

РОЛЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ НАРУЖНОГО ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА У ЖЕНЩИН

Османова Ф.Т.

Клинический родильный дом № 5 им. Ш. Алескеровой, Баку, e-mail: khalafli@mail.ru

Приведенные данные показали, что изменения в иммунной системе при наружном генитальном эндометриозе характеризуются нарушениями антипролиферативных компонентов иммунной системы (снижением цитотоксической активности NK-клеток в периферической крови и перитонеальной жидкости и снижением способности лейкоцитов периферической крови к продукции ИФН-а/б и ИФН-г); повышением количества перитонеальных макрофагов, а также секретируемых ими провоспалительных цитокинов и хемокинов как в перитонеальной жидкости, так и в эндометриодных имплантах, что свидетельствует о важной роли воспалительной реакции в генезе генитального эндометриоза. Произведена оценка локальной секреции цитокинов, таких как хемокины, ангиогенные и ростовые факторы в перитонеальной жидкости больных НГЭ исупернатантах, полученных при органотипическом культивировании эндометриодных гетеротопий и эутопического эндометрия.

Ключевые слова: наружный генитальный эндометриоз, компоненты иммунной системы, перитонеальная жидкость

ROLE OF IMMUNOLOGICAL FACTORS IN THE PATHOGENESIS OF EXTERNAL ENDOMETRIOSIS IN WOMEN

Osmanova F.T.

Clinical maternity hospital No. 5 of Sh. Aleskerova, Baku, e-mail: khalafli@mail.ru

These data indicate that changes in the immune system by external endometriosis antiproliferative disorders characterized components of the immune system (decrease the cytotoxic activity of NK-cells in peripheral blood and peritoneal fluid and reducing the ability of peripheral blood leukocytes to produce IFN-a / b and IFN-g) , increasing the amount of peritoneal macrophages, and their secreted proinflammatory cytokines and chemokines in the peritoneal fluid, and in endometriotic implants that indicates the important role in the genesis of the inflammatory response of endometriosis. An assessment of the local secretion of cytokines such as chemokines angiogenic and growth factors in the peritoneal fluid of patients IEG isupernatantah obtained by culturing organotypic endometrioid heterotopias and eutopic endometrium.

Keywords: external genital endometriosis, the components of the immune system, peritoneal fluid

Генитальный эндометриоз – широко распространенное заболевание у женщин репродуктивного и перименопаузального возраста [1, 2]. Эндометриоз является хроническим, прогрессирующим и рецидивирующим заболеванием, поражающим 12–60% женщин репродуктивного возраста, которое характеризуется эктопическим разрастанием эндометрия [4, 5]. Эндометриоз является одной из самых распространенных причин болевого синдрома, проявляется дисменореей, диспареунией и приводит к бесплодию. Частота бесплодия при всех локализациях генитального эндометриоза примерно в 3–4 раза превышает частоту бесплодия в популяции, а частота самопроизвольного прерывания беременности (чаще в I триместре) колеблется от 10 до 50% [3, 6].

Понимание важной роли иммунной системы в развитии эндометриоза наметило новые пути изучения патогенеза заболевания и новые подходы к лечению больных [7, 8]. Весьма актуальным представляется изучение возможностей селективной стимуляции защитных функций мононуклеарных фагоцитов и цитотоксических лимфоцитов

с использованием активирующих цитокинов и их ансамблей. Поэтому дальнейшее изучение патогенеза эндометриоза является необходимым условием для разработки эффективных методов терапии этого заболевания.

Целью исследования явилось изучение роли иммунологических факторов в патогенезе наружного генитального эндометриоза у женщин в репродуктивном и пре- и постменопаузальном периодах.

Материалы и методы исследования

При выполнении данной работы было обследовано 142 женщины с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ). Диагноз у всех больных был установлен на основании интраоперационного обследования (лапароскопии или чревосечения), а также подтвержден результатами гистологического обследования. Степень распространенности процесса определяли в баллах по пересмотренной классификации Американского общества фертильности (R-AFS). Изучаемые группы: 84 женщины в репродуктивном периоде, 58 женщины старшей возрастной группы, из них 35 больных – в пременопаузальном возрасте, 23 пациенток – в постменопаузе.

Иммунологические методы исследования: определение цитотоксического индекса NK-клеток в периферической крови и перитонеальной жидкости

оценивали в цитотоксическом тесте (Manaseki S., Searle R., 1989), где в качестве мишеней использовали клетки человеческой эритромиелоидной линии K-562, содержащие уридин, меченый тритием. Проведено изучение популяционного состава лимфоцитов периферической крови (ПК) и перитонеальной жидкости (ПЖ), цитокинов в ПК, ПЖ и супернатантах, полученных при органотипическом культивировании эндометриоидных гетеротипий и аутопатического эндометрия. Определены уровни IL-1 β , IL-2, IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-6, IL-10, хемокинов IL-8, RANTES, MCP-1, MIG, IP-10, факторов роста VEGF, bFGF, инсулиноподобного фактора роста (IGF-1), TGF β . Продукцию цитокинов определяли с помощью метода проточной цитофлуориметрии с использованием тест-систем BD Cytometric Bead Array (BD, США) и проточного цитофлюориметра FACStrack (BD, США). Субпопуляции лимфоцитов определяли методом проточной цитофлуориметрии с помощью набора моноклональных антител «Simultest», BD Bioscience. Органотипическое культивирование эндометриоидных гетеротипий и аутопатического эндометрия проводили по методике Hirata J. (1994). Статистический анализ данных осуществлялся с помощью программы электронных таблиц Microsoft Excel, которые были сформированы в соответствии с запросами проводимого исследования.

Результаты исследования и их обсуждение

Отмечены изменения антипролиферативных компонентов иммунной системы у больных НГЭ. Обнаружено достоверное снижение цитотоксической активности НК-клеток в периферической крови и перитонеальной жидкости (при НГЭ I ст. – 34,2 \pm 1,6%, при II ст. – 31,5 \pm 1,1%, при III ст. – 28,1 \pm 1,1%, при IV ст. – 25,2 \pm 0,6%), отрицательно коррелирующее со степенью распространенности

заболевания ($r = -0,46$; $p < 0,01$). При анализе показателей интерферонового (IFN) статуса у больных НГЭ обнаружено повышение уровня общего сывороточного интерферона (26,4 \pm 2,0 МЕ/мл) по сравнению с контрольной группой (7,8 \pm 1,6 МЕ/мл, $p < 0,05$), отмечено достоверное снижение способности лейкоцитов ПК к продукции IFN-a/b и IFN-g, наиболее выраженное при НГЭ IV степени (способность к продукции IFN-a/b при НГЭ составила 84,5 \pm 5,1 МЕ/мл и 284,8 \pm 16,0 МЕ/мл в контроле, $p < 0,001$; способность к секреции IFN-g 21,5 \pm 1,2 МЕ/мл и 175,2 \pm 6,2 МЕ/мл соответственно, $p < 0,001$). У больных НГЭ в ПЖ достоверно увеличено количество перитонеальных макрофагов (1,7 \pm 0,1 $\cdot 10^9$ /л) по сравнению с контрольной группой (0,7 \pm 0,12 $\cdot 10^9$ /л, $p < 0,01$). При НГЭ содержание Т-хелперов в ПЖ достоверно снижено по сравнению со значениями контроля (22,4 \pm 2,3% и 32,4 \pm 3,0% соответственно, $p < 0,01$), содержание цитотоксических Т-лимфоцитов у больных эндометриозом достоверно выше, чем у здоровых женщин (61,4 \pm 4,0% и 51,2 \pm 3,5% соответственно, $p < 0,05$), значения иммунорегуляторного индекса при НГЭ ниже, чем в контроле (0,34 \pm 0,02 и 0,63 \pm 0,10 соответственно, $p < 0,01$).

В ПЖ больных НГЭ отмечено достоверное повышение содержания цитокинов по сравнению с контрольной группой: содержание IL-1 β повышено в 3,5 раза, TNF-a – в 7,5 раз, IL-2 – в 1,4 раза, IL-4 – в 2,7 раза, IL-6 – в 10,7 раза, IL-8 – в 2,5 раза и IL-10 – в 7,3 раза соответственно (табл. 1).

Таблица 1

Уровень цитокинов, определяемых в перитонеальной жидкости, у больных НГЭ и в контрольной группе

Цитокины, М \pm m	Больные НГЭ (n = 142)	Контрольная группа (n = 35)
IL-1 β , пкг/мл	345,7 \pm 24,5**	98,2 \pm 15,2
TNF- α , пкг/мл	82,1 \pm 8,2*	11,0 \pm 2,3
IL-2, пкг/мл	13,0 \pm 1,2***	9,2 \pm 0,6
IL-6, пкг/мл,	538,1 \pm 102,1**	46,5 \pm 3,5
IL-8, пкг/мл	216,2 \pm 13,5*	87,5 \pm 8,4
IL-4, пкг/мл	32,3 \pm 5,2**	11,2 \pm 1,0
IL-10, пкг/мл	462,6 \pm 94,3	64,2 \pm 9,5

Примечание: * $p < 0,0001$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

У больных НГЭ в ПЖ обнаружена взаимосвязь между содержанием IFN- γ и TNF- α (коэффициент корреляции 0,89), между уровнем IFN- γ и IL-2 (коэффициент корреляции 0,87; $p < 0,01$), между IFN- γ и IL-4 (коэффициент корреляции 0,91; $p < 0,01$). При НГЭ отмечено достоверное

повышение в ПЖ и ПК содержания IL-4, IL-6, IL-10 по сравнению с контролем и группой сравнения (женщины без эндометриоза с хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза в стадии ремиссии), особенно выраженное при рецидивах заболевания и сочетании

НГЭ с аденомиозом ($p < 0,01$). Наиболее высокие значения цитокинов в супернатантах, полученных при культивировании эндометриоидных имплантов и эутопиче-

ского эндометрия, коррелирующие с возрастом степени распространенности заболевания, были определены для IL-6 и IL-8 (табл. 2 и 3).

Таблица 2

Показатели секреции интерлейкинов эндометриоидными гетеротопиями в зависимости от степени распространенности заболевания

Цитокины, пкг/мг ткани	НГЭ I-II степени ($n = 65$) M ± m	НГЭ III-IV степени ($n = 77$) M ± m
IL-1β	2,5 ± 1,0**	7,6 ± 1,8
IL-2	1,7 ± 0,5**	9,4 ± 1,2
IL-8	442,1 ± 45,6*	236,5 ± 156,0
TNF-α	2,2 ± 0,4	2,9 ± 0,6
IL-6	184,3 ± 12,4**	831,4 ± 105,2

Примечание: * $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ различия между группами больных НГЭ.

Таблица 3

Уровень секреции интерлейкинов тканью эутопического эндометрия у больных НГЭ и в контрольной группе

Цитокины, пкг/мг ткани	НГЭ I-II степени $n = 65$ (M ± m)	НГЭ III-IV степени $n = 77$ (M ± m)	Контроль $n = 35$ (M ± m)
IL-1β	3,6 ± 0,6**	6,6 ± 1,2*	2,7 ± 0,5
IL-2	5,4 ± 2,0**	18,2 ± 2,5*	0,8 ± 0,2
IL-8	1824,4 ± 256,3**	2765,0 ± 321,1*	1236,4 ± 221,1
TNF-α	6,8 ± 1,6	7,4 ± 1,8	2,4 ± 0,7
IL-6	223,8 ± 82,8*	572,3 ± 162,4*	165,1 ± 42,0

Примечания: * $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой;
– ** $p < 0,05$ различия между группами больных НГЭ.

Установлено, что ПЖ больных НГЭ обладает высокой ангиогенной активностью по сравнению с ПЖ здоровых женщин. ПЖ больных НГЭ достоверно увеличивала процент эндотелиальных клеток (ЭК), вышедших из фазы G1/S клеточного цикла в фазу M/G2 ($p < 0,01$), что свидетельствует об усилении их митотической активности. Отмечено достоверное повышение содержания провоспалительных хемокинов в ПЖ больных НГЭ по сравнению с контролем (MCP-1 (моноцитарный хемотаксический белок) 612,2 ± 53,4 и 142,2 ± 12,1 пкг/мл соответственно, $p < 0,001$; MIG (g-интерферон индуцируемый монокин) 2274,1 ± 246,3 и 1094,2 ± 117,6 пкг/мл соответственно, $p < 0,001$; RANTES (хемокин, регулирующий активацию, экспрессию и секрецию нормальных Т-клеток) 11,3 ± 2,2 и 4,2 ± 0,9 мкг/мл соответственно, $p < 0,01$; IL-8 214,5 ± 17,6 и 87,3 ± 10,4 соответственно, $p < 0,001$). В ПЖ при НГЭ обнаружено достоверное повышение уровня антиангиогенного хемокина (интерферон-индуцибельный белок) IP-10, коррелирующего с увеличением степени распространен-

ности заболевания (7932,6 ± 1051,8 пкг/мл при НГЭ и 3124,5 ± 296,2 пкг/мл в контроле, $p < 0,01$).

В ПЖ больных НГЭ повышено содержание следующих ростовых факторов: VEGF (фактор роста эндотелия сосудов) 897,3 ± 144,11 и 213,9 ± 12,7 пкг/мл в контроле, $p < 0,001$; инсулиноподобного фактора роста (IGF-1) 6897,4 и 4537,2 пкг/мл соответственно, $p < 0,01$; ангиогенина 24376,2 ± 1207,1 и 8739,8 ± 658,9 пкг/мл соответственно, $p < 0,001$. Отмечено достоверное повышение уровня ангиогенина (30196,2 ± 1874,6 пкг/мл) и VEGF (1713,5 ± 286,3 пкг/мл) в супернатантах.

Заключение

В перитонеальной жидкости больных НГЭ содержание IL-1β в 3,5 раза выше, чем в контрольной группе, IL-2 в 1,4 раза, TNF-α в 7,5 раз, IL-4 в 2,7 раза, IL-6 в 10,7 раза, IL-8 в 2,5 раза и IL-10 в 7,3 раза соответственно. Наиболее высокие значения цитокинов в супернатантах, полученных при культивировании эндометриоидных имплантов и эутопического эндометрия, были

получены для IL-6 и IL-8, что свидетельствует о том, что в основе генитального эндометриоза лежит воспалительная реакция. При НГЭ наблюдается иммунный ответ по Th2 типу, который характеризуется повышением в перитонеальной жидкости и периферической крови IL-4 на 60 и 84 % соответственно по сравнению с контролем, IL-6 на 96 % и 71 %, IL-10 на 128 и 42 %, особенно выраженным при рецидивах заболевания и сочетании НГЭ с аденомиозом, что свидетельствует о неэффективности воспалительной реакции при данном заболевании.

Системная воспалительная реакция при НГЭ характеризуется достоверным повышением содержания провоспалительных хемокинов в перитонеальной жидкости (MCP-1 в 4,3 раза по сравнению с контролем, MIG в 2,1 раза, RANTES в 2,7 раз, IL-8 в 2,5 раза), которое отражает возможность привлечения иммунокомпетентных и других клеток, определяющих воспалительную реакцию, в очаг формирования и развития гетеротопий.

Список литературы

1. Брагин Б.И. Особенности внутриклеточного синтеза цитокинов и активации Т-хелперов на системном и локальном уровнях у женщин репродуктивного возраста при различных формах генитального эндометриоза: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2004. – 26 с.
2. Селютин А.В., Денисова В.М. Особенности иммунного ответа Th1/Th2 при наружном генитальном эндометриозе // *Мать и дитя: материалы 2-го регионального научного форума*. – Сочи, 2008. – С. 154–155.
3. Ярмолинская М.И., Сельков С.А. Значение иммуноориентированной терапии в реабилитации больных наружным генитальным эндометриозом // *Вестник восстановительной медицины*. – 2007. – № 3 (21). – С. 4–8.
4. Khan K.N., Masuzaki H., Fujishita A., Kitajima M. Regulation of hepatocyte growth factor by basal and stimulated macrophages in women with endometriosis // *Hum Reprod.* – 2005. – Jan. 20(1). – P. 49–60.
5. Kitawaki J. Adenomyosis: the pathophysiologu of an oestrogen-depent disease // *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* – 2006. – Aug. 20(4). – P. 493–502.
6. Kligman L, Grifo J, Lessey B.A., Palomino W.A. Estrogen receptor-alpha and defects in uterine receptivity in women // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2006. – № 4. – Suppl.1 :59.

7. Levent 122. Lin Y.J., Lai M.D., Lei H.Y., Wing L.Y. Neutrophils and macrophages promote angiogenesis in the early stage of endometriosis in mouse model // *Endocrinology*. – 2006. – Mar. 147(3). – P. 1278–86.

8. Lin Murakami K., Nomura K., Shinohara K., Kasai T. Danazol inhibits aromatase activity of endometriosis-derived stromal cells by a competitive mechanism // *Fertil Steril.* – 2006. – Aug. 86(2). – P. 291–7.

References

1. Bragin B. I. Osobennosti vnutrikletochnogo sinteza citokinov i aktivacii T-helperov na sistemnom i lokal'nom urovnyah u zhenwin reproductivnogo vozrasta pri razlichnyh formah genital'nogo jendometrioza. Avtoref. Diss. kand. med. nauk. M., 2004, 26 p.
2. Seljutin A.B., Denisova V.M. Osobennosti immunnogo otveta Th1/Th2 pri naruzhnom genital'nom jendometrioze // *Materialy 2-go regional'nogo nauchnogo foruma «Mat' i ditja»*. Sochi, 2008. pp. 154–155.
3. Jarmolinskaja M.I., Sel'kov S.A. Znachenie immunoorientirovannoj terapii v rehabilitacii bol'nyh naruzhnyh genital'nym jendometriojom *Vestnik vosstanovitel'noj mediciny*, 2007, no. 3 (21), pp. 4–8.
4. Khan K.N., Masuzaki H., Fujishita A., Kitajima M. Regulation of hepatocyte growth factor by basal and stimulated macrophages in women with endometriosis. *Hum Reprod.*, 2005, Jan. 20(1), pp. 49–60.
5. Kitawaki J. Adenomyosis: the pathophysiologu of an oestrogen-depent disease. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.*, 2006, Aug. 20(4), pp. 493–502.
6. Kligman L, Grifo J, Lessey B.A., Palomino W.A. Estrogen receptor-alpha and defects in uterine receptivity in women. *Reprod Biol Endocrinol*, 2006, 4. Suppl.1 :59.
7. Levent 122. Lin Y.J., Lai M.D., Lei H.Y., Wing L.Y. Neutrophils and macrophages promote angiogenesis in the early stage of endometriosis in mouse model // *Endocrinology*. 2006. Mar. 147(3). pp. 1278–86.
8. Lin Murakami K., Nomura K., Shinohara K., Kasai T. Danazol inhibits aromatase activity of endometriosis-derived stromal cells by a competitive mechanism // *Fertil Steril*. 2006. Aug. 86(2). pp. 291–7.

Рецензенты:

Агаев И.А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии Азербайджанского медицинского университета, заслуженный деятель науки, г. Баку;

Векилов В.Н., д.м.н., профессор кафедры общественного здоровья и организации здравоохранения Азербайджанского медицинского университета, г. Баку.

Работа поступила в редакцию 23.07.2013.