



Повторные неудачи имплантации. Патогенез иммунологических нарушений в эндометрии

Л.М. Михалёва¹, М.Р. Оразов², Е.С. Силантьева³, Д.П. Камилова³, К.Ю. Мидибер^{1, 2}, Р.Е. Орехов²

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына»; Россия, г. Москва

² ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов»; Россия, г. Москва

³ ГК «Мать и дитя»; Россия, г. Москва

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: расширить представления об иммунологических аспектах патогенеза имплантационной несостоятельности эндометрия у пациенток с повторными неудачами имплантации (ПНИ) в программах экстракорпорального оплодотворения.

Дизайн: проспективное открытое сравнительное исследование.

Материалы и методы. В исследование включены 57 женщин в возрасте от 27 до 42 лет (средний возраст составил $36 \pm 6,2$ года) с клинически верифицированными ПНИ. Группу морфологического контроля составили 30 фертильных женщин, имевших в анамнезе 2 и более родов доношенными здоровыми детьми и не имевших нарушений фертильности, давших добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Материалом исследования являлись биоптаты эндометрия, полученные на 8–10-й день менструального цикла (средняя стадия фазы пролиферации).

Результаты. В настоящем исследовании в биоптатах эндометрия пациенток, страдающих ПНИ, в средней стадии фазы пролиферации в строме эндометрия отмечены статистически значимые ($p < 0,05$) изменения: повышение экспрессии клеток CD56+ в 1,9 раза и CD8+ в 1,5 раза, снижение экспрессии клеток CD4+ в 2,2 раза и нарушение соотношения CD8+/CD4+ в сторону CD8+ по сравнению с таковыми в группе морфологического контроля.

Заключение. В основе патогенеза имплантационной несостоятельности у пациенток с ПНИ лежит иммунологический дисбаланс в строме эндометрия, субстратом которого являются недостаточные концентрации проангиогенных NK-клеток, регуляторных супрессивных Т-хелперов, а также повышение плотности цитотоксического класса NK- и Т-клеток, что формирует два ключевых звена патогенеза — снижение иммунологической толерантности к полуаллогенной бластоцисте и нарушение процессов нормального ангиогенеза в строме эндометрия женщин с ПНИ.

Ключевые слова: повторные неудачи имплантации, иммунология, местный иммунитет, NK-клетки, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, плазмоциты.

Вклад авторов: Михалёва Л.М. — разработка дизайна и проведение исследования, анализ и интерпретация результатов патоморфологического и иммуногистохимического исследований, проверка критически важного содержания, утверждение рукописи для публикации; Оразов М.Р., Силантьева Е.С., Камилова Д.П. — отбор пациенток, разработка дизайна исследования, проверка критически важного содержания, утверждение рукописи для публикации; Мидибер К.Ю. — проведение морфометрии, съемка, монтаж и описание микрофотографий; Орехов Р.Е. — обзор публикаций по теме статьи, сбор клинического материала, обработка, анализ и интерпретация, статистическая обработка данных, написание текста рукописи.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

Для цитирования: Михалёва Л.М., Оразов М.Р., Силантьева Е.С., Камилова Д.П., Мидибер К.Ю., Орехов Р.Е. Повторные неудачи имплантации. Патогенез иммунологических нарушений в эндометрии. Доктор.Ру. 2022; 21(1): 21–26. DOI: 10.31550/1727-2378-2022-21-1-21-26

Repeated Implant Failures. Pathogenesis of Immunological Disorders in Endometrium

L.M. Mikhaleva¹, M.R. Orazov², E.S. Silantieva³, D.P. Kamilova³, K.Yu. Midiber^{1, 2}, R.E. Orekhov²

¹ A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology; 3 Tsyurupa Str., Moscow, Russian Federation 117418

² Peoples' Friendship University of Russia (a Federal Government Autonomous Educational Institution of Higher Education); 6 Miklouho-Maclay Str., Moscow, Russian Federation 117198

³ Mother and Child; 2 Mozhayskoye Shosse, Moscow, Russian Federation 143081

ABSTRACT

Study Objective: To broaden the understanding of the immunological aspects of implantation incompetence of endometrium in patients with repeated implant failures (RIF) in in vitro fertilisation programs.

Study Design: Open perspective comparative study.

Михалёва Людмила Михайловна (**автор для переписки**) — д. м. н., профессор, директор, заведующая лабораторией клинической морфологии ФГБНУ НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына. 117418, Россия, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3. eLIBRARY.RU SPIN: 2086-7513. <https://orcid.org/0000-0003-2052-914X>. E-mail: mikhalevalm@yandex.ru

Оразов Мекан Рахимбердыевич — профессор кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины Медицинского института ФГАУ ВО РУДН, д. м. н., профессор. 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6. eLIBRARY.RU SPIN: 1006-8202. <https://orcid.org/0000-0002-5342-8129>. E-mail: otekan@mail.ru
(Окончание на с. 22.)



Materials and Methods. 57 women aged 27 to 42 years old (mean age: 36 ± 6.2 years old) with clinically verified RIF. A morphological control group included 30 fertile women with a history of at least 2 deliveries of full-term healthy children and without fertility disorders, who signed a voluntary informed consent to take part in the study. The subject of the study was endometrium biopsy material obtained on day 8–10 of menstruation (middle stage of the proliferation phase).

Study Results. In this study, endometrium biopsy material of patients with RIF demonstrated statistically significant ($p < 0.05$) changes in the middle stage of the proliferation phase: 1.9- and 1.5-fold increase in CD56+ and CD8+ expression, respectively; 2.2-fold reduction in CD4+ expression, and impaired CD8+/CD4+ ratio (increase in CD8+) vs morphological controls.

Conclusion. Pathogenesis of implantation incompetence in patients with RIF is caused by immunological imbalance in endometrial stroma, the substrate of which is insufficient concentrations of proangiogenic NK-cells, regulatory suppressive T-helpers, and increased density of the cytotoxic NK- and T-cells; it forms two primary parts of pathogenesis: reduced immunological tolerance to semiallogenic blastocyte and impaired normal angiogenesis in endometrial stroma of women with RIF.

Keywords: repeated implant failures, immunology, local immunity, NK-cells, T-lymphocytes, B-lymphocytes, plasmocytes.

Contributions: Mikhaleva, L.M. — study design, study conduct, analysis and interpretation of pathomorphology and immunohistochemistry results, review of critically important material, approval of the manuscript for publication; Orazov, M.R., Silantieva, E.S., Kamilova, D.P. — patient selection, study design, review of critically important material, approval of the manuscript for publication; Midiber, K.Yu. — morphometry; photomicrography, assembly and description of photomicrograms; Orekhov, R.E. — thematic publications reviewing, clinical material collection, data processing, analysis and interpretation, statistical data processing, text of the article.

Conflict of interest: The authors declare that they do not have any conflict of interests.

For citation: Mikhaleva L.M., Orazov M.R., Silantieva E.S., Kamilova D.P., Midiber K.Yu., Orekhov R.E. Repeated Implant Failures. Pathogenesis of Immunological Disorders in Endometrium. Doctor.Ru. 2022; 21(1): 21–26. (in Russian). DOI: 10.31550/1727-2378-2022-21-1-21-26

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на бурное развитие и достижения в области репродуктивной медицины, такие как усовершенствование методов культивирования эмбрионов и предимплантационное генетическое тестирование, частота имплантации в циклах ЭКО остается неудовлетворительной [1, 2]. Справедливости ради следует констатировать тот факт, что многие бесплодные пары, обращающиеся в клиники репродуктивной медицины, к сожалению, сталкиваются с клинической ситуацией, ассоциированной с повторными неудачами имплантации (ПНИ) [2, 3].

ПНИ многими авторами определяется как ненаступление клинической беременности после переноса эмбрионов высокого качества по крайней мере в трех последовательных циклах ЭКО при отсутствии каких-либо органических факторов, снижающих ее шансы [4]. В клиническом протоколе «Вспомогательные репродуктивные технологии и искусственная инсеминация» Минздрава РФ 2019 года такую клиническую ситуацию называют «Повторные неудачные попытки переноса эмбрионов (имплантации)» и относят к ней случаи трех неудачных попыток селективного (eSET или eDET) переноса «свежих» или размороженных эмбрионов у женщин моложе 35 лет и двух — у женщин 35 лет и старше при отсутствии каких-либо факторов, снижающих шансы наступления беременности.

Молекулярные механизмы, лежащие в основе патогенеза ПНИ, остаются предметом дискуссий [4, 5]. Предложено несколько этиологических причин, но до недавнего времени основное внимание уделялось эмбриону и особенно эмбриональной анеуплоидии [6, 7]. Однако даже перенос euploidных эмбрионов не всегда приводит к успешной имплан-

тации [8]. Это может говорить о том, что недостаточная рецептивность эндометрия является основным ограничивающим фактором для достижения беременности [5, 9, 10].

Под рецептивностью понимается состояние эндометрия во время окна имплантации — короткого периода менструального цикла в середине лютеиновой фазы, когда эндометрий приобретает адгезивные свойства, способствующие синхронной имплантации эмбриона [1, 11]. В некоторых исследованиях сообщалось, что нарушение рецептивности эндометрия становится причиной примерно двух третей неудач имплантации [1, 5, 9].

Перекрестные связи между эмбрионом и эндометрием опосредуются многими биологически активными веществами, включая цитокины, молекулы адгезии, факторы роста и гормоны [1, 5, 11]. Большинство этих молекул вовлечены в иммунологический процесс, который играет ключевую роль в принятии полуаллогенного эмбриона материнским эндометрием и создании подходящей среды во время имплантации [1, 12].

Среди всех элементов, влияющих на неудачу имплантации эмбрионов высокого качества, иммунная система описывалась исследованиями и как ключевая, и как наиболее контраверсионная [1, 7]. В большинстве существующих исследований изучался только один или несколько маркеров, что имеет ограниченное значение, особенно при таком сложном процессе, как имплантация [13, 14]. В последние годы выдвинуто предположение, что основной причиной ПНИ является иммунный дисбаланс, а репродуктивная иммунология играет ведущую роль в ПНИ, однако до сих пор механизмы этих изменений остаются плохо изученными [7, 8]. Таким образом, исследование местного иммунитета эндометрия может помочь женщинам с необъяснимыми ПНИ в циклах ЭКО [3].

Силантьева Елена Сергеевна — д. м. н., заместитель главного врача по реабилитации Клинического госпиталя Лапино ГК «Мать и дитя». 143081, Московская обл., г. Лапино, 1-е Успенское шоссе, д. 111. <https://orcid.org/0000-0002-7667-3231>. E-mail: e.silantieva@mcclinics.ru

Камиллова Дилором Пулатовна — к. м. н., главный специалист по ЭКО ГК «Мать и дитя», врач акушер-гинеколог, репродуктолог клиники ГК «Мать и дитя» Кунцево. 121374, Россия, г. Москва, Можайское шоссе, д. 2. <https://orcid.org/0000-0001-6226-5117>. E-mail: d.kamilova@mcclinics.ru

Мидибер Константин Юрьевич — научный сотрудник лаборатории клинической морфологии ФГБНУ НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына; ассистент кафедры патологической анатомии Медицинского института ФGAOU BO РУДН. 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6. eLIBRARY.RU SPIN: 6891-6636. <https://orcid.org/0000-0002-1426-968X>. E-mail: midiberkonst@gmail.com

Орехов Роман Евгеньевич — ассистент кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины Медицинского института ФGAOU BO РУДН. 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6. eLIBRARY.RU SPIN: 4772-9867. <https://orcid.org/0000-0002-2775-9266>. E-mail: rotanorekhovv@yandex.ru

(Окончание. Начало см. на с. 21.)

В связи с изложенным вопросы, касающиеся изучения ультраструктурных механизмов патогенеза имплантационной несостоятельности при ПНИ в рамках повышения эффективности программ ЭКО, представляют значительный интерес для практического здравоохранения и для женщин, планирующих использование ВРТ. Это и определило выбор цели и задач настоящего исследования.

Цель исследования: расширить представления об иммунологических аспектах патогенеза имплантационной несостоятельности эндометрия у пациенток с ПНИ в программах ЭКО.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективное открытое сравнительное исследование включены 57 женщин (основная группа) в возрасте от 27 до 42 лет (средний возраст составил $36 \pm 6,2$ года) с клинически верифицированными ПНИ, согласно клиническому протоколу «Вспомогательные репродуктивные технологии и искусственная инсеминация». Группу морфологического контроля составили 30 фертильных женщин, имевших в анамнезе 2 и более родов доношенными здоровыми детьми и не имевших нарушений фертильности, давших добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Материалом исследования являлись биоптаты эндометрия, полученные путем пайпель-биопсии на 8–10-й день менструального цикла (в среднюю стадию фазы пролиферации) для объективной патоморфологической верификации состояния эндометрия. Полученные биоптаты после фиксации в 10%-ном забуференном формалине и гистологической обработки в автоматическом гистопротессоре Leica ASP 30 (Германия) заливали в парафин на станции Leica EG 1150 (Германия). Производилась окраска срезов толщиной 4 микрометра гематоксилином и эозином при помощи станции Leica ST5010 (Германия).

Обзорное микроскопическое исследование материала проводилось посредством микроскопа Leica DMLB с использованием цифровой камеры Leica DFC420 (Германия). В полученных микропрепаратах осуществлялась патоморфологическая оценка состояния эндометрия.

Имуногистохимическое исследование эндометрия с антителами с целью изучения местного иммунитета проводили с антителами к CD4+ (Т-лимфоциты) — клон SP35 Ventana, CD8+ (Т-лимфоциты) — клон SP57 Ventana, CD20+ (зрелые В-лимфоциты) — клон L26 фирмы DAKO, CD56+ NK — клон CD56+ 4 Leica Bond, CD138+ на плазматические клетки — клон MI15 DAKO. Имуногистохимическое окрашивание производилось в иммуностейнере Ventana BenchMark Ultra IHDSh (США), Bond-maX (Германия). Для иммуноокрашивания использовали систему визуализации Ultra Vision TL-015-HD Lab Vision.

Экспрессию иммуногистохимических маркеров изучали в трех неперекрывающихся полях зрения при 400-кратном увеличении с помощью микроскопа Leica DMLB и цифровой камеры Leica DFC420 (Германия).

Для определения нормальности распределения параметров был применен критерий Колмогорова — Смирнова. Результаты иммуногистохимического исследования представлены в виде суммы DAB-позитивных клеток в полях зрения при 400-кратном увеличении. Все данные отображены в виде медианного значения — Me (25%; 75%).

Статистическое сравнение групп осуществлялось при помощи непараметрических методов. Для выявления статистической значимости результатов использовался критерий Манна — Уитни. В случае оценки качественных признаков

применен двусторонний критерий Фишера. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Обработку данных проводили с использованием пакета программ электронных таблиц Microsoft Excel и программы IBM SPSS Statistics 26.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Эндометрий в средней стадии фазы пролиферации у пациенток с ПНИ продемонстрировал изменения экспрессии исследуемых иммунологических маркеров в сравнении с показателями группы морфологического контроля (табл.).

При патоморфологическом исследовании гистологических препаратов эндометрия, окрашенных гематоксилином и эозином, у пациенток основной группы маточные железы морфологически соответствовали средней стадии фазы пролиферации, в части образцов определялись невыраженные фокусы уплотнения стромы эндометрия за счет неких «завихрений», преимущественно вокруг маточных желез, и мелкие очаги воспалительной инфильтрации, а также умеренное утолщение стенки кровеносных сосудов, что может соответствовать слабо выраженному хроническому эндометриту (рис. 1).

Для уточнения клеточного состава воспаления и состояния местного иммунитета у пациенток основной группы нами проведено иммуногистохимическое исследование.

В настоящем исследовании при иммуногистохимическом анализе биоптатов эндометрия в средней стадии фазы пролиферации у пациенток, страдающих ПНИ, отмечено статистически значимое увеличение числа экспрессированных CD56+ клеток (в почти в 2 раза) по сравнению с таковым у здоровых женщин (рис. 2 А, В).

В дополнение к этому наблюдались статистически значимые уменьшение экспрессии клеток CD4+ (в 2,2 раза) (рис. 2 С, D) и повышение экспрессии CD8+ (в 1,5 раза) по сравнению с таковыми в группе морфологического контроля (рис. 2 E, F), что сопровождалось дисбалансом между CD4+ и CD8+ в сторону превалирования последних (см. табл.).

Таблица / Table

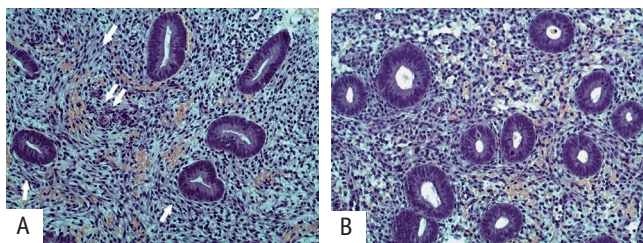
Результаты иммуногистохимического исследования биоптатов эндометрия пациенток с повторными неудачами имплантации и фертильных женщин, Me (25%; 75%)
Immunohistochemistry results for endometrium biopsy samples of patients with repeated implant failures and of fertile women, Me (25%; 75%)

Имунологические маркеры / Immunological markers	Основная группа / Study group	Группа морфологического контроля / Morphological controls
CD4+	2,4 (0,8; 8,1)*	5,3 (4,8; 9,2)
CD8+	14,1 (7,5; 14,2)*	9,3 (8,3; 11,4)
CD56+	1,2 (8,3; 12,5)*	5,4 (2,1; 8,4)
CD8+/CD4+	6,2 (3,4; 8,2)*	2,6 (1,2; 4,3)
CD20+	8,3 (7,1; 10,2)	7,5 (6,3; 12,6)
CD138+	2,3 (1,6; 4,4)	1,3 (0,4; 3,2)

* Отличия от группы морфологического контроля статистически значимы ($p < 0,05$).

* Differences vs morphological controls are statistically significant ($p < 0.05$).

Рис. 1. А — основная группа, бесплодие 1, повторные неудачи имплантации: эндометрий соответствует средней стадии фазы пролиферации, в строме и вокруг маточных желез определяются мелкие фокусы фиброза в виде «завихрений» (стрелки), утолщение стенок мелких артериальных сосудов (двойная стрелка). В — группа морфологического контроля: эндометрий соответствует средней стадии фазы пролиферации. Окраска гематоксилином и эозином, 200-кратное увеличение. *Здесь и далее иллюстрации Мидибера К.Ю.*
 Fig. 1. A: study group, primary sterility, repeated implant failures: endometrium corresponds to middle stage of proliferation phase; there are small “vortex” fibrous foci (arrows) and thickened arterial vessel walls (double arrows) in the stroma and around uterine glands. B: morphological controls: endometrium corresponds to middle stage of proliferation phase. H&E staining, x200 magnification.
All photos in the paper courtesy of Midiber, K.Yu.



Выявлено также незначительное (в 1,1 раза) увеличение числа экспрессированных CD20+ клеток у пациенток с ПНИ (рис. 3 А, В).

При иммуногистохимической реакции с антителом к CD138+ в 11% клинических наблюдений с ПНИ выявлены 1–2 плазматические клетки в строме (рис. 3 С, D), подтверждавшие наличие у этих пациенток слабо выраженного хронического эндометрита. У здоровых женщин они отсутствовали.

Полученные результаты комплексного патоморфологического исследования продемонстрировали дисбаланс в местном иммунитете эндометрия у пациенток с ПНИ между клетками CD4+ и CD8+ в пользу последних Т-лимфоцитов, у здоровых женщин, напротив, было больше CD4+.

Наряду с дисбалансом между Т-лимфоцитами нами выявлено увеличение числа маркеров зрелых В-лимфоцитов CD20+ в эндометрии пациенток с ПНИ по сравнению с показателем группы морфологического контроля.

Одновременно обнаружено статистически значимое повышение числа CD56+ клеток, относящихся к натуральным киллерам.

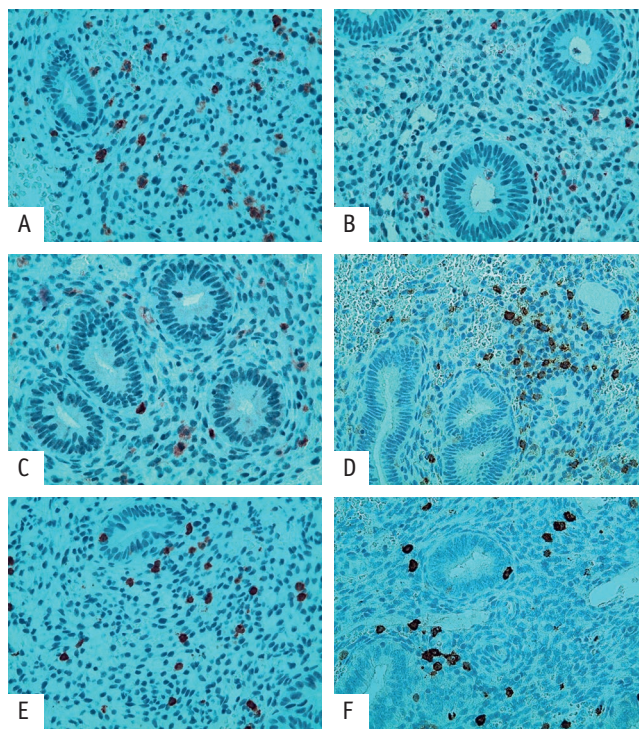
Результаты иммуногистохимического исследования сочетаются с патоморфологическими находками, свидетельствующими о наличии слабо выраженного хронического эндометрита у 11% пациенток с ПНИ. Полученные морфологические данные тесно связаны с иммунобиологией имплантации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Эндометриальные гранулоциты (большие гранулярные лимфоциты) относятся к особой популяции NK-клеток. По сравнению с типичными естественными киллерами эндометриальные гранулоциты отличаются высокой экспрессией

Рис. 2. Иммуногистохимическое исследование пациенток с повторными неудачами имплантации (ПНИ) и участниц группы морфологического контроля (400-кратное увеличение). А — основная группа, бесплодие 1, ПНИ: положительная экспрессия CD56+, 34 клетки в поле зрения. В — группа морфологического контроля: положительная экспрессия CD56+; 7 клеток в поле зрения. С — основная группа, бесплодие 1, ПНИ: положительная экспрессия CD4+; 9 клеток в поле зрения. D — группа морфологического контроля: положительная экспрессия CD4+; 38 клеток в поле зрения. E — основная группа, бесплодие 1, ПНИ: положительная экспрессия CD8+; 23 клетки в поле зрения. F — группа морфологического контроля: положительная экспрессия CD8+; 27 клеток в поле зрения

Fig. 2. Immunohistochemistry of patients with repeated implant failures (RIF) and of morphological controls (x400 magnification). A: study group, primary sterility, RIF: positive CD56+ expression, 34 cells per HPF. B: morphological controls: positive CD56+ expression, 7 cells per HPF. C: study group, primary sterility, RIF: positive CD4+ expression, 9 cells per HPF. D: morphological controls: positive CD4+ expression, 38 cells per HPF. E: study group, primary sterility, RIF: positive CD8+ expression, 23 cells per HPF. F: morphological controls: positive CD8+ expression, 27 cells per HPF

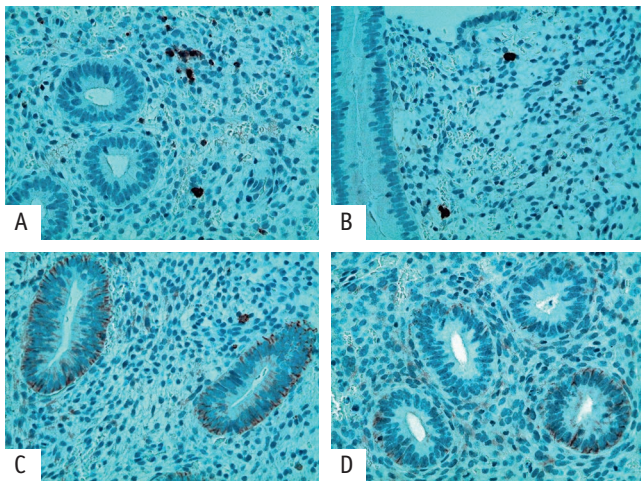


CD56 (адгезивной молекулы, участвующей в реакции цитотоксичности) при отсутствии других маркеров NK-клеток, а именно CD16 и CD57.

Популяция лейкоцитов эндометрия состоит в основном из маточных естественных клеток-киллеров (uNK), макрофагов

Рис. 3. Иммуногистохимическое исследование пациенток с повторными неудачами имплантации (ПНИ) и участниц группы морфологического контроля (400-кратное увеличение). А — основная группа, бесплодие 1, ПНИ: положительная экспрессия CD20+; 6 клеток в поле зрения. В — группа морфологического контроля: положительная экспрессия CD20+; 2 клетки в поле зрения. С — основная группа, бесплодие 1, ПНИ: положительная экспрессия CD138+; 2 клетки в поле зрения. D — группа морфологического контроля: негативная экспрессия CD138+; 0 клеток в поле зрения

Fig. 3. Immunohistochemistry of patients with repeated implant failures (RIF) and of morphological controls (x400 magnification). A: study group, primary sterility, RIF: positive CD20+ expression, 6 cells per HPF. B: morphological controls: positive CD20+ expression, 2 cells per HPF. C: study group, primary sterility, RIF: positive CD138+ expression, 2 cells per HPF. D: morphological controls: positive CD138+ expression, 0 cells per HPF



и Т-клеток и заметно отличается от таковой в периферической крови [15]. Количество клеток CD56+ изменяется в течение менструального цикла с резким увеличением в середине секреторной фазы, начинающейся через 6–7 дней после сильного повышения уровня ЛГ, что является началом предполагаемого времени имплантации [16].

Приблизительно 10% NK-клеток стромы эндометрия являются CD56+ и CD16+, которые похожи, но не идентичны периферическим NK-клеткам, в то время как 90% популяции имеют различные фенотипы CD56 и CD16 [16, 17]. Субпопуляции маточных NK-клеток можно подразделить на два класса, которые отличаются маркерами, а также функциональными свойствами: цитотоксический класс CD56–CD16+ и проангиогенный класс CD56+CD16– [15, 18–20].

Данные, полученные в нашем исследовании, продемонстрировали статистически значимый рост числа CD56+ клеток, что свидетельствует о повышении плотности цитотоксической субпопуляции NK-клеток, а также позволяет косвенно

предположить снижение плотности проангиогенной субпопуляции в строме эндометрия пациенток с ПНИ.

На сегодняшний день выделено множество Т-лимфоцитарных субпопуляций лейкоцитов, имеющих различную экспрессию антигенов и функциональную активность. Особенный интерес с позиции имплантационного потенциала представляют Foxp3+ Т-регуляторные клетки, которые являются уникальными представителями супрессивных CD4+ Т-хелперов, участвующих в реализации иммунной толерантности к собственным и чужеродным антигенам у людей и мышей [21–24]. Показано, что во время имплантации и беременности возрастает количество Treg-клеток в периферической крови как у людей [25, 26], так и у мышей [27], а дальнейшие исследования выявили, что стимуляция плода аллоантигенами является основной движущей силой в увеличении числа Treg-клеток [28, 29].

Повышение уровней Т-регуляторных клеток в день переноса эмбрионов было связано с более высокой частотой имплантации [30]. Данные, полученные в нашем исследовании, продемонстрировали относительно статистически значимое уменьшение экспрессии клеток CD4+ в строме пациенток с ПНИ, что позволяет предположить снижение иммуносупрессивной активности Т-регуляторных клеток в эндометрии. Повышенная экспрессия CD8+ предполагает увеличение концентраций цитотоксических Т-лимфоцитов, что является следствием недостаточной супрессивной активности регуляторных Т-хелперов в строме эндометрия пациенток с ПНИ.

В-лимфоциты (CD20+) в неизменном эндометрии единичны (обычно 1–3 клетки), в случаях развития хронического воспаления в эндометрии в зависимости от степени выраженности воспалительного процесса число CD20+ клеток может возрастать. В нашем исследовании у пациенток с ПНИ и наличием слабо выраженного хронического эндометрита число CD20+ клеток увеличивалось до 6. Одновременно в эндометрии у этих пациенток (около 11%) диагностированы единичные CD138+ (1–2 плазматические клетки), что позволяет предположить, что хроническая инфекция в эндометрии не является ведущей причиной наблюдаемых изменений в экспрессии иммунных клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В основе патогенеза имплантационной несостоятельности у пациенток с повторными неудачами имплантации (ПНИ) лежит иммунологический дисбаланс в строме эндометрия, субстратом которого являются недостаточные концентрации проангиогенных NK-клеток, регуляторных супрессивных Т-хелперов, а также повышение плотности цитотоксического класса NK- и Т-клеток, что формирует два ключевых звена патогенеза — снижение иммунологической толерантности в полуаллогенной бластоцисте и нарушения процессов нормального ангиогенеза в строме эндометрия женщин с ПНИ.

С целью проверки этой гипотезы и определения клинической значимости иммуногистохимической оценки маркеров CD4, CD8, CD20 и CD56 для улучшения показателей имплантационной состоятельности и наступления беременности необходимо провести дальнейший анализ с большим размером выборки; однако мы можем предположить, что они могут служить высокоинформативными прогностическими маркерами ПНИ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Pathare A.D.S., Zaveri K., Hinduja I. Downregulation of genes related to immune and inflammatory response in IVF implantation failure cases under controlled ovarian stimulation. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2017; 78(1): e12679. DOI: 10.1111/aji.12679
2. Цыпурдеева Н.Д., Коган И.Ю., Савичева А.М. и др. Особенности микробиотопа эндометрия у пациенток с неэффективными попытками экстракорпорального оплодотворения в анамнезе и хроническим эндометритом. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2016; 65(специал.): 27–8. [Tsyurdeeva N.D., Kogan I.Yu., Savicheva A.M. et al. Characteristics of endometrium microsite in patients with a history of inefficient in vitro fertilisation attempts and chronic endometritis. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases.* 2016; 65S: 27–8. (in Russian)]
3. Lédée N., Petitbarat M., Chevrier L. et al. The uterine immune profile may help women with repeated unexplained embryo implantation failure after in vitro fertilization. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2016; 75(3): 388–401. Doi: 10.1111/aji.12483
4. Comins-Boo A., García-Segovia A., del Prado N.N. et al. Evidence-based update: immunological evaluation of recurrent implantation failure. *Reprod. Immunol. Open Acc.* 2016; 1(4): 24. DOI: 10.4172/2476-1974.100024
5. Оразов М.Р., Орехов Р.Е., Камилова Д.П. и др. Тайны патогенеза повторных неудач имплантации. *Трудный пациент.* 2020; 18(4): 43–8. [Orazov M.R., Orekhov R.E., Kamilova D.P. et al. Secrets of pathogenesis in repeated implantation failure. *Difficult Patient.* 2020; 18(4): 43–8. (in Russian)]. DOI: 10.24411/2074-1995-2020-10030
6. Hashimoto T., Koizumi M., Doshida M. et al. Efficacy of the endometrial receptivity array for repeated implantation failure in Japan: a retrospective, two-centers study. *Reprod. Med. Biol.* 2017; 16(3): 290–6. DOI: 10.1002/rmb2.12041
7. Franasiak J.M., Scott R.T. Contribution of immunology to implantation failure of euploid embryos. *Fertil. Steril.* 2017; 107(6): 1279–83. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.04.019
8. Garcia-Velasco J.A. Introduction: immunology and assisted reproductive technology in the 21st century. *Fertil. Steril.* 2017; 107(6): 1267–8. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.04.017
9. Shi C., Shen H., Fan L.J. et al. Endometrial microRNA signature during the window of implantation changed in patients with repeated implantation failure. *Chin. Med. J. (Engl.)* 2017; 130(5): 566–73. DOI: 10.4103/0366-6999.200550
10. Айламазян Э.К., Толибова Г.Х., Траль Т.Г. и др. Новые подходы к оценке эндометриальной дисфункции. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2017; 66(3): 8–15. [Aylamazyan E.K., Tolibova G.Kh., Tral T.G. et al. New approaches to the estimation of endometrial dysfunction. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases.* 2017; 66(3): 8–15. (in Russian)]. DOI: 10.17816/JOWD6638-15
11. Dekel N., Gnainsky Y., Granot I. et al. The role of inflammation for a successful implantation. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2014; 72(2): 141–7. DOI: 10.1111/aji.12266
12. Piccinni M.P., Lombardelli L., Logiodice F. et al. T helper cell mediated-tolerance towards fetal allograft in successful pregnancy. *Clin. Mol. Allergy.* 2015; 13(1): 9. DOI: 10.1186/s12948-015-0015-y
13. Huang J., Qin H., Yang Y. et al. A comparison of transcriptomic profiles in endometrium during window of implantation between women with unexplained recurrent implantation failure and recurrent miscarriage. *Reproduction.* 2017; 153(6): 749–58. DOI: 10.1530/REP-16-0574
14. Gong Q., Zhu Y., Pang N. et al. Increased levels of CCR7(+)PD-1(hi) CXCR5+ CD4+ T cells, and associated factors Bcl-6, CXCR5, IL-21 and IL-6 contribute to repeated implantation failure. *Exp. Ther. Med.* 2017; 14(6): 5931–41. DOI: 10.3892/etm.2017.5334
15. Tuckerman E., Mariee N., Prakash A. et al. Uterine natural killer cells in peri-implantation endometrium from women with repeated implantation failure after IVF. *J. Reprod. Immunol.* 2010; 87(1–2): 60–6. DOI: 10.1016/j.jri.2010.07.001
16. Laird S.M., Tuckerman E.M., Cork B.A. et al. A review of immune cells and molecules in women with recurrent miscarriage. *Hum. Reprod. Update.* 2003; 9(2): 163–74. DOI: 10.1093/humupd/dmg013
17. Kwak-Kim J., Gilman-Sachs A. Clinical implication of natural killer cells and reproduction. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2008; 59(5): 388–400. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2008.00596.x
18. Junovich G., Azpiroz A., Incera E. et al. Endometrial CD16(+) and CD16(–) NK cell count in fertility and unexplained infertility. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2013; 70(3): 182–9. DOI: 10.1111/aji.12132
19. Carlino C., Stabile H., Morrone S. et al. Recruitment of circulating NK cells through decidual tissues: a possible mechanism controlling NK cell accumulation in the uterus during early pregnancy. *Blood.* 2008; 111(6): 3108–15. DOI: 10.1182/blood-2007-08-105965
20. Vacca P., Vitale C., Montaldo E. et al. CD34+ hematopoietic precursors are present in human decidua and differentiate into natural killer cells upon interaction with stromal cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011; 108(6): 2402–7. DOI: 10.1073/pnas.1016257108
21. Wood K.J., Sakaguchi S. Regulatory T cells in transplantation tolerance. *Nat. Rev. Immunol.* 2003; 3(3): 199–210. DOI: 10.1038/nri1027
22. Sakaguchi S., Yamaguchi T., Nomura T. et al. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell.* 2008; 133(5): 775–87. DOI: 10.1016/j.cell.2008.05.009
23. Bilate A.M., Lafaille J.J. Induced CD4+Foxp3+ regulatory T cells in immune tolerance. *Annu. Rev. Immunol.* 2012; 30: 733–58. DOI: 10.1146/annurev-immunol-020711-075043
24. Wing K., Sakaguchi S. Regulatory T cells exert checks and balances on self tolerance and autoimmunity. *Nat. Immunol.* 2010; 11(1): 7–13. DOI: 10.1038/ni.1818
25. Somerset D.A., Zheng Y., Kilby M.D. et al. Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25+ CD4+ regulatory T-cell subset. *Immunology.* 2004; 112(1): 38–43. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2004.01869.x
26. Santner-Nanan B., Peek M.J., Khanam R. et al. Systemic increase in the ratio between Foxp3+ and IL-17-producing CD4+ T cells in healthy pregnancy but not in preeclampsia. *J. Immunol.* 2009; 183(11): 7023–30. DOI: 10.4049/jimmunol.0901154
27. Aluvihare V.R., Kallikourdis M., Betz A.G. Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nat. Immunol.* 2004; 5(3): 266–71. DOI: 10.1038/ni1037
28. Kahn D.A., Baltimore D. Pregnancy induces a fetal antigen-specific maternal T regulatory cell response that contributes to tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010; 107(20): 9299–304. DOI: 10.1073/pnas.1003909107
29. Rowe J.H., Ertelt J.M., Xin L. et al. Pregnancy imprints regulatory memory that sustains anergy to fetal antigen. *Nature.* 2012; 490(7418): 102–6. DOI: 10.1038/nature11462
30. Wang W.J., Liu F.J., Zhang X. et al. Periodic elevation of regulatory T cells on the day of embryo transfer is associated with better in vitro fertilization outcome. *J. Reprod. Immunol.* 2017; 119: 49–53. DOI: 10.1016/j.jri.2017.01.002

Поступила / Received: 12.10.2021

Принята к публикации / Accepted: 30.11.2021