

РОЛЬ ЦИТОКИНОВ В ВОЗНИКНОВЕНИИ АНОМАЛЬНЫХ МАТОЧНЫХ КРОВОТЕЧЕНИЙ ПРИ ПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЭНДОМЕТРИЯ

Т.Е. Белокриницкая, Е.С. Ахметова, Е.В. Мурикова

Читинская государственная медицинская академия, ректор – д.м.н.,
проф. А.В. Говорин; кафедра акушерства и гинекологии, зав. – д.м.н.,
проф. Т.Е. Белокриницкая.

Резюме. *Исследовано содержание ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4 и ФНО α в аспиратах из полости матки и периферической крови у 80 пациенток с патологией эндометрия и 20 здоровых женщин. Высокие концентрации ИЛ-1 β , ИЛ-2, ФНО α и признаки выраженной гиперкоагуляции отмечались только в аспиратах из полости матки при гиперплазиях и особенно при раке эндометрия. Уровни ИЛ-4 как у здоровых женщин, так и у пациенток с заболеваниями эндометрия не отличались. В менструальной крови здоровых женщин и в периферической крови пациенток с патологией эндометрия признаков гиперкоагуляции не обнаружено. Полученные данные дают основание считать, что гиперпродукция цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-2 и ФНО α может быть одним из механизмов возникновения аномальных маточных кровотечений при пролиферативных заболеваниях эндометрия.*

Ключевые слова: *пролиферативные заболевания эндометрия, цитокины, гемостаз.*

Изучение различных аспектов патогенеза предрака и рака эндометрия является одной из актуальных задач онкогинекологии и обусловлено прежде всего неуклонным ростом заболеваемости раком эндометрия [9].

Одним из наиболее перспективных направлений современной онкологии является изучение роли иммунной системы в патогенезе опухолей [4,5,8]. Особое значение в реализации противоопухолевого иммунитета в настоящее время

уделяется цитокинам – биологически активным веществам, продуцируемым иммунокомпетентными клетками и опосредующим все реакции иммунитета, в том числе противоопухолевого [3,4]. Изучение этого вопроса имеет важное теоретическое и практическое значение, поскольку цитокины и в частности интерлейкины и фактор некроза опухоли являются не только медиаторами иммунного ответа, но и обеспечивают взаимосвязь и кооперативное взаимодействие между клетками иммунной, фагоцитарной систем и гемостазом [2,4].

Целью нашего исследования явилось: установить роль цитокинов в возникновении кровотечения при гиперплазиях эндометрия.

Материалы и методы

Для решения поставленных задач произведено исследование аспиратов из матки у 20 здоровых женщин фертильного возраста (контрольная группа) и у 80 пациенток с различной патологией эндометрия. Под наблюдением находились 40 пациенток с фоновыми заболеваниями эндометрия, 35 – с предраком и 5 – с раком эндометрия. Градация заболеваний эндометрия проведена в соответствии с Международной статистической классификацией ВОЗ X пересмотра (1995).

Забор аспиратов из полости матки производился с помощью питательных стерильных зондов №10 объемом 1-2 мл непосредственно перед инструментальным выскабливанием полости матки. Периферическая кровь забиралась в количестве 3-4 мл в стеклянную пробирку объемом 5 мл. Полученные материалы для определения концентрации ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4 и ФНО α центрифугировались в течение 10 минут со скоростью 1500 оборотов в минуту. С целью отделения жидкой части аспирата от элементов гиперплазированной ткани эндометрия применялся метод двойного разведения, разработанный профессорами Ю.А. Витковским и Т.Е. Белокриницкой (2006). Таким же образом забиралась, центрифугировалась и исследовалась менструальная кровь здоровых женщин, забранная в первые 2 дня менструального цикла. Исследование коагуляционных свойств в аспиратах из полости матки проводилось в первые 30 минут после забора по оригинальной методике, предложенной профессором

Н.Н.Цыбиковым, с помощью коагулометра «Clot-1». Концентрацию ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ФНО α определяли иммуноферментным методом с использованием наборов реагентов ООО «Протеиновый контур – Тест» (г. Санкт-Петербург) и «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) в НИИ медицинской экологии ГОУ ВПО Читинской государственной медицинской академии Росздрава (директор - д.м.н., профессор Ю.А. Витковский). Статистическая обработка проводилась по методу Стьюдента с помощью пакетов программ Microsoft Excel 2001, STATISTICA 6,0 (StatSoft., США), с определением достоверности различий при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При анализе полученных лабораторных данных отмечено повышение концентрации ФНО α в аспиратах из полости матки в 2,9 раза у пациенток с фоновыми процессами эндометрия, в 5 – с предраковыми заболеваниями и в 87,8 – с раком эндометрия по сравнению со здоровыми женщинами. Содержание ФНО α в аспиратах из полости матки у женщин с предраком и раком эндометрия увеличивалось в 5,0 и в 29,8 раз соответственно по сравнению с фоновыми заболеваниями, а концентрация ФНО α при раке эндометрия превосходила в 5,9 раза таковую при предраковых процессах (табл.1).

Уровень ИЛ-2 в аспиратах из полости матки повышен в 21 раз при фоновых заболеваниях эндометрия, в 25,7 – при предраковых процессах эндометрия и в 36,4 – и раке эндометрия по сравнению со здоровыми женщинами. При раке эндометрия концентрация ИЛ-2 в аспиратах из полости матки была в 1,7 и в 1,4 раза выше, чем при фоновой и предраковой патологии соответственно. При сопоставлении показателей пациенток с фоновыми и предраковыми заболеваниями эндометрия обнаружено, что уровень ИЛ-2 в аспиратах матки в последней группе больше в 1,2 раза.

Содержание ИЛ-1 β в аспиратах из полости матки повышается в 2,8 раз при фоновых заболеваниях эндометрия, в 4,6 – при предраковых процессах и в 5 – при раке эндометрия по сравнению со здоровыми женщинами. У женщин с предраком и раком эндометрия концентрация ИЛ-1 β повышена только в 1,6 и

в 1,8 раза соответственно по сравнению с фоновыми заболеваниями. Уровень ИЛ-1 β при раке эндометрия превышает таковой в 1,1 раза при предраковых процессах.

При оценке концентраций ИЛ-4 в аспиратах из полости матки у женщин с пролиферативными заболеваниями эндометрия достоверных различий от контрольной группы не выявлено. Исследование периферической крови показало, что содержание ФНО α , ИЛ-2, ИЛ-1 β и ИЛ-4 у здоровых женщин и пациенток с заболеваниями эндометрия статистически значимо не отличается ($p>0,05$).

Таблица 1

Содержание цитокинов в аспиратах из полости матки при заболеваниях эндометрия ($M\pm m$)

Примечание: P1- уровень значимости различий по сравнению с контрольной группой; P2 – по сравнению с фоновыми заболеваниями и P3 – с предраковыми процессами.

В последние годы доказана роль цитокинов в регуляции сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и процесса свертывания крови [6]. Реализация их действия на гемостаз осуществляется главным образом через сосудистую стенку. Эндотелиальные клетки являются одновременно продуцентами и эффекторами ИЛ-1 β , ФНО α , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 [1]. Работы, посвященные нарушениям системы свертывания крови при заболеваниях эндометрия, отражают в основном онкологические аспекты проблемы, тогда как исследования гемостаза при заболеваниях эндометрия, предшествующих раку, остаются крайне немногочисленными. Ещё более неизученным остаётся вопрос о локальном состоянии системы гемостаза при заболеваниях эндометрия.

Согласно нашим исследованиям, неопластическое поражение эндометрия сопровождается развитием гиперкоагуляции, но при этом степень выраженности нарушений в системе гемостаза не отражает степень тяжести заболевания. У всех пациенток с патологией эндометрия независимо от степени тяжести процесса в аспиратах крови из полости матки наблюдается выраженная гипер-

коагуляция и повышение фибринолитической активности в отличие от менструальной крови здоровых женщин.

Протромбиновый индекс в аспиратах из полости матки, взятых в момент аномального маточного кровотечения, у всех пациенток с патологией эндометрия был $> 150\%$, в то время как в менструальной крови здоровых женщин составил $96 \pm 17,5\%$ ($p < 0,01$). Тромбиновое время у больных с диспластическими изменениями эндометрия в аспиратах из матки составило $5,1 \pm 0,1''$ против показателя здоровых женщин – $16 \pm 2,4''$ ($p < 0,01$). Концентрация фибриногена в аспиратах из матки у пациенток с патологией эндометрия составила $5,1 \pm 0,1$ г/л, в то время как в менструальной крови здоровых женщин этот показатель находился в пределах $2,1 \pm 0,5$ г/л ($p < 0,05$).

Значительные изменения выявлены при изучении активированного частичного тромбопластинового времени АЧТВ: у пациенток с фоном, предраком и раком эндометрия АЧТВ снизилось до $5,1 \pm 0,1''$, по сравнению со здоровыми женщинами, где данный показатель оставалось в пределах нормы и составил $31 \pm 5,2''$ ($p < 0,01$).

При патологии эндометрия в аспиратах крови из полости матки значения РФМК существенно отличались от таковых в менструальной крови здоровых женщин и составили $8,0 \pm 0,7$ мг/100мл против $4 \pm 0,06$ мг/100мл ($p < 0,01$).

Исследование агрегационной функции тромбоцитов (агрескрин-тест) в аспиратах из полости матки у женщин с патологией эндометрия также подтвердило высокий тромбогенный потенциал: $9,0 \pm 1,5''$ против $16 \pm 2,0''$ в менструальной крови здоровых ($p < 0,01$).

Следует отметить, что при оценке показателей гемостаза в периферической крови у пациенток с патологией эндометрия гемокоагуляционных нарушений не выявлено. При проведении корреляционного анализа зависимостей концентраций ИЛ-1 β , ИЛ-2, и ФНО α в аспиратах из полости матки и степенью выраженности гиперкоагуляции при фоновых, предраковых заболеваниях и раке эндометрия нами обнаружена прямая корреляционная связь средней силы ($r = 0,5$; $p < 0,05$). Прямая сильная корреляционная связь отмечена между концентрацией

ФНО α и гиперкоагуляционными нарушениями при раке эндометрия ($r=0,75$, $p<0,05$).

Таким образом можно заключить, что локальное повышение концентрации ИЛ-1 β , ФНО α и ИЛ-2 в матке является одним из ключевых механизмов возникновения аномальных маточных кровотечений при пролиферативных заболеваниях эндометрия, поскольку цитокины во многом способствуют повышенному тромбообразованию и развитию ишемического некроза в эндометрии, что приводит к его очаговому отторжению, клинически проявляющимся маточным кровотечением. Данный процесс носит локальный характер, что подтверждается нормальным, не отличающимся от здоровых женщин, уровнем данных цитокинов в периферической крови.

С другой стороны, в ряде публикаций последних лет подчёркивается значимость в развитии диспластических изменений эндометрия инфекционно-воспалительных заболеваний гениталий в том числе инфекций, передающихся половым путем [7]. По-видимому, инфекционный фактор также способствует повышенной продукции цитокинов, которые, в свою очередь, активируют систему гемостаза, повышают адгезивные свойства эндотелиальных клеток.

ROLE OF CYTOKINES IN THE DEVELOPMENT OF PATHOLOGICAL INTRAUTERINE HEMORRHAGE IN PROLIFERATIVE DISEASES OF ENDOMETRIUM

T.E. Belokrinskaya, E.S. Ahmetova, E.V. Murikova

Chita state medical academy

IL- 1 β , IL-2, IL-4, TNF α expression of uterus cavity aspirate and peripheral blood in 80 patients with endometrium pathology as well as in 20 healthy ones have been studied. IL-1 β , IL-2 and TNF α levels appeared to be marked only in aspirates from uterine in pathologic endometrium subjects and in endometrial carcinoma. It was revealed to develop marked hypercoagulation. Thus it contributed to hemorrhage. No changes in IL-4 concentration both in patients with endometrium pathology and in healthy ones was registered. Hypercoagulation disturbances were not revealed in

menstrual blood of healthy women and in peripheral blood of patients with endometrium pathology. The data obtained determined hyperproduction of cytokines IL-1 β , IL-2 and TNF α to be one of the triggers of pathological intrauterine hemorrhage in proliferative diseases of endometrium.

Литература

1. Белокриницкая Т.Е., Витковский Ю.А. Состояние защитных систем и их коррекция при эндометритах после родов и кесарева сечения. – Чита: «Поиск», 1999. – 103 с.
2. Белокриницкая Т.Е., Витковский Ю.А., Пономарева Ю.Н. Цитокины и экспрессия тканевого фактора моноцитами как критерий прогноза течения заболевания и тромботических осложнений у больных дисплазией и раком шейки матки // Акуш. и гинекология. – 2001. – №6. – С. 36-39.
3. Белокриницкая Т.Е., Витковский Ю.А., Пономарева Ю.Н. Заболевания шейки матки. Вопросы патогенеза, диагностики и лечения. – Чита: «Поиск», 2004. – 96с.
4. Витковский Ю.А. Роль цитокинов в регуляции системы гемостаза: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Чита, 1997. – 41 с.
5. Ковальчук Л.В. Новый класс биологически активных пептидов – иммуоцитокинов в клинической практике // Рос. мед. жур. – 1997. – №1. – С. 59-61.
6. Кузник Б.И., Витковский Ю.А. Цитокины – связующее звено иммунитета и гемостаза // Пробл. экол. и медицины. – 2000. – №1. – С. 43-48.
7. Пестрикова Т.Ю., Безрукова Н.И. Роль инфекций, передающихся половым путём, в развитии гиперпластических процессов эндометрия // Дальневост. мед. журнал. – 2001. – №2. – С.50-53.
8. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Чередеев А.Н. Оценка иммунной системы человека: современное состояние вопроса, сложности и достижения // Иммунология. – 1998. – №6. – С. 8-10.

9. Чернышова Л.А., Коломиец Н.Г. Прогностические критерии онкологического риска при пролиферативных процессах эндометрия // Рос. онкологический журнал. – 2005. – №3. – С. 22-25.

Таблица 1

**Содержание цитокинов в аспиратах из полости матки при
заболеваниях эндометрия ($M \pm m$)**

Группа	n	ФНО α , пкг/мл	ИЛ-2, пкг/мл	ИЛ-1 β , пкг/мл	ИЛ-4, пкг/мл
Здоровые женщины	20	13,2 $\pm$ 2,5	31,4 $\pm$ 6,0	38,1 $\pm$ 6,5	1,16 $\pm$ 0,21
Фоновые заболевания эндометрия	40	38,8 $\pm$ 5,5 P1<0,05	661,4 $\pm$ 50,1 P1<0,001	107,3 $\pm$ 7,1 P1<0,001	1,08 $\pm$ 0,1 P1>0,05
Предраковые заболевания эндометрия	35	194,1 $\pm$ 12,6 P1<0,001 P2<0,001	807,4 $\pm$ 51,3 P1<0,001 P2<0,05	176,3 $\pm$ 3,2 P1<0,001 P2<0,001	2,4 $\pm$ 0,27 P1>0,05 P2>0,05
Рак эндометрия	5	1160 $\pm$ 107,4 P1<0,001 P2<0,001 P3<0,001	1142,4 $\pm$ 137,5 P1<0,001 P2<0,001 P3<0,05	194,2 $\pm$ 8,1 P1<0,001 P2<0,001 P3<0,05	3,07 $\pm$ 0,3 P1>0,05 P2>0,05 P3>0,05

Примечание: P1- уровень значимости различий по сравнению с контрольной группой; P2 – по сравнению с фоновыми заболеваниями и P3 – с предраковыми процессами.