov, E.I. Kravtsova, V.P. Bulgakova, O.I. Borovikova, M.I. Biryukova "Options for correction of local immune status in patients with chronic endometritis", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2024, Vol. 26, no. 2, pp. 367-378.

doi: 10.15789/1563-0625-OFC-2590

© Borovikov I.O. et al., 2024

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-OFC-2590

субклеточных и клеточных структур, что в совокупности с колебаниями активности других компонентов гомеостаза полости матки и определяет рецидивирующее течение заболевания с нарушением морфологии эндометрия. Предимплантационная подготовка с внутриматочным орошением кавитированным раствором rIL-2 у пациенток с повторными неудачами имплантации на фоне хронического эндометрита, способствует улучшению показателей локального иммунного статуса, более эффективно (в среднем в 2 раза) по сравнению с группой классической подготовки к экстракорпоральному оплодотворению размороженными эмбрионами, воздействуя на пролиферативные процессы в эпителии полости матки, способствуя увеличению имплантационного потенциала эндометрия и наступлению клинической беременности.

Ключевые слова: хронический эндометрит, повторные неудачи имплантации, локальный иммунный статус, предимплантационная подготовка, rIL-2, внутриматочная кавитация

OPTIONS FOR CORRECTION OF LOCAL IMMUNE STATUS IN PATIENTS WITH CHRONIC ENDOMETRITIS

Borovikov I.O., Kravtsova E.I., Bulgakova V.P., Borovikova O.I., Biryukova M.I.

Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Abstract. Chronic endometritis with impaired receptivity of uterine cavity epithelium (the “thin” endometrium) is considered the most common cause of recurrent implantation failures during *in vitro* fertilization (IVF). Chronic inflammation, accompanied by autoimmune mucosal reactions, may lead to a perverse immune response of lymphocytic cells with altered cascade of cytokine reactions, thus preventing efficiency of decontamination therapy, followed by potential inability to perform reproductive function in the patients. The article concerns our experience of complex preimplantation preparation of patients with recurrent implantation failures caused by chronic endometritis during a course of intrauterine administration of cavitated solution of recombinant interleukin 2 (rIL-2). Our aim was to assess some changes in local immune status in the patients with chronic endometritis and repeated implantation failures during complex preparation for the IVF procedure, using a cavitated solution of rIL-2.

A study of the local immune changes of uterine cavity in the patients with recurrent implantation failures suffering with chronic endometritis was carried out under complex preparation for IVF with thawed embryos (n = 82). A control group included the infertile women with normal endometrial thickness (> 7 mm at M-echo), with excluded diagnosis of chronic endometritis (n = 30). Complex therapy included decontamination and contamination; hormone replacement therapy; intrauterine ultrasonic cavitation of rIL-2 solution. Dynamic assessment of the local immunity was tested in the endometrial biopsies. We performed analysis of the main subpopulations of immune lymphoid cells, morphological composition, phagocytic responses and cytokine status.

The state of immunocompetent cells and cytokine profile of endometrial samples in the patients with chronic endometritis indicates a possible Th2 shift of the local immune response, with changing ratio of cytokines leading to impaired molecular, subcellular and cellular structures, which, along with fluctuating activity of other components of uterine cavity homeostasis, may determine a recurrent course of the disease with impaired endometrial morphology. Preimplantation preparation with intrauterine irrigation with a cavitated solution of rIL-2 in patients with recurrent implantation failures accomplished by chronic endometritis helps to improve the indices of local immunity, being more effective (an average of twofold), compared with the group of conventional preparation for IVF with thawed embryos. The treatment may promote the proliferative processes in epithelium of the uterine cavity thus contributing to increased potential of endometrium for implantation and occurrence of clinical pregnancy.

Keywords: chronic endometritis, repeated implantation failures, local immune status, pre-implantation preparation, rIL-2, intrauterine cavitation

Введение

Рецидивирующая имплантационная недостаточность, или так называемые «повторные неудачи имплантации» (RIF), является одним из наиболее важных факторов неудач вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и характеризуется отсутствием имплантации после переноса полноценных эмбрионов в эндометрий по меньшей мере тремя циклами экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). После того, как большинство барьеров супружеской infertility были преодолены, именно RIF становится основным препятствием к реализации репродуктивной функции, вызывая стресс и разочарование [1]. Тем более актуальным становится поиск причин, способствующих имплантационным неудачам, среди которых наиболее важным считается воспалительный фактор, связанный с длительным персистированием микрофлоры в полости матки [1, 2].

Хронический эндометрит (ХЭ) характеризуется длительным инфекционным повреждением эпителия полости матки со структурными и функциональными изменениями, способствующими нарушению его циклической трансформации и рецептивности [3, 4]. Эпидемиология распространенности ХЭ в популяции до сих пор не определена, что связано с трудностями диагностики, латентным течением и скрытой клинической картиной — основным проявлением ХЭ в большинстве случаев является infertility [5]. В РФ ХЭ регистрируется также в широких пределах — от 0,2% до 66,3% случаев гинекологической патологии среди женщин фертильного возраста [5, 6].

В последние годы значительное внимание уделяется расширению понимания роли про- и противовоспалительных факторов в процессах нарушения имплантационных свойств эндометрия [7, 8, 9]. Иммунные аномалии, гиперкоагуляция и нарушения синтеза половых гормонов на фоне хронической воспалительной реакции служат потенциальными причинами имплантационных неудач [1, 10]. При этом локальные аутоиммунные девиации с изменением соотношения Th1/Th2 регуляторных лимфоцитарных клеток и, тем самым способствуя дисбалансу естественных клеток-киллеров и макрофагов маточного эпителия, изменения в клетках оксидативных и цитобioхимических процессов, могут напрямую влиять на успешность имплантации [9, 10, 11].

Лечение ХЭ, как и любого инфекционно-воспалительного процесса, основывается на деконтаминационной антибактериальной терапии, которая, по появившимся в последнее время публикациям, малоэффективна при проведении предимплантационной подготовки пациенток

с неудачами имплантации [2, 4, 12]. Поиск новых методов патогенетического воздействия на эпителий эндометрия, таких как ХГЧ, высокие дозы эстрадиола, антиоксидантная, витаминотерапия, попытки улучшения кровоснабжения эндометрия, скрэтчинг, введение гранулоцитарного колониестимулирующего фактора и стволовых клеток давали неоднозначный эффект [12, 13, 14, 15]. В связи с чем перспективным представляется исследование изменений локального иммунного статуса у пациенток с ХЭ и RIF, а также изучение фармакотерапевтического топического воздействия на него рекомбинантного интерлейкина-2 (rIL-2).

Цель исследования — оценить изменения локального иммунного статуса у пациенток с хроническим эндометритом и повторными неудачами имплантации при комплексной подготовке к протоколу экстракорпорального оплодотворения с применением кавитированного раствора rIL-2.

Материалы и методы

Дизайн исследования

Проспективное рандомизированное исследование с участием пациенток с хроническим эндометритом и повторными неудачами имплантации, включенными в протокол ЭКО с переносом размороженного эмбриона (РЭ) ($n = 82$) (средний возраст — $33,2 \pm 4,9$ лет; средний возраст менархе — $11,5 \pm 1,3$ года, полового дебюта — $17,4 \pm 1,4$ года; интервал от менархе до сексуального дебюта — $3,5 \pm 1,5$ года) выполнено на клинических базах кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии Кубанского государственного медицинского университета (КубГМУ) (заведующая кафедрой — д.м.н., профессор Куценко И.И.): (время проведения: 07.2020 — 08.2022 гг.). Обследование пациенток проводили согласно приказу Министерства здравоохранения РФ № 803н от 31.07.2020 г. Критерии включения: 1) диагностированный ХЭ с 2 и более неудачными попытками ЭКО в анамнезе; 2) толщина эндометрия < 7 мм; 3) возраст ≤ 35 лет на момент включения в исследование; 4) отсутствие противопоказаний для проведения программы ЭКО (Приказ МЗ РФ № 803н); 5) согласие на проведение исследования. Критерии исключения: внутриматочные синехии, аденомиоз и туберкулез эндометрия, пороки развития матки. Контрольную группу (иммунологический контроль) составили женщины ($n = 30$) с формами бесплодия, не связанными с маточным фактором, нормальной толщиной эндометрия (М-эхо > 7 мм) и исключенным диагнозом «хронический эндометрит». Критерии постановки диагноза «хронический эндометрит»: анамнестические данные (бесплодие, RIF), гистероскопия (визуализация участков

гипертрофированной отечной слизистой матки и воспалительных инфильтратов), морфология и иммуногистохимическое исследование — обнаружение в биоптате эндометрия плазматических клеток ($CD138^+ \geq 3$).

Методом слепой выборки получено две репрезентативные группы: I группа ($n = 42$) — подготовка к ЭКО-РЭ — деконтаминационная/контаминационная терапия: перорально доксициклин (100 мг, 2 раза/день, 12 дней), секнидазол (200 мг однократно) и миконазол (200 мг интравагинально, 1 раз/день, 7 дней); контаминация — пробиотик, с культурой *Lactobacillus casei rhamnosus Doderleini* (интравагинально 14 дней); II группа ($n = 40$) — подготовка, аналогичная I группе, с внутриматочным ультразвуковым орошением полости матки кавитированным раствором rIL-2 — аппарат «Фотек АК101» (стабильность rIL-2 под воздействием УЗ-колебаний при кавитации определялась на базе медицинского центра «МедЛаб», СПб): 1000000 МЕ rIL-2 на 10 мл 0,9%-ного раствора NaCl — концентрация 0,10 мг/мл (100000 МЕ/мл), затем небулайзером получали мелкодисперсную аэрозольную взвесь для орошения полости матки (3 раза через день). Заместительная гормональная терапия: гестагенная поддержка — препараты микронизированного прогестерона вагинально со дня переноса эмбриона; эстрогенная поддержка — препарат 17 β -эстрадиола (со 2-3-го дня менструального цикла).

Исследование состояния местных параметров иммунной системы эндометрия включало: цитохимические показатели клеток мононуклеарно-фагоцитарной системы — цитохимическим методом выявляли активность миелопероксидазы (МПО), кислой фосфатазы (КФ) и неспецифической эстеразы (НЭ) макрофагов (клетки по степени активности фермента делили на 4 группы с вычислением среднего цитохимического показателя (СЦП)); субпопуляционный состав лимфоидных клеток с идентификацией кластерной принадлежности (реакции прямой и непрямой иммунофлуоресценции с регистрацией результатов на проточном цитофлуориметре) — $CD3^+$ — все Т-лимфоциты; $CD4^+$ — Т-лимфоциты хелперы-индукторы, $CD8^+$ — Т-лимфоциты цитотоксические, $CD19^+$ — все В-лимфоциты, $CD16^+CD56^+$ — естественные клетки киллеры (NK-клетки), $CD25^+$ — лимфоциты, несущие рецепторы к IL-2; HLA-DR $^+$ — активационный рецептор, $CD20^+$ — В-лимфоциты, $CD138^+$ — плазматические; концентрацию цитокинов IL-1 β , IL-8, TNF α , IFN γ , IL-4, IL-6, IL-10, TGF- β в биоптате эндометрия определяли при проведении гистероскопии (5-7-й ДМЦ) и при биопсии (после окончания терапии) твердофазным иммунофер-

ментным методом (ТИФА) с использованием наборов (Caltag Laboratories, США) и расчетом противовоспалительного индекса (ПВИ) — отношение IL-6/IL-10.

Исследования проводились в соответствии с принципами предъявляемыми Хельсинкской декларацией ВМА (Fortaleza, Brazil, 2013), законом «Об обращении лекарственных средств» (№ 61, 2010) и принципами «Надлежащей клинической практики» (Good Clinical Practice (GCP), Astana, 2016) и правилами клинической практики в Российской Федерации (Приказ МЗ РФ № 200н, 2016). Участники исследования были ознакомлены с целями, дизайном и основными положениями исследования и подписали письменно оформленное информированное согласие на участие, публикацию его результатов в открытой печати. План исследования был одобрен этическим комитетом КубГМУ (выписка из протокола локального этического комитета № 18 от 12.09.2020 г.).

Статистический анализ данных проводился с помощью программного обеспечения SPSS 24.0 (IBM Corp., США). Непрерывные переменные были представлены как SD — среднее квадратичное отклонение: качественные в виде абсолютных (n) и относительных (%) величин. Критерий Пирсона (χ^2) для сопоставления нескольких эмпирических распределений одного и того же признака использовался для сравнения категориальных данных; переменные, не соответствующие критериям Пирсона, сравнивались критериями Фишера (F) ($p < 0,05$ был признан статистически значимым).

Результаты

Базовые характеристики пациенток были сходными в группах (табл. 1). Длительность бесплодия в основной группе в среднем составила $5,0 \pm 1,75$ года (95% ДИ 2,0; 9,0), в контрольной — $4,6 \pm 1,6$ года (95% ДИ 2,0; 7,0), первичное бесплодие было у 35,4% (29/82) пациенток основной и 35,0% (11/30) контрольной группы.

Морфология биоптатов эндометрия, полученных в «окно имплантации» естественного цикла, зарегистрировало преобладание поздней стадии фазы секреторной трансформации в основной группе с количеством зрелых пиноподий в поверхностном эпителии менее 20% у $75,9 \pm 2,1\%$ пациенток (в группе контроля большинство женщин (86,7%) имели более 40% зрелых пиноподий) ($\chi^2 = 139,607$; $p < 0,01$) (рис. 1).

Сравнительная оценка клеточного состава аспирата эндометрия пациенток с ХЭ и RIF выявила значимые отличия: у пациенток основной группы зарегистрировано снижение количества Т-лимфоцитов ($CD3^+$) за счет относительной и, в особенности, абсолютной концентрации

ТАБЛИЦА 1. АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ ПАЦИЕНТОК

TABLE 1. ANAMNESTIC DATA OF PATIENTS

Характеристики Characteristics	I группа Group (n = 42)		II группа Group (n = 40)		Контроль Control (n = 30)		χ^2
	М	±SD	М	±SD	М	±SD	
Возраст (лет) Age (years)	34,2	5,8	32,9	5,6	33,4	4,2	0,026
ИМТ (кг/см ²) BMI (kg/cm ²)	26,3	3,9	25,9	2,6	26,1	2,4	0,004
Репродуктивный анамнез Reproductive history							
Средний возраст менархе Average age of menarche	11,9	1,3	11,8	1,2	11,8	1,2	0,000
Возраст полового дебюта Age of sexual debut	17,2	1,7	16,9	1,4	17,4	1,6	0,249
Длительность бесплодия (лет) Duration of infertility (years)	5,1	1,7	4,9	1,8	4,6	1,6	0,081
Количество неудачных ВРТ Number of unsuccessful ART	3,4	1,1	3,5	1,1	1,2	0,2	12,518**
Толщина эндометрия (мм) Endometrial thickness (mm)	6,7	0,4	6,7	0,4	8,1	1,0	1,142
Бесплодие Infertility	n	%	n	%	n	%	
Первичное Primary	15	35,7	14	35,0	11	36,7	0,064
Вторичное Secondary	27	64,3	26	65,0	19	63,3	

Примечание. ** – статистическая значимость различий показателя $p < 0,01$.

Note. **, statistical significance of differences in $p < 0.01$.

Т-хелперов (CD4⁺) при 3-4-кратном повышении цитотоксических Т- (CD8⁺) и В-лимфоцитов (CD19⁺), и, соответственно, соотношения CD4⁺/CD8⁺, которое у пациенток с ХЭ было достоверно (в 4 раза – $p < 0,01$) более низким по сравнению с контрольной группой (табл. 2).

Кроме этого, в основной группе отмечено снижение доли субпопуляции Т-regs (регуляторных лимфоцитов, несущих одновременно поверх-

ностные антигены CD4⁺, CD25⁺ и FoxP3, контролирующей иммунный ответ с торможением активации цитокинов и медиаторов воспаления, поддерживающей толерантность к имплантирующейся бластоцисте) в общей популяции CD4⁺, и лимфоцитов, несущих мембранный рецептор к IL-2 (CD25⁺) – в 3 раза, на фоне повышения (в 2,0 раза) количества HLA-DR-положительных лимфоцитов, которые отражают активационные

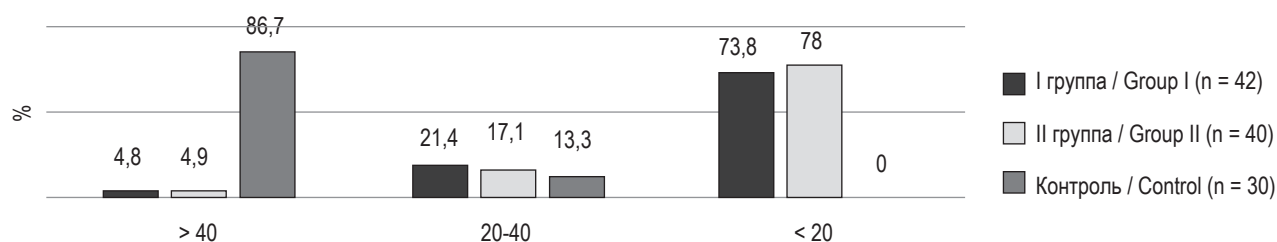


Рисунок 1. Биоптаты со зрелыми пиноподиями

Figure 1. Biopsy specimens with mature pinopodies

ТАБЛИЦА 2. СОСТАВ ЛИМФОИДНЫХ КЛЕТОК ЭНДОМЕТРИЯ

TABLE 2. COMPOSITION OF ENDOMETRIAL LYMPHOID CELLS

Группы / Показатели Groups / Indicators		Основная Main (n = 82)		Контроль Control (n = 30)		χ^2
		M	s	M	s	p
CD3 ⁺	%	26,8	9,5	53,2	10,1	8,064**
	абс. × 10 ⁹ /л abs. × 10 ⁹ /L	0,49	0,09	1,24	0,03	
CD4 ⁺	%	29,8	6,5	39,6	5,2	1,116
	абс. × 10 ⁹ /л abs. × 10 ⁹ /L	0,44	0,05	1,45	0,2	
CD8 ⁺	%	56,4	3,4	18,8	4,9	17,814**
	абс. × 10 ⁹ /л abs. × 10 ⁹ /L	0,55	0,05	1,74	0,04	
CD4 ⁺ /CD8 ⁺		0,53	0,1	2,11	0,1	93,368**
CD25 ⁺	%	4,9	1,4	14,7	2,4	3,952*
	абс. × 10 ⁹ /л abs. × 10 ⁹ /L	0,07	0,003	0,32	0,02	
CD16 ⁺ CD56 ⁺	%	10,3	1,1	15,6	0,3	0,714
	абс. × 10 ⁹ /л abs. × 10 ⁹ /L	0,13	0,08	0,37	0,01	
CD19 ⁺	%	32,6	4,6	10,2	0,9	10,7**
	абс. × 10 ⁹ /л abs. × 10 ⁹ /L	0,83	0,10	0,36	0,01	
HLA-DR ⁺	%	9,2	1,5	4,7	0,2	0,88
	абс. × 10 ⁹ /л abs. × 10 ⁹ /L	0,19	0,05	0,10	0,01	

Примечание. % – доля CD⁺ клеток от общего числа лимфоцитов. * – статистическая значимость различий показателя $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

Note. %, the proportion of CD⁺ cells in the total number of lymphocytes. *, statistical significance of differences in $p < 0.05$;

**, $p < 0.01$.

потенции соответствующих лимфоцитарных пулов – снижения с преимущественной Th1-потенцией и активацией Th2-поляризованных лимфоцитов. Данные изменения состава лимфоидных клеток потенциально могут провоцировать аутоиммунные реакции, препятствующие успешной имплантации. Также в основной группе отмечено снижение (недостовверное – $p > 0,05$) концентрации НК-клеток (CD16⁺CD56⁺) и нейтрофильных лейкоцитов (CD68⁺) (достоверно – $p < 0,05$), что говорит о низкой цитотоксической активности эпителия полости матки, хотя считается, что для обеспечения нормального процесса имплантации количество этих клеток в первую фазу менструального цикла должно повышаться.

Фагоцитарные реакции в эндометрии пациенток с ХЭ характеризуются статистически значимым увеличением доли макрофагов (в абсолютном количестве среднее увеличение составило 5,9 раза) ($\chi^2 = 5150,916$; $p < 0,01$) с нарушением их

поглощательной способности, что характерно для изменений, связанных с воздействием эндотоксинов (антифагоцитарных факторов) анаэробной микрофлоры и образованием хронических форм (табл. 3).

По количеству пероксидазоположительных макрофагов можно опосредовано судить о защитной активности эндометрия – активность миелопероксидазы (МПО) у пациенток основной группы была в 3,5 раза ниже группы контроля ($\chi^2 = 60,278$; $p < 0,01$). Активность кислой фосфатазы (КФ), также отвечающей за бактерицидный ответ макрофагов, в основной группе достоверно не отличалась от контроля ($\chi^2 = 2,81$; $p > 0,05$), а неспецифическая эстераза (НЭ), обладающая субактивационными свойствами для макрофагов, в основной группе находилась на достоверно более низком уровне (уменьшение в 3,1 раза) ($\chi^2 = 32,826$; $p < 0,01$) (табл. 4).

ТАБЛИЦА 3. ФАГОЦИТАРНАЯ ЗАЩИТА ЭНДОМЕТРИЯ

TABLE 3. PHAGOCYTIC PROTECTION OF THE ENDOMETRIUM

Группы / Показатели Groups / Indicators		Основная Main (n = 82)		Контроль Control (n = 30)		χ^2
		М	с	М	с	
Фагоциты Phagocytes		6118,1	49,4	17041,2	409,4	5150,916**
Нейтрофилы Neutrophils	абс. abs.	5486,2	91,7	15283,9	311,5	4620,426**
	%	95,1	2,9	84,8	2,8	0,48
Фагоцитарное число Phagocytic number		0,8	0,1	0,4	0,1	12,676**
Фагоцитарный индекс Phagocytic index		1,7	0,24	1,7	0,9	0,0
Макрофаги Macrophages	абс. abs.	389,4	78,1	2301,1	403,7	1357,592**
	%	6,4	1,9	14,2	2,5	2,244
Фагоцитарное число Phagocytic number		0,6	0,1	0,2	0,1	19,012**
Фагоцитарный индекс Phagocytic index		1,8	0,4	1,0	0,4	1,75

Примечание. ** – статистическая значимость различий показателя $p < 0,01$.

Note. **, statistical significance of differences in $p < 0.01$.

Анализ локального цитокинового статуса эндометрия у пациенток с ХЭ показал, что концентрация основного макрофагального цитокина (IL-1 β) была почти в 3 раза ниже, чем в группе контроля (разница между группами статистически значимая – $\chi^2 = 12,054$; $p < 0,01$). Регуляторный полифункциональный цитокин IL-6, оказывающий, в определенных условиях, блокирующее действие на синтез IL-1 β и TNF α , был значимо выше группы контроля ($\chi^2 = 6,638$; $p < 0,01$). Концентрация TNF α в основной груп-

пе имела тенденцию к повышению ($\chi^2 = 19,134$; $p < 0,01$), а IFN γ – в 2 раза ниже ($\chi^2 = 21,93$; $p < 0,01$), как и IL-4, одного из основных противовоспалительных цитокинов, влияющего на активацию В-лимфоцитов и блокирующего синтез провоспалительных цитокинов – в 1,5 раза ниже – недостоверно ($\chi^2 = 1,55$; $p > 0,05$). Несмотря на то, что концентрация IL-10 в аспирате эндометрия пациенток с ХЭ характеризовалась высокой вариабельностью значений (коэффициенты вариации достигали 25%), она была значи-

ТАБЛИЦА 4. АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ МАКРОФАГОВ ЭНДОМЕТРИЯ (СЦП)

TABLE 4. ACTIVITY OF ENDOMETRIAL MACROPHAGE ENZYMES (MCI)

Группы / Показатели Groups / Indicators		Основная Main (n = 82)		Контроль Control (n = 30)		χ^2
		М	с	М	с	
Миелопероксидаза Myeloperoxidase		152,4	12,1	42,9	4,3	60,278**
Кислая фосфатаза Acid phosphatase		131,7	5,9	97,5	10,1	2,81
Неспецифическая эстераза Non-specific esterase		98,6	8,1	32,1	4,3	32,826**

Примечание. ** – статистическая значимость различий показателя $p < 0,01$.

Note. **, statistical significance of differences in $p < 0.01$.

ТАБЛИЦА 5. АКТИВНОСТЬ ОСНОВНЫХ КЛАССОВ ЦИТОКИНОВ СЕКРЕТА ПОЛОСТИ МАТКИ

TABLE 5. ACTIVITY OF THE MAIN CLASSES OF CYTOKINES OF THE SECRETION OF THE UTERINE CAVITY

Показатели (пг/мл) Indicators (pg/mL)	Основная Main (n = 82)		Контроль Control (n = 30)		χ^2
	М	с	М	с (95% ДИ) s (95% CI)	
IL-1 β	13,4	5,3	39,7	5,4 (15,14-45,90)	12,054**
IL-2	31,4	4,1	26,1	4,9 (11,9-29,1)	0,322
IL-6	119,1	5,9	81,6	9,8 (81,0-98,1)	6,638**
TNF α	64,4	7,3	22,6	6,4 (13,8-34,3)	19,134**
IFN γ	31,5	4,4	82,5	4,0 (16,1-30,3)	21,93**
IL-4	17,1	2,6	26,3	3,8 (19,1-32,5)	1,55
IL-10	34,6	10,1	95,1	14,1 (25,6-109,1)	27,296**
TGF- β	61,7	6,3	141,9	18,2 (116,2-159,4)	30,808**

Примечание. ** – статистическая значимость различий показателя $p < 0,01$.

Note. **, statistical significance of differences in $p < 0.01$.

мо ($\chi^2 = 27,296$; $p < 0,01$) ниже, чем в группе контроля, что отразилось на противовоспалительном индексе (ПВИ – соотношение IL-6/IL-10), который составил 3,4 в основной против 0,9 в группе контроля ($p < 0,05$). IL-2, продуцируемый активированными Т-клетками, у пациенток с ХЭ хоть и был выше, чем в группе контроля, но эта разница не была статистически значимой ($\chi^2 = 0,322$; $p > 0,05$). При этом стимулирующий преимущественно гуморальное звено TGF- β у пациенток с ХЭ более чем в два раза снижен по сравнению с контролем ($\chi^2 = 30,808$; $p < 0,01$) (табл. 5).

Анализ иммунологических показателей эндометрия при RIF и ХЭ свидетельствует о возможной Th2-девиации локального иммунного ответа, с изменением соотношения про- и противовоспалительных цитокинов, приводящих к нарушениям молекулярных, субклеточных и клеточных структур, что в совокупности с колебаниями активности других компонентов гомеостаза полости матки и определяет, с одной стороны, рецидивирующее течение заболевания, а с другой – нарушение морфологии эндометрия с последующей инфертильностью и имплантационной недостаточностью.

Оценка эффективности терапии

Для улучшения рецептивности эндометрия у женщин RIF и ХЭ, наряду с деконтаминационной/контаминационной терапией, нами предложено внутриматочное введение кавитированного раствора rIL-2 (II группа) – в следующий менструальный цикл (МЦ) после терапии у пациенток этой группы зафиксировано повы-

шение концентрации IL-1 β – $141,5 \pm 9,9$ пкг/мл соответственно ($p < 0,01$), превысив значения контроля более чем в 3 раза ($p < 0,05$). Это можно объяснить способностью IL-2 воздействовать на функционально-метаболическую активность фагоцитарных клеток, прежде всего, моноцитов/макрофагов, нейтрофилов, НК-клеток, а также стимуляцией синтеза эндогенных IFN α и IFN γ , способствующей ускоренному созреванию антигенспецифических лимфоцитов с активацией макрофагов и повышением синтеза IL-1 β . Концентрация TNF α в эндометрии, которая до лечения была достоверно выше, чем в группе контроля после лечения снизилась в обеих группах практически достигая значений контроля (в среднем $26,8 \pm 5,2$ пг/мл) ($p < 0,05$). IL-6 значимо увеличенный у пациенток с ХЭ, после окончания лечения снизился практически до контрольных значений в обеих группах, при этом во II группе его концентрация достоверно ($p < 0,01$) снизилась как по сравнению с исходными значениями, так и по сравнению со значениями контроля, что, скорее всего, объясняется активацией макрофагальных иммунных реакций и сменой направленности воздействий этого регуляторного цитокина (табл. 6).

После лечения концентрация IL-10 (регуляторного цитокина, участвующего в регенерации эпителиальных тканей) в группах в среднем составила $161,4 \pm 6,8$ пкг/мл (с наибольшим повышением во II группе – $199,2 \pm 6,5$ пг/мл), и ПВИ, соответственно, снизился (при этом если во II группе он был 0,2 ($p < 0,01$), то в I – 0,7). Воз-

ТАБЛИЦА 6. ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИТОКИНОВ В МЕТРОАСПИРАТЕ (M±s) (пг/мл)

TABLE 6. DYNAMICS OF CYTOKINE CONCENTRATION IN METROASPIRATE (M±s) (pg/mL)

Контроль Control (n = 30)		IL-1β	IL-2	IL-6	TNFα	TGF-β	IL-4	IL-10
		39,7±5,4	26,1±4,9	81,6±9,8	22,8±6,4	141,9±18,2	26,3±3,8	95,1±14,1
До лечения Before treatment	I гр. Gr. I (n = 42)	12,9±4,6	32,1±3,9	139,1±9,4 **	58,1±8,1 *	29,8±3,2 *	19,4±3,0 *	39,2±11,3 **
	II гр. Gr. II (n = 40)	13,7±3,5	31,4±4,1	124,1±8,6 **	44,6±5,5 *	30,7±2,2 *	16,5±2,2 *	29,9±8,6 *
После лечения After treatment	I гр. Gr. I (n = 42)	48,8±4,1 *	24,4±5,4	99,1±4,3	28,5±4,9 *	71,3±4,2 *	26,8±3,1 *	123,6±7,1 *
	II гр. Gr. II (n = 40)	141,5±9,9 **	123,4±13,3 *	63,7±5,2 *	25,1±5,5 *	286,2±4,5 **	28,4±2,9 *	199,2±6,5 **

Примечание. * – статистическая значимость различий показателя $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

Note. *, statistical significance of differences in $p < 0.05$; **, $p < 0.01$.

можно, это объясняется, в том числе, и способностью тромбоцитов активировать мононуклеарные клетки (PBMC), с высвобождением IL-10.

TGF-β является одним из наиболее важных факторов роста, выделяемым тромбоцитами во время заживления, и способствует пролиферации фибробластов и стволовых клеток. Локальная цитокинотерапия гIL-2, возможно, способствует стимулированию и регенерации эндометрия, с уменьшением доли фиброза в нем. В нашем исследовании после лечения наблюдалось значительное (в 9 раз) повышение TGF-β во II группе, что на фоне высоких концентраций других факторов роста и цитокинов способствует стимуляции митогенеза и пролиферации стволовых клеток эндометрия с улучшением его рецептивности.

Таким образом, локальное применение кавитированного раствора гIL-2 на фоне комплексной деконтаминационной и контаминационной терапии у пациенток с повторными неудачами имплантации и хроническим эндометритом способствует улучшению показателей локального иммунного статуса, воздействуя на пролиферативные процессы в эпителии полости матки, что увеличивает шансы на успех в программах экстракорпорального оплодотворения.

Ультразвуковое исследование состояния эндометрия, проведенное через один МЦ, показало

достижение М-эхо ≥ 7 мм (возможность провести имплантацию эмбрионов) у пациенток I группы в 42,8% (18/42), во II – 82,5% (33/40) – почти в 2 раза выше. Таким образом, для ЭКО была подготовлена 51 пациентка. Последующие беременности зарегистрированы у 38,9% (7/18) женщин I (биохимическая – 22,2% (4/18), клиническая – 77,8% (14/18)) и 45,4% (15/33) II группы (биохимическая – 18,1% (7/33), клиническая – 78,8% (26/33)) (рис. 2).

Самопроизвольный выкидыш случился у 16,7% (3/18) пациенток I и 15,1% (5/33) – II группы; родоразрешены в сроке гестации 22-36 недель 11,1% (2/18) беременных I и 12,1% (4/33) II группы. Показатель живорождения (процент от всех наступивших беременностей) в I группе составил 55,5% (10/18), во II – 60,6% (20/33).

Обсуждение

Неудовлетворительная результативность лечения ХЭ, ведущая к неудачам протоколов ЭКО, однозначно указывает на то, что нынешним вариантам терапии не хватает желаемой эффективности. Поиск оптимальной терапии ХЭ продолжается на различных уровнях: от способа введения, компонентов и дозы антибактериальных препаратов до продолжительности лечения и метода оценки эффективности. А добавление

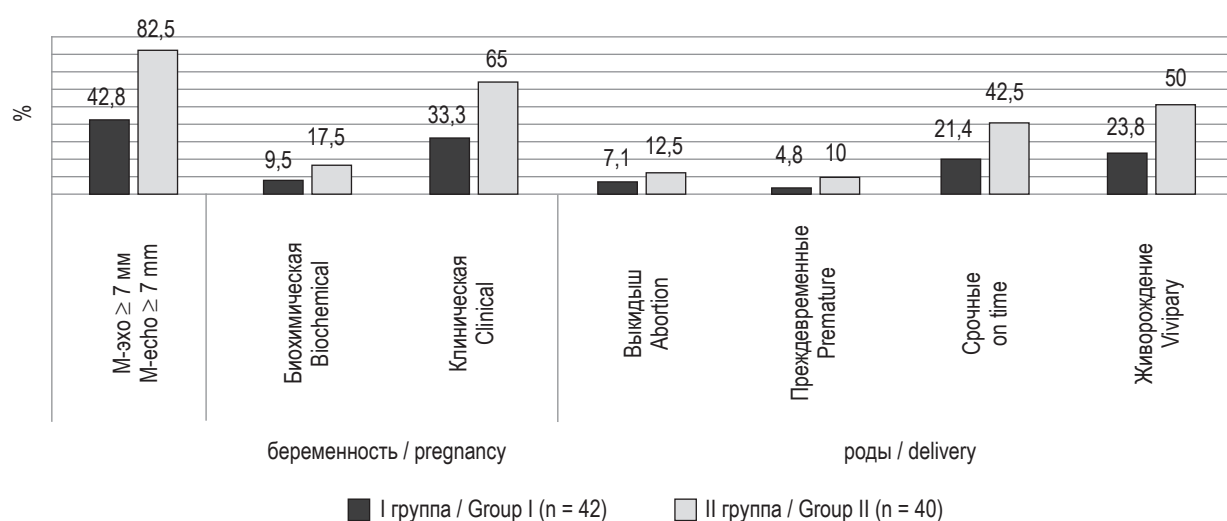


Рисунок 2. Эффективность предимплантационной подготовки

Figure 2. Effectiveness of preimplantation preparation

бесплодия и неудач ЭКО в это и так достаточно сложное уравнение добавляет еще один уровень и еще более подчеркивает необходимость достижения оптимальных результатов, так как в этом случае еще и существуют темпоральные рамки, в которые необходимо решить проблему семейной infertility [4, 5, 6, 7, 8, 16]. Девиации в лимфоцитарных субпопуляциях и аномальная микробиота полости матки приводят к аутоиммунным механизмам воспалительных реакций, что во многом и определяет нарушение рецептивности эндометрия [17]. Точный механизм иммунных реакций, возникающий в эндометрии, подверженном длительной персистенции условно-патогенной микрофлоры до сих пор полностью расшифрован, однако уже известно, что изменения микробиоценоза полости матки может являться пусковым механизмом запуска каскада иммунных реакций, приводящих к аутоиммунизации, постоянной циркуляции В-клеток, нейтрофилов, Th2-девиации иммунного ответа, ведущей к гиперсекреции хемокинов и цитокинов, стойкой воспалительной реакции с последующим нарушением морфологии эпителиальных клеток [15, 16, 17].

Одной из проблем терапии женщин с ХЭ является отсутствие точки приложения воздействия лекарственных средств [5, 17]. Иммуномодуляторы, широко применяющиеся в терапии ХЭ, часто бывают малоэффективными — отсутствует топическое воздействие на маточный эпителий, что стимулирует поиск путей доставки препаратов непосредственно в зону воспаления. С этой точки зрения, наиболее интересным можно счи-

тать применение ультразвуковой кавитации [16]. Терапия рекомбинантной формой IL-2 — достаточно новый и еще малоизученный метод лечения ХЭ, обладающий плеiotропной иммуномодулирующей активностью, способствующей восстановлению субпопуляций Т-хелперов, активацией NK-клеток и CD25-лимфоцитов, а УЗ-кавитация его раствора решает одну из основных проблем — homing-эффект данного препарата с быстрой его инактивацией в кровяном русле [17, 18]. Все вышеперечисленное, а также выявленные изменения локального иммунного статуса при ХЭ, и послужили патогенетическим обоснованием для применения кавитированным раствором rIL-2 на фоне деконтаминационной/контаминационной и заместительной гормональной терапии у пациенток с повторными неудачами имплантации на фоне хронического эндометрита.

Заключение

Оценка активности иммунокомпетентных клеток и цитокинового профиля эпителия полости матки у пациенток с повторными неудачами имплантации, обусловленными хроническим эндометритом, показала изменения, характерные для Th2-девиации локального иммунного ответа, с изменением соотношения про- и противовоспалительных цитокинов. Предимплантационная подготовка с использованием топического внутриматочной цитокинотерапии кавитированным раствором rIL-2 на фоне деконтаминационной/контаминационной и заместительной эстроген/гестагенной терапии показала более эффектив-

ное, по сравнению с группой классической подготовки к оплодотворению размороженными эмбрионами, с увеличением имплантационного потенциала эндометрия с наступлением клинической беременности и живорождением – в среднем в 2 раза. По-видимому, высокая эф-

фективность предлагаемой терапии обусловлена комплексным воздействием на очаг хронического аутоиммунного воспаления эндометрия с нормализацией его трофики, устранением Th2-девиации локального иммунного ответа и синергизмом с антибактериальной терапией.

Список литературы / References

1. Амян Т.С., Перминова С.Г., Кречетова Л.В., Вторушина В.В., Митюрин Е.В. Иммунологические аспекты повторных неудач имплантации в программе экстракорпорального оплодотворения // Акушерство и гинекология, 2017. № 1. С. 5-12. [Amyan T.S., Perminova S.G., Krechetova L.V., Vtorushina V.V., Mityurina E.V. Immunological aspects of repeated implantation failures in the *in vitro* fertilization program. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2017, no. 1, pp. 5-12. (In Russ.)]
2. Боровиков И.О., Куценко И.И., Булгакова В.П., Рубинина Э.Р., Горринг Х.И., Воронов В.А. Бесплодие на фоне хронического эндометрита и вагинального дисбиоза: опыт предимплантационной подготовки // Медицинский совет, 2020. № 3. С. 115-121. [Borovikov I.O., Kutsenko I.I., Bulgakova V.P., Rubinina E.R., Gorrington H.I., Voronov V.A. Infertility on the background of chronic endometritis and vaginal dysbiosis: the experience of preimplantation preparation. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2020, no. 3, pp. 115-121. (In Russ.)]
3. Дикке Г.Б., Остроменский В.В. Нарушение иммунного статуса при хроническом эндометрите и опыт его коррекции посредством локальной цитокинотерапии // Акушерство и гинекология, 2019. № 9. С. 139-146. [Dicke G.B., Ostromensky V.V. Violation of the immune status in chronic endometritis and the experience of its correction through local cytokine therapy. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2019, no. 9, pp. 139-146. (In Russ.)]
4. 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. [Lysenko O.V., Rozhdzestvenskaya T.A. The problem of the "thin" endometrium in reproductive medicine: the experience of using recombinant interleukin-2 people to prepare patients for programs of assisted reproductive technologies. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney = Journal of Obstetrics and Women's Diseases*, 2017, Vol. 66, no. 4, pp. 46-50. (In Russ.)]
5. Мелкозёрова О.А., Башмакова Н.В., Есарева А.В. Проблемы коммуникации эмбриона и эндометрия: маркеры нарушений и механизмы влияния // Российский вестник акушера-гинеколога, 2016. Т. 16, № 5. С. 29-36. [Melkozerova O.A., Bashmakova N.V., Esareva A.V. Problems of embryo/endometrium communication: Markers of dysfunction and mechanisms of action. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa = Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*, 2016, Vol. 16, no. 5, pp. 29-36. (In Russ.)]
6. Петров Ю.А., Алехина А.Г., Блесманович А.Е. Актуальные вопросы хронического эндометрита // Современные проблемы науки и образования. 2018. № 6. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28155>. [Petrov Yu.A., Alyokhina A.G., Blesmanovich A.E. Actual issues of chronic endometritis. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*, 2018, no. 6. [Electronic resource]. Access mode: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28155>. (In Russ.)]
7. Хабаров С.В., Горская О.С., Русанова Г.П. Опыт применения ультразвуковой кавитации у пациенток с хроническим эндометритом перед проведением программы ЭКО // Акушерство и гинекология, 2020. № 11. С. 197-204. [Khabarov S.V., Gorskaya O.S., Rusanova G.P. Experience in the use of ultrasonic cavitation in patients with chronic endometritis before the IVF program. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2020, no. 11, pp. 197-204. (In Russ.)]
8. Храмова А.Ю., Башмакова Н.В. Современный взгляд на проблему «тонкого» эндометрия: пути решения в программах ВРТ (обзор литературы) // Проблемы репродукции, 2019. Т. 25, № 4. С. 69-76. [Khramtsova A.Yu., Bashmakova N.V. Global view on the problem of "thin" endometrium: solutions to the problem in assisted reproductive technology (literature review). *Problemy reproduktivnoy meditsiny = Russian Journal of Human Reproduction*, 2019, Vol. 25, no. 4, pp. 69-76. (In Russ.)]
9. Чобанян А.Г., Егорова В.Н., Гизингер О.А. Рекомбинантный интерлейкин-2 в лечении бесплодия: обзор литературы // Репродуктивная медицина, 2021. Т. 4, № 49. С. 7-15. [Chobanyan A.G., Egorova V.N., Gisinger O.A. Recombinant interleukin-2 in the treatment of infertility: a review of the literature. *Reproduktivnaya meditsina = Reproductive Medicine*, 2021, Vol. 4, no. 49, pp. 7-15. (In Russ.)]
10. Шамилова А.М., Ильина И.Ю., Боровкова Е.И., Доброхотова Ю.Э. Хронический эндометрит. Пути улучшения методов диагностики // РМЖ. Мать и дитя, 2021. Т. 4, № 3. С. 243-249. [Shamilova A.M., Il'ina I.Yu., Borovkova E.I., Dobrokhotova Yu.E. Chronic endometritis. Towards the improvement of diagnostic methods. *RMZh. Mat i ditya = Russian Journal of Woman and Child Health*, 2021, Vol. 4, no. 3, pp. 243-249. (In Russ.)]
11. Яковчук Е.К., Сулима А.Н., Рыбалка А.Н., Дижа М.А., Аникин С.С., Симачева С.А. Хронический эндометрит: современное состояние проблемы, основные аспекты патогенеза, влияние на репродук-

тивную функцию // Российский вестник акушера-гинеколога, 2016. Т. 16, № 5. С. 37-41. [Yakovchuk E.K., Sulima A.N., Rybalka A.N., Dizha M.A., Anikin S.S., Simacheva S.A. Chronic endometritis: State-of-the-art, main aspects of pathogenesis, impact on reproductive function. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa = Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*, 2016, Vol. 16, no. 5, pp. 37-41. (In Russ.)]

12. Benner M., Ferwerda G., Joosten I., van der Molen R. How uterine microbiota might be responsible for a receptive, fertile endometrium. *Hum. Reprod.*, 2018, Vol. 24, no. 4, pp. 393-415.

13. Bosdou J.K., Venetis C.A., Tarlatzis B.C., Grimbizis G.F., Kolibianakis E.M. Higher probability of live-birth in high, but not normal, responders after first frozen-embryo transfer in a freeze-only cycle strategy compared to fresh-embryo transfer: a meta-analysis. *Hum. Reprod.*, 2019, Vol. 34, no. 3, pp. 491-505.

14. Hou Z., Jiang F., Yang J., Liu Y., Zha H., Yang X., Bie J., Meng Y. What is the impact of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) in subcutaneous injection or intrauterine infusion and during both the fresh and frozen embryo transfer cycles on recurrent implantation failure: a systematic review and meta-analysis? *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2021, Vol. 19, no. 1, 125. doi: 10.1186/s12958-021-00810-4.

15. Miralaei S., Ashrafi M., Arabipour A., Zolfaghari Z., Taghvaei S. The incidence rate of unresponsive thin endometrium in frozen embryo transfer cycles: A case-series of therapy with granulocyte colony stimulating factor. *Int. J. Reprod. Biomed.*, 2019, Vol. 17, no. 12, pp. 923-928.

16. Qian W., Yujun S., Reiqi F., Mengxue W., Chune R. Aifang J., Tingting Y. Role of inflammatory factors in the etiology and treatment of recurrent implantation failure. *Reprod. Biol.*, 2022, Vol. 22, no. 4, 100698. doi: 10.1016/j.repbio.2022.100698.

17. Ranisavljevic N., Raad J., Anahory T., Grynberg M., Sonigo C. Embryo transfer strategy and therapeutic options in infertile patients with thin endometrium: a systematic review. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 2019, Vol. 36, no. 11, pp. 2217-2231.

18. Zhu Y.C., Sun Y.X., Shen X.Y., Jiang Y., Liu J.Y. Effect of intrauterine perfusion of granular leukocyte-colony stimulating factor on the outcome of frozen embryo transfer. *World J. Clin. Cases*, 2021, Vol. 9, no. 30, pp. 9038-9049.

Авторы:

Боровиков И.О. — д.м.н., доцент кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Кравцова Е.И. — к.м.н., доцент кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Булгакова В.П. — аспирант кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Боровикова О.И. — аспирант кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Бирюкова М.И. — старший лаборант кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Authors:

Borovikov I.O., PhD, MD (Medicine). Associate Professor, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Kravtsova E.I., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Bulgakova V.P., Postgraduate Student, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Borovikova O.I., Postgraduate Student, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Biryukova M.I., Senior Laboratory Assistant, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Поступила 11.10.2022
Отправлена на доработку 07.11.2022
Принята к печати 08.11.2022

Received 11.10.2022
Revision received 07.11.2022
Accepted 08.11.2022