

УДК 618.514:616-072.1

КЛІНІКО-ІМУНОЛОГІЧНІ ПАРАЛЕЛІ У ЖІНОК З ПАТОЛОГІЄЮ ЕНДОМЕТРІЮ*КУРЧЕНКО А.І., БЕНЮК В.О., ГОНЧАРЕНКО В.М.*

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця

Гіперпластичні процеси ендометрію (ГПЕ) займають провідне місце в структурі гінекологічної захворюваності жінок різних вікових груп і є однією із частих причин госпіталізації жінок у гінекологічний стаціонар [1, 2, 3].

Останніми роками відзначається зростання частоти даної патології, що пов'язують зі збільшенням тривалості і зміною способу життя жінок, широким поширенням штучного переривання вагітності, зростанням числа соматичних захворювань і обмеженими можливостями консервативного лікування, що обумовлені наявністю протипоказань до гормонотерапії [4].

Останні роки в літературі спостерігається широка дискусія між клініцистами, патоморфологами та патофізіологами з приводу патогенезу ГПЕ, що додає цій проблемі живий науковий інтерес. За даними одних авторів провідною в розвитку ГПЕ є гормональна концепція захворювання, згідно якої має місце підвищення рівня естрогенів, але існує багато прихильників іншої точки зору, які вважають що ендокринний чинник складає лише частину загальної картини [5]. За даними останніх, важливе значення в порушенні тканинного гомеостазу ендометрію має дисбаланс процесів апоптозу і проліферації з відносною перевагою останнього [6]. В суворо регульованій послідовності, впродовж менструального циклу відбувається циклічна фізіологічно запрограмована смерть клітин ендометрію шляхом апоптозу та подальша регенерація епітелію слизової оболонки матки. Тому, порушення процесів апоптозу мають фундаментальне значення при гіперпроліферативних процесах і раковому переродженні клітин ендометрію [7, 8].

В останнє десятиліття з'явився ряд робіт присвячених вивченню порушень гормональної рецепції ендометрію, імунних реакцій та апоптозу при ГПЕ [9, 10]. Відомо, що однією з важливих складових в патогенезі проліферативних процесів та раку є порушення процесів імунного захисту, відсутність відповідних апоптичних механізмів припинення виникнення та розвитку проліферативного процесу [5]. Важливим фактором забезпечення ефективної роботи імунної системи є - біологічно активні речовини пептидної природи цитокині, які коригують широкий спектр імунних реакцій [6].

Вперше, термін «цитокині» був запропонований N.Cohen в 1974 р., і в цей час вважалось,

що вони синтезуються лише клітинами імунної системи. Останніми роками з'явилися дані, що продуцентами цитокинів можуть бути і ендотеліальні клітини, причому цитокині, що виробляються ними, також беруть участь в регуляції процесів апоптозу, хемотаксису лейкоцитів, диференціюванні імункомпетентних клітин, синтезі гострофазових білків. Таким чином, важливою функцією цитокинів є забезпечення узгодженої роботи імунної, нервової та ендокринної систем. Вплив цитокинів на клітини, в тому числі і на злоякісно трансформовані, призводить до активації апоптозу, що виражається в стимуляції синтезу цитокинів «першого покоління» - фактору некрозу пухлин (ФНП)-, інтерлейкіну(ІЛ)-1 та ІЛ-6, які забезпечують запуск цілого каскаду імунних реакцій через синтез інших цитокинів та проліферації імункомпетентних клітин. Але взаємозв'язки цитокинового обміну між процесами проліферації і апоптозу клітин ендометрію вивчені недостатньо [7, 10-12].

Тому, визначення нових патогенетичних механізмів розвитку ГПЕ, в тому числі і імунологічних, розробка за результатами цих досліджень нових лікувальних-діагностичних підходів сприятиме поліпшенню результатів та термінів лікування, якості життя жінок.

Мета дослідження. Вивчення рівню цитокинів в змивах з порожнини матки у жінок з патологією ендометрію.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В дослідження було включено 192 жінки, які проходили обстеження та знаходились на лікуванні у Центрі загальної гінекології клінічної лікарні «Феофанія». Вік жінок, які увійшли до групи спостереження коливався від 22 до 83 років і у середньому склав $46,0 \pm 8,3$ років.

Відповідно до поставленої мети, хворі (n=156) розділені на 6 груп: перша група – хворі з простою ГПЕ (n=28 (17,9%), другу групу склали хворі з простою ГПЕ з атипією (n=24 (15,4%), третя група була представлена хворими на комплексну ГПЕ без атипії (n=24 (15,4%), 25 (16,0%) жінок з комплексною (аденоматозною) гіперплазією ендометрію з атипією склали четверту групу, п'ята група - 31 (19,9%) спостережень - жінки з поліпозом ендометрію (ПЕ) та шоста група – 24 (15,4%) жінки з раком ендометрію (аденокарциномою). Приймаючи до уваги завдання дослідження, в шосту групу до-

слідження були включені хворі тільки з 1а стадією раку ендометрію. Сьому, контрольну, групу склали 36 практично здорових жінок, у яких за результатами досліджень не виявлено патології ендометрію.

Враховуючи наявність вікових особливостей в імунному та нейро-ендокринному статусах хворих, нами було проведено розподіл жінок за віковими періодами: так, в репродуктивному періоді знаходилося 54 (34,6%) хворих, в пременопаузальному 49 (31,4%) та в постменопаузальному 53 (34,0%) спостережень. Групу контролю (n=36) ми сформували з трьох підгруп, які включали по 12 (33,3%) жінок кожного вікового періоду.

Усім хворим проводилося загальноклінічне обстеження згідно регламентуючих наказів МОЗ України. Діагностичний пошук проводився при використанні ультразвукового дослідження з подальшим виконанням гістерорезектоскопії. Отриманий матеріал піддавався гістологічному дослідженню і, в залежності від результатів, застосовували диференційовану лікувальну тактику.

Показаннями для госпіталізації стали результати трансвагінального ультразвукового дослідження органів малого тазу (УЗД-ознаки ГПЕ або ПЕ). Усім пацієнткам проведена гістероскопія з подальшим виконанням діагностичного вишкрібання стінок порожнини матки та цервікального каналу.

Безпосередньо перед проведенням гістероскопії виконували забір змиву з порожнини матки. Без розширення цервікального каналу, за допомогою шприца та дитячого одноразового катетера Фолея, в порожнину матки вводили 2-3 мл теплої фізіологічного розчину, рідину аспірували через 20-30 хвилин, після чого проводили її заморожування у контейнері при -15°C .

Визначення концентрацій цитокінів ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6 і ФНП здійснювали твердофазовим імуноферментним методом за допомогою комерційних наборів реагентів виробництва ТОВ «Цитокін» (Санкт-Петербург).

Статистичну обробку результатів проводили за загальноприйнятими методиками з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Фактор некрозу пухлин - займає особливе місце серед цитокінів, тому йому приділялась особлива увага. Продуктантами ФНП є активовані мононуклеарні фагоцити, ендотеліальні клітини, антигенстимульовані Т-клітини (CD4+ і CD8+) активовані НК-клітини. Біологічні властивості ФНП надзвичайно різноманітні. Основні - стимуляція продукції ІЛ-1 β , ІЛ-2, стимуляція процесів адгезії, синтезу антитіл В-клітинами,

індукція апоптозу та цитолізу, таким чином запуск цілого каскаду імунологічних реакцій. ФНП стимулює місцеве запалення та секрецію ІЛ-1 β , ІЛ-2 має прямий руйнуючий вплив на клітини-мішені підтримує імунологічний гомеостаз.

Аналіз рівня ФНП, як і ІЛ-1, ІЛ-6 в периферичній крові у жінок з патологією та здорових жінок не виявив статистичних розбіжностей.

При порівняльному аналізі вмісту ФНП у змивах з порожнини матки у жінок з простою гіперплазією ендометрію було встановлено підвищення рівня більш ніж на 100%. В групі хворих з комплексною ГПЕ без атипії було встановлено підвищення даного показника в 1,5 рази, а у хворих з простою ГПЕ з атипією - майже в 3 рази.

Окремо слід звернути увагу на концентрацію ФНП у змивах з порожнини матки у хворих поліпозом ендометрію. У цієї групи пацієнток ми спостерігали збільшення рівня ФНП майже в 5 разів, що ще раз підкреслює етіологічну природу поліпозу ендометрію, як результату хронічного продуктивного ендометриту. Варто зазначити, що рівень даного показника хоча і корелював з ступенем вираженості хронічного ендометриту, мав широку розбіжність значень серед пацієнток з поліпозом ендометрію. Даний висновок в подальшому знайшов своє патогенетичне підтвердження при аналізі вмісту імуногістохімічних маркерів CD 138 та CD 68 при імуногістохімічному дослідженні (позитивна реакція у хворих з хронічним ендометритом) та при вивченні мікробного пейзажу порожнини матки. Вивчення ступеню підвищення рівня ФНП у хворих з поліпозом ендометрію у віковому аспекті визначило, що у репродуктивному віці підвищення даного цитокіну спостерігалось в 6,6 разів (контрольна група репродуктивного віку - 8,3 пг\мл, у групі з поліпозом ендометрію в репродуктивному періоді 55,4 пг\мл). У жінок пременопаузального віку в 6,5 разів (контрольна група пременопаузального віку - 9,1 пг\мл, у групі з поліпозом ендометрію в пременопаузальному віці 59,5 пг\мл) і в постменопаузальному віці в 6,2 рази (контрольна група постменопаузального віку - 16,7 пг\мл, у групі з поліпозом ендометрію в постменопаузальному віці 50,7 пг\мл відповідно).

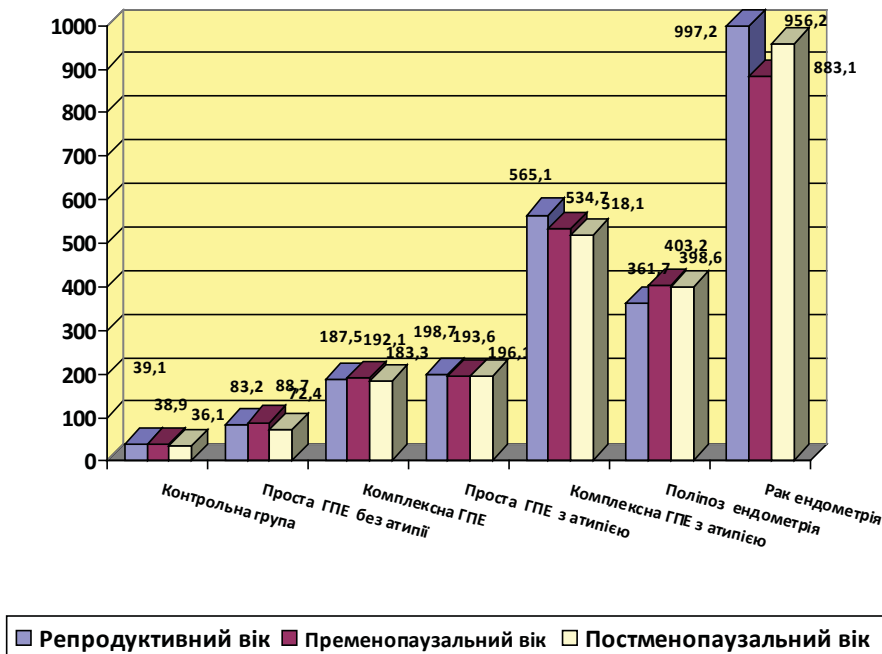
Рівень ФНП в змивах з порожнини матки у жінок з раком ендометрію виявив достовірне збільшення його майже в 10-12 разів. В репродуктивному віці у хворих з раком ендометрію ми спостерігали збільшення рівня ФНП в змивах з порожнини матки в 11,6 разів, у пременопаузальному віці у 12,5 разів та у постменопаузальному віці в 10,8 разів.

Таким чином, аналіз рівня ФНП в аспіратах з порожнини матки виявив значне збільшення його вмісту поступово від простої ГПЕ до раку ендометрію у всіх вікових групах, а також збільшення у групі з поліпозом ендометрію.

Приймаючи до уваги той факт, що ІЛ-1 β являється одним з головних медіаторів запалення, який активує практично усі типи клітин, що беруть участь у формуванні локальної запальної реакції, включаючи фібробласти, ендотелій, макрофаги, лейкоцити крові, нами проведено вивчення його вмісту в змивах з порожнини матки у хворих з гіперпластичними процесами та раком ендометрію.

Аналіз вмісту ІЛ-1 β у вікових групах контролю не встановив статистичної різниці. Вміст даного цитокіну у змивах з порожнини матки у жінок з простою неатиповою гіперплазією ендометрія показав збільшення його рівня майже в 2 рази у всіх вікових групах. У жінок з комплексною гіперплазією без атипії та з простою ГПЕ з атипією спостерігалось підвищення рівня ІЛ-1 β від 100 до 300% (мал. 1).

Вміст ІЛ-1 β у змивах з порожнини матки у хворих на рак ендометрію перевищував рівень контрольної групи у 24- 25 разів, дана тенденція спостерігалась у всіх вікових групах. Принциповим питанням було визначення різниці рівнів ІЛ-1 β у групі пацієток з раком ендометрію та комплексною ГПЕ з атипією, що, на нашу думку, надасть можливість застосування визначення рівня цитокінів для диференційної діагностики внутрішньоматкової патології. Так, за нашими даними, рівень ІЛ-1 β при розвитку раку ендометрію був вищим, ніж при комплексній ГПЕ з атипією. А саме, в 1,7 разів вищим у репродуктивному віці, в 1,8 разів вищим у хворих пременопаузального віку та у 1,3 рази - у жінок постменопаузального віку.



Мал. 1. Вміст ІЛ-1 β - в змивах з порожнини матки (пкг/мл).

Вміст ІЛ-1 в змивах з порожнини матки у жінок з поліпозом ендометрія був підвищеним в 9-10 разів, але не досягав таких високих показників, як при злоякісному процесі ендометрію, характеризувався широкою варіабельністю значень.

Також, одним із важливих факторів внутрішньоматкового імунного гомеостазу, на нашу думку, є ІЛ-6. Цей цитокін бере участь в перетворенні В-лімфоцитів на плазмацити, активує Т-лімфоцити. Підвищення утворення ІЛ-6 часто пов'язане з ушкодженням тканин, викликаним різноманітними впливами (механічними, термічними, ішемічними, мікробними, алергічними, аутоімунними, пухлинними). ІЛ-6 активує дозрівання мегакаріоцитів, служить основним індук-

тором синтезу білків гострої фази гепатоцитами, стимулює розвиток плазмацитів, підвищує кількість імуноглобулінів в крові.

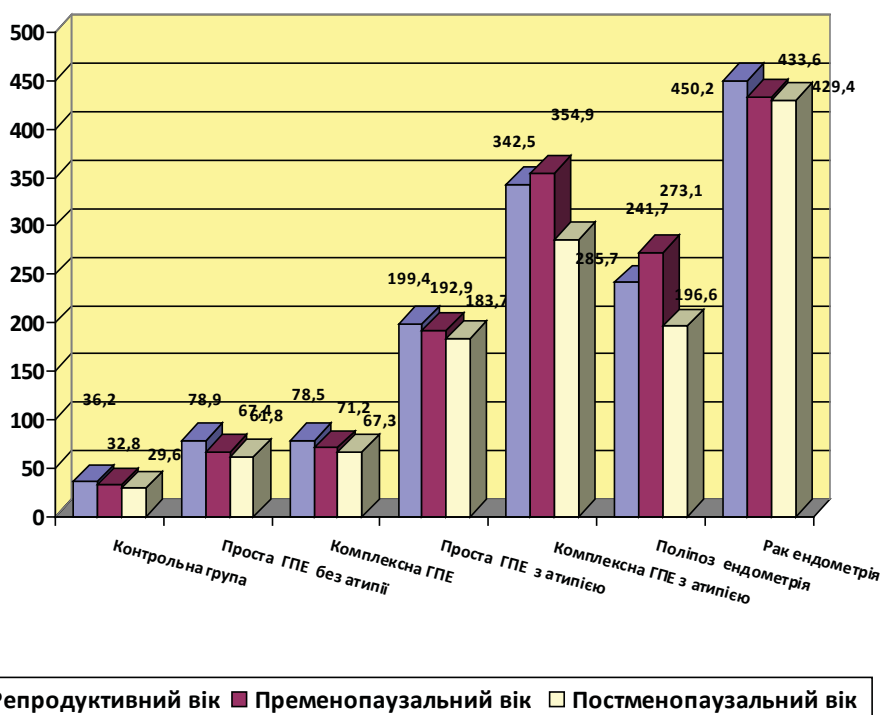
З одного боку, ІЛ-6 діє як потужний активатор гіпоталамо-гіпофізарно-наднирничкової системи, сприяючи збільшенню секреції АКТГ, СТГ, а з іншого – як блокатор, сприяючи зниженню утворення ТТГ і концентрації ліпідів в крові. Важливе значення має той факт, що синтез ІЛ-6 гальмують естрогени та андрогени.

Дослідження рівня ІЛ-6 в крові у пацієток групи контролю та хворих груп дослідження не виявило статистично значущих відмінностей (мал. 2). Аналіз рівня ІЛ-6 в змивах з порожнини матки у жінок з патологією ендометрію продемонстрував поступове збільшення його рівня в

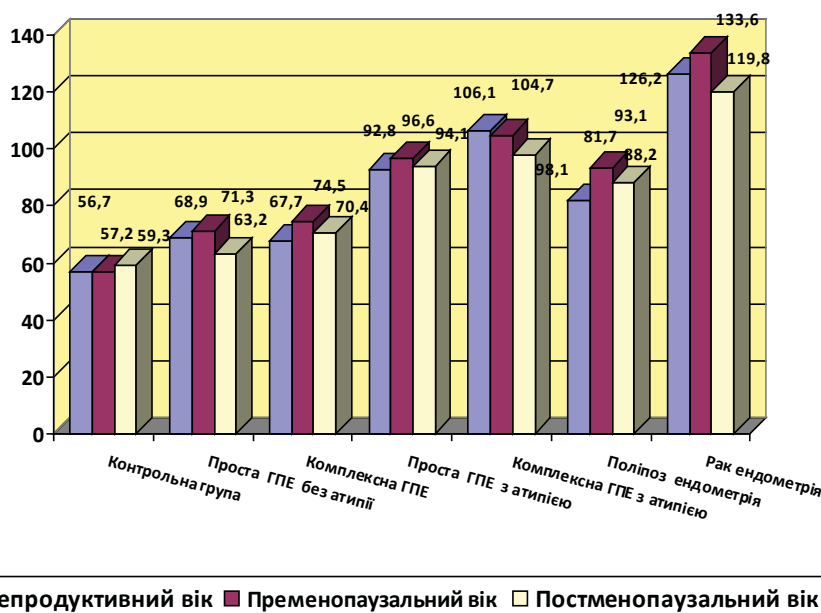
залежності від ступеня тяжкості ураження ендометрію патологічним процесом, з максимальними показниками при злоякісному процесі.

Також, спостерігалась відмінність даних показників у вікових підгрупах усіх обстежених груп пацієнок. У жінок контрольної групи ми не спостерігали збільшення рівня ІЛ-6, але потрібно відмітити, що у пацієнок постменопаузального віку, його вміст був на 20-25% меншим, ніж

у інших вікових групах. Подібна тенденція спостерігалась і при патологічних станах ендометрію, навіть у жінок з раком ендометрію. Даний факт на нашу думку обумовлений віковими особливостями реактивності імунного статусу, що підкреслює необхідність врахування вікового цензу при визначенні тактики лікування хворих у постменопаузі.



Мал. 2. Вміст ІЛ-6 - в змивах з порожнини матки (пкг/мл).



Мал. 3. Вміст ІЛ-2 - в змивах з порожнини матки (пкг/мл).

Підвищення ІЛ-6 в змивах з порожнини матки спостерігалися при простій ГПЕ без атипії та при комплексній ГПЕ без атипії у 2 рази, при простій атиповій ГПЕ у 5 разів при комплексній ГПЕ в 8-10 разів. Максимальні значення визначалися у хворих на рак ендометрію – підвищення ІЛ-6 у 12 разів.

Рівень ІЛ-6 в змивах з порожнини матки у жінок з поліпозом ендометрію показав широку варіабельність значень. Середні значення цього показника зростали в 7-8 разів, при цьому максимальні значення спостерігалися при ознаках хронічного ендометриту і/чи при наявності синехій та аденоміозу тіла матки, що підтверджувалося візуальним оглядом при гістероскопії.

Вивчаючи внутрішньоматковий імунологічний баланс у жінок з патологією ендометрію ми не могли не приділити увагу ІЛ-2 який має протипухлинну активність, та є одним з індукторів цитотоксичної активності ряду кілерних клітин. Протипухлинну активність ІЛ-2 можна пояснити його вираженою здатністю індукувати активність практично усіх клонів: Т-лімфоцитів-хелперів, пухлинспецифічних цитотоксичних Т-лімфоцитів, НК-клітин, макрофагів.

Дослідження вмісту ІЛ-2 в змивах з порожнини матки у жінок з простою та комплексною ГПЕ без атипії продемонструвало незначне збільшення рівня даного показника (мал. 3). При наявності атипії у жінок з комплексною та простою гіперплазією ендометрію спостерігали різке збільшення ІЛ-2 в змивах з порожнини матки, що, на нашу думку, було проявом значної активації протипухлинної ланки імунітету.

Рівень вмісту ІЛ-2 в змивах з порожнини матки у хворих з раком ендометрію характеризувався різким (в 2-3 рази) підвищенням, при цьому рівень даного цитокіну у периферичній крові був на рівні норми, як у групах контролю, так і в групах дослідження, що було доведено статистично.

ВИСНОВКИ

Розвиток проліферативних процесів ендометрію супроводжується локальним підвищенням рівня прозапальних цитокінів, вміст яких у змивах з порожнини матки прямо пропорційний ступеню патологічної трансформації ендометрію.

Проста неатипова гіперплазія ендометрію супроводжується підвищенням у змивах з порожнини матки рівня ФНП, рівня ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-2 в 2 рази.

Наявність комплексної неатипової гіперплазії ендометрію супроводжується підвищенням у змивах з порожнини матки рівня ФНП в 1,5 рази, підвищенням рівня ІЛ-1 β в 3-4 рази, підвищенням рівня ІЛ-6 в 2 рази та ІЛ-2 в 1,5 рази.

Рівень прозапальних цитокінів у змивах з порожнини матки у жінок з атиповими формами характеризується різким збільшенням. Так, рівень ФНП перевищував контрольні значення в 5-6 разів, рівень ІЛ-1 β при простій ГПЕ з атипією - в 5 разів, при комплексній ГПЕ з атипією - в 10-11 разів. Вміст ІЛ-6 в змивах порожнини матки у хворих з простою ГПЕ з атипією був підвищений в 6 разів, при комплексній ГПЕ з атипією - в 10 разів. Рівень ІЛ-2 характеризувався підвищенням в даних групах в 2,5 рази.

Поліпоз ендометрію супроводжується підвищенням прозапальних цитокінів (від 2 до 6 разів), але характеризується широким коливанням значень, що, на нашу думку, пов'язано з наявністю поєданого хронічного процесу в порожнині матки.

При злоякісній трансформації ендометрію спостерігається значне локальне збільшення прозапальних цитокінів в порожнині матки, що характеризує максимальну активацію імунних захисних механізмів, і проявляється збільшенням ФНП та ІЛ-6 в 11-12 разів, ІЛ-1 β в 25 разів та ІЛ-2 в 2,5 рази.

Визначення рівня прозапальних цитокінів в порожнині матки може бути застосовано в якості діагностичної детермінанти при визначенні характеру внутрішньоматкової патології та критерієм ефективності консервативного етапу терапії.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Бенюк В.О.* Сучасні аспекти діагностики гіперпластичних процесів ендометрію у жінок репродуктивного віку / Бенюк В.О., Курочка В.В., Винярський Я.М., Гончаренко В.М. // Таврический медико-биологический вестник. – 2011. Том 15,- № 2. – С. 20.
2. *Бенюк В.О.* Діагностичний алгоритм втручання ендометрію патології із застосуванням гістероскопії у жінок репродуктивного віку / Бенюк В.О., Курочка В.В., Винярський Я.М., Гончаренко В.М. // Здоровье женщины. – 2009. – № 6 (42). – С. 54-56.
3. *Бенюк В.А.* Внутриматочная патология / Бенюк В.А., Винярський Я.М., Гончаренко В.Н. Кувита Ю.В., Никонюк Т.В., Усевич И.А. // Справочник врача. «Гинеколог»–К. ООО Библиотека «Здоровье Украины», 2013. – № 6 (42). – 206с.
4. *Дранник Г.Н.* Изучение влияния препаратов класса Эрбисол на продукцию цитокинов мононуклеарами периферической крови здоровых доноров и онкологических больных // Дранник Г., Курченко А., Фесенкова В. и др. / Вісник фармакології та фармацевції. - 2006. - № 7. - С. 29- 32. ООО «Полиграф плюс», 2006. - 482 с.

5. *Дубинина В.Г.* Прогнозування і рання діагностика пухлинних захворювань ендометрія. / Дубинина В.Г. - /Автореферат на здобуття ступеня доктора мед наук.- Київ, 2007.
6. *Дубинина В.Г.* Спонтанная хромосомная нестабильность лимфоцитов периферической крови у больных раком эндометрия / Дубинина В.Г., Бубнов В.В., Боброва В.Н., Ануфриев М.Г. //Репродуктивное здоровье женщины. - 2005. - N 3. - С. 187-190.
7. *Дубинина В.Г.* Иммуно-эндокринные взаимоотношения у женщин репродуктивного возраста с различными видами трансформации эндометрия/ Дубинина В.Г., Рыбин А.И. // Буковин. мед. вісн. - 2002. - Т. 6: - С. 214 - 219.
8. *Запорожан В.Н.* Современная диагностика и лечение гиперпластических процессов эндометрия / Запорожан В.Н., Татарчук Т.Ф., Дубинина В.Г., Косей Н.В. // Репродуктивная эндокринология. – 2012. –№ 1 (3). – С. 5-12.
9. Personalized treatment strategy for atypical endometrial hyperplasia with regards to age, comorbidities and endometrial receptor status [електронний ресурс] / Beniuk V., Vyniarsky Y., Goncharenko V. // EPMA Journal 2014, 5 (Suppl 1):A40. Режим доступу до журн. <http://www.epmajournal.com/content/5/S1/A40/abstract>.
10. Assessment of endometrial receptor systems for PPPM approach for endometrial hyperplasia in reproductive age women [електронний ресурс] // Vasyly A Beniuk, Yaroslav M Vyniarskyi, Sergiy M Bashynskyi and Rostyslav V Bubnov:. EPMA Journal 2014, 5 (Suppl-1): A40. Режим доступу до журн. <http://www.epmajournal.com/content/5/S1/A39/abstract>
11. *Sherman M.E.* Benign diseases of the endometrium / Sherman M.E., Mazur M.T., Kurman R.J. // Kurman R.J., ed. Blaustein's pathology of the female genital tract / Kurman R.J., ed. – 5th ed. – NY: Springer-Verlag. – 2002. – P. 421–466.
12. *Van Bogaert L.-J.* Clinicopathologic findings in endometrial polyps / Van Bogaert L.-J. // Obstet. Gynecol. – 1988. – Vol. 71. – P. 771–773.

УДК 616.211/232.616-056

МОДУЛЯЦІЯ ІММУННОГО ОТВЕТА НА ГЕМАГГЛЮТИНИНИ ВИРУСА ГРИППА ПРОБИОТИКОМ В ЕКСПЕРИМЕНТЕ

*МЕЛЬНИКОВ О.Ф., САМБУР М.Б., СИДОРЕНКО Т.В.,
ПЕЛЕСHENKO Н.А., РЫЛЬСКАЯ О.Г.*

ГУ « Інститут отоларингології ім. проф. А.І. Коломийченка НАМН України»

Ранее было показано, что первичная иммунизация крыс Wistar вирусными и бактериальными антигенами *per nasi* или *per os* в сравнении с парентеральным введением антигенов сопровождается достоверно более высоким уровнем содержания специфических антител в экстрактах из трахеи, чем в сыворотке крови и экстрактах из селезенки и также приводит к достоверному повышению в крови относительно содержания полипотентных иммуноцитов с рецептором к Fc-фрагменту иммуноглобулина класса G (О.Ф.Мельников е.а.,2013; О.Ф. Мельников и соавт.,2014).

Учитывая современные тенденции в проведении мукозальной вакцинации в сторону локального использования вакцин против инфекций, передающихся воздушно-капельным и оральным путями (А.Г. Дьяченко,2012, О.Ф. Melnykov е.а.,2013; Salzman е.а.,2007), пред-

ставлялось целесообразным определить эффективность иммунизации на гуморальном и клеточном уровнях при локальном и системном первичном введении антигенов вирусов гриппа (A1 ,A2), как одной из наиболее частых инфекций дыхательных путей, а также исследовать модулирующее влияние на эффективность иммунизации антигенами вирусов предварительного применения лактобацилл, входящих в состав пробиотиков.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на 35 белых лабораторных крысах Wistar массой 180-220 г разводки вивария Института отоларингологии НАМН Украины.

В первой серии экспериментов (19 животных) были представлены оптимальные условия иммунизации для получения максимальных