

УДК- 618.12.- 002- 0,78.3: 612. 017.1

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ АКТИВАЦИИ МОНОЦИТОВ/МАКРОФАГОВ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПРИДАТКОВ МАТКИ У ЖЕНЩИН

Храмова И.А.*ГОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет»,
Владивосток, e-mail: irhramova@mail.ru*

Проведены исследования уровня секреции интерлейкина-8 моноцитами крови, состояния стабильности лизосомных мембран и секреторно-синтетической активности моноцитов крови и перитонеальных макрофагов у 14 здоровых женщин и 38 больных острым и хроническим сальпингоофоритом в возрасте 20–40 лет. Выявлено, что при воспалительном процессе придатков матки у женщин наблюдается увеличение секреции интерлейкина-8 моноцитами крови, лабилизация лизосомных мембран моноцитов крови и перитонеальных макрофагов. Повышение синтеза и секреции лизоцима моноцитами/макрофагами при остром воспалении сочетается с высоким уровнем секреции интерлейкина-8 моноцитами крови. При хроническом воспалительном процессе в придатках матки имеет место более выраженное повышение секреции интерлейкина-8 моноцитами крови и секреции лизоцима моноцитами/макрофагами при отставании синтеза этого фермента.

Ключевые слова: макрофаги, интерлейкин-8, лизоцим, воспаление

MONOCYTES/MACROPHAGES AROUSAL IN CASE OF INFLAMMATORY DISEASE OF UTERINE APPENDAGES IN WOMEN

Khramova I.A.*Vladivostok State Medical University, Vladivostok, e-mail: irhramova@mail.ru*

The anionic neutrophil-activating peptide secretion by blood monocytes, the condition of stability of lysosome membranes and secretory synthetic arousal of blood monocytes and peritoneal macrophages of 140 healthy women and 38 women with terebrant and inveterate adnexitis, at the age of 20–40 years were investigated. It was educed that in case of adnexitis process in women the enhancement of the anionic neutrophil-activating peptide secretion by blood monocytes, labialization of monocyte's lysosome membranes and peritoneal macrophages. Increase in lysozyme secretion and fusion in case of terebrant adnexitis is conjoined with high level of anionic neutrophil-activating peptide secretion by blood monocytes. In case of inveterate adnexitis a large level of anionic neutrophil-activating peptide secretion by blood monocytes and lysozyme secretion by blood monocytes/macrophages along with decrease of fusion of the stated zyme takes place.

Keywords: macrophages, anionic neutrophil-activating peptide, lysozyme, inflammation

Воспаления придатков матки продолжают занимать одно из ведущих мест в структуре гинекологических заболеваний. Их значимость обусловлена прежде всего тем, что эти заболевания затрагивают органы и ткани, относящиеся к репродуктивной системе и оказывают непосредственное влияние на репродуктивную функцию женщины. В современных условиях воспалительные процессы внутренних половых органов характеризуются рядом особенностей, проявляющихся изменением клинической картины в сторону стёртых форм и атипического течения, нарушением эндокринной регуляции и большим числом серьёзных осложнений в виде менструальной дисфункции, бесплодия, внематочной беременности и др. Предметом многочисленных исследований при остром и хроническом сальпингоофорите стало изменение показателей иммунной системы [1, 2, 7].

Характер и развитие воспалительного процесса значительным образом определяют клетки макрофагальной системы, прежде всего моноциты крови и тканевые макрофаги. Вариант течения воспалитель-

ного процесса зависит от своевременности и полноценности их включения в патологический процесс и переключении нейтрофильной реакции на реакцию моноцитарно-макрофагальных клеток с выделением их конститутивного фермента – лизоцима [2, 4]. При нарушении синтеза и секреции лизоцима переваренные продукты фагоцитоза могут длительное время оставаться во вторичных лизосомах, а повышение содержания лизосом в моноцитах, связанное с их активацией, влечет за собой участие этих клеток в деструктивных процессах в тканях. Недостаточность лизосомного аппарата макрофагальных клеток играет роль и в патогенезе спаечного процесса в половых органах [4].

Активация клеток системы макрофагов – важный процесс их включения в биологические реакции организма – воспаление, иммунный ответ, процессы регенерации [1, 2, 4]. При активации макрофагов возникает усиление синтетических, секреторных процессов в клетках, в частности, происходит повышение выхода лизосомных ферментов из клеток, усиление выработки

интерлейкина-8, уровень которого в крови заметно повышается [5, 7, 9]. Секретция лизосомных ферментов сопряжена с состоянием стабильности лизосомных мембран клеток: при лабильзации лизосомных мембран происходит повышение выхода ферментов, при стабилизации – снижение [6].

Цель исследования – определить сопряженность состояния лизосомных мембран, секреторно-синтетической активности моноцитов крови и перитонеальных макрофагов с процессом активации этих клеток по уровню провоспалительного цитокина интерлейкина-8 у женщин с острым и хроническим сальпингоофоритом.

Материал и методы исследования

Проведено обследование 38 женщин с острым и хроническим сальпингоофоритом в возрасте от 20 до 40 лет (средний возраст $30 \pm 3,2$ года). Больные находились на лечении в гинекологическом отделении городской клинической больницы № 1 г. Владивостока. Контрольную группу составили 14 условно здоровых женщин, обратившихся к врачу гинекологу за консультацией. На все исследования было получено информированное согласие женщин.

Диагноз воспалительного процесса был выставлен на основании клинико-лабораторных и инструментальных методов обследования, согласно принятым стандартам.

Выделение моноцитов крови проводилось на градиенте плотности фиколл-верографина центрифугированием крови в течение 30 минут при 400 G с последующим отсасыванием микропипеткой кольца градиента. Клетки прикреплялись к поверхности стекла в течение 60 минут 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-глутамин и 2,5% смешанной человеческой сыворотки, прогретой в течение 30 мин при 56 °С в течение 12–15 часов при 37 °С. Микрометодом проводили определение секретированного лизоцима ($L_{\text{секр}}$), а после 4-6-кратного замораживания-оттаивания культивируемых клеток – общего лизоцима ($L_{\text{общ}}$ – секретированный плюс внутриклеточный). На основании полученных результатов секретированного и общего лизоцима высчитывали ПСЛМ по формуле: $\text{ПСЛМ} = L_{\text{секр}} / L_{\text{общ}} \cdot 100\%$. Повышение ПСЛМ выше оптимального значения (53–58%) расценивалось как лабильзация лизосомных мембран, снижение этого показателя – как стабилизация мембран. По результатам оценки разницы ($L_{\text{общ}}$) после и до культивирования, определяли количество синтезированного лизоцима ($L_{\text{синт}}$) [6].

Проведенные ранее нами исследования выявили выраженные колебания ПСЛМ в зависимости от фазы менструального цикла. Наибольший подъем показа-

теля стабильности лизосомных мембран наблюдался в день предполагаемой овуляции с последующим снижением до оптимального значения (53–58%) на 19–21 день цикла. Поэтому обследование женщин проводилось во вторую фазу менструального цикла.

Определение интерлейкина-8 в супернатанте культивированных клеток (оценивалась секретия интерлейкина-8 моноцитами крови) проводилось методом сэндвич-варианта твердофазного иммуоферментного анализа с использованием реактивов фирмы «R&D Diagnostics Inc.» (США).

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 $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

В результате проведенного исследования выявлено, что у здоровых женщин уровень секретии интерлейкина-8 моноцитами крови составляет 90–140 пг/мл/ 10^6 кл. При остром воспалительном процессе в придатках матки происходит возрастание уровня секретии интерлейкина-8 до 300–400 пг/мл/ 10^6 кл, а при хроническом воспалении – до 1100–1350 пг/мл/ 10^6 кл, что соответствует различной степени активации клеток продуцентов интерлейкина.

Состояние стабильности лизосомных мембран моноцитов крови и перитонеальных макрофагов, их секреторная и синтетическая активность при разном уровне секретии интерлейкина-8 моноцитами крови также имеют различие у здоровых женщин и у женщин с острым и хроническим сальпингоофоритом.

В табл. 1 представлены результаты исследования показателя стабильности лизосомных мембран у женщин с нормальным уровнем интерлейкина-8 (здоровые женщины), повышенным уровнем (больные острым сальпингоофоритом) и высоким уровнем (больные хроническим сальпингоофоритом).

Как видно из полученных данных, при остром сальпингоофорите наряду с увеличением секретии интерлейкина-8 происходит повышение ПСЛМ моноцитов крови и перитонеальных макрофагов по сравнению с ПСЛМ здоровых женщин с нормальным уровнем секретии интерлейкина-8 ($p < 0,05$). Еще больше по сравнению со здоровыми женщинами возрастает ПСЛМ моноцитов/макрофагов у женщин с хроническим сальпингоофоритом, имеющим высокий уровень секретии интерлейкина-8 ($p < 0,01$).

Параллельно с лабильзацией лизосомных мембран моноцитов крови перитонеальных макрофагов происходит увеличение

секреции клеточного лизоцима (табл. 2). При этом наиболее выраженная секреция лизоцима моноцитами крови и перитонеальными макрофагами наблюдается у жен-

щин с хроническим сальпингоофоритом, у которых наблюдается более высокий уровень секреции моноцитами крови интерлейкина-8.

Таблица 1

Показатель стабильности лизосомных мембран моноцитов крови и перитонеальных макрофагов у здоровых и больных женщин

Группы сравнения	Количество женщин, n	ПСЛМ в% моноцитов ($M \pm m$)	ПСЛМ в% макрофагов ($M \pm m$)
Здоровые женщины p_1	14	$53,8 \pm 1,3$	$59,6 \pm 1,4$
Женщины с острым сальпингоофоритом p_2	18	$55,7 \pm 0,3$ $p_1 - p_2^*$	$62,3 \pm 0,6$ $p_1 - p_2^*$
Женщины с хроническим сальпингоофоритом p_3	20	$62,6 \pm 0,9$ $p_1 - p_3^{**}$ $p_2 - p_3^*$	$66,5 \pm 1,6$ $p_1 - p_3^{***}$ $p_2 - p_3^*$

Примечание. Достоверность различий ПСЛМ между сравниваемыми группами: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Таблица 2

Уровень секреции лизоцима ($L_{\text{секр}}$) моноцитами крови и перитонеальными макрофагами у здоровых и больных женщин

Группы сравнения	Количество женщин, n	$L_{\text{секр}}$ мкг/мл, моноцитов ($M \pm m$)	$L_{\text{секр}}$ мкг/мл, макрофагов ($M \pm m$)
Здоровые женщины p_1	14	$0,76 \pm 0,030$	$0,90 \pm 0,070$
Женщины с острым сальпингоофоритом p_2	18	$0,95 \pm 0,050$ $p_1 - p_2^{**}$	$1,2 \pm 0,050$ $p_1 - p_2^{**}$
Женщины с хроническим сальпингоофоритом p_3	20	$1,3 \pm 0,1$ $p_1 - p_3^{***}$ $p_2 - p_3^{**}$	$1,7 \pm 0,2$ $p_1 - p_3^{***}$ $p_2 - p_3^*$

Примечание. Достоверность различия $L_{\text{секр}}$ между сравниваемыми группами: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Наряду с повышением интерлейкина-8 у женщин с острым и хроническим сальпингоофоритом повышается и синтез лизоцима моноцитами/макрофагами (табл. 3). Но имеются заметные различия между синтезом лизоцима и уровнем интерлейкина-8 у больных острым и хроническим воспалительным процессом. Если при хроническом сальпингоофорите отмечается выраженное повышение

секреции интерлейкина-8 моноцитами крови по сравнению с уровнем секреции интерлейкина-8 при остром воспалении ($p < 0,05$), то синтез лизоцима моноцитами/макрофагами при хроническом воспалительном процессе возрастает незначительно и практически находится на одном уровне с синтезом лизоцима клетками женщин с острым сальпингоофоритом ($p > 0,05$).

Таблица 3

Уровень синтеза лизоцима ($L_{\text{синт}}$) моноцитами крови и перитонеальными макрофагами у здоровых и больных женщин

Группы сравнения	Количество женщин, n	$L_{\text{синт}}$ мкг/мл, моноцитов ($M \pm m$)	$L_{\text{синт}}$ мкг/мл, макрофагов ($M \pm m$)
Здоровые женщины p_1	14	$0,5 \pm 0,030$	$0,70 \pm 0,012$
Женщины с острым сальпингоофоритом p_2	18	$0,8 \pm 0,090$ $p_1 - p_2^{**}$	$1,0 \pm 0,1$ $p_1 - p_2^{**}$
Женщины с хроническим сальпингоофоритом p_3	20	$0,3 \pm 0,060$ $p_1 - p_3^{**}$	$0,4 \pm 0,07$ $p_1 - p_3^{**}$

Примечание. Достоверность различия $L_{\text{синт}}$ между сравниваемыми группами: * – $p < 0,01$; ** – $p < 0,001$.

Оценивая полученный результат, с точки зрения изменения функционального состояния моноцитов/макрофагов, у женщин при остром и хроническом сальпингооофорите выявлены как общие закономерности, так и существенные различия. Как при остром, так и при хроническом процессе определена активация синтеза и секреции исследованных медиаторов воспаления, сопряженная с лабильзацией лизосомных мембран. При хроническом сальпингооофорите по сравнению с острым процессом отмечен более высокий уровень секреции интерлейкина-8 моноцитами крови. Гиперпродукция интерлейкина-8 моноцитами крови происходит одновременно с процессом выраженной лабильзации лизосомных мембран и отсутствием дополнительного повышения секреции лизосомного фермента лизоцима моноцитами крови и перитонеальными макрофагами. По-видимому, данные внутриклеточные процессы связаны с разной активацией моноцитов/макрофагов при остром и хроническом воспалении.

Таким образом, при остром сальпингооофорите, наряду с повышением уровня секреции интерлейкина-8 моноцитами крови, происходят лабильзация лизосомных мембран, повышение секреции и синтеза лизоцима моноцитами крови и перитонеальными макрофагами.

При хроническом сальпингооофорите имеет место гиперсекреция интерлейкина-8 моноцитами крови, выраженная лабильзация лизосомных мембран, высокий уровень секреции лизоцима моноцитами крови и перитонеальными макрофагами при относительно невысоком синтезе этого фермента. Неоптимальное повышение активности моноцитов/макрофагов с нарушением их секреторно-синтетических процессов при воспалении женских половых органов может привести к хронизации процесса, частым обострениям воспаления, отсутствию эффекта от проводимой антибактериальной терапии. Правильно подобранная иммунотерапевтическая терапия под контролем уровня секреции интерлейкина-8 моноци-

тами крови, секреторно-синтетической активности моноцитов крови и перитонеальных макрофагов при остром и хроническом сальпингооофорите может благоприятно сказаться на исходе заболевания с полным восстановлением репродуктивного здоровья женщины.

Список литературы

1. Бехало В.А., Сысолятина Е.В., Нагурская Е.В. Регуляция врожденного иммунного ответа в очаге хронического воспаления // Иммунология. – 2009. – Т. 30, № 3. – С. 184–189.
2. Маянский Д.Н. Хроническое воспаление. – М.: Медицина, 1991. – 272 с.
3. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение прикладных программ «Statistica». – М.: Медиа сфера, 2002. – 305 с.
4. Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы: развитие, активация, эффекторные функции // Rus. J. Immunol. – 1999. – Vol. 4, № 1. – P. 9–15.
5. Чередеев А.Н. Количественная и функциональная оценка Т и В систем иммунитета у человека // Общие вопросы патологии. – М.: ВИНТИ, 1976. – Т. 4. – С. 124–160.
6. Шаронов А.С. Фагоциты, лизосомы, мембраны. – Владивосток: Дальнаука, 2007. – 128 с.
7. Швыдченко И.Н., Быковская Е.Ю., Роменская В.А. Влияние глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП) на продукцию интерлейкина-8 нейтрофильными гранулоцитами при патологии в эксперименте *in vitro* // Рос. иммунол. журнал. – 2009. – Т. 3 (12), № 3–4. – С. 288–292.
8. Ярилин А. А. Клеточные основы мукоизального иммунитета // Рос. иммунол. журнал. – 2008. – Т. 2 (11), № 1. – С. 3–19.
9. Bulut Y., Faure E., Thomas L. Chlamydial heat shock protein 60 activates macrophages and endothelial cells through toll-like receptor 4 and MD2 in a MyD88-dependent pathway // J. Immunol. – 2002. – Vol. 168, № 3. – P. 1435–1440.
10. Chlamydial heat shock protein 60 activates macrophages and endothelial cells through toll-like receptor 4 and MD2 in a MyD88-dependent pathway / Y. Bulut, E. Faure, L. Thomas et al. // J. Immunol. – 2002. – Vol. 168, № 3. – P. 1435–1440.

Рецензенты:

Лучанинов Э.В., д.м.н., главный врач ГБУЗ «Краевой диагностический центр», г. Владивосток;

Плеханова Н.Г., д.б.н., зав. лабораторией патоморфологии и электронной микроскопии НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, г. Владивосток.

Работа поступила в редакцию 07.07.2011.