

## Рекомбинантный интерлейкин-2: клиническая эффективность и патогенетическое обоснование применения при наружном генитальном эндометриозе

© М.И. ЯРМОЛИНСКАЯ<sup>1,2</sup>, Е.И. ДУРНЕВА<sup>1</sup>, С.В. ЧЕПАНОВ<sup>1</sup>, Д.И. СОКОЛОВ<sup>1</sup>, С.А. СЕЛЬКОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта» Минобрнауки России, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

### РЕЗЮМЕ

Эндометриоз — это заболевание, характеризующееся иммунной дисфункцией на различных уровнях: от нарушений в передаче сигналов цитокинами к изменениям в популяциях клеток иммунной системы, в результате чего развивается персистирующая воспалительная реакция. В связи с этим изучение эффективности применения иммуномодулирующих препаратов в комплексной терапии этого заболевания представляется актуальным.

**Цель исследования.** Сравнить эффективность рекомбинантного интерлейкина (IL)-2 в составе комплексной терапии наружного генитального эндометриоза (НГЭ) и стандартной гормональной терапии.

**Материал и методы.** В исследование включены 45 пациенток с диагнозом НГЭ I—II степени (ASRM), подтвержденным при лапароскопии и гистологическом исследовании. Всем пациенткам после оперативного лечения назначены агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона (аГнРГ) в течение 6 мес. Одновременно с первой инъекцией аГнРГ пациенткам первой подгруппы (25 женщин) назначили рекомбинантный IL-2 в дозе 500 тыс. МЕ в виде трехкратной внутривенной инфузии. В подгруппу сравнения вошли 20 пациенток, получавших терапию только аГнРГ. Клиническую эффективность определяли на основании болевого синдрома по визуальной аналоговой шкале; методом проточной цитофлуориметрии в периферической крови (ПК) определяли субпопуляционный состав лимфоцитов и количество активированных NK-клеток.

**Результаты.** Выраженность тазовой боли после терапии у женщин первой подгруппы снизилась в 5 раз, подгруппы сравнения — в 3 раза и составила 1,57±0,4 и 2,43±0,3 балла соответственно ( $p<0,05$ ). Интенсивность диспареунии у пациенток, которым применялась комбинированная терапия с IL-2, снизилась в 6 раз, а при монотерапии аГнРГ — в 4,5 раза и составила 0,85±0,3 и 2,25±0,3 балла соответственно ( $p<0,05$ ). После курса терапии с рекомбинантным IL-2 в ПК пациенток с НГЭ отмечено увеличение числа NK-клеток в 1,26 раза ( $p<0,05$ ); также отмечено увеличение способности NK-клеток отвечать активацией на стандартный индуктор в 1,33 раза ( $p<0,001$ ) в сравнении с их уровнем до лечения. В подгруппе сравнения после терапии аГнРГ число NK-клеток в ПК пациенток не изменилось, а их активность снизилась в 1,3 раза ( $p=0,03$ ) по сравнению показателями до лечения.

**Выводы.** Включение рекомбинантного интерлейкина-2 в комплексную терапию наружного генитального эндометриоза является клинически более эффективным, а также патогенетически обоснованным, так как оказывает стимулирующее влияние на клеточный иммунитет по сравнению со стандартной гормональной терапией.

**Ключевые слова:** эндометриоз, иммунная система, NK-клетки, рекомбинантный IL-2, лимфоциты.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Ярмолинская М.И. — <https://orcid.org/0000-0002-6551-4147>; e-mail: m.yarmolinskaya@gmail.com

Дурнева Е.И. — <https://orcid.org/0000-0001-5819-7772>; e-mail: elenadurneva1303@gmail.com

Чепанов С.В. — e-mail: chepanovsv@gmail.com

Соколов Д.И. — <https://orcid.org/0000-0002-5749-2531>; e-mail: falcojugger@yandex.ru

Сельков С.А. — <https://orcid.org/0000-0003-1560-7529>; e-mail: selkovsa@mail.ru

**Автор, ответственный за переписку:** Дурнева Е.И. — e-mail: elenadurneva1303@gmail.com

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Ярмолинская М.И., Дурнева Е.И., Чепанов С.В., Соколов Д.И., Сельков С.А. Рекомбинантный интерлейкин-2: клиническая эффективность и патогенетическое обоснование применения при наружном генитальном эндометриозе. *Проблемы репродукции*. 2021;27(2):41–50. <https://doi.org/10.17116/repro20212702141>

## Recombinant IL-2: clinical efficacy and pathogenetic rationale for use in external genital endometriosis

© M.I. YARMOLINSKAYA<sup>1,2</sup>, E.I. DURNEVA<sup>1</sup>, S.V. CHEPANOV<sup>1</sup>, D.I. SOKOLOV<sup>1</sup>, S.A. SELKOV<sup>1</sup>

<sup>1</sup>The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>North-Western state medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

**ABSTRACT**

**Introduction.** Endometriosis is a disorder characterized by a dysfunction of the immune system on different levels including abnormalities within cytokine signaling pathways and immune cell populations resulting in a persistent inflammatory reaction. Along this line, investigation the role of immunomodulating agents within a complex therapy of endometriosis evokes interest among clinicians. Our study aimed to compare the treatment power of recombinant interleukin (IL)-2 within a complex therapy regimen of external genital endometriosis (EGE) with a standard hormone-based approach.

**Materials and methods.** The study encompassed 45 female patients with the intraoperative and histologically confirmed diagnosis of EGE I-II stage according to ASRM classification. All patients underwent the therapy with agonists of gonadotropin releasing hormone (aGnRH) during 6 months following a surgical treatment. Simultaneously with a first injection of aGnRH, the first subgroup (25 patients) received three infusions of recombinant IL-2 in a dosage of 500000 ME for each. The remaining 20 patients (second subgroup) underwent aGnRH only. The clinical efficacy was valued based on the assessment of pain syndrome according to the visual analogue scale; flow cytometry (FC) of the peripheral blood (PB) was used to characterize subpopulations of lymphocytes and measure the level of NK-cells activity.

**Results.** The intensity of pelvic pain decreased in five and three times following a treatment in first and second subgroups, respectively, and compromised  $1.57 \pm 0.4$  and  $2.43 \pm 0.3$  for each ( $p < 0.05$ ). As concerns to dyspareunia, it declined in 6 and 4.5 times in the group of combined therapy with IL-2 ( $0.85 \pm 0.3$ ) and monotherapy with aGnRH ( $2.25 \pm 0.3$ ), accordingly ( $p < 0.05$ ). The amount of NK-cells in PB raised in 1.26 times following the EGE therapy with recombinant IL-2 ( $p < 0.05$ ); moreover, NK cells were documented to respond on a standard inductor in 1.33 times more actively in first subgroup as compared to the level preceding IL-2 treatment ( $p < 0.001$ ). In opposite, the amount of NK-cells in PB remained unchanged and the level of their activity even decreased in 1.3 times ( $p = 0.03$ ) in comparison to the initial values before the treatment in aGnRH-group.

**Conclusion.** Application of recombinant IL-2 within a complex EGE therapy shows superior clinical response rate and stimulating impact on the cell-mediated immunity compared to standard hormone-based approach.

**Keywords:** endometriosis, immune system, NK cells, recombinant IL-2, lymphocytes.

**INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:**

Yarmolinskaya M.I. — <https://orcid.org/0000-0002-6551-4147>; e-mail: m.yarmolinskaya@gmail.com

Durueva E.I. — <https://orcid.org/0000-0001-5819-7772>; e-mail: elenadurueva1303@gmail.com

Chepanov S.V. — e-mail: chepanovsv@gmail.com

Sokolov D.I. — <https://orcid.org/0000-0002-5749-2531>; e-mail: falcojugger@yandex.ru

Selkov S.A. — <https://orcid.org/0000-0003-1560-7529>; e-mail: selkovsa@mail.ru

**Corresponding author:** Durueva E.I. — e-mail: elenadurueva1303@gmail.com

**TO CITE THIS ARTICLE:**

Yarmolinskaya MI, Durueva EI, Chepanov SV, Sokolov DI, Selkov SA. Recombinant IL-2: clinical efficacy and pathogenetic rationale for use in external genital endometriosis. *Problemy Reproduktsii (Russian Journal of Human Reproduction)*. 2021;27(2):41–50. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/repro20212702141>

Эндометриоз — это заболевание, которое характеризуется наличием ткани, сходной с эндометрием вне полости матки, чаще всего диагностируется в репродуктивном возрасте и является процессом с хроническим, рецидивирующим и прогрессирующим характером течения. Симптомы эндометриоза включают боль в области малого таза и/или бесплодие, которые, как правило, оказывают существенное влияние на качество жизни пациентов с негативными последствиями для повседневной активности, сексуальной функции и межличностных отношений. Учитывая широкую распространенность заболевания, большую задержку с установлением диагноза, недостаточную эффективность в ряде случаев хирургического лечения и медикаментозной терапии, эндометриоз следует рассматривать не просто как болезнь отдельного индивидуума, а как проблему общественного здравоохранения [1].

Для эндометриоза характерна эстроген-зависимая хроническая воспалительная реакция, сопровождающаяся дисменореей, диспареунией, синдромом хронических тазовых болей, дисхезией, дизурией, бесплодием и невынашиванием беременности [2, 3]. В настоящий момент существует все больше доказательств того, что эндометриоз связан с нарушениями

в работе иммунной системы. Заболевание проявляется нарушением клеточных и гуморальных иммунных реакций, включая инфильтрацию брюшины клетками иммунной системы, активацию макрофагов, анормальные реакции лимфоцитов и сниженную цитотоксическую активность естественных клеток-киллеров (NK), а также избыточную продукцию провоспалительных и регуляторных цитокинов [4].

Полагают, что выживание и рост эндометриозных гетеротопий в брюшной полости обусловлены нарушением их распознавания и элиминации локальными компонентами иммунной системы, такими как макрофаги и NK-клетки. Действительно, существуют доказательства того, что эндометриоз может быть связан с изменениями активности NK-клеток [5].

Впервые сниженную цитотоксическую активность (ЦА) NK-клеток в периферической крови (ПК) и перитонеальной жидкости (ПЖ) пациенток с эндометриозом обнаружили в модели *in vitro* в отношении клеток линии K562 [6]. Эти данные в дальнейшем подтверждены и другими исследователями [5]. Однако существуют и противоположные данные, не подтверждающие сниженную ЦА NK-клеток в ПК

или ПЖ у больных наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) [7, 8]. Полагают, что в указанных работах это могло быть связано с недостаточным количеством входящих в исследование пациенток как с НГЭ, так и в контрольной группе.

Сниженная цитотоксическая функция НК-клеток и уменьшение количества циркулирующих НК-клеток могут быть основой для «ускользания» эндометриоидных клеток от элиминации, способствовать их адгезии и пролиферации. Однако в большинстве исследований оценка НК-клеток как в ПК, так и в ПЖ у пациенток с эндометриозом не выявила каких-либо существенных изменений в количестве НК-клеток CD56+ и/или CD16+ по сравнению с женщинами без этого заболевания [9–11].

Учитывая, что сниженная ЦА НК-клеток является важным компонентом патогенеза эндометриоза, применение препаратов, направленных на ее повышение, представляется актуальным. Известно, что положительным стимулирующим действием на цитотоксическую активность НК-клеток обладает рекомбинантный человеческий интерлейкин-2 (IL-2).

В экспериментальной модели на животных при интраперитонеальном введении рекомбинантного IL-2 отмечается уменьшение размеров эндометриоидных гетеротопий, а в ПЖ обнаружено увеличение как ЦА НК-клеток, так и повышение количества активированных лимфоцитов, макрофагов [12].

Ранее установлено, что использование рекомбинантного IL-2 приводит к стойкому регрессу эндометриоидных гетеротопий у женщин с генитальным эндометриозом, а также к ингибированию неоангиогенеза, который является одним из ключевых звеньев в возникновении и прогрессировании заболевания [13].

Важно, что при сочетанном лечении НГЭ после хирургического вмешательства с применением схемы иммуномодулирующей терапии рекомбинантным человеческим IL-2 и агонистов гонадотропин-рилизинг-гормона (аГнРГ) отмечено повышение ЦА НК-клеток, а также снижение на треть частоты рецидивов заболевания [14].

Лечение эндометриоза путем инстилляций IL-2 в эндометриоидные кисты показало, что у 50% пациенток кисты не обнаруживались после однократного введения препарата. В группе больных НГЭ после проведения двукратной инстилляций кисты не обнаруживались у 58,3% пациенток, а также увеличился интервал между рецидивами заболевания [15].

Таким образом, с учетом вовлеченности иммунной системы в патогенез эндометриоза представляется актуальным изучение субпопуляционного состава лимфоцитов ПК, количества и активности НК-клеток в ПК женщин с эндометриозом, а также влияния таргетной иммуномодулирующей терапии на клинические и лабораторные характеристики этих пациенток.

Цель исследования — сравнить эффективность рекомбинантного интерлейкина (IL)-2 в составе комп-

лексной терапии наружного генитального эндометриоза (НГЭ) и стандартной гормональной терапии.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В основную группу включены 45 пациенток с диагнозом НГЭ I–II степени, подтвержденным при лапароскопии и гистологическом исследовании. Для оценки степени распространенности НГЭ использована классификация американского общества репродуктивной медицины ASRM. Всем пациенткам после операции назначали аГнРГ в течение 6 мес (1 инъекция в 28 дней). В дальнейшем больные были разделены на две подгруппы. Первую подгруппу (сочетанной терапии) составили 25 пациенток с НГЭ, которым одновременно с первой инъекцией аГнРГ назначали рекомбинантный IL-2 (Ронколейкин, ООО «НПК Биотех», Россия) в дозе 500 тыс. МЕ/мл в 400 мл 0,9% раствора натрия хлорида в виде трехкратной внутривенной инфузии каждые 48 ч капельно. Вторую подгруппу (сравнения) составили 20 больных НГЭ, получивших после оперативного лечения только терапию аГнРГ. Кроме того, выделена контрольная группа (20 женщин), которым произведена диагностическая лапароскопия в связи с бесплодием в рамках подготовки к протоколу экстракорпорального оплодотворения. У этой группы пациенток интраоперационно не обнаружены гинекологические заболевания. Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской Декларации. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта». До включения в исследование у всех участниц получено письменное добровольное информированное согласие.

Перед проведением оперативного вмешательства и через 6 мес после начала лечения оценен болевой синдром с использованием визуальной аналоговой шкалы (ВАШ). Для оценки интенсивности болевого синдрома используется балльная шкала от 0 до 10 баллов, где 0 — отсутствие болей, 10 — нестерпимые боли, которые с трудом купируются нестероидными противовоспалительными препаратами и приводят к социальной дезадаптации на момент приступа. В ПК оценивали субпопуляционный состав лимфоцитов, содержание и активность НК-клеток. Эти показатели определяли на проточном цитофлуориметре BD FACS Canto II (Becton, Dickinson and Company, США) стандартным методом в общей фракции мононуклеарных клеток. С помощью стандартных наборов (Becton, Dickinson and Company, США) определяли абсолютное и относительное содержание лимфоцитов с фенотипом CD3+(Т-лимфоцитов), CD3+CD4+(Т-хелперов), CD3+CD8+(цитотоксических Т-лимфоцитов), CD19+(В-лимфоцитов), CD16+CD56+(НК-клеток). НК-клетки выделяли по фенотипу CD3-CD16+CD56+,

НКТ-клетки по фенотипу CD3+CD16+CD56+. Для анализа активности НК-клеток мононуклеары периферической крови выделяли на градиенте плотности фикоколл-верографин (Sigma-Aldrich, США) стандартным методом. Затем мононуклеары инкубировали в пробирке 3 часа в культуральной среде RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, США), 10% ЭТС (Sigma-Aldrich, США), 1% стрептомицина и пенициллина (Sigma-Aldrich, США), 1% глутамина (Sigma-Aldrich, США) во влажной атмосфере при 37 °C и 5% CO<sub>2</sub> в концентрации 1×10<sup>6</sup> клеток/мл. Для оценки содержания активированных НК-клеток использовали метод оценки дегрануляции клеток и экспрессии ими CD107a, предложенный G. Alter и соавт. [16]. Экспрессия CD107a характеризует процесс активации НК-клеток, сопровождающийся дегрануляцией лизосом с последующим экспонированием на поверхности клеток LAMP-белка (Lysosomal associated membrane protein). Для проведения этого анализа часть мононуклеаров от каждой пациентки инкубировали в присутствии антител к CD107a (Becton, Dickinson and Company, США) и 8 мкг/мл монензина (Becton, Dickinson and Company, США). Вторую часть мононуклеаров от тех же пациенток инкубировали в присутствии антител к CD 107a, 8 мкг/мл монензина и стандартного реагента для активации лейкоцитов. Затем оценивали количество НК-клеток (CD56+CD16+) в ПК, экспрессирующих CD107a, — гликопротеин, ассоциированный с лизосомальными мембранами, отражающий степень активации НК-клеток в случае экспрессии их на поверхности клеточной мембраны. Активированные НК-клетки разделены на спонтанно активированные (НКА—), которые экспрессировали CD107a без воздействия реагента для активации, и индуцированно активированные (НКА+), которые экспрессировали этот антиген после добавления стандартного активатора.

Статистическую обработку данных проводили с использованием методов непараметрического анализа. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 13.3 (ЗАО «Статсофт Раша», Россия). При проверке статистических гипотез уровень значимости принимался равным 0,05 (5%). Количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению, для этого использовали критерий Шапиро—Уилка (при числе исследуемых менее 50). Совокупности количественных показателей, распределение которых не отличалось от нормального, описывали при помощи среднего и ДИ 95%, а в случае ненормального распределения — значений медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (Q1; Q3). Для сравнения независимых совокупностей использовали *t*-test и *U*-критерий Манна—Уитни. Для исследования динамики изменения показателей внутри групп использовали *W*-критерий Уилкоксона для зависимых выборок.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Клиническая характеристика группы

Основную группу составили 45 больных НГЭ в возрасте от 29 до 38 лет (средний возраст 32,5±1,2 года). У 18 (40%) пациенток на основании интраоперационного исследования установлен диагноз НГЭ I степени, у 27 (60%) больных — НГЭ II степени распространенности. Средний возраст наступления менархе у женщин с НГЭ составил 12,4±1,4 года (минимальный — 11,5 года, максимальный — 13,8 года). Средняя продолжительность менструального цикла — 28,2±2,4 дня (от 25 до 33 дней). Регулярный менструальный цикл наблюдался у большинства (87,5%) пациенток. Болевой синдром различной степени выраженности (дисменорея, тазовая боль и диспареуния) отмечался у всех пациенток и был основной причиной для обращения к гинекологу. Бесплодие отмечено у 82,5% больных НГЭ, при этом первичное бесплодие наблюдалось у 82% пациенток, доля вторичного бесплодия составила 28%.

Средний возраст пациенток в группе контроля составил 25,5±1,1 года (минимальный — 21,2 года, максимальный — 33 года). Средний возраст наступления менархе у женщин группы контроля составил 13,8±1,3 года (минимальный — 12,3 года, максимальный — 14,3 года). Средняя продолжительность менструального цикла — 28,2±1,6 дня (минимальная — 24 дня, максимальная — 33 дня). Регулярный менструальный цикл отмечался у 98% пациенток. Жалобы на боли в течение всего менструального цикла не предъявляла ни одна из пациенток. Основной причиной обращения явилось наличие первичного или вторичного бесплодия. У всех супружеских пар установлен мужской фактор бесплодия.

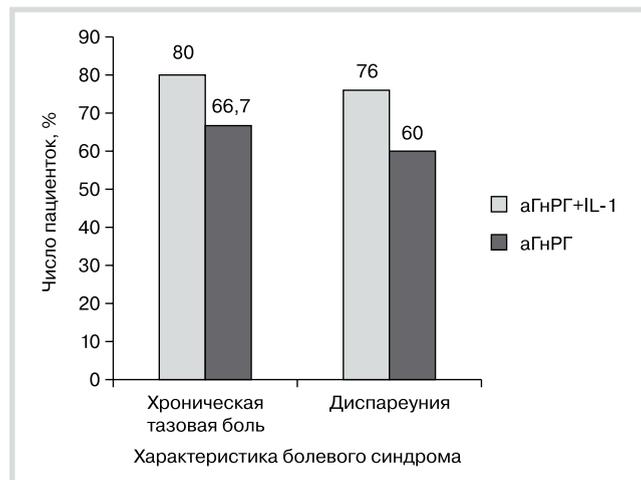
Как уже отмечалось, до начала терапии болевой синдром присутствовал у всех пациенток с НГЭ. В первой подгруппе жалобы на хроническую тазовую боль отмечены у 92% больных, диспареуния наблюдалась у 80% пациенток. Во второй подгруппе до начала лечения тазовая боль отмечена у 90%, диспареуния — у 75% пациенток. Так как на фоне терапии аГнРГ наблюдалась медикаментозная аменорея, оценить выраженность дисменореи не представлялось возможным. Интенсивность болевого синдрома в области таза до начала терапии у пациенток из подгруппы сочетанной терапии аГнРГ и рекомбинантного ПЛ-2 составила 7,82±0,3 балла на основании ВАШ и была сопоставима с интенсивностью болевого синдрома у пациенток из группы терапии только аГнРГ — 7,6±0,2 балла. Выраженность диспареунии также сопоставима в первой и второй подгруппах и составила 5,4±0,25 и 5,6±0,4 балла соответственно (табл. 1).

На фоне сочетанного применения рекомбинантного ПЛ-2 с аГнРГ практически полное отсутствие боли в области малого таза отмечено в 88% случаев, дис-

**Таблица 1.** Результаты оценки выраженности болевого синдрома в баллах по визуальной аналоговой шкале боли до оперативного лечения и после медикаментозной терапии пациенток с наружным генитальным эндометриозом**Table 1.** Results of pain assessment based on visual analogue scale before surgical and after pharmacological EGE therapy in subgroups

Характеристика боли по ВАШ, баллы	Подгруппа аГнРГ+IL-2, n=25		Подгруппа сравнения аГнРГ, n=20	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Хроническая тазовая боль	7,82±0,3	1,57±0,4 <sup>1,2</sup>	7,6±0,2	2,53±0,3 <sup>1</sup>
Диспареуния	5,4±0,25	0,85±0,3 <sup>1,2</sup>	5,26±0,4	1,55±0,3 <sup>1</sup>

*Примечание.* Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего ( $M \pm m$ ). <sup>1</sup> —  $p < 0,05$  — статистическая значимость различий по сравнению с показателями до лечения; <sup>2</sup> —  $p < 0,05$  — статистическая значимость различий по сравнению с показателями в подгруппе монотерапии аГнРГ; аГнРГ — агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона; IL-2 — интерлейкин-2.

**Рис. 1.** Динамика количества пациенток с отсутствием болевого синдрома после лечения.

\* —  $p < 0,05$  — статистическая значимость различий по сравнению с показателями у пациенток подгруппы монотерапии агонистами гонадотропин-рилизинг-гормона; аГнРГ — агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона; IL-2 — интерлейкин-2.

**Fig. 1.** Dynamic in amount of patients with lack of pain syndrome in both subgroups after treatment.

пареунии — в 96% случаев (выраженность диспареунии снизилась в 6 раз, интенсивность хронической тазовой боли уменьшилась в 5 раз по ВАШ) (рис. 1).

При применении терапии аГнРГ боль в малом тазу практически отсутствовала в 75% случаев, диспареуния — в 85% (выраженность диспареунии уменьшилась в 4,5 раза, хронической тазовой боли — в 3 раза) (см. рис. 1).

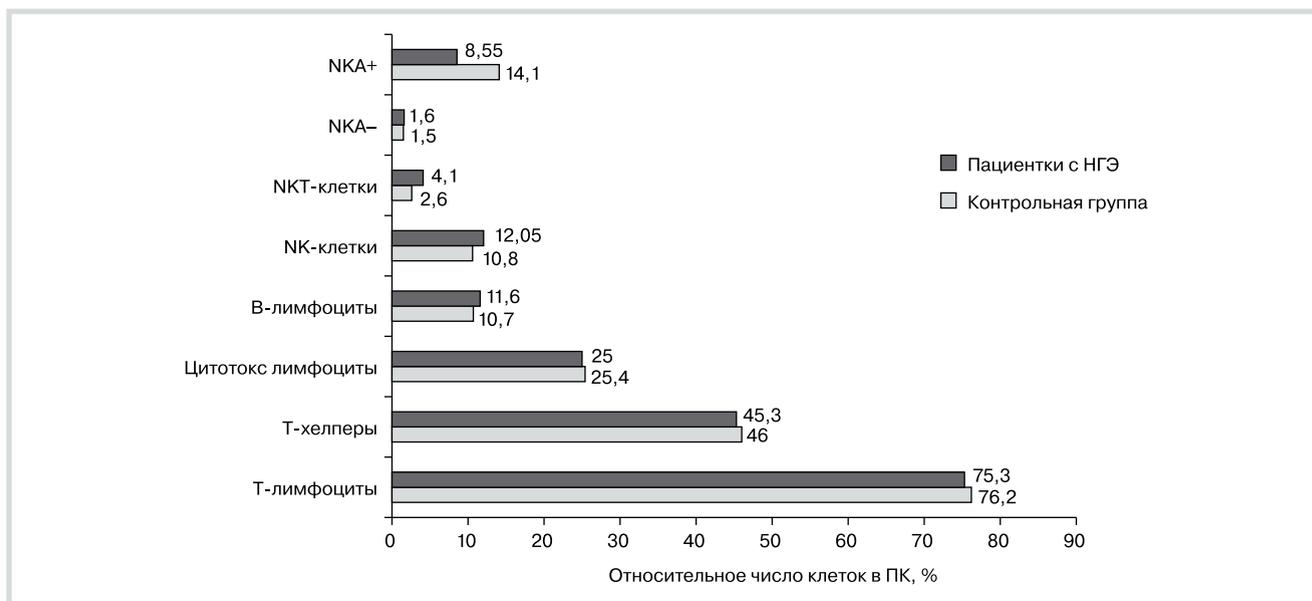
#### Оценка субпопуляционного состава лимфоцитов, содержания НК-клеток и активности НК-клеток в периферической крови

При анализе субпопуляционного состава лимфоцитов в ПК пациенток с НГЭ до начала лечения отмечено повышенное содержание НКТ-клеток с фенотипом CD3+CD16+56+ в 1,46 раза по сравнению с исследуемыми группы контроля. При этом различия между содержанием клеток с фенотипом CD3+ (Т-лимфоциты), CD19+ (В-лимфоциты), CD3+CD4+ (Т-хелперы), CD3+CD8+ (цитотокси-

ческие Т-лимфоциты), а также НК-клеток с фенотипом CD3-CD16+56+ в обеих подгруппах не обнаружены. Содержание НК-клеток, экспрессирующих CD107a, как спонтанно активированных (НКА-), так и индуцированно активированных (НКА+), также не различалось в исследуемых подгруппах пациенток (рис. 2). Проведена проверка двух сравниваемых подгрупп пациенток с НГЭ до начала лечения на однородность с использованием W-критерия Уилкоксона. Установлено, что подгруппы пациенток с НГЭ до начала терапии различались только по одному из исследуемых показателей (относительное число НКТ-клеток с фенотипом CD3+CD16+56+). Для пациенток подгруппы сочетанной терапии 7,9 (3,7; 9,1) тыс/мкл, а для подгруппы сравнения — 3,8 (2,8; 5,1) тыс/мкл ( $p < 0,05$ ).

После сочетанной терапии НГЭ аГнРГ в сочетании с рекомбинантным IL-2 отмечено увеличение в ПК относительного числа НК-клеток с фенотипом CD3-CD16+56+ и НКА+ по сравнению с подгруппой терапии только аГнРГ в 1,26 и 1,34 раза соответственно (табл. 2). У пациенток, получавших терапию аГнРГ, отмечено снижение относительного количества клеток с фенотипом CD19+, НКТ-клеток, а также НКА+ клеток в 1,4, в 3,4 и в 1,3 раза соответственно по сравнению с показателями до лечения (см. табл. 2).

Для сравнения динамики изменения исследуемых показателей после лечения между подгруппами мы использовали дельту ( $\Delta = m_{\text{сред до лечения}} - m_{\text{сред после лечения}}$ ) с 95% доверительным интервалом (ДИ). Нами получены данные:  $\Delta$ НКА+ клеток (относительное содержание) в ПК пациенток после сочетанной терапии аГнРГ совместно с IL-2 составила 2,7 ДИ 95% (0,8; 7,2), а в подгруппе с терапией только аГнРГ  $\Delta$ НКА+ клеток составила -2,64 ДИ 95% (-4,38; -1,23) (рис. 3). Показатель  $\Delta$ НКТ-клеток (относительное содержание) в обеих подгруппах после лечения имел отрицательную динамику, но в большей степени в подгруппе сравнения, и составил -4,85 ДИ 95% (-7,15; -2,56). В подгруппе, получавшей сочетанную терапию аГнРГ с рекомбинантным IL-2, показатель  $\Delta$ НКТ-клеток составил -0,98 ДИ 95% (-2,37; -1,36). Однако по данному показателю подгруппы различались до начала лечения, поэтому его изменения мы не учитывали (см. рис. 3).



**Рис. 2.** Сравнение содержания субпопуляции лимфоцитов, NKT-, NK-клеток и их активированных форм в периферической крови больных наружным генитальным эндометриозом и у пациенток группы контроля.

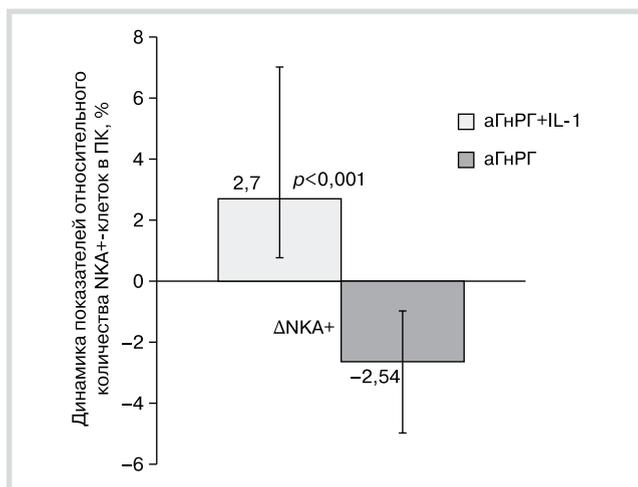
\* —  $p < 0,05$  — статистическая значимость различий по сравнению с показателями у пациенток группы контроля; ПК — периферическая кровь; НГЭ — наружный генитальный эндометриоз.

**Fig. 2.** Comparison of subpopulations of lymphocytes, amount of NKT-, NK-cells and their activated forms in PB of EGE patients and control group.

**Таблица 2.** Сравнительная оценка субпопуляционного состава лимфоцитов, а также содержания NKT-, NK-клеток и их активированных форм в периферической крови пациенток с наружным генитальным эндометриозом до и после терапии  
**Table 2.** Comparative characteristics of subpopulations of lymphocytes, amount of NKT-, NK-cells and their activated forms in peripheral blood before and after treatment within subgroups

Показатель	Подгруппа аГнРГ+IL-2, n=25				Подгруппа сравнения (аГнРГ), n=20			
	до лечения		после лечения		до лечения		после лечения	
	%	тыс/мкл	%	тыс/мкл	%	тыс/мкл	%	тыс/мкл
CD3+	75,00 (70,10; 77,8)	1,25 (0,87; 1,95)	73,75 (71,40; 78,90)	1,28 (1,04; 1,69)	76,50 (72,9; 78,0)	1,38 (1,01; 1,59)	78,40 (68,8; 80,2)	1,27 (1,2; 1,54)
CD3+CD4+	44,90 (40,20; 51,00)	0,76 (0,58; 1,06)	46,70 (43,00; 52,10)	0,84 (0,68; 1,00)	45,40 (43,6; 51,1)	0,72 (0,64; 1,11)	46,30 (39,0; 54,4)	0,81 (0,69; 0,91)
CD3+CD8+	25,00 (20,40; 30,00)	0,44 (0,36; 0,56)	25,05 (20,40; 28,80)	0,39 (0,30; 0,56)	24,30 (21,8; 29,6)	0,47 (0,3; 0,59)	23,00 (20,0; 28,9)	0,40 (0,34; 0,53)
CD19+	11,70 (8,40; 16,30)	0,20 (0,14; 0,26)	10,55 (8,40; 13,00)	0,23 (0,13; 0,25)	10,70 (8,8; 14,6)	0,17 (0,15; 0,26)	7,90 (7,6; 12,2)*	0,15 (0,12; 0,18)
CD3-CD16+56+	11,70 (7,50; 15,3)	0,19 (0,14; 0,30)	14,80 (9,2; 17,5)*	0,23 (0,15; 0,31)	12,40 (8,8; 14,7)	0,22 (0,15; 0,26)	13,30 (11,6; 15,4)	0,24 (0,2; 0,28)
Т-х/ЦТЛ	1,78 (1,36; 2,40)	—	1,96 (1,51; 2,39)	—	1,67 (1,53; 2,29)	—	2,00 (1,52; 2,73)	—
NKT	3,80 (2,80; 5,10)	—	3,30 (2,7; 5,0)	—	7,90 (3,7; 9,1)	—	2,30 (1,7; 2,8)***	—
Спонтанно активированные NK	1,50 (0,70; 2,00)	—	1,70 (1,10; 2,20)	—	1,80 (1,1; 2,2)	—	1,10 (0,7; 1,9)	—
Индукцированно активированные NK	8,40 (5,40; 2,50)	—	11,30 (8,1; 21,9)***	—	9,50 (6,7; 12,0)	—	7,20 (3,1; 10,9)*	—

**Примечание.** Данные представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей Ме (Q1; Q3). \* —  $p < 0,05$ , \*\*\* —  $p < 0,001$  — статистическая значимость различий по сравнению с соответствующими показателями до лечения.



**Рис. 3.** Сравнение динамики количества NKA+-клеток в периферической крови пациенток с наружным генитальным эндометриозом обеих подгрупп после лечения.

ПК — периферическая кровь; аГнРГ — агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона; IL-2 — интерлейкин-2.

**Fig. 3.** Comparison of rate change in amount of NKA+ cells and their activity in PB of EGE patients before and after treatment between subgroups.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Боль является одним из преобладающих клинических проявлений у пациенток с эндометриозом, негативно влияющим на качество жизни. Как уже отмечалось, характерными являются дисменорея, диспареуния, нециклические тазовые боли, а также дисchezия и дизурия [2]. Длительное течение боли без медикаментозной терапии приводит к формированию хронического болевого синдрома и развитию центральной сенситизации. Оценка выраженности болевого синдрома в динамике используется в качестве параметра клинической эффективности проведенной терапии, так как выполнение повторных лапароскопических операций требует показаний и строгого обоснования. Боль, связанная с эндометриозом, также сложна, как и само заболевание, поскольку не существует корреляции между степенью распространенности эндометриоза и выраженностью болевого синдрома [17]. Существуют различные механизмы, формирующие болевую реакцию и ее выраженность при таком заболевании, однако ключевым является персистирующая воспалительная реакция, характеризующаяся нарушениями в Т-клеточном звене иммунитета и дисбалансом между про- и противовоспалительными цитокинами. Эти компоненты, в свою очередь, активируют периферические ноцицепторы, способствуют их росту, стимулируя выработку факторов роста нервов, ингибируют апоптоз нейронов, что и ведет к возникновению боли [18].

При оценке динамики тазовых болей и выраженности диспареунии у пациенток с НГЭ в обеих подгруппах обнаружено более эффективное уменьшение вы-

раженности болевого синдрома в области малого таза при применении рекомбинантного IL-2 в комплексной терапии НГЭ по сравнению с подгруппой монотерапии аГнРГ и составило 88 и 75% соответственно ( $p < 0,05$ ). Отмечено статистически значимое уменьшение выраженности диспареунии на фоне проводимой терапии у женщин обеих подгрупп, однако при применении сочетанного лечения снижение интенсивности боли при половом акте было более выраженным, чем у женщин, получавших монотерапию — 96 и 85% соответственно ( $p < 0,05$ ). Эффективность терапии рекомбинантным IL-2 подтверждается и более выраженным снижением интенсивности тазовой боли на основании ВАШ —  $1,57 \pm 0,4$  балла и диспареунии —  $0,85 \pm 0,3$  балла по сравнению с показателями у женщин, получавших монотерапию аГнРГ, —  $2,53 \pm 0,3$  балла и  $1,55 \pm 0,3$  балла соответственно ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, включение в комплексную терапию Ронколейкина® сопровождается более выраженным уменьшением болевого синдрома или полным его устранением, что может быть связано со способностью IL-2 уменьшать синаптическую активность при передаче болевых импульсов [19]. Стойкое снижение выраженности болевого синдрома, а также уменьшение на треть частоты рецидивов заболевания отмечено и в другом исследовании, в котором также применялась сочетанная терапия IL-2 с аГнРГ [14]. Антиноцицептивное действие IL-2 подтверждается и в более ранних работах на животных. Так, введение IL-2 в часть мозга крыс, отвечающую за физиологический ответ на стресс, способствовало снижению восприятия боли. Установлено, что IL-2 приводит к блокированию кальциевого канала и подавлению активности сенсорных корковых нейронов [20].

Персистирующая воспалительная реакция, которая способствует формированию боли при эндометриозе, возникает вследствие нарушения надзорных функций иммунной системы. Описаны функциональные изменения иммунологических компонентов ПЖ женщин с эндометриозом, таких как моноциты/макрофаги, естественные киллеры, Т- и В-лимфоциты, цитокины [21]. Однако роль этих изменений в развитии заболевания до конца не ясна.

Согласно полученным нами данным, у пациенток с НГЭ до начала лечения отмечено повышение уровня NKT-клеток по сравнению с количеством этих клеток у пациенток из группы контроля (см. рис. 2). NKT-клетки — это особая популяция лимфоцитов, которые экспрессируют как маркеры NK-клеток (CD16+, CD56+), так и Т-клеточные дифференцировочные антигены (CD3+, CD4+, CD8+) [22]. Подобно гранулоцитам и NK-клеткам NKT-клетки одними из первых реагируют на проникновение в организм чужеродных агентов. В то же время NKT-клетки подобно Т-лимфоцитам участвуют в распознавании аутоантигенов и чужеродных антигенов [23]. Среди NKT-клеток различают 2 типа [24]. Роль NKT-клеток I типа

в противоопухолевом иммунном ответе заключается в активации NK-клеток и CD8+ Т-лимфоцитов благодаря секреции интерферона (IFN) $\gamma$ , а также активации дендритных клеток и синтеза ими IL-12 и IL-2. NKT-клетки II типа участвуют в супрессии противоопухолевого иммунного ответа за счет продукции IL-13, который запускает активацию ряда сигнальных путей, приводящих к подавлению активности CD8+ Т-лимфоцитов. Установлено, что NKT II типа могут подавлять активность клеток I типа [25]. Данные литературы об участии NKT-клеток в патогенезе эндометриоза крайне малочисленны, однако с учетом важной роли данной субпопуляции клеток во взаимодействии клеточного и гуморального иммунного ответа, а также в противоопухолевом иммунном ответе изучение их функции при этом заболевании представляется актуальным. Мы предполагаем, что количество NKT-клеток у пациенток с НГЭ повышено за счет NKT-клеток II типа, которые супрессируют противоопухолевый иммунный ответ и, как следствие, способствуют развитию и прогрессированию эндометриоза. Однако мы не смогли найти в литературе подтверждение этого предположения. В нашей работе не выявлено различий в количестве NK-клеток и цитотоксических лимфоцитов у больных НГЭ и у пациенток группы контроля, то есть NKT-клетки не оказывают в данном случае своего стимулирующего действия на эти клетки, что предполагает дефект в их работе при эндометриозе и должно быть изучено в дальнейшем.

Одним из основных цитокинов, запускающих иммунный ответ и активирующих факторы противоопухолевой защиты, является IL-2 [26]. Препарат рекомбинантного IL-2 стимулирует цитотоксическую активность NK-клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов, а также синтез эндогенных интерферонов [27]. В подгруппе пациенток, которым применяли рекомбинантный IL-2 в составе комплексной терапии с аГнРГ, отмечено повышение как количества NK-клеток, так и содержание активированных естественных киллеров (НКА+) в ПК, что не противоречит данным литературы о влиянии этого препарата на указанный тип клеток при эндометриозе [12–15]. Таким образом, применение IL-2 способствует элиминации вновь образующихся эндометриоидных гетеротопий, препятствует адгезии и пролиферации эктопического эндометрия в дальнейшем и, как следствие, предотвращает возможное прогрессирование процесса и развитие рецидива заболевания. Это подтверждается и более эффективным уменьшением выраженности болевого синдрома у женщин подгруппы сочетанной терапии по сравнению с пациентками, получавшими монотерапию аГнРГ, у которых количество NK-клеток в ПК после терапии не изменилось, а содержание активированных естественных киллеров снизилось.

Следует отметить, что при сравнении динамики изменений количества NK-клеток и НКА+ в ПК у исследуемых обеих подгрупп после лечения вы-

явлены различия лишь в содержании активированных NK-клеток (см. рис. 3). У пациенток подгруппы сочетанной терапии аГнРГ и рекомбинантного IL-2 в ПК количество НКА+ было значительно больше, чем у пациенток подгруппы сравнения, что подтверждает высокую эффективность такого вида терапии. Представленные результаты противоречат более ранним данным литературы о влиянии терапии аГнРГ на NK-клетки, согласно которым лечение препаратом этой группы сопровождалось увеличением числа и активности естественных клеток киллеров в ПК пациенток с НГЭ. Однако в этом же исследовании показано, что низкая активность NK-клеток во время лечения аГнРГ и через 6 мес после терапии связана с высокой частотой возникновения рецидивов заболевания [28]. Кроме того, в литературе описано снижение цитотоксической активности NK-клеток при воздействии аГнРГ *in vitro*, что совпадает с полученными нами данными [29].

Что касается влияния аГнРГ на лимфоцитарный состав крови, то этому аспекту посвящены работы в основном 1990-х годов, и они также носят противоречивый характер. Так, в одном исследовании сообщалось, что содержание Т- и В-клеток крови снижалось при введении аГнРГ мышам [30]. В другом исследовании сообщалось, что лечение аГнРГ увеличивает общее количество Т-лимфоцитов и активность Т-лимфоцитов в ПК и в ПЖ у пациенток с эндометриозом [31]. Есть работа, в которой продемонстрировано отсутствие изменений в содержании В-клеток, NK-клеток, Т-клеток, CD4+ клеток, CD8+ клеток и соотношении CD8+/CD4+ в ПК после применения аГнРГ у людей [32]. Учитывая представленные данные о влиянии аГнРГ на различные иммунные клетки, считаем необходимым включение в комплексную терапию эндометриоза таргетного иммуномодулирующего препарата IL-2.

В подгруппе, получавшей монотерапию аГнРГ, после лечения отмечено снижение числа В-лимфоцитов. Известно, что В-лимфоциты отвечают за гуморальный иммунный ответ, в основном за счет продукции антител против антигенов. Предполагают, что они играют роль в патогенезе эндометриоза, секретируя аутоантитела [28]. Продемонстрировано присутствие антиэндометриальных антител в сыворотке крови пациенток с эндометриозом [33]. Связью между аутоантителами и НГЭ также может объяснить бесплодие при этом заболевании, поскольку эти антитела могут связываться как с эндометрием, так и с эмбрионами и сперматозоидами [34]. Именно поэтому снижение числа В-лимфоцитов в результате применения монотерапии аГнРГ может влиять на повышение фертильности за счет снижения аутоиммунной реактивности к эндометрию при эндометриозе. При оценке в динамике количества В-лимфоцитов не выявлено различий после проведенной терапии в обеих подгруппах (как после сочетанной терапии аГнРГ и рекомбинантным IL-2, так и после монотерапии аГнРГ). Это сви-

детельствует о том, что включение в стандартную терапию ИЛ-2 не влияет на количественное содержание В-лимфоцитов. Установлено, что на В-лимфоцитах имеется рецептор к ИЛ-2, однако этот цитокин не является необходимым фактором их роста [35]. В литературных источниках нам не удалось найти данные о влиянии ИЛ-2 на состав и активность В-клеток при эндометриозе. Однако, учитывая вовлеченность как В-лимфоцитов, так и ИЛ-2 в патогенез заболевания, считаем необходимым дальнейшее изучение их взаимосвязи.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, изменение функций клеток иммунной системы имеет большое значение в патогенезе эндометриоза. У пациенток с наружным генитальным эндометриозом отмечено повышение в периферической крови числа НКТ-клеток — это может способствовать развитию и прогрессированию заболевания в том случае, если происходит увеличение их количества за счет популяции НКТ-клеток II типа, которые обеспечивают супрессию противоопухолевого иммунитета. Если это количество повышено за счет НКТ-клеток I типа, которые обеспечивают противоопухолевый ответ путем влияния на цитотоксические лимфоциты и НК-клетки, то речь может идти об их сниженной активности, так как они не выполняют свою функцию обнаружения опухолевых клеток. Это предположение требует проверки в дальнейшем. Применение рекомбинантного интерлейкина-2 в составе сочетанной терапии эндометриоза характеризовалось более выраженным снижением у женщин боли в области малого таза и диспареунии по сравнению с монотерапией агонистами гонадотропин-рилизинг-гормона. Клиническая эффективность

подтверждается и лабораторными данными, согласно которым количество активированных НК-клеток значительно повысилось после сочетанной терапии заболевания по сравнению с терапией только агонистами гонадотропин-рилизинг-гормона. Исходя из имеющихся данных литературы об отсутствии влияния или подавляющем действии агонистов гонадотропин-рилизинг-гормона на клетки иммунной системы, необходимо преимущественно проводить комплексную терапию агонистами гонадотропин-рилизинг-гормона в сочетании с рекомбинантным интерлейкином-2 для стимуляции цитотоксической функций НК-клеток и Т-лимфоцитов.

## Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Ярмолинская М.И., Соколов Д.И., Сельков С.А.

Сбор и обработка материала — Дурнева Е.И., Чепанов С.В.

Статистический анализ данных — Дурнева Е.И.

Написание текста — Ярмолинская М.И., Дурнева Е.И.

Редактирование — Ярмолинская М.И., Соколов Д.И., Сельков С.А.

## Источник финансирования.

Исследование выполнено при финансовой поддержке тем прикладных научных исследований №АААА-А20-120041390031-0 (клинико-анамнестическая характеристика пациентов и анализ субпопуляций лимфоцитов) и №АААА-А20-120041390023-5 (анализ активности НК-клеток). Участие Дурневой Е.И. поддержано стипендией Президента РФ №СП-1900.2019.4.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
The authors declare no conflicts of interest.**

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Chapron C, Marcellin L, Borghese B, Santulli P. Rethinking mechanisms, diagnosis and management of endometriosis. *Nature Reviews. Endocrinology*. 2019;15(11):666-682. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0245-z>
- Bulun SE, Yilmaz BD, Sison C, Miyazaki K, Bernardi L, Liu S, Kohlmeier A, Yin P, Milad M, Wei J. Endometriosis. *Endocrine Reviews*. 2019;40(4):1048-1079. <https://doi.org/10.1210/er.2018-00242>
- Broi MD, Ferriani RA, Navarro PA. Ethio-pathogenic mechanisms of endometriosis-related infertility. *JBRA Assisted Reproduction*. 2019;23(3):273-280. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20190029>
- Symons LK, Miller JE, Kay VR, Marks RM, Liblik K, Koti M, Tayade C. The Immunopathophysiology of Endometriosis. *Trends in Molecular Medicine*. 2018;24(9):748-762. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.07.004>
- Thiruchelvam U, Wingfield M, O'Farrelly C. Natural Killer Cells: Key Players in Endometriosis. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2015;74(4):291-301. <https://doi.org/10.1111/aji.12408>
- Oosterlynck DJ, Meuleman C, Waer M, Vandeputte M, Koninckx PR. The natural killer activity of peritoneal fluid lymphocytes is decreased in women with endometriosis. *Fertility and Sterility*. 1992;58(2):290-295. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)55224-8](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)55224-8)
- Wu MY, Yang JH, Chao KH, Hwang JL, Yang YS, Ho HN. Increase in the expression of killer cell inhibitory receptors on peritoneal natural killer cells in women with endometriosis. *Fertility and Sterility*. 2000;74(6):1187-1191. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(00\)01592-2](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(00)01592-2)
- Maeda N, Izumiya C, Kusum T, Masumoto T, Yamashita C, Yamamoto Y, Oguri H, Fukaya T. Killer inhibitory receptor CD158a overexpression among natural killer cells in women with endometriosis is undiminished by laparoscopic surgery and gonadotropin releasing hormone agonist treatment. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2004;51(5):364-372. <https://doi.org/10.1111/j.16000897.2004.00170.x>
- Sciezynska A, Komorowski M, Soszynska M, Malejczyk J. NK Cells as Potential Targets for Immunotherapy in Endometriosis. *Journal of Clinical Medicine*. 2019;8(9):1468. <https://doi.org/10.3390/jcm8091468>

10. Galandrini R, Porpora MG, Stoppacciaro A, Micucci F, Capuano C, Tassi I, Di Felice A, Benedetti-Panici P, Santoni A. Increased frequency of human leukocyte antigen-E inhibitory receptor CD94/NKG2A-expressing peritoneal natural killer cells in patients with endometriosis. *Fertility and Sterility*. 2008;89(5 suppl):1490-1496. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.05.018>
11. Zhang C, Maeda N, Izumiya C, Yamamoto Y, Kusume T, Oguri H, Yamashita C, Nishimori Y, Hayashi K, Luo J, Fukaya T. Killer immunoglobulin-like receptor and human leukocyte antigen expression as immunodiagnostic parameters for pelvic endometriosis. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2006;55(2):106-114. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2005.00332.x>
12. Velasco I, Quereda F, Bermejo R, Campos A, Acien P. Intraperitoneal recombinant interleukin-2 activates leukocytes in rat endometriosis. *Journal of Reproductive Immunology*. 2007;74(1-2):124-132. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2006.12.001>
13. Сельков С.А., Павлов Р.В., Аксененко Р.В. Ред. Айламазян Э.К. *Использование ронколейкина в комплексной терапии генитально-го эндометриоза*. Пособие для врачей. СПб.: Изд-во Н-Л; 2008. Sel'kov SA, Pavlov RV, Akseenko RV. Red. Ailamazyan E.K. *Ispol'zovanie ronkoleikina v kompleksnoi terapii genital'nogo endometrioza*. Posobie dlya vrachei. — SPb.: Izd-vo N-L; 2008. (In Russ.).
14. Ярмолинская М.И., Айламазян Э.К. *Генитальный эндометриоз. Различные грани проблемы*. СПб.: Эко-Вектор; 2017. Yarmolinskaya MI, Ailamazyan EK. *Genital'nyy endometrioiz. Razlichnye grani problemy*. SPb.: Eko-Vektor; 2017. (In Russ.).
15. Acien P, Velasco I, Acien M, Quereda F. Treatment of endometriosis with transvaginal ultrasound-guided drainage and recombinant interleukin-2 left in the cysts: a third clinical trial. *Gynecologic and Obstetric Investigation*. 2010;69(3):203-211. <https://doi.org/10.1159/000270901>
16. Alter G, Malenfant JM, Altfeld M. CD107a as a functional marker for the identification of natural killer cell activity. *Journal of Immunological Methods*. 2004;294(1-2):15-22. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2004.08.008>
17. Fauconnier A, Fritel X, Chapron C. Endometriosis and pelvic pain: epidemiological evidence of the relationship and implications. *Gynecologie, Obstetrique and Fertility*. 2009;37(1):57-69. <https://doi.org/10.1016/j.gyobfe.2008.08.016>
18. Morotti M, Vincent K, Becker CM. Mechanisms of pain in endometriosis. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*. 2017;209:8-13. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.07.497>
19. Hutchinson MR, Coats BD, Lewis SS, Zhang Y, Sprunger DB, Rezvani N, Baker EM, Jekich BM, Wieseler JL, Somogyi AA, Martin D, Poole S, Judd CM, Maier SF, Watkins LR. Proinflammatory cytokines oppose opioid-induced acute and chronic analgesia. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2008;22(8):1178-1189. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2008.05.004>
20. de Oliveira CM, Sakata RK, Issy AM, Gerola LR, Salomao R. Cytokines and pain. *Revista Brasileira de Anestesiologia*. 2011;61(2):255-259, 260-255, 137-242. [https://doi.org/10.1016/S0034-7094\(11\)70029-0](https://doi.org/10.1016/S0034-7094(11)70029-0)
21. Riccio L, Santulli P, Marcellin L, Abrao MS, Batteux F, Chapron C. Immunology of endometriosis. *Best Practice and Research. Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2018;50:39-49. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2018.01.010>
22. Laganà AS, Triolo O, Salmeri FM, Granese R, Palmara VI, Ban Frangež H, Vrtčnik Bokal E, Sofo V. Natural Killer T cell subsets in eutopic and ectopic endometrium: a fresh look to a busy corner. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2016;293(5):941-949. <https://doi.org/10.1007/s00404-015-4004-7>
23. Terabe M, Berzofsky JA. Tissue-Specific Roles of NKT Cells in Tumor Immunity. *Frontiers in Immunology*. 2018;9:1838. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01838>
24. Skold M, Behar SM. Role of CD1d-restricted NKT cells in microbial immunity. *Infection and Immunity*. 2003;71(10):5447-5455. <https://doi.org/10.1128/iai.71.10.5447-5455.2003>
25. Акинфиева О.В., Бубнова Л.Н., Бессмельцев С.С. NKT-клетки: характерные свойства и функциональная значимость для регуляции иммунного ответа. *Онкогематология*. 2010;5(4):39-47. Akinfieva OV, Bubnova LN, Bessmel'cev SS. NKT cells: characteristic features and functional significance in the immune response regulation. *Onkogematologiya*. 2010;5(4):39-47. (In Russ.).
26. Abbas AK, Trotta E, R Simeonov D, Marson A, Bluestone JA. Revisiting IL-2: Biology and therapeutic prospects. *Science Immunology*. 2018;3(25):1482. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aat1482>
27. Сельков С.А., Егорова В.Н. *Клинический опыт применения Ронколейкина (рекомбинантного интерлейкина-2) в гинекологии*. Пособие для врачей. СПб.: СИНЭЛ; 2017. Sel'kov SA, Egorova VN. *Klinicheskii opyt primeneniya Ronkoleikina (rekombinantnogo interleikina-2) v ginekologii*. Posobie dlya vrachei. SPb.: SINEL; 2017. (In Russ.).
28. Osuga Y, Koga K, Hirota Y, Hirata T, Yoshino O, Taketani Y. Lymphocytes in endometriosis. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2011;65(1):1-10. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2010.00887.x>
29. Wong KH, Simon JA. *In vitro* effect of gonadotropin-releasing hormone agonist on natural killer cell cytotoxicity in women with and without endometriosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2004;190(1):44-49. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2003.08.032>
30. Rao LV, Cleveland RP, Ataya KM. GnRH agonist induces suppression of lymphocyte subpopulations in secondary lymphoid tissues of prepubertal female mice. *American Journal of Reproductive Immunology*. 1993;30(1):15-25. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.1993.tb00596.x>
31. Hsu CC, Lin YS, Wang ST, Huang KE. Immunomodulation in women with endometriosis receiving GnRH agonist. *Obstetrics and Gynecology*. 1997;89(6):993-998. [https://doi.org/10.1016/s0029-7844\(97\)00145-2](https://doi.org/10.1016/s0029-7844(97)00145-2)
32. Ho HN, Wu MY, Chen HF, Chao KH, Yang YS. *In vivo* CD3+ CD25+ lymphocyte subpopulation is down-regulated without increased serum-soluble interleukin-2 receptor (sIL-2R) by gonadotropin releasing hormone agonist (GnRH-a). *American Journal of Reproductive Immunology*. 1995;33(1):134-139. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.1995.tb01150.x>
33. Fernandez-Shaw S, Hicks BR, Yudkin PL, Kennedy S, Barlow DH, Starkey PM. Anti-endometrial and anti-endothelial auto-antibodies in women with endometriosis. *Human Reproduction*. 1993;8(2):310-315. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a138042>
34. Mathur SP. Autoimmunity in endometriosis: relevance to infertility. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2000;44(2):89-95. <https://doi.org/10.1111/j.8755-8920.2000.440204.x>
35. Егорова В.Н., Попович А.М. *Ронколейкин: результаты клинических испытаний*. СПб.: Альтернативная полиграфия; 2004. Egorova VN, Popovich AM. *Ronkoleikin: rezul'taty klinicheskikh ispytaniy*. SPb.: Al'ternativnaya poligrafiya; 2004. (In Russ.).

Поступила 25.06.2020

Received 25.06.2020

Принята к печати 27.07.2020

Accepted 27.07.2020