

Особенности продукции ИЛ-8 на системном и локальном уровнях у больных лейомиомой матки

С.С. Лубяная, А.В. Овчаренко, М.С. Шельгин
Луганский государственный медицинский университет

Проведено клинико-лабораторное обследование 88 больных лейомиомой матки. Методом ИФА изучено содержание ИЛ-8 в периферической крови, перитонеальной жидкости и кровотоке маточной артерии в зависимости от роста опухоли, локализации узлов, длительности заболевания и сочетания лейомиомы с гиперплазией эндометрия и аденомиозом. Установлены достоверные изменения на локальном уровне при лейомиоме более 16 нед, длительности заболевания более 7 лет и при сочетании с аденомиозом и гиперплазией эндометрия.

Ключевые слова: лейомиома матки, ИЛ-8, гиперплазия эндометрия, аденомиоз, перитонеальная жидкость, маточная артерия.

До настоящего времени нет четких представлений об этиологии и патогенезе лейомиомы матки (ЛМ), но накоплен достаточный исследовательский материал, позволяющий пересмотреть прежние взгляды [10]. Патогенез, диагностика и терапия большинства заболеваний внутренних органов не могут развиваться без знаний роли каждого цитокина отдельно или их ассоциаций, в процессе формирования заболевания. Чрезмерная или недостаточная продукция цитокинов может быть одним из звеньев формирования патогенеза многих заболеваний [11]. Цитокины представляют собой пептиды, которые опосредуют межклеточные взаимодействия через специфические рецепторы на клеточной поверхности [4]. Они регулируют активацию, дифференцировку, рост, смерть и эффекторные функции различных типов клеток [15], что делает их важными факторами в патофизиологии лейомиомы.

В процессе развития опухоли ее клетки активно синтезируют определенные цитокины, которые обычно способствуют усилению роста опухолевой прогрессии [5]. В целом, основными механизмами, которые определяют рост опухоли, опосредованный цитокинами, являются: 1) избирательная иммуносупрессия макроорганизма; 2) интенсивная продукция различными клетками аутокринных и паракринных факторов, стимулирующих рост опухоли; 3) потеря клетками чувствительности к факторам, ингибирующим рост опухоли; 4) активная продукция факторов, усиливающих ангиогенез, и цитокинов, формирующих строму опухоли [5].

Ряд авторов отмечают наибольшие изменения концентрации цитокинов в перитонеальной жидкости (ПЖ) при миоме матки и при сочетаниях ее с эндометриозом, особенно ИЛ-8 – сильного ангиогенного фактора, концентрация которого была выше в 6–8 раз в сравнении со здоровыми женщинами [2, 14]. Авторами делается заключение об ИЛ-8 как о важном факторе, интенсифицирующем рост миоматозных узлов и эндометриоидных гетеротопий. Недавно была сформулирована гипотеза о том, что гиперактивация перитонеальных макрофагов с последующим усилением продукции ими провоспалительных цитокинов и ростовых факторов создает в перитонеальной полости условия, благоприятные для развития эндометриоидных гетеротопий [1, 6]. Однако не все полученные данные укладываются

в рамки этой гипотезы. В некоторых работах сообщается об отсутствии изменений содержания в перитонеальной жидкости провоспалительных цитокинов [12], что требует дальнейших исследований.

Целью работы было изучение содержания ИЛ-8, регулирующего процессы пролиферации, роста клеток и апоптоза на системном и локальном уровнях, у больных лейомиомой матки для уточнения механизмов, обуславливающих развитие различных клинических вариантов лейомиомы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для достижения поставленной цели было проведено клинико-лабораторное обследование 88 больных лейомиомой матки (основная группа). Больные были разделены в зависимости от длительности заболевания, размеров опухоли, локализации узлов и наличия гиперплазии эндо- и миометрия. Контрольную группу составили 22 гинекологически здоровые женщины соответствующего возраста без нарушений репродуктивной функции.

Изучение содержания ИЛ-8 в различных биологических субстратах проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов реагентов ООО «Цитокин» (Россия, г. Санкт-Петербург). Забор перитонеальной жидкости производили сразу после вскрытия брюшной полости шприцем. Кровь из маточной артерии бралась во время гистерэктомии путем пункции сосуда выше места наложения зажима. Учет результатов проводили на спектрофотометре «Sanofi Diagnostic Pasteur PR 2100» (Франция). Уровень значимости различий средних величин (*p*) определяли посредством критерия Стьюдента для уровня достоверности не менее 95%.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Возраст больных лейомиомой матки колебался от 31 до 55 лет, составив в среднем $44,2 \pm 9,07$ года; женщин контрольной группы – от 34 до 44 лет, в среднем $40,8 \pm 5,8$ года ($p > 0,05$). У 42 (47,7%) женщин основной группы диагностирована ЛМ 5–9 недель, у 25 (28,4%) – 10–15 недель и у 21 (23,9%) пациентки опухоль матки достигала размеров 16–20 недель беременности.

Нами была изучена и проанализирована зависимость содержания ИЛ-8 от клинических вариантов течения миомы матки. Сравнительный анализ результатов исследования цитокинов в сыворотке периферической крови, полученной у женщин с лейомиомой, в зависимости от размера опухоли представлен на рисунке 1.

Уровень ИЛ-8 оказался наибольшим у женщин с размерами опухоли 16–20 недель и составил $339,2 \pm 88,5$ пг/мл, хотя при этом статистической разницы с ЛМ меньших размеров не определялось ($p > 0,05$). Такое прогрессивное повышение выработки ИЛ-8 в зависимости от роста опухоли указывает на усиление пролиферативных процессов, так как именно ИЛ-8 играет ключевую роль в пролиферативной активности эпителиальных

ЙОДОМАРИН – эффективное средство для профилактики йоддефицитных заболеваний

Таблица 1

Содержание цитокинов в периферической крови больных ЛМ в зависимости от длительности заболевания (M±m)

Цитокин (пг/мл)	Группа				
	до 1 года, n=31	2-4 года, n=17	5-7 лет, n=17	более 7 лет, n=23	контроль, n=22
ИЛ-8	206,2±51,2*	277,4±42,3*	348,7±69,3*	249,4±61,6*	28,1±4,6

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с контрольным показателем

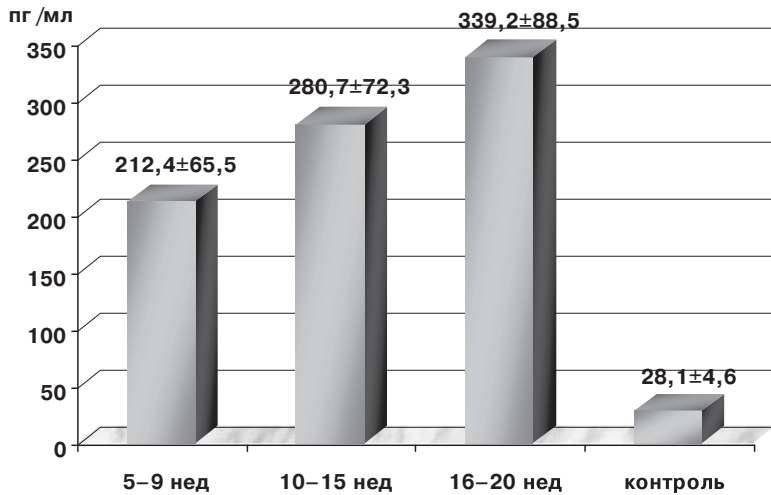


Рис. 1. Содержание ИЛ-8 в периферической крови обследованных женщин в зависимости от размера лейомиомы (M±m)

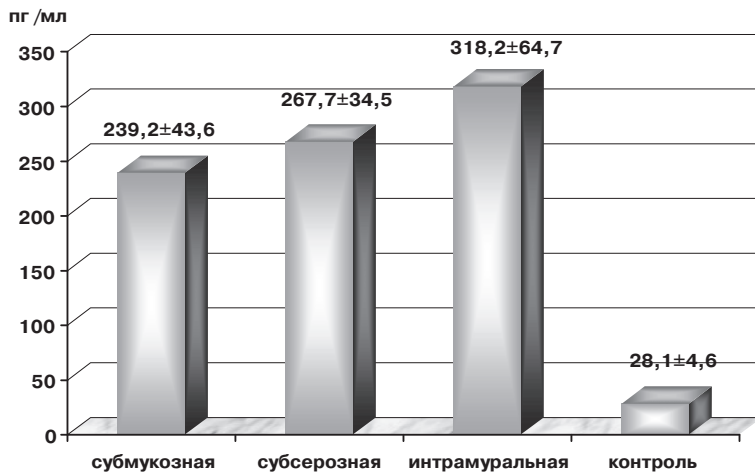


Рис. 2. Содержание ИЛ-8 в периферической крови в зависимости от локализации узлов матки (M±m)

Таблица 2

Содержание ИЛ-8 в периферической крови в зависимости от сочетания ЛМ с гиперплазией эндометрия (M±m)

Группа	ИЛ-8
ЛМ (n=21)	223,6±44,7*
ЛМ+аденомиоз (n=17)	189,5±30,1*
ЛМ+ГЭ (n=36)	251,6±51,8*
ЛМ+ГЭ+аденомиоз (n=14)	163,2±41,4*
Контроль (n=22)	28,1±4,6

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с контрольным показателем

клеток и ангиогенеза очагов гиперплазированного миометрия.

В таблице 1 представлены данные содержания ИЛ-8 в периферической крови в зависимости от длительности заболевания ЛМ.

Несмотря на статистическую разницу в содержании ИЛ-8 у больных ЛМ и здоровых женщин, мы не обнаружили зависимости уровня его в крови от длительности заболевания лейомиомой (p>0,05).

В таблице 2 представлен анализ изменений уровня цитокинов в периферической крови больных лейомиомой матки в зависимости от сочетания с гиперплазией эндометрия (ГЭ). Как видно, концентрация ИЛ-8 на системном уровне не имела достоверных отличий между изолированной миомой и при сочетании ЛМ с гиперплазией эндометрия и аденомиозом.

При анализе уровня ИЛ-8 в зависимости от локализации узлов нами было установлено следующее (рис. 2). У пациенток с миомой матки среднее содержание ИЛ-8 при любой локализации достоверно повышено по сравнению с контролем (p<0,05), однако не была установлена зависимость продукции ИЛ-8 от локализации миоматозных узлов на системном уровне.

Цитокины в первую очередь регулируют развитие местных компенсаторно-приспособительных реакций в тканях с участием различных клеток крови, эндотелия, соединительной ткани и эпителия с формированием типичной воспалительной реакции [8].

В связи с вышеизложенным нами была проанализирована динамика изменений концентрации ИЛ-8 на локальном уровне (в перитонеальной жидкости и кровотоке маточной артерии – МА) больных лейомиомой в зависимости от размеров опухоли (табл. 3).

Уровень ИЛ-8 в перитонеальной жидкости больных оказался наиболее высоким при объеме матки 16–20 недель, составив в среднем по группе 408,2±71,3 пг/мл, превышая уровень при ЛМ до 9 недель (p<0,05). При этом концентрация ИЛ-8 в кровотоке маточной артерии не изменялась в зависимости от размеров ЛМ (p>0,05). Мы не установили достоверных отличий между содержанием цитокина, определяемого в периферической крови (ПК), в перитонеальной жидкости и маточной артерии в зависимости от роста опухоли матки.

Анализ представленных в таблице 4 данных свидетельствует о нарастании изменений ИЛ-8 на локальном уровне у женщин основной группы в зависимости от длительности заболевания.

У больных, страдающих лейомиомой в течение 2–4 лет, отмечено увеличение содержания ИЛ-8 в перитонеальной жид-

кости, свидетельствующее о напряженности локального иммунитета. При длительности заболевания более 7 лет продукция ИЛ-8 снижена в 1,6 раза по сравнению с таковой при длительности до 1 года ($p < 0,05$) и в 3,1 раза – при длительности 2–4 года. В кровотоке маточной артерии наблюдается другая тенденция. У женщин с длительностью заболевания более 5 лет и особенно более 7 лет достоверно увеличивается содержание ИЛ-8 по сравнению с пациентками с длительностью заболевания менее 1 года, превышая этот показатель в 3,9 раза ($p < 0,05$).

В таблице 5 представлены данные о продукции ИЛ-8 на локальном уровне в зависимости от сочетания лейомиомы с гиперплазией эндометрия и аденомиозом.

При лейомиоме, сочетающейся с гиперплазией эндометрия, содержание ИЛ-8 в перитонеальной жидкости было в 4,1 раза выше, а при сочетании с гиперплазией эндометрия и аденомиозом – в 6,1 раза выше по сравнению с параметрами изолированной ЛМ ($p < 0,05$).

Повышение ИЛ-8 – фактора, регулирующего пролиферативную активность, позволяет говорить о возрастании пролиферативного потенциала перитонеальной жидкости при лейомиоме и при сочетании ее с гиперплазией эндо- и миометрия. Регуляция же активности самих клеток происходит под действием ряда факторов растворимой природы, в частности, одного из наиболее мощных провоспалительных медиаторов ФНО- α и основного хемотаксического фактора для нейтрофилов ИЛ-8, который участвует не только в привлечении клеток в место воспаления, но и в заживлении травмированных участков [3, 13].

При изучении зависимости концентрации ИЛ-8 в перитонеальной жидкости от степени распространенности процесса, выявлено его максимальное значение при миоме более 16 недель, а также при сочетании миомы с аденомиозом и ГЭ, там, где усиливаются пролиферативные процессы. В то же время снижение уровня ИЛ-8 при длительности заболевания, превышающей 7–10 лет, может свидетельствовать о снижении или истощении резервных возможностей иммунокомпетентных клеток.

Содержание ИЛ-8 в маточной артерии у женщин с изолированной ЛМ не отличалось от сывороточного показателя этих же пациенток (301,4 \pm 46,8 и 364,8 \pm 53,6 пг/мл соответственно, $p > 0,05$). Наибольший уровень ИЛ-8 в бассейне маточных сосудов определялся при изолированной ЛМ и при сочетании ЛМ с аденомиозом, превышающий соответствующий показатель в перитонеальной жидкости в 5,3 ($p < 0,05$) и 2,2 раза соответственно. И, наоборот, при сочетанной патологии – ЛМ с гиперплазией эндометрия концентрация ИЛ-8 была более высокой в перитонеальной жидкости ($p < 0,05$).

Такое прогрессивное повышение выработки ИЛ-8 в зависимости от роста опухоли и длительности заболевания, особенно на локальном уровне, указывает на усиление пролиферативных процессов, так как именно ИЛ-8 играет ключевую роль в пролиферативной активности эпителиальных клеток и ангиогенеза очагов гиперплазированного миометрия. В то же время снижение уровня ИЛ-8 в кровотоке маточных сосудов при сочетании миомы только с ГЭ в 1,1 раза, с эндометриозом и гиперплазией эндометрия в 3,9 раза может свидетельствовать об уменьшении резервных возможностей и секреторной функции иммунокомпетентных клеток. При изучении уровня ИЛ-8 в ПЖ выявлено увеличение его концентрации в 2,4 раза у женщин с лейомиомой матки более 16 недель по сравнению с размерами ЛМ до 9 недель или при сочетании миомы с ГЭ и внутренним эндометриозом. Возможно, именно стимулирующее действие ИЛ-8 на адгезию клеток эндометрия к миометрию вносит вклад в возникновение очагов эндометриоза, а изменение концентрации этого цитокина отражает выраженность пролиферативного процесса.

Таблица 3

Среднее содержание ИЛ-8 на локальном уровне у больных в зависимости от размера лейомиомы (M \pm m)

Среда определения	Размер опухоли (нед)		
	5-9	10-15	16-20
ПЖ	170,3 \pm 62,9	234,1 \pm 89,5	408,2 \pm 71,3 [^]
МА	148,5 \pm 22,6	174,8 \pm 64,9	229,8 \pm 71,6
П	212,4 \pm 65,5	280,7 \pm 72,3	339,2 \pm 88,5

Примечание: [^] – $p < 0,05$ по сравнению с 5–9 неделями

Таблица 4

Содержание ИЛ-8 на локальном уровне у больных ЛМ в зависимости от длительности заболевания (M \pm m)

Среда определения	Длительность заболевания (годы)			
	до 1	2-4	5-7	более 7
ПЖ	146,9 \pm 21,1	282,7 \pm 49,2 [^]	195,4 \pm 38,6	90,5 \pm 17,7 [^]
МА	61,4 \pm 17,2	121,5 \pm 34,6	147,6 \pm 32,4 [^]	237,7 \pm 48,5 [^]

Примечание: [^] – $p < 0,05$ по сравнению с длительностью до 1 года

Таблица 5

Содержание ИЛ-8 на локальном уровне у больных ЛМ в зависимости от сочетания с гиперплазией эндометрия и аденомиозом, пг/мл

Среда определения	ЛМ	ЛМ+ аденомиоз	ЛМ+ГЭ	ЛМ+ГЭ+ аденомиоз
ПЖ	57,3 \pm 16,1	117,1 \pm 28,3	234,8 \pm 49,7 [^]	348,6 \pm 58,5 [^]
МА	301,4 \pm 46,8 [*]	260,7 \pm 69,6	59,4 \pm 15,1 ^{**}	76,4 \pm 19,2 ^{**}

Примечание: [^] – $p < 0,05$ по сравнению с изолированной ЛМ; ^{*} – $p < 0,05$ по сравнению с ПЖ

Однако, несмотря на несомненную важность определения системных изменений иммунитета, можно предположить, что основное значение имеет местное взаимодействие компонентов иммунной системы и патологически измененных клеток. Именно в очаге локализации миомы происходят те драматические события, которые определяют пути развития заболевания – или в сторону его прогрессирования, или в направлении регресса. В этом плане огромное значение может иметь динамика и интенсивность продукции различных цитокинов в области миоматозных узлов, а также клетками микроокружения [12].

Проведен анализ содержания цитокинов в перитонеальной жидкости и в кровотоке маточной артерии у женщин основной группы в зависимости от локализации миометриальных узлов (табл. 6).

При анализе образцов перитонеальной жидкости и биологических проб, взятых из бассейна маточной артерии больных с различными локализациями узлов, выявлены достоверные отличия в содержании ИЛ-8. Так, наиболее высокими показателями ИЛ-8 в ПЖ и МА были установлены в случаях интрамуральной локализации, а наиболее низкие – при субсерозной. Возможно, определенную роль в прогрессировании лейомиомы играет ИЛ-8 как важный ангиогенный фактор, способствующий васкуляризации интрамуральных и субмукозных миоматозных узлов, а также гиперплазированному эндометрию.

Наиболее яркие изменения концентрации ИЛ-8 – сильного ангиогенного фактора выявлены в ПЖ и МА. Оказалось, что уровень ИЛ-8 в периферической крови был 10 раз выше у больных по сравнению со здоровыми, а максимальные значения отмечены при размерах ЛМ более 16 недель в перитонеальной

ЙОДОМАРИН – эффективное средство для профилактики йоддефицитных заболеваний

Таблица 6

Содержание ИЛ-8 на локальном уровне у больных ЛМ в зависимости от локализации узлов (M±m)

Среда определения	Субмукозная	Субсерозная	Интрамуральная
ПЖ	214,3±53,6	71,2±34,9 [^]	437,8±96,4 ^{^*}
МА	172,4±38,8	76,9±14,7 [^]	476 ±89,1 ^{^*}

Примечание: [^] – p<0,05 по сравнению с субмукозной локализацией;
^{*} – p<0,05 по сравнению с субсерозной локализацией

жидкости (408,2±71,3 пг/мл). ИЛ-8, вероятно, является важным фактором, интенсифицирующим рост миоматозных узлов и эндометриодных гетеротопий. Высокая экспрессия ИЛ-8 в тканях и ПЖ может способствовать активизации пролиферативных процессов на фоне гиперэстрогенного влияния за счет стимуляции роста микрососудов и формирования патологических кругов локальной гиперэстрогении [6]. Эту точку зрения подтверждают наши данные о том, что у больных с большим ростом миомы, длительностью заболевания 2–4 года и сочетанием ЛМ с аденомиозом и гиперпластическими процессами эндометрия имел место наиболее высокий уровень ИЛ-8 в перитонеальной жидкости.

Суммируя полученные результаты, можно заключить, что развитие миомы матки сопровождается значительными изменениями показателей системного и локального иммунного ответа. Для перитонеальной жидкости характерен высокий уровень активации реакций клеточной цитотоксичности (ИЛ-8), обусловленных лимфоцитами, сбалансированный повышением клеток, вступивших в апоптоз, что может быть одним из механизмов, сдерживающих быстрый рост лейомиомы матки [9]. Но отличительной особенностью перитонеальных макрофагов является снижение их адгезионной активности [7]. Антиген ткани миомы обладает выраженным стимулирующим воздействием на иммунокомпетентные клетки и может быть одним из факторов, вызывающих изменения системного и локального иммунного ответа у женщин с лейомиомой матки [12].

Таким образом, изучение продукции ИЛ-8 в перитонеальной жидкости, маточной артерии и сыворотке периферической крови у больных с миомой матки позволяет конкретизировать механизмы иммунных нарушений на локальном уровне при лейомиоме. Возможно, именно изменения локального уровня создают условия для возникновения и развития миомы матки.

ВЫВОДЫ

1. Уровень ИЛ-8 в периферической крови повышен у всех больных лейомиомой матки, независимо от длительности заболевания, размеров опухоли и сочетанной патологии. Продукция ИЛ-8 резко увеличивалась в перитонеальной жидкости в зависимости от роста опухоли, составив 408,2±71,3 при лейомиоме более 16 недель.

2. Установлено повышение содержания ИЛ-8 в кровотоке маточной артерии при изолированной лейомиоме, а в перитонеальной жидкости при сочетании лейомиомы с аденомиозом и гиперплазией эндометрия.

3. При длительности заболевания более 7 лет концентрация ИЛ-8 в перитонеальной жидкости снижалась в 1,6 раза, а в маточной артерии – возрастала в 3,9 раза по сравнению с заболеванием до 1 года.

4. В дальнейшем перспективным будет продолжение изучения продукции не только пролиферативных и провоспалительных цитокинов, но и антипролиферативных, проапоптотических факторов как на системном, так и на локальном уровнях для определения их роли в развитии патологии матки.

Особенности продукции ИЛ-8 на системном та локальному рівням у хворих на лейомиому матки С.С. Луб'яна, Г.В. Овчаренко, М.С. Шелигін

Проведено клініко-лабораторне обстеження 88 хворих на лейомиому матки. Методом ІФА вивчено вміст ІЛ-8 у периферичній крові, перитонеальній рідині та кровоплинні маткової артерії залежно від росту пухлини, локалізації вузлів, тривалості захворювання та поєднання лейомиоми з гіперплазією ендометрія та аденоміозом. Встановлено достовірні зміни на локальному рівні за наявності лейомиоми понад 16 тиж, тривалості захворювання більше 7 років та за поєднання з аденоміозом та гіперплазією ендометрія.

Ключові слова: лейомиома матки, ІЛ-8, гіперплазія ендометрія, аденоміоз, перитонеальна рідина, маткова артерія.

Features of products IL-8 at the system and local levels at the patients of the uterine leiomyoma S.S. Lubyana, A.V. Ovcharenko, M.S. Sheligin

88 patients of the uterine leiomyoma conducted. By the ELISA method maintenance is studied IL-8 in the peripheral blood, peritoneal liquid and current of a blood of the uterine artery depending on growth of a tumour, localization of knots, duration of disease and combination the leiomyoma with a hyperplasia of endometrium and the adenomyosis. Reliable changes at the local level at the leiomyoma are set more than 16 weeks, duration of disease more than 7 years and in case of combination with the adenomyosis and by a hyperplasia of endometrium.

Keywords: uterine leiomyoma, IL-8, hyperplasia of endometrium, adenomyosis, peritoneal liquid, uterine artery.

ЛИТЕРАТУРА

- Гадаева И.В. Клиническое значение маркеров апоптоза и пролиферации у больных наружным генитальным эндометриозом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М; 2001.
- Дивакова Т.С. Коррекция протеолитической активности и цитокинового статуса перитонеальной жидкости у больных миомой матки и эндометриозом гениталий при лапароскопических операциях. Медицинские новости 2000; 3: 63–66.
- Гурманчук И.Е., Петракова О.В., Безкровная В.Г., Почепель О.Н. Динамика изменений концентрации ИЛ-8, TNF-α, кислых катепсинах и кислой фосфатазы у пациентов с обширной ожоговой травмой. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2004; 2: 53–58.
- Корж А.Н. Цитокины при хронической сердечной недостаточности: патогенетическое и клиническое значение. Укр. кардіол. журн. 2003; 2: 124–129.
- Лезвинская Е.М., Молочков В.А., Молочков А.В. Цитокины в генезе опухолей кожи. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2003; 3: 92–100.
- Анциферова Ю.С., Сотникова Н.Ю., Посисеева Л.В., Шор А.Л. Роль цитокинов в перитонеальной жидкости в развитии наружного генитального эндометриоза и бесплодия, ассоциированного с эндометриозом. Акушерство и гинекология 2003; 5: 41–44.
- Симбирцев А.С. Интерлейкин-8 и другие хемокины. Иммунология 1999; 4: 9–14.
- Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных функций организма. Цитокины и воспаление 2002; 1 (1): 9–16.
- Соколов Д.И., Котов А.Ю., Симбирцев А.С., Фрейдлин И.С. Сравнение цитокинов по способности влиять на уровень секреции интерлейкина-8 эндотелиальными клетками. Иммунология 2002; 1: 32–37.
- Тихомиров А.Л. Саркома маловероятна. Обоснование консервативного ведения больных миомой матки. Медицина для всех 1999; 1: 18–20.
- Тодоріко Л.Д., Рихліщца К.В. Цитокині – нова система регуляції захисних реакцій організму, їх роль у формуванні запалення. Клінічна та експериментальна патологія 2004; 3 (1): 91–96.
- Andersen J. Growth factors and cytokines in uterine leiomyomas. Semin. Reprod. Endocrinol. 1996; 14 (3): 269–282.
- Andrew D., Luster M. Chemokines – Chemotactic Cytokines That Mediate Inflammation. New England journal of medicine 1998; 338 (7): 436–445.
- Aricl A., Sozen I. Transforming growth factor-beta 3 is expressed at high levels in leiomyoma where it stimulates fibronectin expression at cell proliferation. Fertil. Steril. 2000; 73: 1006–1011.
- Beutler B., van Huffel C. Unraveling function in the TNF ligand and receptor families. Science 1994; 264: 667–668.

ТАРДИФЕРОН — золотой стандарт ВОЗ в лечении железодефицитной анемии