

НЕКОТОРЫЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ У БОЛЬНЫХ ЭНДОМЕТРИОЗОМ, ПЕРЕНЕСШИХ ОПЕРАТИВНОЕ ЛЕЧЕНИЕ В КОМПЛЕКСЕ С ИММУНОТЕРАПИЕЙ

Махмудова Г.М., Ризопулу А.П.*

Второй Ташкентский Государственный медицинский институт,

*Институт иммунологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан

Резюме. Обследовано 45 женщин, страдающих различными формами генитального эндометриоза. У всех обследованных изучен иммунофенотип лимфоцитов и макрофагов, уровень цитокинов IL-1 α , IL-8, IFN- γ в перитонеальной жидкости. Сопоставление полученных результатов со степенью распространения эндометриоза, показало, что прогрессирование заболевания сопровождается гиперпродукцией факторов гуморального иммунитета, IL-1- α , IL-8 с параллельным снижением содержания IFN- γ , числа CD3, CD4 клеток, макрофагов в перитонеальной жидкости. Иммунокоррекция производилась путем применения -полиоксидония и циклоферона, эффективность которых доказана клинически и на основании нормализации иммунологических показателей перитонеальной жидкости.

Ключевые слова: иммунокоррекция.

Makhmudova G., Rizopulu A.

IMMUNOLOGICAL INDICES OF PERITONEAL FLUID OF PATIENTS WITH ENDOMETRIOSIS AFTER SURGERY AND IMMUNOTHERAPY

Abstract. We have examined 45 women with different forms of genital endometriosis. The level of IL-1 α , IL-8, IFN- γ in peritoneal fluid were studied. The comparison of the obtained results with the degree of endometriosis extension showed that the progressive disease is accompanied by hyperproduction of IL-1 α and IL-8, as well as by the decrease in the IFN- γ levels and decrease in CD3⁺, CD4⁺ and macrophages contents in peritoneal fluid. The efficacy of Polyoxidonium and Cycloferon applied as immunocorrective preparations was proved by clinical and immunological parameters. (*Med.Immunol.*, 2003, vol.5, № 5-6, pp 571-576)

Несмотря на большое число исследований, посвященных различным аспектам эндометриоза, до сих пор остаются невыясненными многие вопросы этиологии и патогенеза заболевания, особенности клинического течения в зависимости от локализации процесса, эффективность различных методов лечения и мониторинга.

Эндометриоз стоит на третьем месте в структуре гинекологической заболеваемости и поражает до 50% женщин с сохраненной менструальной функцией, приводя к функциональным расстройствам и структурным изменениям в репродуктивной системе [2, 5, 8].

В последние годы особую значимость придают глубокому инфильтративному эндометриозу в связи с тяжестью заболевания и распространением процесса на соседние органы (мочевой пузырь, кишечник). По данным различных авторов, частота больных генитальным эндометриозом колеблется от 20 до 50% [1, 3, 7, 9, 11].

Адрес для переписки:

Ташкент, Узбекистан, ул. Я.Гулямова, 74.

Институт иммунологии АН РУз

Тел.: (812) 557-40-32.

E-mail: annarizopulu@inbox.ru.

Многочисленные исследования достоверно доказывают, что эндометриоз развивается на фоне нарушенного иммунного равновесия. А именно: Т-клеточного иммунодефицита, угнетения функции цитотоксических Т-лимфоцитов, активации гиперчувствительности замедленного типа, снижения активности Т-лимфоцитов при одновременной активации В-лимфоцитарной системы и снижении функции естественных киллеров [4, 6, 9, 10].

Факторами, определяющими судьбу эктопического эндометрия, являются не только иммунные клетки, но цитокины, интерфероны и факторы роста. Цитокины, являясь пептидами-медиаторами, способствуют взаимодействию клеток. Биологический потенциал цитокинов состоит в регуляции взаимодействия макрофагов с элементами тканей, формировании очагов воспаления.

Целью исследования явилось: определить динамику иммунологических показателей перитонеальной жидкости больных эндометриозом в зависимости от степени распространения процесса и вида лечения.

Материалы и методы

Обследовано 45 женщин, страдающих различными формами наружного генитального эндометриоза. Степень распространения эндометриозных поражений оценивали по шкале Американского общества фертильности (R-AFS-1985 г).

Средний возраст обследованных больных составил $32,5 \pm 1,32$ года.

У 30 (66,6%) женщин был отягощен акушерско-гинекологический анамнез, самопроизвольными выкидышами – у 12 (26,6%), искусственными абортми – у 8 (17,8%). Соматический анамнез чаще всего был осложнен заболеваниями желудочно-кишечного тракта и ЛОР-органов, каждая третья обследованная имела отягощенный аллергологический анамнез.

Наиболее частыми жалобами больных явились боли в виде альгодисменореи и не связанные с менструациями – у всех исследованных женщин, вторым по частоте симптомом было нарушение менструального цикла по типу гиперполименореи и перименструальных длительных темных выделений из половых путей. Отмечено возрастание болезненности и обильности менструальных выделений по мере прогрессирования заболевания, достигающие наиболее высоких значений при III степени распространения заболевания. Большинство пациенток – 35 (71,1%) предъявляли жалобы на бесплодие, длительность которого варьировала от 5 до 12 лет.

Всем больным проводилось общеклиническое обследование, ультразвуковое исследование, гормональное исследование крови, гистероскопия, диагностическая и лечебная лапароскопия. После верификации диагноза все больные подверглись хирургическому лечению. Объем проведенных операций

зависел от степени распространения патологического процесса. Всем больным производили забор перитонеальной жидкости интраоперационно путем лапароскопии, в последующем при невозможности выполнения операции эндоскопически оперативный доступ осуществлялся путем лапаротомии.

В перитонеальной жидкости проводили определение иммунокомпетентных клеток (зрелые Т-клетки- $CD3^+$, Т-хелперы- $CD4^+$, цитотоксические Т-лимфоциты - $CD8^+$, моноциты, макрофаги - $CD14^+$, естественные киллеры- $CD16^+$, В-клетки- $CD19^+$) с помощью моноклональных антител («Медбиоспектр», Москва) в реакции поверхностной иммунофлюоресценции. Уровень перитонеальных иммуноглобулинов изучали в реакции радиальной иммунодиффузии по Манчини (1969). Продукцию: $IL-1\alpha$, $IL-8$, $TNF\alpha$ и $IFN\gamma$ определяли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ООО «Цитокин», ГНЦ - ГосНИИ ОЧБ, Санкт-Петербург).

С целью повышения эффективности терапии генитального эндометриоза на фоне гормональной терапии в качестве иммуномодулятора направленного действия был использован Циклоферон - индуктор альфа и гамма - интерферонов. Препарат относится к группе низкомолекулярных синтетических индукторов интерферона, обладает мягким пролонгированным иммунокорригирующим эффектом, а также Полиоксидоний - активатор фагоцитирующих клеток, естественных киллеров, препарат, повышающий устойчивость мембран клеток к цитотоксическим факторам.

Все больные были разделены на 3 группы:

первую группу составили 15 женщин, не получавших иммунокорригирующей терапии;

вторую группу - 15 больных, получавших полиоксидоний по 6 мг 10 внутримышечных инъекций через день;

третью группу - 15 больных, получавших циклоферон с 1-го дня менструального цикла (10 внутримышечных инъекций).

Группу контроля составили 10 здоровых женщин, перитонеальную жидкость которых получали при проведении добровольной лапароскопической стерилизации маточных труб.

Эффективность проводимого лечения оценивали как клинически, так и на основании лабораторных исследований.

Результаты и обсуждение

Интраоперационно было установлено большое разнообразие визуальных проявлений эндометриоза, сочетанный характер эндометриозных поражений с преимущественной локализацией на крестцово-маточных связках, яичниках и на брюшине Дугласова кармана. Для пациенток с эндометриозом характерно было повышение объема перитонеальной

жидкости и серозно-геморрагический характер выпота.

У больных эндометриозом в перитонеальной жидкости отмечалось снижение содержания Т-лимфоцитов (CD3⁺) в сравнении с группой контроля, соответственно, $164,7 \pm 1,24$ в 1 мкл перитонеальной жидкости и $215,4 \pm 3,12$ /мкл, почти в 2 раза в сравнении с группой контроля снижалось количество CD4⁺ лимфоцитов. Относительное содержание цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8⁺) у больных эндометриозом незначительно снижалось и достоверно не отличалось от уровня, определяемого в перитонеальной жидкости пациенток контрольной группы.

Содержание естественных киллеров (CD16⁺) в перитонеальной жидкости больных эндометриозом

существенно снижалось, причем в группах с III - IV степенью распространения заболевания почти в 4 раза в сравнении с данными группы контроля. Полученные результаты свидетельствовали о снижении факторов местной защиты, что способствует имплантации и распространению эндометриoidных гетеротопий.

Содержание же В-лимфоцитов (CD19⁺) оказалось достоверно повышенным в группе наблюдения $510,3 \pm 6,2$, в сравнении с показателями у здоровых женщин – $205,21 \pm 5,21$ в 1 мкл жидкости.

При анализе содержания иммуноглобулинов в перитонеальной жидкости отмечалось их достоверное повышение в группе больных с распространенными формами заболевания.

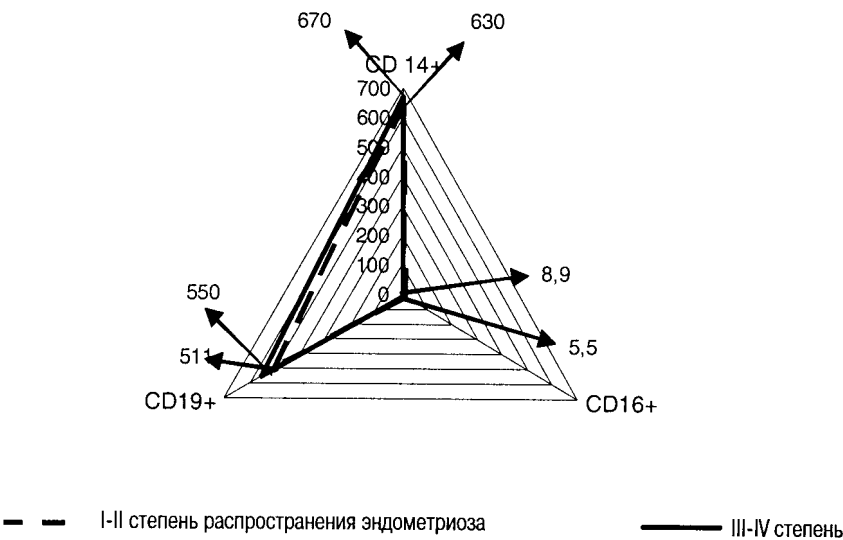


Рис.1. Клеточные параметры иммунитета перитонеальной жидкости в зависимости от степени распространения эндометриоза

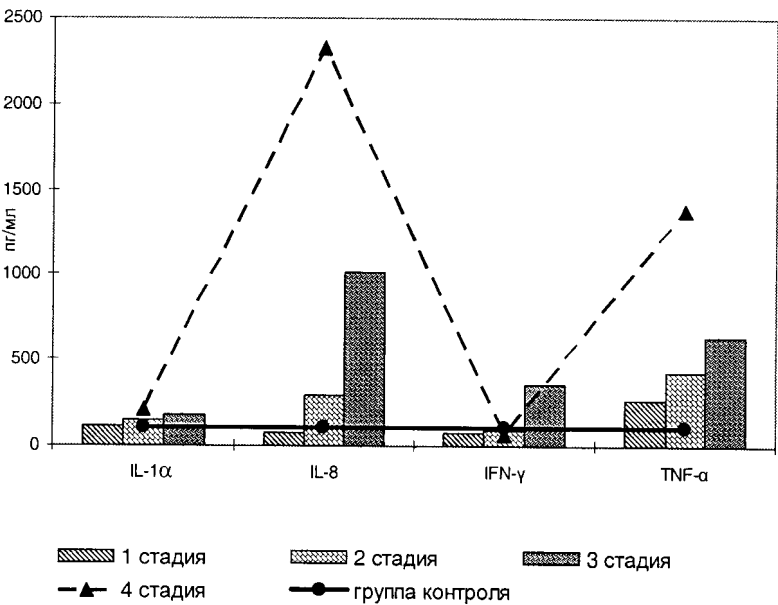


Рис. 2. Содержание цитокинов перитонеальной жидкости в зависимости от степени распространения эндометриоза. Группа контроля-100 пг/мл

Концентрация IgA оказалась достоверно повышенной у больных с эндометриоидными кистами яичников, ретроцервикальным эндометриозом и выраженным спаечным процессом и составила $57,9 \pm 2,12$ мг% в 1 мкл, при контроле – $32,1 \pm 1,21$ мг%.

Содержание IgG увеличивалось в 3,5 раза, Ig M – в 2 раза в сравнении с группой контроля.

В перитонеальной жидкости больных эндометриозом содержание макрофагов (CD14⁺) было достоверно повышено, особенно при распространенных формах заболевания, при контроле – $199,4 \pm 3,76$ в 1 мкл, в группе наблюдения – $654,5 \pm 5,78$ в 1 мкл. (рис. 1).

Полученные результаты согласуются с мнением Oosterlynk D.S.(1999) [8], что при относительном увеличении содержания макрофагов, резко возрастает их активность, что приводит к повышению секреции в перитонеальной жидкости биологически активных веществ, цитокинов.

У всех больных эндометриозом отмечалось повышение уровня таких цитокинов, как IL-1 α , IL-8, TNF- α , основными продуцентами которых являются макрофаги (рис.2.).

Отмечалась корреляция уровня IL-1 α со стадией распространения эндометриоза. Так, у всех больных с эндометриоидными кистами яичников и выраженным спаечным процессом органов малого таза имело место достоверное повышение уровня IL-1 α ($542,6 \pm 5,45$ пг/мл) в сравнении с параметрами группы контроля ($264,2 \pm 2,41$ пг/мл). Полученные результаты доказывают, что высокая концентрация IL-1 α способствует образованию спаек и фиброзу, что, возможно, происходит за счет индуцирования

синтеза простагландинов, стимуляции пролиферации фибробластов, накопления коллагена и образования фибрина.

Содержание хемотактических молекул – IL-8 в перитонеальной жидкости повышалось почти в 10 раз ($1137,3 \pm 3,56$ пг/мл) в сравнении с данными контроля ($107,61 \pm 5,33$ пг/мл).

Также повышался уровень TNF- α , усиливающего адгезию стромальных клеток эндометриоидных гетеротопий на мезотелии, что инициирует имплантацию элементов эндометрия, попавших в полость малого таза [6], в 3,3 раза при I-II степени распространения эндометриоза и в 10 раз ($35,15 \pm 2,25$ пг/мл) при распространенных, инфильтрирующих, глубоких формах заболевания.

У больных эндометриозом отмечено достоверное снижение способности лейкоцитов перитонеальной жидкости продуцировать IFN γ по сравнению с контрольной группой ($100,23 \pm 1,25$ пг/мл), так при I степени распространения заболевания способность к секреции составила – $72,31 \pm 2,11$ пг/мл, при II степени – $68,7 \pm 4,13$ пг/мл, при III степени – $106,45 \pm 6,23$ пг/мл, при IV – $60,48 \pm 5,34$ пг/мл.

Учитывая вышеизложенное, можно предположить, что при III степени распространения заболевания включаются резервные механизмы, усиливающие антипролиферативную активность. При IV степени отмечено наиболее выраженное снижение способности лейкоцитов перитонеальной жидкости секретировать IFN γ , т. е. наблюдается срыв резервных механизмов антипролиферативной защиты и, как следствие, наибольшая степень распространенности процесса.

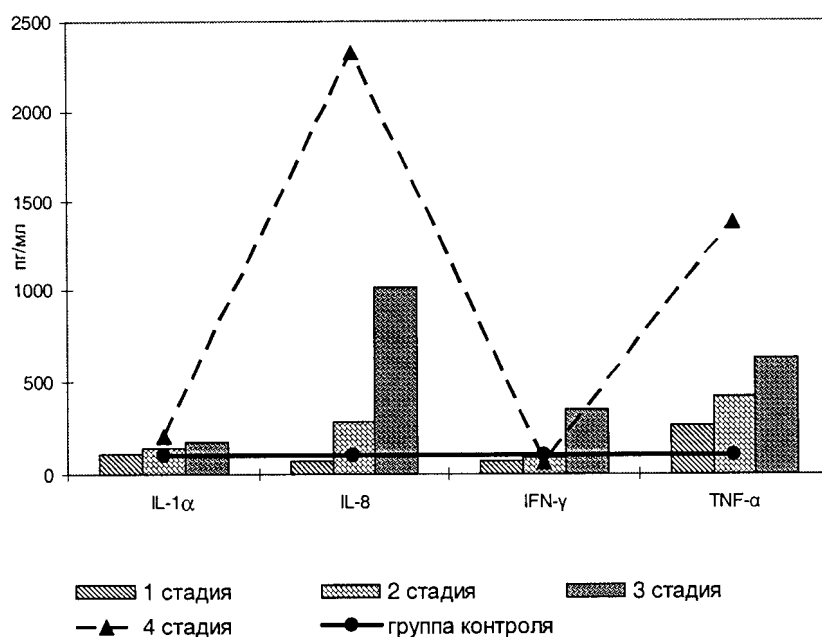


Рис. 3. Влияние иммунокорригирующей терапии на уровень цитокинов перитонеальной жидкости

Наиболее выраженные клинические изменения были выявлены при применении полиоксидония, который, как и циклоферон, назначали в предоперационной подготовке больных, и второй курс лечения проводили после операции.

При оценке состояния больных I группы, не получавших иммунокорригирующего лечения, менструации стали менее болезненными у 4 (26,7%) пациенток. У 11 (73,3%) женщин характер болевых ощущений во время менструаций не изменился. К концу первого года наблюдения боли во время менструации усилились у 3 (20%) больных, что свидетельствовало о рецидивировании заболевания.

Наиболее часто удавалось добиться снижения частоты болевого синдрома у женщин II группы. Спустя 6 месяцев после операции и лечения полиоксидонием, имевшийся до операции стойкий синдром тазовых болей остался у 1 (6,6%) больной, но по интенсивности был менее выраженным.

При лечении циклофероном болевой синдром был отмечен у 2 (13,3%) больных и возобновился по истечении 6 месяцев - у 1 (6,6%) пациентки.

До лечения, в I группе больных 12 (80%) женщин имели нарушения менструальной функции по типу перименструальных кровянистых выделений, длительных и обильных менструаций. При осмотре женщин спустя 6 месяцев после операции оказалось, что нарушение менструальной функции выявлялось у 7 (46,6%) больных.

Регулярный овуляторный менструальный цикл восстановился сразу после лечения у 9 (60%) больных II группы, после повторного курса лечения - у 3 (20%) обследованных женщин.

У больных III группы нормальный менструальный цикл восстановился у 7 (46,6%) больных сразу после лечения и у 4 (26,7%) после повторного курса лечения.

Беременность в течение первого года после операции наступила в 33,3, 60 и 46,6% случаев соответственно, по группам.

При изучении иммунологических показателей перитонеальной жидкости больных эндометриозом после проведенного лечения было обнаружено, что во второй группе наблюдения происходило повышение числа цитотоксических Т-лимфоцитов (CD 8⁺) в 1,5 раза и естественных киллеров (CD16⁺) - в 2 раза в сравнении с данными в I группе больных, снижение количества перитонеальных макрофагов (CD14⁺) и В-лимфоцитов (CD19⁺) в 1,8 раза, и концентрации иммуноглобулинов - в 2 раза.

Экспрессия молекул IL-1 α снижалась в 2 раза в сравнении с показателями в I группе больных, IL-8 - почти в 3 раза, а TNF α - в 6,9 раза.

Содержание IFN γ приближалось к показателям в контрольной группе (рис.3).

В третьей группе больных изменения показателей клеточного и гуморального иммунитета, а так-

же концентрации IL-1 α и IL-8 были менее выраженными, чем во второй группе больных.

Показатели же IFN γ (127,2 $\pm$ 2,32 пг/мл) повышались в 1,9 раза в сравнении с первой группой обследованных (65,8 $\pm$ 3,21 пг/мл).

Таким образом, проведенные исследования перитонеальной жидкости больных эндометриозом указывают на снижение местных факторов защиты: Т - клеточного иммунитета, естественных киллеров; повышение показателей гуморального иммунитета и провоспалительных цитокинов, подавление экспрессии IFN γ .

Учитывая полученные результаты в пре- и послеоперационном периоде больным эндометриозом необходимо проведение иммунокорригирующей терапии с применением препаратов различного механизма действия в связи с многообразием иммунных нарушений при распространенных формах заболевания.

Назначение иммунокорригирующих препаратов, а именно: полиоксидония и циклоферона может стать важным компонентом терапии генитального эндометриоза. Полученные нами положительные результаты позволяет рекомендовать эти препараты в качестве эффективного средства патогенетической терапии распространенных форм наружного генитального эндометриоза.

Список литературы

1. В.А. Бурлев, А.С. Гаспаров, Н.С. Аванесян, Н.И. Волков, Д.А. Факторы роста и их роль в регуляции репродуктивной функции у больных. // Проблемы репродукции. 2002. № 2. С. 2-5.
2. Симбирцев А.С. Цитокины - новая система регуляции защитных реакций организма. - Цитокины и воспаление. - 2002. - Т.1. №1. - С.9-17.
3. Barlow D. Today's treatments: how do you choose? // Int. S. Gynecol. Obstet. 1999. - vol. 64. S. 15 - S. 21.
4. Forbs K.L. Endometriosis. // Med. J. Aust. 2002. - №1. vol. 177. P.6-10.
5. Gogacz M., Jakowicki J., Kotarski J. Phagocyte activity of macrophages in the peritoneal fluid of patients with endometriosis. // Ginek. Pol. 2001. - vol. - 72 №5. P. 402-7.
6. Iwabe T., Harada T., Tsudo T. et al. Tumor necrosis factor- alpha promotes proliferation of endometriotic stromal cells by inducing interleukin-8 gene and protein expression. // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2000. - vol. 85. P.824-9.
7. Koninckx P.R. Is mild endometriosis a disease? / Hum. Reprod. 1998. - vol. 9. - №15. P. 2202-2205.
8. Olivennes F., Feldberg D. Endometriosis: a stage by analysis // Fertil. Steril. 1999. - vol. 54. - №5. P. 392-398.
9. Oosterlynck D.S., Meuleman M., Waer M. Natural killer activity of peritoneal fluid lymphocytes

is decreased in women with endometriosis Fertil. Steril., 1996, vol. 58, p. 290-295.

10. Oosterlynck D.S. Angiogenic activity of peritoneal fluid from women with endometriosis.//

Human Reprod. Update, 1999, vol. 2, №3, p. 85-98.

11. Vercillini P., Yrespidi L. Endometriosis: relation to discase stage and localization. // Fertil. Steril. 1996. – vol. 65. - №2. P. 299–304.

поступила в редакцию 23.10.2003

отправлена на доработку 10.11.2003

принята к печати 28.12.2003