

УДК: 618.14-002:612.017.1

DOI: 10.14427/jipai.2015.2.24

Иммунные нарушения на системном и местном уровне у пациенток с аденомиозом

Н.В. Незнамова, О.Ю. Иванова, А.А. Конопля, А.В. Караулов, А.Н. Мальцева, В.П. Гаврилюк
ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия

Immune disturbances at system and local level at patients with an adenomyosis

N.V. Neznamova, O.Y. Ivanova, A.A. Konoplya, A.V. Karaulov, A.N. Mal'tseva, V.P. Gavriiliuk
Kursk state medical university, Kursk, Russian Federation (305041, Kursk, str. K. Marksa, 3)

Аннотация

Цель: установить характер иммунных нарушений на системном и местном уровне у пациенток с внутренним эндометриозом (аденомиозом).

Методы: клиническое исследование, определение показателей иммунного статуса в плазме крови и вагинально-цервикальном смыве.

Результаты: перед началом комплексного стандартного лечения установлено повышение уровня провоспалительных цитокинов, активация системы комплемента, дисбаланс в содержании противовоспалительных цитокинов, регуляторов системы комплемента и иммуноглобулинов на системном и местном уровне. Выявлено снижение активности и интенсивности фагоцитоза с одновременным увеличением активности кислородзависимых систем нейтрофилов. Эффективность стандартного лечения оказалась недостаточной, что обосновывает необходимость использования эффективных способов и средств иммунореабилитации.

Ключевые слова

Аденомиоз, иммунные нарушения, иммунореабилитация.

Summary

The purpose: to establish character of immune disturbances at system and local level at patients with an internal endometriosis (adenomyosis).

Methods: clinical research, definition of indicators of the immune status in a blood plasma both vaginal and cervical washout.

Results: before the beginning of complex standard treatment rising of level of proinflammatory cytokines, activation of system of a complement, a disbalance in the maintenance of antiinflammatory cytokines, regulators of system of a complement and immunoglobulins at system and local level is established. Depression of activity and intensity of a phagocytosis with simultaneous augmentation of activity of oxygen systems of neutrophils is taped. Efficiency of treatment has appeared insufficient that proves necessity of use of effective ways and agents of immune aftertreatment.

Key words

Adenomyosis, immune disturbances, immune aftertreatment.

Введение

Согласно общепринятому определению эндометриоз – это патологический процесс, характеризующийся разрастанием эндометриоподобной ткани за пределами границ нормальной локализации эндометрия. Эндометриоз признается одним из наиболее распространенных гинекологических заболеваний, ассоциируемых с бесплодием. Так, среди пациенток, страдающим

бесплодием, его частота может достигать 20-48%. При верификации в миометрии эпителиальных (железистых) и стромальных элементов эндометриального происхождения (МКБ-10) выделяют внутренний эндометриоз тела матки, обозначаемый термином «аденомиоз» [1-5]. Не смотря на многолетнюю историю изучения эндометриоза механизмы этого многофакторного многокомпонентного заболевания окончательно неясны,

что затрудняет поиск эффективных методов лечения [1, 6].

В патогенезе эндометриоза важная роль принадлежит нарушениям иммунного гомеостаза, в том числе и генетически обусловленным, предрасполагающим к определенному ответу иммунной системы на формирование эндометриодных гетеротопий, их инвазию и распространение [7-9]. Показано снижение активности натуральных киллеров, повышение иммуносупрессорных цитокинов в периферической крови и перитонеальной жидкости, снижение способности лейкоцитов крови к продукции интерферонов, повышение количества перитонеальных макрофагов а также секретируемых ими провоспалительных цитокинов и хемокинов как в перитонеальной жидкости, так и в эндометриодных имплантах, повышение миграции макрофагов в перитонеальную жидкость со снижением их способности к фагоцитозу, что обусловлено повышенной секрецией простагландина E2 эктопическими очагами эндометрия. Данные изменения приводят к угнетению процесса имплантации бластоцисты в эндометрий, или поражению сперматозоидов, активированными макрофагами [10-12].

В связи с тем, что иммунные нарушения играют значимую роль в патогенезе эндометриоза и, практически нет данных по этому вопросу в отношении аденомиоза, *целью настоящей работы* стало установление характера иммунных нарушений на системном и местном уровне при аденомиозе, что является необходимым условием для разработки эффективных методов терапии данного заболевания.

Материалы и методы

Под постоянным наблюдением было 30 женщин в возрасте $39,7 \pm 3,6$ лет, находившихся на стационарном лечении ОБУЗ «Городская больница «Липецк-Мед» г. Липецка в период 2012-2014 гг. Всем пациенткам проводили комплексное клинично-инструментальное обследование по общепринятым стандартам, при этом во всех случаях имела место верификация диагноза: аденомиоз, диффузная форма I-II степени. Включение больных в исследование осуществлялось на основании информированного согласия, всем было проведено эндоскопическое оперативное вмешательство по поводу эндометриоз-ассоциированного бесплодия. В послеоперационном периоде пациентки получали гормональное лечение КОК, препаратами группы диеногеста.

Лабораторные методы исследования иммунного статуса проводились до начала лечения и на

15 сутки после. Содержание ФНО, ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ИЛ-2, G-КСФ, ИНФ γ , ИЛ-4, ИЛ-10, рецепторного антагониста ИЛ-1 (РАИЛ), С3, С3а, С4, С5, С5а, С4-компонентов комплемента, фактора Н, С1-ингибитора системы комплемента, IgM, G, A, sIgA, лактоферрина (ЛФ) определяли в плазме крови и вагинально-цервикальном смыве с помощью наборов реагентов ЗАО «Вектор Бест» (г. Новосибирск) и ООО «Протеиновый контур» (г. Санкт-Петербург) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Активность и интенсивность фагоцитоза нейтрофилов, выделенных из периферической крови, оценивали по фагоцитарному индексу (ФИ), фагоцитарному числу (ФЧ) и индексу активности фагоцитоза (ИАФ). Активность кислородзависимых систем нейтрофилов оценивали по реакции восстановления нитросинего тетразолия, спонтанного и стимулированного зимозаном (НСТ-сп., НСТ-ст.) с расчетом функционального резерва нейтрофилов (ФРН) [13].

В качестве контроля исследовали периферическую кровь и вагинально-цервикальный смыв 16 здоровых женщин.

Статистическую обработку результатов исследования проводили по общепринятым критериям вариационно-статистического анализа с вычислением средних величин (M), ошибки средней арифметической (m) с помощью пакета компьютерных программ Microsoft Excel, 2010. Для оценки статистической значимости различий средних величин использовался критерий Вилкоксона-Манна и Уитни. Статистически значимыми считали различия с $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У больных аденомиозом при поступлении в стационар в плазме крови выявлено повышение уровня провоспалительных цитокинов (ФНО в 2,6 раза, ИЛ-1 β в 4,4 раза, ИЛ-6 в 3,9 раз, ИЛ-8 в 7,3 раза, ИЛ-18 в 1,4 раза), ИНФ γ в 6,3 раза, G-КСФ в 1,5 раз, ИЛ-2 в 9,9 раз и снижение содержания противовоспалительных (ИЛ-4 в 1,3 раза, РАИЛ в 8,4 раза) цитокинов. Концентрация ИЛ-10 осталась на уровне здоровых доноров (табл. 1).

У данной категории пациенток в плазме крови установлена активация системы комплемента, о чем свидетельствует повышение уровня компонентов комплемента (С₃ в 1,6 раза, С_{3а} С₄ и в 2,9 раз, С₅ в 1,7 раз, С_{5а} в 2,8 раз) при дисбалансе содержания их регуляторов (повышение фактора Н в 2,4 раза и снижение С₁-ингибитора в 1,5 раза). Кроме этого, выявлено снижение уровня IgG в 3,3 раза с повышением концентрации иммуно-

глобулинов класса М и А, соответственно в 2,1 и 14,9 раз (табл. 2).

Кроме того, установлено снижение активности и интенсивности фагоцитоза нейтрофилами периферической крови (снижение ФИ, ФЧ, ИАФ) с одновременным повышением активности кислородзависимых систем полиморфноядерных лейкоцитов (повышение НСТ-сп., НСТ-стим., ФРН). Уровень ЛФ оказался сниженным (табл. 3).

На местном уровне в вагинально-цервикальном секрете выявлено повышение уровня цитокинов: провоспалительных (ФНО, ИЛ-6, ИЛ-8), ИЛ-2, ИНФγ, противовоспалительного ИЛ-4 с одновременным снижением противовоспалительного рецепторного антагониста ИЛ-1. Кроме

этого, выявлено повышение как компонентов (C₃, C_{3a}, C₄, C₅, C_{5a}), так и регуляторов (фактор Н и С1-ингибитор) системы комплемента. Содержание секреторного иммуноглобулина А оказалась пониженным (табл. 4).

На фоне проводимого комплексного стандартного лечения у пациенток с аденомиозом в плазме крови частично нормализуется, но не до уровня здоровых доноров, концентрация провоспалительных цитокинов и РАИЛ. При этом, содержание ИЛ-4, ИНФγ, G-КСФ и ИЛ-2 остается без изменения, а уровень ИЛ-10 компенсаторно повышается (табл. 1).

Проведенное в стационаре лечение корригирует в плазме крови уровень C₃, C_{3a}, C₄,

Таблица 1. Цитокиновый спектр плазмы крови при аденомиозе (M±m)

Показатели	Единицы измерения	1	2	3
		Здоровые	Больные До лечения	Стандартное лечение
ФНО	пг/мл	3,27±0,2	8,44±0,18 ^{*1}	5,17±0,11 ^{*1,2}
ИЛ-1β	пкг/мл	1,9±0,21	8,33±0,24 ^{*1}	6,33±0,53 ^{*1,2}
ИЛ-6	пг/мл	5,81±0,08	22,9±1,87 ^{*1}	14,6±2,17 ^{*1,2}
ИЛ-8	пг/мл	5,17±0,12	37,68±2,1 ^{*1}	24,8±1,78 ^{*1,2}
ИЛ-18	пкг/мл	291,4±22,5	409,9±23,6 ^{*1}	367,9±21,4 ^{*1,2}
ИЛ-4	пг/мл	9,96±0,45	7,45±0,6 ^{*1}	7,51±1,07 ^{*1}
ИЛ-10	пкг/мл	3,7±0,21	4,1±0,18	6,55±0,34 ^{*1,2}
ИЛ-1Ra	пкг/мл	370,0±7,92	43,86±3,21 ^{*1}	277,6±15,0 ^{*1,2}
ИНФЛ	пг/мл	2,41±0,09	15,3±1,1 ^{*1}	13,3±2,04 ^{*1}
G-КСФ	пкг/мл	73,6±1,83	112,5±11,1 ^{*1}	123,22±5,88 ^{*1}
ИЛ-2	пг/мл	0,63±0,56	6,23±0,14 ^{*1}	5,87±0,79 ^{*1}

Примечание: * – p<0,05; цифра рядом со звездочкой указывает, по отношению к показателю какой группы различия достоверны.

Таблица 2. Состояние системы комплемента и уровень иммуноглобулинов плазмы крови при аденомиозе (M±m)

Показатели	Единицы измерения	1	2	3
		Здоровые	Больные До лечения	Стандартное лечение
C ₃	мг/л	88,4±2,3	138,4±4,8 ^{*1}	106,6±5,1 ^{*1,2}
C _{3a}	нг/мл	66,0±7,93	190,4±14,1 ^{*1}	105,0±4,58 ^{*1,2}
C ₄	мг/л	9,6±0,8	27,9±1,1 ^{*1}	20,4±2,0 ^{*1,2}
C ₅	нг/мл	39,6±3,1	62,7±3,3 ^{*1}	60,3±2,4 ^{*1}
C _{5a}	нг/мл	16,4±1,86	45,9±3,53 ^{*1}	34,64±1,39 ^{*1,2}
C ₁ -инг.	нг/мл	223,8±16,9	148,8±27,2 ^{*1}	283,0±12,3 ^{*1,2}
Фактор Н	нг/мл	29,9±2,7	71,4±3,9 ^{*1}	85,6±4,9 ^{*1,2}
IgM	г/л	80,8±4,8	166,1±21,5 ^{*1}	340,4±19,5 ^{*1,2}
IgG	г/л	1284,6±39,2	388,51±60,83 ^{*1}	360,6±30,1 ^{*1}
IgA	г/л	82,5±10,2	1225,2±102,3 ^{*1}	1275,2±45,9 ^{*1}

Примечание: * – p<0,05; цифра рядом со звездочкой указывает, по отношению к показателю какой группы различия достоверны.

C_{5a}-компонентов комплемента, повышает концентрацию регуляторов системы комплемента (C₁-ингибитор, фактора Н) и IgM, не влияя на содержание C₃, IgG и А. Кроме этого, частично компенсируются нарушенные показатели функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови (коррекция, но не до уровня доноров, ФИ, ИАФ, ЛФ, нормализация ФРН) (табл. 2, 3).

На локальном уровне стандартное лечение пациенток с аденомиозом корригирует (не до показателей здоровых доноров) уровень ИЛ-6, ИЛ-8, ИНФγ, компенсаторно повышает содержание противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4 и РАИЛ), не влияя на содержание ФНО и ИНФγ. В

отношении системы комплемента выявлено, что проведенное комплексное лечение полностью нормализует уровень C₅, частично C₃ и C_{3a}, повышает концентрацию C_{5a} компонентов комплемента, не влияя на содержание C₄, регуляторов системы комплемента и sIgA (табл. 4).

Таким образом, у пациенток с аденомиозом на момент поступления в стационар выявлено повышение уровня провоспалительных цитокинов, активация системы комплемента, дисбаланс в содержании противовоспалительных цитокинов, регуляторов системы комплемента и иммуноглобулинов на системном и местном уровне. Кроме этого, значительными оказались изменения со стороны функционально-метаболической

Таблица 3. Функционально-метаболическая активность нейтрофилов крови при аденомиозе (M±m)

Показатели	Единицы измерения	1			2		3	
		Здоровые	Больные		Больные		Больные	
			До лечения	Стандартное лечение				
Активность и интенсивность фагоцитоза	ФИ	%	74,2±5,4	60,1±2,84 ^{*1}	69,5±3,2 ^{*1,2}			
	ФЧ	абс.	6,0±0,33	4,3±0,21 ^{*1}	4,7±0,38 ^{*1}			
	ИАФ	-	4,45±0,21	2,58±0,14 ^{*1}	3,27±0,26 ^{*1,2}			
Активность кислородзависимых систем	НСТ-сп.	%	8,0±0,68	12,9±0,54 ^{*1}	11,9±0,6 ^{*1}			
	НСТ-стим.	%	23,3±2,4	34,8±1,7 ^{*1}	29,2±2,6 ^{*1}			
	ФРН	%	15,3±1,1	21,9±2,4 ^{*1}	17,9±2,1 ^{*2}			
	ЛФ	нг/мл	705,3±34,1	556,3±40,1 ^{*1}	680,5±36,1 ^{*1,2}			

Примечание: * – p<0,05; цифра рядом со звездочкой указывает, по отношению к показателю какой группы различия достоверны.

Таблица 4. Иммунные нарушения на локальном уровне при аденомиозе (M±m)

Показатели	Единицы измерения	1			2		3	
		Здоровые	Больные		Больные		Больные	
			До лечения	Стандартное лечение		Стандартное лечение		
ФНО	пг/мл	1,75±0,13	3,02±0,12 ^{*1}	2,79±0,13 ^{*1}				
ИЛ-6	пг/мл	4,41±0,17	9,56±0,87 ^{*1}	7,32±0,11 ^{*1,2}				
ИЛ-8	пг/мл	5,92±1,13	19,3±1,01 ^{*1}	11,6±0,82 ^{*1,2}				
ИЛ-4	пг/мл	0,54±0,03	6,3±0,68 ^{*1}	13,8±0,53 ^{*1,2}				
РАИЛ	пг/мл	64,1±3,4	31,3±2,37 ^{*1}	42,3±3,0 ^{*1,2}				
ИЛ-2	пг/мл	0,28±0,02	0,83±0,05 ^{*1}	0,82±0,04 ^{*1}				
ИНФλ	пг/мл	0,79±0,06	4,78±0,5 ^{*1}	2,43±0,21 ^{*1,2}				
C ₃	мг/л	108,3±7,4	200,6±8,8 ^{*1}	150,6±10,4 ^{*1,2}				
C _{3a}	нг/мл	83,2±2,73	193,4±5,4 ^{*1}	121,0±11,5 ^{*1,2}				
C ₄	мг/л	5,7±0,41	8,3±0,31 ^{*1}	9,1±0,89 ^{*1}				
C ₅	нг/мл	93,7±6,2	128,7±5,5 ^{*1}	90,6±4,8 ^{*2}				
C _{5a}	нг/мл	34,6±1,78	130,1±9,1 ^{*1}	195,8±12,2 ^{*1,2}				
C ₁ -инг.	нг/мл	117,2±7,8	281,7±17,3 ^{*1}	276,8±33,5 ^{*1}				
Фактор Н	нг/мл	38,7±4,7	186,7±10,4 ^{*1}	204,4±9,8 ^{*1}				
sIgA	г/л	58,4±4,24	39,3±3,1 ^{*1}	41,8±4,7 ^{*1}				

Примечание: * – p<0,05; цифра рядом со звездочкой указывает, по отношению к показателю какой группы различия достоверны.

активности полиморфноядерных лейкоцитов периферической крови, проявившиеся снижением активности и интенсивности фагоцитоза с одновременным увеличением активности кислородзависимых систем нейтрофилов. Полученные данные свидетельствуют о признаках иммунного воспаления, приводящего к ослаблению иммунного контроля, создающего условия для имплантации и развития функциональных очагов эндометрия вне их нормальной локализации [1, 11, 14]. Данные изменения оказывают влияние на оогенез, фиксируют удлинение фолликулиновой фазы, уменьшение размеров доминантного фолликула и активацию апоптоза клеток кумулюса. Измененный состав перитонеальной жидкости нарушает подвижность сперматозоидов, уси-

ливает их апоптоз, препятствует адекватной акросомальной реакции и прикреплению сперматозоидов к *zona pellucida* [12, 15, 16].

При этом эффективность традиционной фармакотерапии в отношении нарушенных показателей иммунного статуса, как на системном так и на местном уровне оставляет желать лучшего, так как нормализовалось 2 (9,1%) из 22 исследованных и измененных до начала лечения показателей и скорректировалось в сторону данных здоровых доноров 11 (50%) из них, что обосновывает необходимость использования в дополнении к комплексному лечению аденомиоза эффективных способов и средств иммунореабилитации, что будет способствовать повышению фертильности пациенток.

Литература

1. Адамян Л.В., Андреева Е.Н., Аполихина И.А. и др. Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитология. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных. М.; 2013, 66 с.
2. Stille Y.A., Birt Y.A., Sharpe-Timms K.L. Cellular and molecular basis for endometriosis-associated infertility. *Cell Tissue Res.* 2012; 3 (1): 44-49.
3. Волков Н.И., Жердев Д.В. Эндометриоз как причина бесплодия. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению. Под редакцией В.И. Кулакова. М: ГЭОТАР-медиа; 2006, 112-25.
4. Краснопольская К.В., Назаренко Т.А.. Клинические аспекты бесплодия в браке. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014, 118-43.
5. Коренева И.Е. Общая концепция диагностики и классификация форм бесплодия. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению: руководство. Под редакцией Г.Т. Сухих, Т.А. Назаренко. М: ГЭОТАР-медиа; 2010, 21-52.
6. Адамян Л.В., Кулаков В.И., Андреева Е.Н. Эндометриозы: руководство для врачей. М.: Медицина; 2006. 416 с.
7. Османова Ф.Т. Роль иммунологических факторов в патогенезе наружного генитального эндометриоза у женщин. Фундаментальные исследования. 2013; 9: 108.
8. Меньшикова Н.С. Функциональный полиморфизм генов иммуносупрессорных цитокинов при наружном генитальном эндометриозе. Мать и дитя в Кузбассе. 2013; 1 (52): 24-26.
9. Мальцева А.Н., Конопля А.А., Ярош А.А. Взаимосвязь иммунных и метаболических нарушений при эндометриозе. Медицинская иммунология. 2015; 15, спец. вып.: 176-177.
10. Линде В.А., Ермолова Н.В., Колесникова Л.В. и др. Значение нарушения продукции цитокинов и липидов в формировании наружного генитального эндометриоза. Таврический медико-биологический вестник. 2013; 16 (62): 57-61.
11. Овакимян А.С., Кречетова Л.В., Вторушина В.В. и др. Содержание интерлейкина-1 β , интерлейкина-8 и субстанции Р в плазме крови и перитонеальной жидкости пациенток с различными формами наружного генитального эндометриоза и хронической тазовой болью. Акушерство и гинекология. 2015; 3: 79-86.
12. Соснин А.Н., Калинина Н.М., Берлев И.В. Содержание про- и противовоспалительных цитокинов, фактора роста тромбоцитов в перитонеальной жидкости у женщин с наружным генитальным эндометриозом. Цитокины и воспаление. 2013; 12 (4): 92-95.
13. Щербаков В. И. Применение НСТ-теста для оценки чувствительности нейтрофилов к стимуляторам. Лаб. дело. 1989; 1: 30-33.
14. Агаркова Т.А., Кублинский К.С., Наследникова И.О. и др. Иммуногенетические факторы риска нарушения репродуктивной функции у женщин с наружным генитальным эндометриозом. Фундаментальные исследования 2014; 10: 1445-1450.
15. Garsia-Velasco J.L. Removal of endometriomas before fertilization does not improve fertility outcome: a matched, case-control study. *Fertil. Steril.* 2004; 81 (5): 162-166.
16. Arnoldi M., Somigliana E., Infantino M. et al. The presence of ovarian endometriomas is associated with reduce responsiveness to gonadotropins. *Hum. Reprod.* 2006; 21 (1): 530-4.

Сведения об авторах:

Незнамова Наталья Владимировна – аспирант кафедры акушерства и гинекологии факультета последипломного образования Курского государственного медицинского университета, врач акушер-гинеколог ОБУЗ «Городская больница «Липецк-мед», 305041, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3, e-mail: petrosn@mail.ru, тел. 8(910)354-40-81
Иванова Оксана Юрьевна – д.м.н, профессор кафедры акушерства и гинекологии Курского государственного медицинского университета,
Конопля Алексей Александрович – д.м.н, профессор кафедры акушерства и гинекологии факультета последипломного образования Курского государственного медицинского университета

Поступила 17.04.2015 г.