



ОЦЕНКА ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА С АНОМАЛЬНЫМИ МАТОЧНЫМ КРОВОТЕЧЕНИЯМИ НА ФОНЕ ПРОСТОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ ЭНДОМЕТРИЯ

Миралиев Ф.К.

Республиканский научно-практический медицинский центр акушерства и гинекологии
Ташкент, Узбекистан

✓ **Резюме**

Большинство научных исследований последних лет посвящены изучению как системного иммунитета, так и локального иммунитета эндометрия при эндометриозе, миоме матки, хроническом эндометрите и привычном невынашивании беременности. При этом данные о состоянии локального иммунитета при гиперпластических процессах эндометрия (ГПЭ) у больных с аномальными маточными кровотечениями (АМК) крайне противоречивы (7,12,16).

Ключевые слова: АМК, гиперплазия эндометрия, цитокины, фактор некроза опухоли- α (ФНО- α), интерлейкины (ИЛ)- ИЛ-1 β , -2, -6, и интерферон- γ (ИФН- γ), репродуктивный возраст.

ODDIY ENDOMETRIYAL GIPERPLAZIYA FONIDA ANORMAL BACHADON QON KETISHI BILAN REPRODUKTIV YOSHDA GI AYOLLARDA SITOKIN HOLATINI BAHOLASH

Miraliev F.K.

Respublika ixtisoslashtirilgan akusherlik va ginekologiya ilmiy-amaliy markazi.
O'zbekiston.Toshkent

✓ **Rezyume**

So'nggi yillardagi ilmiy tadqiqotlarning aksariyati endometriozi, bachadon miomasi, surunkali endometrit va takroriy abortda endometriumning tizimli immunitetini va mahalliy immunitetini o'rganishga bag'ishlangan. Shu bilan birga, anormal uterin qon ketishi (AMB) bo'lgan bemorlarda endometriyal giperplastik jarayonlarda (HPE) mahalliy immunitet holati to'g'risidagi ma'lumotlar juda ziddiyatli (7,12,16).

Kalit so'zlar: АМК, endometriyal giperplaziya, sitokinlar, o'simta nekrozi faktor- α (TNF- α), interleykinlar (IL) - IL-1 β , -2, -6 va interferon-g (IFN-g), reproduktiv yosh.

EVALUATION OF THE CYTOKINE STATUS IN WOMEN OF REPRODUCTIVE AGE WITH ABNORMAL UTERINE BLEEDING AGAINST THE BACKGROUND OF SIMPLE ENDOMETRIAL HYPERPLASIA

F.K.Miraliev

Republican Specialized Scientific and Practical Center for Obstetrics and Gynecology.
Uzbekistan. Tashkent.

✓ **Resume**

Most of the scientific research of recent years is devoted to the study of both systemic immunity and local immunity of the endometrium in endometriosis, uterine myoma, chronic endometritis and recurrent miscarriage. At the same time, data on the state of local immunity in endometrial hyperplastic processes (HPE) in patients with abnormal uterine bleeding (AMB) are extremely contradictory (7,12,16).

Key words: АМК, endometrial hyperplasia, cytokines, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukins (IL) - IL-1 β , -2, -6, and interferon- γ (IFN- γ), reproductive age.



Актуальность

Согласно данным литературы, ведущее значение в этиопатогенезе гиперпластических процессов эндометрия отводится избыточной эстрогенной стимуляции, сочетающейся с недостаточностью прогестерона, гормон-независимой пролиферации, воспалению, снижению апоптозу, а также нарушениям иммунного статуса в эндометрии. Ключевыми звеньями реализации каскада данных механизмов являются процессы взаимодействия широкого спектра цитокинов: факторов некроза опухолей, хемокинов, интерферонов, факторов роста и других. Эти цитокины, обладая рядом медико-биологических эффектов (регуляция иммунного ответа, участие в воспалительных реакциях, контроль апоптоза, пролиферации и ангиогенеза), могут быть вовлечены в этиопатогенез гиперплазии эндометрия [3,7]. Большинство научных исследований последних лет посвящены изучению как системного иммунитета, так и локального иммунитета эндометрия при эндометриозе, миоме матки, хроническом эндометрите и привычном невынашивании беременности. При этом данные о состоянии иммунитета при гиперпластических процессах эндометрия (ГПЭ) у больных с аномальными маточными кровотечениями (АМК) крайне противоречивы [4,9,13].

Целью настоящего исследования было изучение сывороточного уровней провоспалительных цитокинов у пациенток с АМК в сочетании с неатипическими гиперпластическими процессами эндометрия.

Материал и методы.

Работа представляла собой открытое проспективное сравнительное исследование в параллельных группах. Критериями включения пациенток в исследование явились: 1) возраст пациенток от 18 до 35 лет; 2) наличие АМК в сочетании с неатипическими формами гиперплазии эндометрия (простая гиперплазия эндометрия (ПГЭ) без атипии; 3) наличие АМК в сочетании с неатипическими формами гиперплазии эндометрия (комплексная гиперплазия эндометрия (КГЭ) без атипии. Критериями исключения стали: 1) полипы эндометрия; 2) атипическая гиперплазия и рак эндометрия; 3) миома матки больших размеров; субмукозная локализация миоматозных узлов; 4) наружный генитальный и экстрагенитальный эндометриоз, аденомиоз I–III степени; 5) острые воспалительные заболевания органов малого таза; 6) наличие аллергических реакций. Всем пациенткам при поступлении в стационар была выполнена гистероскопия с отдельным диагностическим выскабливанием и последующим гистологическим исследованием соскобов слизистой полости матки и цервикального канала. Показаниями к их выполнению являлись аномальные маточные кровотечения, а также подозрение на патологию эндометрия по данным ультразвукового сканирования. На основании данных гистологического исследования ткани эндометрия все пациентки были разделены на две группы: I группу составили 63 женщины с АМК в сочетании с ПГЭ без атипии; II группу — 63 пациентки с АМК в сочетании с КГЭ без атипии. Контрольную группу составили 25 условно здоровых женщин с эндометрием в фазе пролиферации.

Для изучения уровней провоспалительных цитокинов – фактора некроза опухоли- α (ФНО- α), интерлейкинов (ИЛ)- ИЛ-1 β , -2, -6, и интерферона- γ (ИФН- γ) – в плазме периферической крови применяли метод твердофазного иммуноферментного анализа сэндвич-методом с использованием наборов реагентов для иммуноферментного анализа «Вектор БЕСТ» (Россия). Наборы реагентов представляют собой наборы, основным реагентом которых являются моноклональные антитела к цитокинам, сорбированные на поверхности лунок разборного полистирольного планшета. На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют в лунках с иммобилизованными антителами. Имеющиеся в образцах цитокины связываются с иммобилизованными антителами. Несвязавшийся материал удаляется отмывкой. Связавшиеся цитокины выявляются при инкубации с конъюгатом антител к цитокинам человека с пероксидазой хрена. После второй отмывки количество связавшегося конъюгата определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы хрена – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина (ТМБ). Реакцию останавливают добавлением раствора серной кислоты и измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна количеству содержащегося в образце цитокина. Считывание оптической плотности проводили в ИФА-анализаторе MR-96A Mindray (Китай), предназначенный для проведения качественных и

количественных иммуноферментных анализов (ИФА) образцов фотометрическим методом в соответствии с законом Ламберта-Бера.

Иммунологические данные обрабатывали по принципу нормального распределения с использованием критерия Стьюдента, рассчитывали среднее арифметическое значение и его стандартную ошибку (Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.-1992.- 460 с.).

Результат и обсуждение

Анализ полученных нами данных о концентрации цитокинов в сыворотке периферической крови, свидетельствует о продолжающемся воспалительном процессе на момент обследования и имеет признаки системной воспалительной реакции.

Как показали результаты проведенного исследования цитокинового статуса, у пациенток с аномальным маточным кровотечением с ПГЭ без атипии имели изменения в содержании провоспалительных цитокинов (табл. 1).

Таблица 1. Уровень цитокинов у женщин с аномальным маточным кровотечением

Параметр	I группа Пациентки с АМК в сочетании с ПГЭ (n= 63)	II группа Пациентки с АМК в сочетании с КГЭ (n=63)	Контрольная группа (n=25)
ИФН- γ пг/мл	9,47 $\pm$ 0,27*	11,62 $\pm$ 0,91* **	2,11 $\pm$ 0,06
ФНО- α пг/мл	4,22 $\pm$ 0,15*	3,97 $\pm$ 0,19*	1,1 $\pm$ 0,11
ИЛ-2 пг/мл	29.89 $\pm$ 1.00*	34,71 $\pm$ 1.13* **	8,12 $\pm$ 0.32
ИЛ-6 пг/мл	7,09 $\pm$ 0,42*	8,03 $\pm$ 0,41*	1,69 $\pm$ 0,14
IL-1 β пг/мл	6,35 $\pm$ 0,32*	7,06 $\pm$ 0,34*	4,3 $\pm$ 0,38

*- $p < 0,05$ различие показателей по сравнению с пациентками контрольной группы

** - $p < 0,05$ различие показателей по сравнению с пациентками I и II группы

Анализ содержания провоспалительных цитокинов в периферической крови показал: у пациенток с аномальным маточным кровотечением в сочетании с простой гиперплазией эндометрия без атипии отмечается статистически значимое увеличение уровней ФНО- α , ИЛ-2, ИЛ-6, ИФН- γ и IL-1 β в сыворотке крови по сравнению с данными контрольной группы. Так, у женщин с АМК с ПГЭ без атипии отмечено статистически достоверное ($p < 0,05$) повышение концентрации в сыворотке крови ФНО- α - 4,22 $\pm$ 0,15 пг/мл по сравнению с таковым в контрольной группе – 1,11 $\pm$ 0,11 пг/мл. Уровень ИФН- γ у женщин этой группы составил 9,47 $\pm$ 0,27 пг/мл против 2,11 $\pm$ 0,06 пг/мл контрольной группы и $p < 0,05$. Содержание в сыворотке крови ИЛ-2 у женщин, страдающих АМК с ПГЭ составило 29.89 $\pm$ 1.00 пг/мл против данных контрольной группы – 8,12 $\pm$ 0.32 пг/мл. Уровень ИЛ-6 в контрольной группе составил 1,69 $\pm$ 0,14 пг/мл, а в группе женщин с ПГЭ без атипии – 7,09 $\pm$ 0,42 пг/мл и $p < 0,05$. Содержание IL-1 β в крови женщин контрольной группы составило 4,3 $\pm$ 0,38 пг/мл против 6,35 $\pm$ 0,32 пг/мл показателя I группы.

У пациенток II группы, которым диагностировано АМК с КГЭ без атипии, наблюдается аналогичная картина показателей провоспалительных цитокинов. Так, уровень ИФН- γ составил 11,62 $\pm$ 0,91 пг/мл против 2,11 $\pm$ 0,06 пг/мл контрольной группы (рис.1).

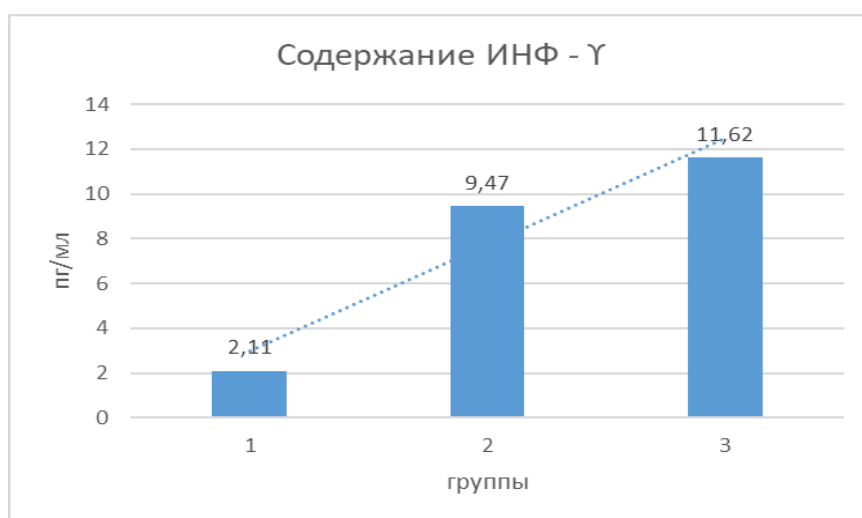


Рисунок 1. Содержание ИНФ-γ

Содержание ФНО-α в периферической крови пациенток составило - $3,97 \pm 0,19$ пг/мл против $1,1 \pm 0,11$ пг/мл контроля (рис2).

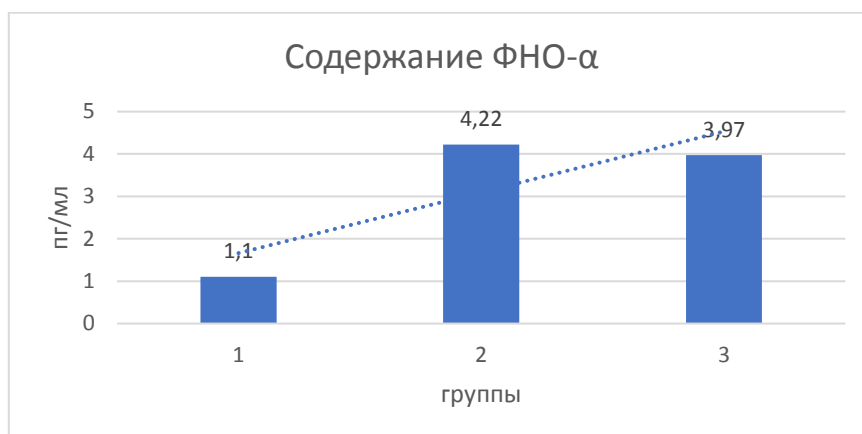


Рисунок 2. Содержание ФНО-α

Уровень ИЛ-2 – $34,71 \pm 1,13$ пг/мл против $8,12 \pm 0,32$ пг/мл группы здоровых женщин (рис.3).

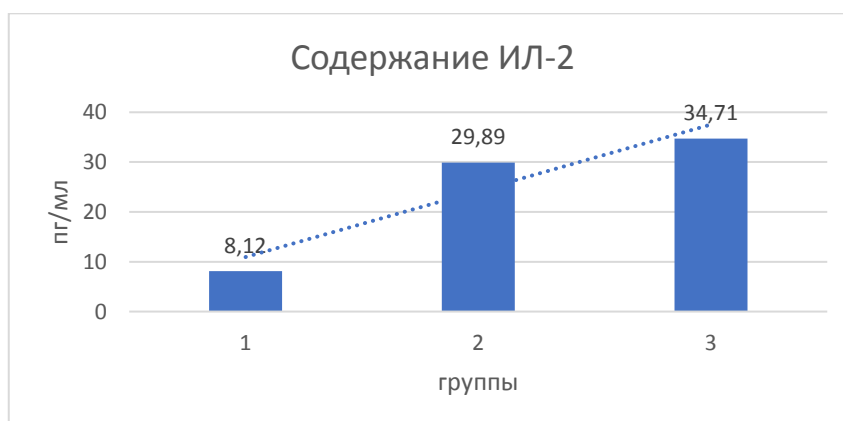


Рисунок 3. Содержание ИЛ-2

Концентрация ИЛ-6 составила $8,03 \pm 0,41$ пг/мл против $1,69 \pm 0,14$ пг/мл контроля и $p < 0,05$ (рис.4).

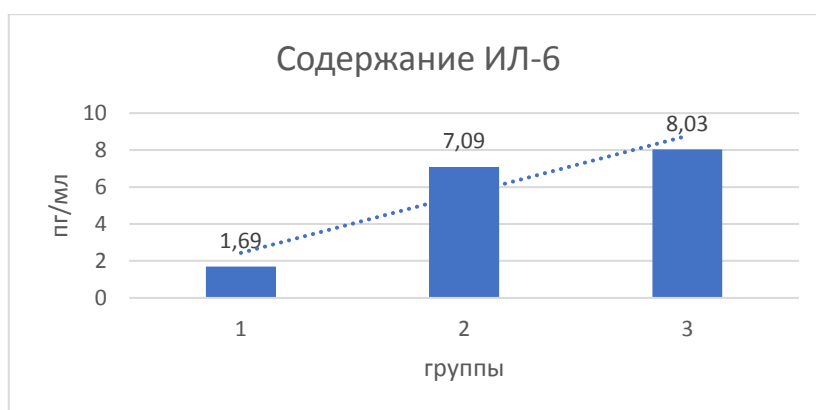


Рисунок 4. Содержание ИЛ-6

Уровень ИЛ-1 β в крови женщин с данной патологией составил - $7,06 \pm 0,34$ пг/мл по сравнению с уровнем контрольной группы $4,3 \pm 0,38$ пг/мл (рис.5).

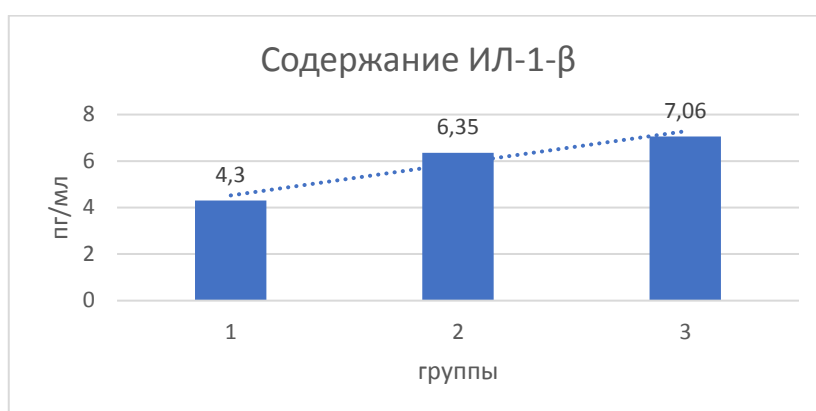


Рисунок 5. Содержание ИЛ-1- β

Анализ полученных данных сывороточного уровня изучаемых цитокинов свидетельствует о поддержании воспаления на системном уровне у женщин с аномальными маточными кровотечениями с ПГЭ и КГЭ без атипии. Следует отметить, что сывороточная концентрация уровня ИЛ-2 и IFN γ у пациенток II группы статистически значимо ($p < 0,05$) превышала данный показатель больных, имеющих АМК с ПГЭ без атипии. В последние годы доказана роль цитокинов в регуляции сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и процесса свертывания крови (2). Реализация их действия на гемостаз осуществляется главным образом через сосудистую стенку. Эндотелиальные клетки являются одновременно продуцентами и эффекторами ИЛ-1 β , ФНО α , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 (1). Работы, посвященные нарушениям системы свертывания крови при заболеваниях эндометрия, отражают в основном онкологические аспекты проблемы, тогда как исследования гемостаза при заболеваниях эндометрия, предшествующих раку, остаются крайне немногочисленными. Согласно исследованиям Т.Е. Белокриницкой, Е.С. Ахметовой, Е.В. Муриковой, неопластическое поражение эндометрия сопровождается развитием гиперкоагуляции, а локальное повышение концентрации ИЛ-1 β , ФНО α и ИЛ-2 в матке является одним из ключевых механизмов возникновения аномальных маточных кровотечений при пролиферативных заболеваниях эндометрия, поскольку цитокины во многом способствуют повышенному тромбообразованию и развитию ишемического некроза в эндометрии, что приводит к его очаговому отторжению, клинически проявляющимся маточным кровотечением. С другой стороны, в ряде публикаций последних лет подчеркивается значимость в развитии диспластических изменений эндометрия инфекционно-воспалительных заболеваний гениталий в том числе инфекций, передающихся половым путем (6). Существенную роль в формировании ГПЭ играют воспалительные заболевания внутренних половых органов. У больных репродуктивного возраста с длительно текущим хроническим эндометритом морфологические и функциональные изменения в слизистой оболочке тела матки обуславливают возможность патологической афферентации в структуры центральной нервной системы, регулирующие деятельность гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы. Эти нарушения приводят к развитию вторичной гипофункции яичников, формированию ановуляции и связанной с ней гиперэстрогении и, следовательно, к ГПЭ. При длительно текущем воспалительном процессе развиваются фиброз стромы и гиалинизация волокон. Вследствие блокады выводных протоков в железах эпителия образуются

кистозные расширения. Инфекционный агент может вызвать формирование как очаговой пролиферации, так и диффузной гиперплазии эпителия и стромы, поэтому некоторые авторы рассматривают ПЭ как результат продуктивного воспаления в слизистой оболочке матки (8). По-видимому, инфекционный фактор также способствует повышенной продукции цитокинов, которые, в свою очередь, активируют систему гемостаза, повышают адгезивные свойства эндотелиальных клеток. Особое внимание в последнее десятилетие исследователи уделяют изучению запрограммированной гибели клетки — апоптоза, в процессе которого удаляются «нежелательные», биологически нецелесообразные клетки, а также избыточно пролиферирующие опухолевые клетки (11,12). Ключевой молекулой, запускающей Fas-опосредуемый апоптоз, является Fas-рецептор (синонимы APO-1/CD-95), трансмембранный гликопротеин 1 типа, индуцирующий апоптоз в клетке после взаимодействия с Fas-лигандом (10). Причиной устойчивости опухолевых клеток к Fas-зависимому апоптозу может быть повышенная продукция ими растворимого Fas-антигена (sFas- антигена), который является продуктом альтернативного сплайсинга полноразмерной молекулы Fas и способен ингибировать Fas-опосредованный апоптоз (5). Так в работах Лысенко О. В. и Занько С.Н. (2012) полученные ими данные позволили судить о том, что при гиперплазии эндометрия происходит нарушение местной секреции цитокинов и снижение способности клеток эндометрия к Fas-зависимому апоптозу.

Заключение

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что иммунные изменения при АМК в сочетании с неатипическими гиперпластическими процессами эндометрия происходят на системном уровне и свидетельствует о продолжающемся воспалительном процессе на момент обследования. В связи с этим определение концентрации цитокинов в периферической крови является прогностически значимым для диагностики и контроля эффективности проводимой терапии у данной когорты пациенток. Выявленные нарушения могут свидетельствовать и о локальном воспалительном процессе в слизистой оболочке матки при наличии в ней гиперпластических изменений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Белокриницкая Т.Е., Витковский Ю.А. Состояние защитных систем и их коррекция при эндометритах после родов и кесарева сечения. — Чита:«Поиск», 1999. — 103 с.
2. Кузник Б.И., Витковский Ю.А. Цитокины – связующее звено иммунитета и гемостаза // Пробл. экол. и медицины. — 2000. — №1. — С. 43-48.
3. Кулавский В.А., Пушкарёв В.А., Кулавский Е.В., Пушкарёв А.В. Этиопатогенез гиперпластических процессов эндометрия у женщин репродуктивного возраста //Медицинский вестник Башкортостана. Том14, №2(80), 2019. С.71-80.
4. Лысенко О.В., Занько С.Н. Гиперпластические процессы эндометрия в различные возрастные периоды: исследование цитокинового статуса и содержание SFAS-лиганда // Акушерство и гинекология. 2011. № 4. С. 63–68. [Lysenko O.V., Zanko S.N. Endometrial hyperplastic processes at different ages: study of cytokine status and SFas-ligand levels. Akusherstvo i ginekologija = Obstetrics and Gynecology, 2011, no. 4, pp. 63–68. (In Russ.)]
5. Новиков Д. К., Новиков П. Д. Клиническая иммунология. Витебск: ВГМУ, 2006. 392 с.
6. Пестрикова Т.Ю., Безрукова Н.И. Роль инфекций, передающихся половым путём, в развитии гиперпластических процессов эндометрия // Дальневост. мед. журнал. — 2001. — №2. — С.50-53.
7. Пономаренко И.В., Демакова Н.А., Алтухова О.Б. Молекулярные механизмы развития гиперпластических процессов эндометрия//Научные ведомости.-2016.№19(240),выпуск35. С.17-22.
8. Серебренникова, К.Г. Гиперпластические процессы эндометрия / К.Г. Серебренникова, М.В. Самойлов // Гинекология. — М.: Гэотар-Медиа, 2008. — С. 264-281.
9. Ткаченко Л.В., Свиридова Н.И. Современный подход к лечению гиперплазии эндометрия в сочетании с хроническим эндометритом в перименопаузе // Доктор.Ру. 2016. Т. 124, № 7. С. 15–20. [Tkachenko L.V., Sviridova N.I. Modern approach to the treatment of endometrial hyperplasia in combination with chronic endometritis in perimenopause. Doktor.Ru = Doctor.Ru, 2016, vol. 124, no. 7, pp. 15–20. (In Russ.)]
10. Atasoy P., Bozdoğan O., Ereku S. et al. Fas-mediated pathway and apoptosis in normal, hyper- plastic, and neoplastic endometrium // Gynecol. Oncol. 2003. Vol. 91, N 2. P. 309–317.
11. Bozdoğan O., Atasoy P., Ereku S. et al. Apoptosis-related proteins and steroid hormone receptors in normal, hyperplastic, and neoplastic endometrium // Int. J. Gynecol. Pathol. 2002. Vol. 21, N 4. P. 375–382.
12. Rekha K., Malini A., Xavier R., Baba K. Apoptosis in endometria of dysfunctional uterine bleeding women // Med J Malaysia. 2005. Vol. 60, N1. P. 41–45.
13. Wilson R.B. Hypoxia, cytokines and stromal recruitment: parallels between pathophysiology of encapsulating peritoneal sclerosis, endometriosis and peritoneal metastasis. Pleura Peritoneum. 2018. doi: 10.1515/pp-2018-0103.

Поступила 09.07.2022

