

Иммуногистохимические особенности распределения ИЛ-6 в ткани тазовых перитонеальных спаек различной этиологии у женщин репродуктивного возраста

А.А. Давыдова, А.Н. Сулима

ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь

Интерлейкин-6 (ИЛ-6) — один из белков межклеточного взаимодействия (цитокинов), секретируемых, активированными моноцитами/макрофагами, фибробластами, эндотелиальными клетками при воспалении, травмах, гипоксии, воздействии бактериальных эндотоксинов. В нашем исследовании проводили определение экспрессии миокина ИЛ-6 в ткани спаек, удаленных путем лапароскопического доступа, у женщин репродуктивного возраста. Установлено значительное увеличение экспрессии ИЛ-6 в спайках, развившихся на фоне наружного генитального эндометриоза. В то время как спайки воспалительного генеза и, тем более, послеоперационные спайки характеризовались слабой экспрессией, а в ряде наблюдений практически полным отсутствием окрашивания.

Учитывая особенности ИЛ-6 как системного коммуникатора, следует осуществлять более активное ведение больных с наружным генитальным эндометриозом, используя противовоспалительную и, возможно, иммуномодулирующую терапию.

Ключевые слова: тазовые перитонеальные спайки, морфология, интерлейкин-6 (ИЛ-6).

Спаечный процесс, как уже доказано, является результатом срыва нормального течения воспалительно-репаративных процессов, о чем могут свидетельствовать факторы местной резистентности (фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов, макрофагов, цитокинов и др.). Кроме того, цитокины регулируют функциональную активность фибробластов, являющихся клетками эдгекторами при построении соединительнотканых спаек [1, 5, 9–11].

Существуют данные, свидетельствующие о значительном возрастании содержания ИЛ-1 и ИЛ-8 в перитонеальной жидкости и повышении уровня продукции этих цитокинов перитонеальными макрофагами у пациенток с острыми воспалительными гинекологическими заболеваниями [4, 9, 11]. Повышенная продукция ИЛ-1 и ФНО- α при воспалении инфекционной или травматической природы коррелирует с возрастанием количества и тяжести спаек [2, 3, 9]. В отличие от ИЛ-1 и ФНО- α , о роли ИЛ-6 в процессе спайкообразования существуют противоречивые данные. Некоторые авторы полагают, что ИЛ-6 участвует в формировании спаек, проявляя свойства провоспалительного цитокина [8, 10]. По мнению других исследователей [11, 12], его концентрация не коррелирует с наличием и тяжестью перитонеальных спаек.

Другие цитокины, напротив, препятствуют образованию спаек, как в случае с ИЛ-4, подавляющим активность моноцитов и макрофагов, и ИЛ-10, который обнаружен в брюшной полости при минимальном количестве спаек [1, 4, 7, 8]. Тем не менее, количество ИЛ-10 возрастает в перитонеальной жидкости больных на поздних стадиях бактериальной

инфекции, кроме того, продукция ИЛ-10 фибробластами из спаек повышена по сравнению с нормальными перитонеальными фибробластами. Эти данные косвенным образом свидетельствуют об участии ИЛ-10 в ингибировании перитонеального воспаления [9, 11, 12]. Наличие подобных противоречий свидетельствует о том, что вопросы адгезиогенеза остаются до сих пор предметом научных дискуссий.

Определение экспрессии и исследование ИЛ-6 в тканях спаек различного генеза у пациенток репродуктивного возраста может оказать существенную помощь в прогнозировании их образования и рецидива.

Цель исследования: изучить особенности экспрессии и распределения ИЛ-6 в ткани тазовых перитонеальных спаек различного происхождения у женщин репродуктивного возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для настоящего исследования послужили фрагменты операционного материала (спайки и их участки) (n=100), полученные у женщин репродуктивного возраста при проведении оперативной лапароскопии. 38 спаек от пациенток, имеющих в анамнезе хронические воспалительные заболевания органов малого таза, 32 спайки от пациенток с эндометриозной болезнью (12 пациенток с эндометриозами яичников и 20 пациенток с наружным перитонеальным эндометриозом) и 30 пациенток, перенесших ранее операции на органах малого таза и брюшной полости. Показаниями для оперативного лечения явились: бесплодие, объемные образования в яичниках, хроническая тазовая боль или их сочетание.

Каждая пациентка получала подробную информацию об исследовании и предоставлял информированное согласие на участие в нем.

Спайки малого таза с целью исследования получали при проведении лапароскопии по следующей методике: спайку малого таза вытаскивали через троакар, промывали в физиологическом растворе (0,9% натрия хлорида) с последующей консервацией материала в 10% нейтральном растворе формалина (50 мл) в течение 24 ч.

Во время проведения морфологического исследования спайки подвергали проводке по стандартной методике с использованием парафиновой заливки и окрашивали гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое исследование проводили по стандартной методике с использованием парафиновых блоков, реактивов компании Dako и моноклональных антител к ИЛ-6 (Anti-IL-6 antibody (ab6672)) компании Abcam с автоматической системой окрашивания Dako Cytomation. Фотографирование осуществляли цифровой камерой OLYMPUS C 5050Z с установленной на микроскопе OLYMPUS CX 41 фотокамерой DCM 130.

Для оценки результатов иммуногистохимического исследования проводили подсчет количества позитивноокрашен-

ных клеток в 10 полях зрения на 400-кратном увеличении микроскопа, с учетом интенсивности окрашивания клеток. Интенсивность окрашивания оценивали в квадратных пикселях с помощью программы ImageJ. Затем полученные результаты пересчитывали по системе HScore. $S=1a+2b+3c$, где a – процент слабоокрашенных клеток, b – умеренноокрашенных, c – процент клеток с высокой степенью экспрессии.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При иммуногистохимическом исследовании спаек, полученных у женщин, перенесших оперативное вмешательство на органах малого таза, с соблюдением всех правил асептики и антисептики, и у которых послеоперационный период протекал без патологии, экспрессия ИЛ-6 была чрезвычайно низкой и составляла $33\pm 0,2$ балла, а в ряде наблюдений обнаруживались лишь единичные позитивноокрашенные клетки в стенках артерий (рис. 1).

Ткани спаек у женщин, имевших в анамнезе воспалительные заболевания органов малого таза, характеризовались слабой, реже умеренной, экспрессией ИЛ-6, составлявшей $65\pm 0,3\alpha$. Позитивное окрашивание выявлялось прежде всего в цитоплазме мезотелиоцитов, покрывающих спайку, и стенках артерий (рис. 2). Слабую и очагово умеренную экспрессию ИЛ-6 определяли в полях рыхлой соединительной ткани, в цитоплазме фибробластов.

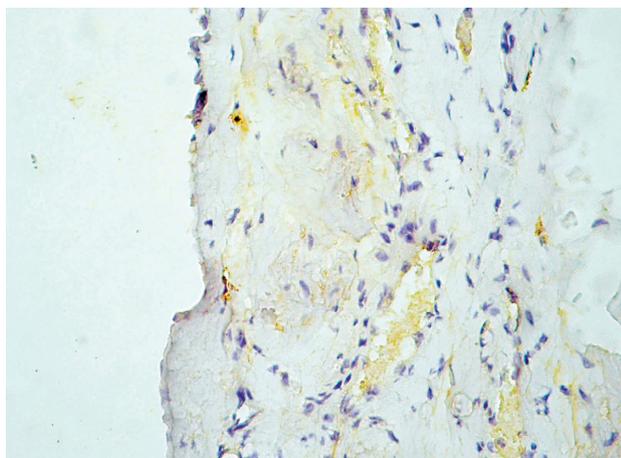


Рис. 1. Слабовыраженная экспрессия ИЛ-6 в тазовой послеоперационной спайке. ИГХ. Ув. 400

Иммуногистохимическое исследование материала спаек, полученного у пациенток с наружным генитальным эндометриозом, характеризовалось выраженной экспрессией ИЛ-6. Наиболее часто отмечали диффузное умеренновыраженное окрашивание фибробластов и стенок артерий (рис. 3), составлявшее $154\pm 0,6$ балла, а также мезотелиоцитов.

Кроме того, отмечалась очаговая выраженная экспрессия в местах скопления иммунокомпетентных клеток (лимфоциты, макрофаги) и в самих очагах эндометриоза (рис. 4), что, по-видимому, обусловлено повышенной секрецией ИЛ-6 стромальными эндометриальными клетками.

ВЫВОДЫ

1. Вне зависимости от генеза и морфологических особенностей спаек у женщин репродуктивного возраста, при иммуногистохимическом исследовании ИЛ-6 отмечалось окрашивание тканей различной степени интенсивности.
2. Наибольшая степень экспрессии маркера ИЛ-6 обнаруживалась в ткани спаек у пациенток с наружным генитальным эндометриозом.
3. Учитывая особенности ИЛ-6 как системного коммуникатора, имеет место необходимость более активного ведения пациенток с наружным генитальным эндометриозом с целью профилактики развития спаечного процесса органов малого таза, с применением противовоспалительной и иммуномодулирующей терапии.

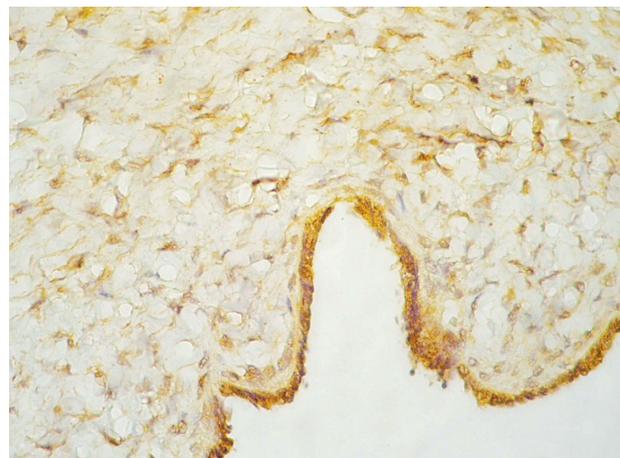


Рис. 2. Умеренновыраженная экспрессия ИЛ-6 в мезотелиальных клетках спайки воспалительного генеза. ИГХ. Ув. 400

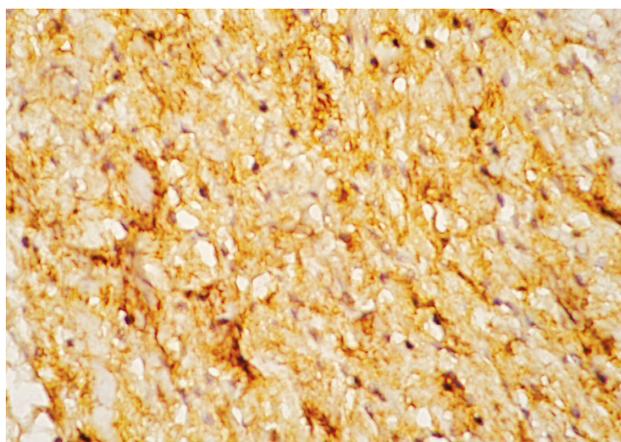


Рис. 3. Выраженная экспрессия ИЛ-6 в ткани спайки при наружном генитальном эндометриозе. ИГХ. Ув.400

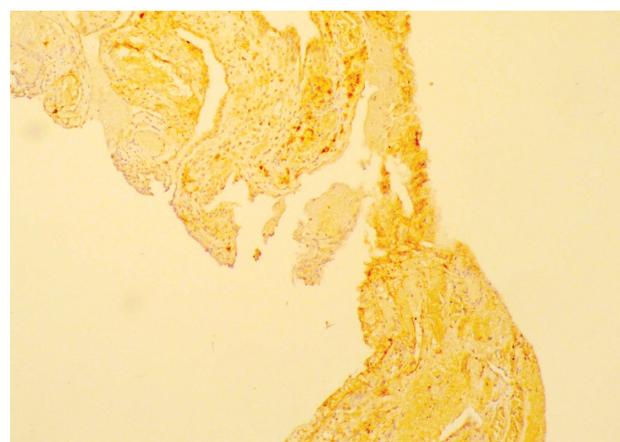


Рис. 4. Очаговые скопления ИЛ-6 позитивноокрашенных клеток в спайке при наружном генитальном эндометриозе. ИГХ. Ув. 100

Імуногістохімічні особливості розподілу ІЛ-6 у тканинах тазових перитонеальних спайок різної етіології у жінок репродуктивного віку
О.О. Давидова, Г.М. Суліма

Immunohistochemical distribution of IL-6 in pelvic peritoneal adhesions of various etiologies at reproductive age women
A.A. Davydova, A.N. Sulima

Інтерлейкін-6 (ІЛ-6) є одним з білків міжклітинної взаємодії (цитокінів), який секретується активованими моноцитами/макрофагами, фібробластами, ендотеліальними клітинами у разі запалення, травм, гіпоксії, дії бактеріальних ендотоксинів. У нашому дослідженні проводили визначення експресії міокіну ІЛ-6 у тканинах спайок, видалених шляхом лапароскопічного доступу, у жінок репродуктивного віку. Встановлено значне збільшення експресії ІЛ-6 у спайках, які виникли на тлі зовнішнього генітального ендометріозу. У той час як спайки запального генезу і, тим більше, післяопераційні спайки характеризувалися слабкою експресією, а в низці спостережень практично повною відсутністю фарбування. Ураховуючи особливості ІЛ-6 як системного комунікатора, має місце необхідність більш активного ведення хворих із зовнішнім генітальним ендометріозом із застосуванням протизапальної і імуномодулювальної терапії.

Ключові слова: тазові перитонеальні спайки, морфологія, інтерлейкін-6 (ІЛ-6).

Interleukin-6 (IL-6) is one of the intercellular interaction of proteins (cytokines), secreted by activated monocytes/macrophages, fibroblasts, endothelial cells in inflammation, trauma, hypoxia, exposure of bacterial endotoxin. In our study, we measured the expression of IL-6 in pelvic adhesions removed by laparoscopic access at reproductive age women. It is determined, increasing of IL-6 expression at adhesion considerably that developed on the background of external endometriosis. While pelvic adhesions of inflammatory genesis, and especially post-operative adhesions were characterized by weak expression, and in a number of observations almost complete absence of staining.

Such characteristics of IL-6 as a system device hold the need for more active management of patients with external genital endometriosis, using anti-inflammatory and immunomodulatory therapy.

Key words: pelvic peritoneal adhesion, morphology, interleukin-6, (IL-6).

Сведения об авторах

Суліма Анна Николаевна – ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского, 95006, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7; тел.: (050) 510-04-15. E-mail: ironlady@ukr.net

Давыдова Александра Александровна – ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского, 95006, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7; тел.: (050) 564-39-00. E-mail: akzak@mail.ru

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Binnebusel M. et al. Morphology, quality, and composition in mature human peritoneal adhesions// *Langenbeck's Archives of Surgery*. – 2007. – Vol. 10. – P. 10–17.
- Brokelman W., Lensvelt M., Borel Rinkes I., Klinkenblij J., Reijnen M. Peritoneal changes due to laparoscopic surgery // *Surg Endosc. Jan.* – 2011. – Vol. 25, № 1. – P. 1–9.
- Duron J.J. Postoperative intraperitoneal adhesion pathophysiology // *Colorectal Dis.* – 2007. – Vol. 9. – Suppl. 2. – P. 14–24.
- Imudia A.N. et al., Pathogenesis of intra-abdominal and pelvic adhesion development// *Semin Reprod Med.* – 2008. – Vol. 26, № 4. – P. 289–297.
- Jacobi C.A., Wenger F., Opitz I., Müller J.M. Immunologic changes during minimally invasive surgery // *Dig Surg.* – 2002. – Vol. 19, № 6. – P. 459–463.
- Kuhry E., Jeekel J., Bonjer H.J. Effect of laparoscopy on the immune system // *Semin Laparosc Surg.* – 2004. – Vol. 11, № 1. – P. 37–44.
- Oboh A., Trehan A.K. Pelvic adhesion formation at second-look surgery after laparoscopic partial and total peritoneal excision for women with endometriosis // *Gynecol Surg*, 2007. – Vol. 4. – P. 261–265.
- Ohzato H., Yoshizaki K., Nishimoto N., Ogata A., Tagoh H., Monden M., Gotoh M., Kishimoto T., Mori T. Interleukin-6 as a new indicator of inflammatory status: detection of serum levels of interleukin-6 and C-reactive protein after surgery // *Surgery*. 1992. – Vol. 111, № 2. – P. 201–209.
- Ordemann J., Jacobi C.A., Schwenk W., Stusslein R., Müller J.M. Cellular and humoral inflammatory response after laparoscopic and conventional resections // *Surg Endosc.* – 2001. – Vol. 15, № 6. – P. 600–608.
- Sharpe-Timms K.L., Nabli H., Zimmer R.L., Birt J.A., Davis J.W. Inflammatory cytokines differentially up-regulate human endometrial haptoglobin production in women with endometriosis // *Hum Reprod.* May. – 2010. – Vol. 25, № 5. – P. 1241–1250.
- Sietses C., Beelen R.H., Meijer S., Cuesta M.A. Immunological consequences of laparoscopic surgery, speculations on the cause and clinical implications // *Langenbecks Arch Surg.* – 1999. – Vol. 384, № 3. – P. 250–258.
- Yao V., Platell C., Hall J.C. Peritoneal mesothelial cells produce inflammatory related cytokines // *ANZ J Surg.* – 2004. – Vol. 74, № 11. – P. 997–1002.

Статья поступила в редакцию 25.06.2014