

УДК 618.145: 616-007.61:616-002:577.175.14

© Коллектив авторов, 2012.

УРОВЕНЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ВНУТРИМАТОЧНЫХ СМЫВОВ ПРИ ГИПЕРПЛАЗИЯХ ЭНДОМЕТРИЯ

Е. П. Коваленко, Т. Ф. Татарчук, С. В. Литвинова, Л. Л. Алиев, А. В. Кубышкин

Кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии ФПО (зав. – профессор А. Н. Рыбалка), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет имени С. И. Георгиевского», г. Симферополь. Отделение эндокринной гинекологии (зав. – профессор Т. Ф. Татарчук), Государственное учреждение «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», г. Киев.

THE LEVEL OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN INTRAUTERINE LAVAGE FLUID IN CASE OF ENDOMETRIAL HYPERPLASIA

E. P. Kovalenko, T. F. Tatarchuk, S. V. Litvinova, L. L. Aliev, A. V. Kubyshkin

SUMMARY

Levels of proinflammatory cytokines IL-1 β , IL-6 and TNF- α in uterine lavage fluid of women with different types of endometrial hyperplasia were studied. It is established that the formation of endometrial hyperplasia is associated with activation of proinflammatory cytokines. The most intensive changes were found in complex endometrial hyperplasia. Inflammation in the urogenital system leads to more intensive increase of cytokines level in the uterine washout. Investigation of changes in cytokines levels in uterine lavage fluid can be used as an additional criterion for characteristics of endometrial hyperplasia, to assess the formation of inflammatory changes in the endometrium and for prognosis of hyperplasia.

РІВЕНЬ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ ВНУТРИШНЬОМАТКОВИХ ЗМИВІВ ПРИ ГІПЕРПЛАЗІЇ ЕНДОМЕТРІЇ

Є. П. Коваленко, Т. Ф. Татарчук, С. В. Літвінова, Л. Л. Алієв, А. В. Кубишкін

РЕЗЮМЕ

Проведено вивчення змін рівня прозапальних цитокінів ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ФНП- α в маткових змивах у жінок з різними видами гіперплазій ендометрію. Встановлено, що формування гіперплазії ендометрію супроводжується активацією прозапальних цитокінів. Найбільш виражені зміни виявлені при комплексній гіперплазії ендометрію. Запальний процес в уrogenітальній системі сприяє більш вираженому зростанню рівня цитокінів в маткових змивах. Оцінка вираженості змін в рівні цитокінів маткових змивів може використовуватися в якості додаткового критерію, що характеризує гіперплазії ендометрію, для оцінки формування запальних змін в ендометрії при його гіперплазії і для оцінки прогнозу перебігу гіперплазій.

Ключевые слова: гиперплазия эндометрия, воспаление, провоспалительные цитокины.

В последнее время все большее внимание исследователей привлекает изучение молекулярных механизмов, происходящих в тканях эндометрия при развитии патологических изменений [1, 4, 7, 9]. Причем считается, что активация иммунных механизмов в эндометрии при его патологической трансформации сопровождается преимущественным изменением уровня локальных цитокинов. Изучение ряда цитокинов в периферической крови у женщин с гиперплазиями эндометрия (ГЭ) не выявило существенных отличий по сравнению со здоровыми обследованными [2, 3]. В тоже время, при гиперплазиях эндометрия и, особенно, при раке эндометрия имеется повышение локальной продукции провоспалительных цитокинов ИЛ-10, ИЛ-2 и ФНО- α , при этом концентрация провоспалительных цитокинов напрямую связана с выраженностью локальной гиперкоагуляции в

эндометрии [3]. Кроме того, в исследованиях под руководством Г.Т. Сухих [6, 8] обнаружено, что при гиперплазии эндометрия продукция мРНК ФНО- α и эпителиального фактора роста была снижена, а экспрессия генов ФНО- α , ИЛ-1 β и ИЛ-12 была снижена только при железисто-кистозной гиперплазии. Причем половые гормоны способны модулировать экспрессию провоспалительных цитокинов в эндометриальной ткани [10, 11]. Однако вопросы значения повышения локальной активации цитокинов при гиперплазиях эндометрия и возможность использования их определения в диагностических и прогностических целях остаются дискуссионными.

В связи с этим цель проведенного исследования состояла в изучении уровня провоспалительных цитокинов в маточных смывах у женщин с различными видами гиперплазий эндометрия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проведены у 101 женщины репродуктивного возраста с различными видами гиперплазий эндометрия. В соответствии с классификацией ВОЗ женщины были разделены на 3 группы. В первую группу вошла 41 женщина с простой ГЭ, во вторую – 36 женщин с комплексной ГЭ и в третью группу – 24 женщины с комплексной гиперплазией с атипическими изменениями в эндометрии. В качестве контрольной группы были отобраны 18 здоровых фертильных женщин, сопоставимых по возрасту, не имевших в анамнезе и в настоящем заболеваний эндометрия и давших согласие на включение в исследование.

Внутриматочный смыв получали непосредственно перед проведением гистероскопии путем введения в полость матки 3-4 мл подогретого физиологического раствора через педиатрический одноразовый катетер Фолея. Катетер Фолея вводился в полость матки без предварительного расширения цервикального канала до её инструментального выскабливания. К другому концу катетера присоединялся одноразовый 10-ти мл шприц. Введенную жидкость аспирировали через 20-30 секунд. Получали 3-4 мл внутриматочного смыва. У 12 женщин контрольной группы внутриматочный смыв проводился в I фазу менструального цикла непосредственно перед установкой внутриматочного контрацептива. У 6 женщин контрольной группы внутриматочный смыв проводился во II фазу на 23-24 день менструального цикла для выяснения характера секреторных процессов эндометрия при проведении прекоцепции. Смыв замораживали и хранили до проведения исследования при температуре $-15 \div -18^{\circ}\text{C}$.

Перед проведением исследований смывы замораживали и центрифугировали 15 минут при 1500

г. Биохимические определения проводили в надосадочной жидкости. Результаты пересчитывали на 1 мг белка внутриматочных смывов, что позволяло стандартизовать полученные данные. Белок во всех смывах определяли методом Лоури. Для определения концентрации цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α твердофазным ИФА методом использовали наборы реагентов «Вектор-Бест» (Россия).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием параметрических методов с вычислением средних величин (M) и оценкой вероятности расхождений (m). В качестве критерия оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t-критерий Стьюдента. Статистические расчеты выполняли в среде электронных таблиц Excel для Microsoft Office.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований было установлено, что изменение уровня провоспалительных цитокинов в маточных смывах зависит как от формы гиперпластического процесса в эндометрии, так и от наличия сопутствующего воспалительного процесса в репродуктивной системе женщин. Формирование гиперпластического процесса приводило к росту уровня цитокинов в маточных смывах (табл. 1). Так, уровень ИЛ-1 β при простой ГЭ достоверно увеличивался в 3,5 раза, при комплексной гиперплазии более чем в 20 раз, а при комплексной атипической гиперплазии почти в 50 раз. Прогрессивно увеличивался уровень ИЛ-6 и ФНО- α . Значения ИЛ-6 при простой гиперплазии превосходили контроль в 5 раз, при комплексной – в 10 раз, а при атипической – более чем в 15 раз. При этом уровень ФНО- α был достоверно повышен в 2-3 раза при всех типах гиперплазий.

Таблица 1

Содержание цитокинов в маточных смывах у женщин с различными видами гиперплазий эндометрия

Группы	n	ИЛ-1 β пг/мг	ИЛ-6 пг/мг	ФНО- α пг/мг
Контроль	18	3,56 \pm 0,93	4,36 \pm 1,19	5,04 \pm 1,68
Простая ГЭ	41	* 12,80 \pm 3,32	22,55 \pm 3,96	* 9,96 \pm 1,52
Комплексная ГЭ	36	* ** 80,30 \pm 8,90	* ** 44,32 \pm 9,77	* 12,41 \pm 1,85
Комплексная ГЭ с атипией	24	* ** 174,70 \pm 15,10	* ** 67,81 \pm 16,39	* ** 15,59 \pm 2,66

Примечание: звездочками показана достоверность различий ($p < 0,05$); * – по отношению к контролю, ** – по отношению к группе с простой ГЭ.

Следует отметить, что провоспалительные цитокины в первую очередь характеризуют развитие воспалительных изменений и в связи с этим был проведен анализ состояния уровня цитокинов в зависимости от наличия воспаления в репродуктивной системе (табл. 2). Для

этого, больные были разделены на группы в зависимости от состояния биоценоза влагалища. Использовали классификацию Е.Ф. Кира [5] с подразделением пациенток на группы с вагинальным нормоценозом, промежуточным типом биоценоза и вагинитом.

Таблица 2

Содержание цитокинов в маточных смывах у женщин с гиперплазиями эндометрия в зависимости от выраженности эндовагинальных воспалительных проявлений

Группы	n	ИЛ-1 β пг/мг	ИЛ-6 пг/мг	ФНО- α пг/мг
Контроль	18	3,56 \pm 0,93	4,36 \pm 1,19	5,04 \pm 1,68
ГЭ на фоне нормоценоза	15	** 13,42 \pm 3,22	* 18,06 \pm 6,45	5,22 \pm 1,71
ГЭ на фоне промежуточного типа биоценоза	21	*** 41,78 \pm 6,83	*** 41,23 \pm 8,12	* 9,21 \pm 1,51
ГЭ на фоне вагинита	41	*** 91,70 \pm 8,68	*** 46,61 \pm 8,42	*** 12,03 \pm 1,55

Примечание: звездочками показана достоверность различий по отношению к контролю: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Проведенные исследования показали, что наличие воспалительного процесса усиливает проявление изменений в состоянии цитокинов. Уровень цитокинов был достоверно выше практически во всех группах с гиперплазиями эндометрия, но если на фоне нормоценоза ИЛ-1 β был выше контроля в 3,7 раза, то при вагините его содержание было выше контроля уже в 25 раз. Причем при вагините уровень ИЛ-1 β почти в 8 раз ($p < 0,001$) превосходил его уровень при нормоценозе. Аналогичная тенденция была свойственна для изменений ИЛ-6, который при вагините был в 2,5 раза выше, чем при нормоценозе. Менее значительна была зависимость уровня ФНО- α от характера воспалительных изменений в репродуктивной системе. Данный цитокин практически не менялся при нормоценозе, но при промежуточном типе биоценоза, и особенно при вагините, также отмечен его рост в 2-2,5 раза.

Для того, чтобы сопоставить характер изменения цитокинов в зависимости от характера воспалительного процесса репродуктивной системы при различных видах гиперплазий, пациентки были распределены на группы, в первую из которых было включено 36 женщин с нормоценозом и промежуточным типом биоценоза, а во вторую – 41 женщина с вагинитом. Внутри групп женщины были разделены на пациен-

ток с простой ГЭ и комплексной ГЭ. Как показали полученные результаты, у женщин как с простой, так и с комплексной ГЭ отмечалась идентичная динамика изменений уровня цитокинов как в группах с меньшим проявлением воспалительных изменений (табл. 3), так и у женщин с вагинитами (табл. 4). При простой гиперплазии уровень ИЛ-1 β в группе с невыраженным воспалением превышал контроль в 2,5 раза, а при вагините – в 4,3 раза. В тоже время, при комплексной гиперплазии уровень данного цитокина в группе с менее выраженным воспалением был выше контроля в 12,8 раза, а в группе с вагинитами более чем в 30 раз. Более высокие цифры уровня двух других цитокинов отмечены при комплексной гиперплазии с характерной тенденцией к максимальному росту в группах с вагинитами. Следует отметить, что атипическая форма комплексной гиперплазии эндометрия сочеталась только с наличием вагинита. Выявленные изменения свидетельствуют о том, что ведущее значение в изменении уровня провоспалительных цитокинов, в первую очередь, оказывает характер гиперпластического процесса, а воспаление репродуктивной системы можно расценивать как дополнительный фактор, оказывающий влияние на уровень цитокинов и способный влиять на формирование и прогрессирование гиперплазии эндометрия.

Таблица 3

Содержание цитокинов в маточных смывах у женщин с различными видами гиперплазий эндометрия на фоне нормоценоза или переходного типа биоценоза влагалища

Группы	n	ИЛ-1 β пг/мг	ИЛ-6 пг/мг	ФНО- α пг/мг
Контроль	18	3,56 \pm 0,93	4,36 \pm 1,19	5,04 \pm 1,68
Простая ГЭ	19	* 9,13 \pm 2,32	*** 21,32 \pm 5,77	5,41 \pm 1,85
Комплексная ГЭ без атипии	17	** 45,61 \pm 9,41	** 33,46 \pm 12,95	8,23 \pm 2,48

Примечание: звездочками показана достоверность различий по отношению к контролю: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Таблица 4

Содержание цитокинов в маточных смывах у женщин с различными видами гиперплазий эндометрия на фоне вагинита

Группы	n	ИЛ-1β пг/мг	ИЛ-6 пг/мг	ФНО-α пг/мг
Контроль	18	3,56±0,93	4,36±1,19	5,04±1,68
Простая ГЭ	22	15,44±3,46 **	23,26±5,34 **	12,80±1,89 **
Комплексная ГЭ без атипии	19	107,03±13,96 ***	55,41±10,24 ***	14,69±2,44 ***
Комплексная атипическая ГЭ	24	174,70±15,10 ***	67,81±16,39 ***	15,59±2,66 ***

Примечание: звездочками показана достоверность различий по отношению к контролю: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Таким образом, проведенные исследования показали, что с точки зрения оценки патогенетических механизмов развития гиперплазий эндометрия, определение уровня провоспалительных цитокинов внутриматочных смывов может дать ценную дополнительную информацию, характеризующую особенности течения патологии. С одной стороны, активация цитокинов может играть существенную роль в стимуляции регуляторных сигналов, отвечающих за формирование воспалительных изменений в эндометрии. С другой стороны, прогрессивное повышение уровня цитокинов, судя по полученным результатам, можно использовать в качестве маркера воспалительного процесса в эндометрии и для оценки прогноза гиперплазии.

ВЫВОДЫ

1. Формирование гиперплазий эндометрия сопровождается локальной активацией провоспалительных цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6 и ФНО-α. Уровень цитокинов в маточных смывах прогрессивно увеличивается от простой гиперплазии к комплексной, и достигает максимального уровня у пациенток с комплексной атипической гиперплазией.

2. Наличие воспалительного процесса урогенитальной системы приводит к более выраженной активации цитокинов внутриматочных смывов, что может служить важным фактором прогрессирования гиперплазии эндометрия.

3. Уровень местных цитокинов может служить дополнительным критерием характеристики гиперпластического процесса в эндометрии и отражать степень воспалительных изменений в тканях эндометрия при гиперплазии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонов В. К. Патогенез онкологических заболеваний, цитоплазматические и молекулярно-генетические механизмы иммунной резистентности малигнизированных клеток / В. К. Антонов, В. Г. Козлов // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 1, № 2. – С. 23–33.

2. Аутеншлюс А. И. Содержание цитокинов ИЛ-1b, TNFα и уровни антител к TNFα у больных с онкологическими и воспалительными заболеваниями

/ А. И. Аутеншлюс, А. Н. Шкунов, Г. Г. Иванова // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 3. – С. 11–15.

3. Ахметова Е. С. Диагностическое значение цитокинов в аспирате из полости матки при заболеваниях эндометрия / Е. С. Ахметова, Т. Е. Белокриницкая, Ю. А. Витковский // Дальневосточный медицинский журнал. – 2008. – № 1. – С. 72–74.

4. Воспалительный процесс в этиологии и патогенезе рака эндометрия / Л. В. Адамян, Д. С. Глякин, А. В. Самойлова [и др.] // Проблемы репродукции. – 2007. – № 1. – С. 21–25.

5. Кира Е. Ф. Бактериальный вагиноз / Е. Ф. Кира. – СПб. : Нева-Люкс, 2001. – 365 с.

6. Нарушение в экспрессии генов цитокинов при гиперплазии / Г. Т. Сухих, А. В. Жданов, В. П. Сметник [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – № 2. – С. 204–207.

7. Попов Э. Н. Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе гиперпластических заболеваний матки / Э. Н. Попов, А. В. Арутюнян, Е. А. Безрукова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2010. – Т. LIX, № 3. – С. 92–97.

8. Состояние процессов пролиферации в гиперплазированной ткани эндометрия у женщин репродуктивного возраста / Г. Т. Сухих, А. В. Жданов, В. П. Сметник [и др.] // Проблемы репродукции. – 2004. – № 4. – С. 30–34.

9. Identification of a novel mechanism of NF-κB inactivation by progesterone through progesterone receptors in Hec50co poorly differentiated endometrial cancer cells / S. Davies, D. Dai, I. Feldman [et al.] // Gynecol. Oncol. – 2004. – Vol. 2. – P. 463–470.

10. Regulation of monocyte chemotactic protein-1 expression in human endometrial endothelial cells by sex steroids: a potential mechanism for leukocyte recruitment in endometriosis / J. Luk, Y. Seval, M. Ulukus [et al.] // Reprod. Sci. – 2010. – Vol. 17 (3). – P. 278–287.

11. Sex hormone modulation of proinflammatory cytokine and C-reactive protein expression in macrophages from older men and postmenopausal women / M. P. Corcoran, M. Meydani, A. H. Lichtenstein [et al.] // J. Endocrinol. – 2010. – Vol. 206 (2). – P. 217–224.