УДК 618.2. – 082.256.3:612.112.95

ИЗМЕНЕНИЕ СЕКРЕТОРНО-СИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОНОЦИТОВ/МАКРОФАГОВ У ЖЕНЩИН ПРИ ПРИМЕНЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ СРЕДСТВ КОНТРАЦЕПЦИИ

Рева Г.В., Кольцов И.П., Храмова И.А.

ГОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет», Владивосток;
ГОУ ВПО «Дальневосточный государственный медицинский университет», Хабаровск,
e-mail: irhramova@mail.ru

Проведены исследования состояния стабильности лизосомных мембран моноцитов крови и перитонеальных макрофагов, их секреторно-синтетической активности у 49 женщин репродуктивного возраста, применявших различные средства контрацепции в течение 1 года. Выявлено, что на фоне использования внутриматочного контрацептивна (ВМК) наблюдается слабая лабилизация лизосомных мембран моноцитов/макрофагов, незначительное повышение секреции и синтеза лизоцима этими клетками. При приеме комбинированных оральных контрацептивов (КОК) имеет место стабилизация лизосомных мембран макрофагальных клеток со снижением в них секреции и повышением синтеза лизосомного фермента лизоцима.

Ключевые слова: моноциты, макрофаги, лизоцим, контрацепция

THE CHANGE IN THE SECRETORY-SYNTHETIC KINESIS OF MONOCYTES/MACROPHAGES IN WOMEN IN CASE OF ADMINISTRATION OF DIFFERENT CONTRACEPTION SOLUTIONS

Reva G.V., Koltcov I.P., Khramova I.A.

Vladivostok State Medical University, Vladivostok, ;
Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, e-mail: irhramova@mail.ru

The condition of stability of lysosome membranes of blood monocytes and peritoneal macrophages, their secretory-synthetic kinesis in 49 women of reproductive age who administered different contraception solutions during 1 year was studied. It was educed that in case of administration of intrauterine contraceptive the slight labialization of monocyte's and macrophages lysosome membranes, slight increase in lysozyme secretion and fusion can be observed. In case of combination oral contraceptive (COC) the stabilization of lysosome membranes of macrophage cells with the decrease of secretion and increase in fusion of the lysosome enzyme – lysozyme takes place.

Keywords: monocytes, macrophages, lysozyme, contraception

В настоящее время более 100 млн женщин фертильного возраста пользуются различными контрацептивными средствами. Эффективность применения контрацептивов колеблется от 91 до 99% [2]. При использовании этих средств возможно развитие различных осложнений в виде нарушений менструального цикла, воспалительных заболеваний половых органов, бесплодия, экспульсии внутриматочных средств и других. Они могут быть связаны как с дисфункцией гипоталямо-гипофизарно-яичниковой системы, так и с изменением показателей иммунной системы [1, 3]. Правильно подобранные контрацептивные средства позволят не только избежать нежелательной беременности, осложнений вследствие их применения, но и сохранить репродуктивное здоровье женщины [6].

Мононуклеарные фагоциты, к которым относятся моноциты крови и тканевые макрофаги, присутствуют в различных органах и тканях, в том числе и половой системе женского организма. Они значительным образом определяют развитие и характер воспаления, вовлекаются в регенеративные процессы, в иммуногенез путем процессинга антигенов и презентациии ангигенной детерминанты лимфоцитам [8, 9].

Участие мононуклеарных фагоцитов в том или ином биологическом процессе сопровождается изменением их функциональной активности. В частности, при активации моноцитов/макрофагов в них происходит усиление секреторно-синтетических процессов, повышение выхода лизосомных ферментов из клеток. При этом секреция лизосомных ферментов сопряжена с состоянием стабильности лизосомных мембран: при лабилизации лизосомных мембран происходит повышение выхода ферментов из клеток, при стабилизации – снижение [10].

Цель работы: изучить влияние различных контрацептивов на состояние стабильности лизосомных мембран моноцитов крови и перитонеальных макрофагов и секреторно-синтетическую активность этих клеток для предупреждения возможных осложнений.

Материал и методы исследования

Исследованы моноциты крови и перитонеальные макрофаги у 49 клинически здоровых женщин 25–30 лет (средний возраст 25 ± 3,2 года), применявших различные средства контрацепции в течение

1 года. Первую группу составили женщины, предохраняющиеся от беременности с использованием презервативов (17 человек), вторую – ВМК (14 человек), третью – низкодозированных КОК (содержание этинилэстрадиола 30 мкг). Женщины, использующие презервативы, условно были приняты за контрольную группу. Обследуемые пациентки наблюдались в поликлинике ГУЗ «Приморский краевой диагностический центр» г. Владивостока. На все исследования было получено информированное согласие.

Выделение моноцитов крови проводилось на градиенте плотности фиколл-верографина центрифугированием крови в течение 30 минут при 400 G с последующим отсасыванием микропипеткой кольца градиента [9]. Клетки прикреплялись к поверхности стекла в течение 60 мин при температуре 37 °С.

Перитонеальные макрофаги получали из суспензии, взятой методом пункций заднего влагалищного свода, так же выделяли прикреплением клеток к поверхности стекла.

Концентрацию клеток считали в камере Горяева и доводили стерильным физиологическим раствором до $6 \cdot 10^6$ кл/мл. Определение стабильности лизосомных мембран моноцитов крови и перитонеальных макрофагов с расчетом показателя стабильности (ПСЛМ) проводили методом культивирования выделенных клеток в среде 199 с добавлением 0,5 % стерильного L-глутамина и 2,5 % смешанной человеческой сыворотки, прогретой в течение 30 мин при 56 °С в течение 12–15 часов при 37 °С. Микрометодом [4] проводили определение секретированного лизоцима ($L_{секр}$), а после 4-6-кратного замораживания-оттаивания культивируемых клеток – общего лизоцима ($L_{общ} = L$ секретированный плюс L внутриклеточный). На основании полученных результатов секретированного и общего лизоцима высчитывали ПСЛМ по формуле: ПСЛМ = $L_{секр}/L_{общ} \cdot 100$ %. Повышение ПСЛМ выше оптимального значения (53–58 %) расценивалось как лабилизация лизосомных мембран, снижение этого показателя – как стабилизация мембран. По результатам оценки разницы $L_{общ}$ после и до культивирования определяли количество синтезированного лизоцима ($L_{синт}$) [10].

Проведенные ранее нами исследования выявили выраженные колебания ПСЛМ в зависимости от фазы менструального цикла. Наблюдался подъем показателя стабильности лизосомных мембран в день предполагаемой овуляции с последующим снижением до оптимального значения (53–58 %) на 19–21 день менструального цикла. Поэтому женщины обследовались во вторую фазу менструального цикла.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета программ «Statistica 6» с применением стандартных методов вариационной статистики и критерия Манна-Уитни для оценки статистически значимых различий. Различие считалось достоверным при $p < 0,05$ [5].

Результаты исследований и их обсуждение

В результате проведенных исследований выявлено, что состояние стабильности лизосомных мембран моноцитов крови и перитонеальных макрофагов, их секреторно-синтетическая активность имеют различия у женщин, использующих разные средства контрацепции.

Таблица 1

Показатель стабильности лизосомных мембран моноцитов крови и перитонеальных макрофагов у женщин, применяющих различные виды контрацептивов

Группы сравнения	n	ПСЛМ в % моноцитов ($M \pm m$)	ПСЛМ в % макрофагов ($M \pm m$)
Женщины, применяющие презервативы – p^1	17	53,8 ± 1,4	59,6 ± 1,3
Женщины, применяющие ВМК –p^2	14	54,2 ± 1,6 p^1–p^2*	60,3 ± 1,7 p^1–p^2*
Женщины, применяющие КОК – p^3	18	47,8 ± 1,5 p^1–p^3** p^2–p^3**	53,5 ± 1,4 p^1–p^3** p^2–p^3**

Примечание (достоверность различий между сравниваемыми группами)
* – $p > 0,05$;
** – $p < 0,01$.

Как видно из полученных данных, показатель стабильности лизосомных мембран моноцитов/макрофагов у женщин, использующих в качестве контрацептивного средства ВМК, несколько увеличивается по сравнению с женщинами, применявшими презервативы ($p > 0,05$), что говорит о наметившейся тенденции к лабилизации лизосомных мембран этих клеток. Напротив, у женщин, регулярно применяющих КОК, наступает выраженная стабилизация лизосомных мембран моноцитов крови и перитонеальных макрофагов ($p < 0,01$ по сравнению с результатами двух других групп женщин).

Таблица 2

Уровень секреции лизоцима моноцитами крови и перитонеальными макрофагами у женщин, применяющих различные виды контрацептивов

Группы сравнения	n	$L_{секр}$, мкг/мл моноцитов ($M \pm m$)	$L_{секр}$, мкг/мл макрофагов ($M \pm m$)
Женщины, применяющие презервативы – p^1	17	0,7 ± 0,06	0,86 ± 0,07
Женщины, применяющие ВМК – p^2	14	0,65 ± 0,03 p^1–p^2*	0,9 ± 0,06 p^1–p^2*
Женщины, применяющие КОК – p^3	18	0,5 ± 0,04 p^1–p^3** p^2–p^3**	0,6 ± 0,06 $p1$–p^3** $p2$–p^3**

Примечание (достоверность различия между сравниваемыми группами)
* – $p > 0,05$;
** – $p < 0,01$.

Одновременно с незначительной лабилизацией лизосомных мембран моноцитов крови и перитонеальных макрофагов у женщин, использующих ВМК, наблюдается невыраженное повышение секреторной активности этих клеток ($p > 0,05$). У женщин, регулярно применяющих КОК, стабилизация лизосомных мембран моноцитов/макрофагов ведет к заметному снижению в них секреторной активности ($p < 0,01$ по сравнению с результатами двух других групп женщин).

При этом синтетическая активность моноцитов крови и перитонеальных макрофагов у женщин, применявших КОК, повышена по сравнению с женщинами, отдающими предпочтение презервативам ($p < 0,01$). Использование ВМК ведет лишь к незначительному возрастанию синтеза лизоцима изучаемых клеток ($p > 0,05$).

Таблица 3

Уровень синтеза лизоцима ($L_{синт}$) моноцитами крови и перитонеальными макрофагами у женщин, применяющих различные виды контрацептивов

Группы сравнения	n	$L_{синт}$, мкг/мл, моноцитов ($M \pm m$)	$L_{синт}$, мкг/, макрофагов ($M \pm m$)
Женщины, применяющие презервативы – p^1	17	0,4 ± 0,03	0,7 ± 0,04
Женщины, применяющие ВМК – p^2	14	0,45 ± 0,05 p^1–p^2*	0,78 ± 0,04 p^1–p^2*
Женщины, применяющие КОК – p^3	18	0,54 ± 0,04 p^1–p^3** p^2–p^3**	0,86 ± 0,03 p^1–p^3** p^2–p^3**

Примечание (достоверность различия между сравниваемыми группами)

* – $p > 0,05$; ** – $p < 0,01$.

Таким образом, состояние стабильности лизосомных мембран моноцитов крови и перитонеальных макрофагов, их секреторно-синтетическая активность различается у женщин, использующих различные средства контрацепции. Применение ВМК в течение одного года ведет к незначительной лабилизации лизосомных мембран моноцитов/макофагов, повышению в них секреции и синтеза лизоцима. На фоне приема КОК наступает выраженная стабилизация лизосомных мембран этих клеток со снижением в них секреции и увеличением синтеза лизосомного фермента – лизоцима. По-видимому, выраженные изменения секреторно-синтетической активности моноцитов крови и перитонеальных макрофагов при использовании КОК связаны с превалирующим эффектом прогестерона, обладающим стабилизирующим действием на лизосомные мембраны этих клеток [12]. Влияние гармонов, входящих в состав КОК, на клетки макрофагальной системы могут происходить непосредственно через имеющиеся на плазматической мембране этих клеток рецепторы к гормонам или опосредованно, путем сдвига количественных гормональных соотношений [8]. Наступающие изменения состояния стабильности лизосомных мембран макрофагальных клеток, их секреторно-синтетической активности при приеме различных видов контрацептивов должны быть невыраженными и иметь обратимый характер. Своевременная диагностика клеточных нарушений позволит определить рекомендуемый вид контрацепции для женщин и сроки его использования.

Список литературы

1. Бражник В.А. Влияние двух монофазных оральных контрацептивов, содержащих 30 мкг этинилэстрадиола в комбинации с 2 мг хлормадинона ацетата или 0,15 мг дезогестрела на параметры липидного обмена, гормональные и метаболические показатели // Гинекология. – 2009. – Т. 11, №4. – С. 20.

2. Дикке Г.Б. Стратегическая оценка политики, программ и услуг в сфере непланируемой беременности, абортов и контрацепции в Российской Федерации. Совместное исследование МЗ и СР РФ и ВОЗ // Проблемы репродукции. – 2010. – Т. 16, №3. – С. 92–93.

3. Лапик Т.П., Сулейманова Н.С., Рублева К.И. Оценка функциональной активности фагоцитов цервикальной связи женщин, использовавших внутриматочные контрацептивны // Тезисы докладов I съезда иммунологов России. – Новосибирск, 1992. – С. 269.

4. Мотавкина Н.С., Шаронов А.С., Ковалев Б.М. Микрометоды в иммунологии. – Владивосток: ДВГУ, 1987. – 184 с.

5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение прикладных программ «Statistica». – М.: Медиа сфера, 2002. – 305 с.

6. Подзолкова Н.М. Гормональная контрацепция: вопросы безопасности и переносимости // Рус. мед. журнал. – 2009. – Т. 17, №1. – С. 5–10.

7. Сухих Г.Т., Ванько В.Б. Взаимоотношения иммунной и репродуктивной систем человека // Rus. J. Immunol. – 1999. – Vol. 4, № 1. – P. 201–204.

8. Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы: развитие, активация, эффекторные функции // Rus. J. Immunol. – 1999. – Vol. 4, № 1. – P. 9–15.

9. Чередеев А.Н. Количественная и функциональная оценка Т и В систем иммунитета у человека // Общие вопросы патологии. – М.: ВИНИТИ, 1976. – Т. 4. – С. 124–160.

10. Шаронов А.С. Фагоциты, лизосомы, мембраны. – Владивосток: Дальнаука, 2007. – 128 с.

11. Шаронов А.С. Оценка изменений стабильности лизосомных мембран мононуклеарных фагоцитов как метод аллергоиммунодиагностики и скрининга мембранотропных и радиопротективных препаратов: метод. рекомендации МЗ СССР. – М., 1989. – 14 с.

Рецензенты:

Антонюк М.В., д.м.н., профессор, зав. лабораторией восстановительного лечения НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения СО РАМН, г. Владивосток;

Гельцер Б.И., д.м.н., профессор, главный врач ГБУЗ «Краевой клинический центр специализированной медицинской помощи», г. Владивосток.

Работа поступила в редакцию 08.08.2011.