

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ЦИТОКИНОВ В ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ У БОЛЬНЫХ С ЛЕЙОМИОМОЙ МАТКИ

Сысоев К.А., Кулагина Н.В.* , Тотолян Арег А.

Государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова, Санкт-Петербург, Россия;

*Медицинская академия последипломного образования, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Лейомиома матки (ЛМ) - гормонозависимое доброкачественное заболевание репродуктивной системы. Социальная значимость заболевания обусловлена высокой распространенностью среди женщин репродуктивного возраста. В литературе имеются немногочисленные данные о роли цитокинов в прогрессировании ЛМ. Определение преобладающей роли Th1 либо Th2 иммунного ответа при патологическом процессе является важным вопросом клинической иммунологии. Оценке экспрессии цитокинов, ответственных за каждый из типов иммунного ответа придается особое значение при изучении заболеваний, связанных с пролиферацией внеклеточного матрикса, в том числе и ЛМ. В настоящей работе было обследовано 27 пациенток: 20 женщин, имевших ЛМ (основная группа) и 7 женщин, не имевших миомы матки (группа сравнения). Средний возраст пациенток составил $43,5 \pm 0,6$ лет. По длительности течения ЛМ пациентки распределились в диапазоне от 0 (впервые выявленный случай) до 18 лет. По результатам проведенного исследования были выявлены достоверно повышенные уровни IL-10, GM-CSF, IFN- γ и TNF- α у пациенток с длительностью течения заболевания более 5 лет по сравнению с пациентками, у которых ЛМ существовала менее 5 лет. Содержание IFN- γ в перитонеальной жидкости пациенток с ЛМ обратно коррелировало с размером матки. Кроме того у пациенток с размером матки менее 8 недель беременности уровень IFN- γ был достоверно выше чем в группе больных с размером выше 8 недель. Содержание IL-10 характеризовалось повышенным уровнем у пациенток с аденомиозом, быстрым и медленным ростом лейомиомы, а также с простым и пролиферирующим типом опухоли. Повышение уровня IL-5 было выявлено у пациенток с единичными миоматозными узлами в сопоставлении с группой с множественными узлами и группой сравнения. Помимо этого интрамуральная и субсерозная локализация узлов также характеризовалась повышенным содержанием IL-5 перитонеальной жидкости. У пациенток с отсутствием аденомиоза уровень IL-5 был достоверно выше чем в группе сравнения. В содержании IL-2, IL-4, IL-12 и IL-13 у пациенток с ЛМ достоверных изменений не выявлено.

Ключевые слова: лейомиома матки, цитокины, перитонеальная жидкость.

Syssoev K.A., Kulagina N.V., Totolian Areg A.

CYTOKINE EXPRESSION PROFILES OF PERITONEAL FLUID IN THE PATIENTS WITH UTERINE LEIOMYOMA

Abstract. Uterine leiomyoma (UL) is a hormone-dependent benign tumor of uterus. Social significance of UL is stipulated by its high rate among fertile females. Scarce data exist about the impact of cytokines in UL progression. Th1/Th2 paradigm is one of crucial points in modern immunology. Evaluation of cytokines involved into either type of immune response is of special significance for studying the diseases accompanied by the changes of extracellular matrix, e.g., leiomyomas. In present study, we analyzed peritoneal fluids from UL patients, with multiplex detection of IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-13, GM-CSF, IFN- γ and TNF- α (Th1/Th2 panel), by means of a Bio-Plex® instrument (Bio-Rad, USA). Twenty-seven patients were observed in our study (20 patients with UL, and 7 myoma-free women (a group of comparison). The mean age of the patients was 43.5 ± 0.6 years. The duration of UL ranged from 0 to 18 years. As

Адрес для переписки: Сысоев Кирилл
Александрович, 197089, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, д.6/8. СПбГМУ им. акад.
И.П. Павлова, НМИЦ по молекулярной медицине.
Тел.: (812) 234-9039,
факс (812) 499-7194.
E-mail: ksyssoev@mail.ru

a result, the levels of IL-10, GM-CSF, IFN- γ and TNF- α in patients with long-existing UL (over 5 years) were significantly higher ($p < 0,05$) than in group with a disease story of < 5 years. IFN- γ values in peritoneal fluid patients with UL did inversely correlate with uterine size. Moreover, the levels of IFN- γ in patients with smaller uterine volume (< 8 weeks of pregnancy) were increased in relation to the group with larger tumor size. IL-10 contents were increased in the patients with adenomyosis, rapid and slow growth of UL, and in both types of tumor (simple and proliferative). Increased IL-5 levels were observed in the patients with single tumor nodules (as related to the patients bearing multiple nodes, and comparison group). Furthermore, intramural and subserosal location of nodes was characterized by increased levels of IL-5. In the patients free of adenomyosis, IL-5 value was increased against the comparison group. The changes in IL-2, IL-4, IL-12 and IL-13 levels in patients with UL were not statistically significant. (*Med. Immunol.*, 2006, vol.8, № 4, pp 547-556)

Введение. Лейомиома матки (ЛМ) гормонозависимая доброкачественная опухоль репродуктивной системы. Заболевание возникает и прогрессирует в течение фертильного периода, а после менопаузы наблюдается регресс опухоли. В литературе имеются данные о роли ростовых факторов (TGF- β , IGF-I и некоторых других) в прогрессировании ЛМ и связи их экспрессии с нарушениями гормонального фона, предшествующими развитию опухолевого процесса. Парадигма Th1/Th2 является одним из ключевых вопросов современной иммунологии. Преобладание экспрессии цитокинов, ответственных за клеточный (Th1) или гуморальный (Th2) тип иммунного ответа, связывается с особенностями течения различных заболеваний, в том числе опухолевой природы. Так, Punnonen и соавт. [12] изучали содержание цитокинов IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ , G-CSF, GM-CSF, M-CSF и TNF- α в перитонеальной жидкости пациентов с доброкачественными и злокачественными новообразованиями репродуктивной системы. Были обследованы пациенты с опухолями яичников, эндометрия и шейки матки. Достоверные результаты в зависимости от злокачественности процесса были выявлены только для IL-6. Полученные данные трактуются авторами в большей степени как неспецифическая воспалительная реакция на опухолевый процесс, нежели как иммунный ответ, направленный против опухоли.

Результаты ряда исследований свидетельствуют о том, что при ЛМ даже малых размеров отмечаются значительные нарушения системного и локального иммунного ответа, причем характер этих нарушений в целом имеет одинаковую направленность и в периферической крови и в перитонеальной жидкости, однако на локальном уровне иммунологические изменения более выражены [1, 3, 8]. Исследования особенностей состояния локального иммунного ответа у женщин с ЛМ показали, что для фенотипического профиля перитонеальных лимфоцитов характерно значительное повышение содержания ЕК, уровня экспрессии активационных маркеров CD25 и HLA-DR в общей популяции лимфоцитов и количества Т-регуляторных клеток с фенотипом CD4⁺CD25⁺. В отличие от показателей периферической крови, в перитонеальной жидкости не было

выявлено каких-либо изменений со стороны гуморального звена иммунитета. Изменения показателей иммунитета коррелировали с давностью заболевания и размерами матки, а именно, повышение содержания HLA-DR⁺ лимфоцитов более выражены при давности заболевания до 5 лет, а повышение уровня экспрессии HLA-DR молекул в популяции CD3⁺-лимфоцитов – при размерах матки, соответствующих 7-9 недельному сроку беременности [4]. Функциональное состояние фагоцитарных клеток на локальном уровне также характеризовалось повышением спонтанной бактерицидной активности макрофагов и снижением их функционального резерва, значительным снижением их адгезионной активности. Так как процессы адгезии играют основную роль при миграции фагоцитов в очаг воспаления и при взаимодействии фагоцитирующих клеток с объектами-мишенями [5], угнетение адгезионной активности перитонеальных макрофагов у больных миомой матки может приводить к нарушению взаимодействия макрофагов с объектами фагоцитоза, к которым можно отнести и измененные клетки миометрия.

В немногочисленных работах представлены результаты исследования экспрессии цитокинов на локальном уровне (перитонеальная жидкость). Так, в работах Суворкиной Е.Е. и соавт. [4] было описано достоверное повышение в перитонеальной жидкости больных быстрорастущей лейомиомой матки содержания IL-2.

Sikorski R. et al. [9] исследовали уровень провоспалительных цитокинов, а именно, IL-1 α , IL-6 и TNF- α , в сыворотке крови 26 женщин с миомой матки и 20 здоровых женщин (группа контроля). Достоверно значимое увеличение концентрации IL-1 α было обнаружено у пациенток с миомой матки. Была выявлена тенденция к повышению IL-6 и TNF- α .

Таким образом, представляется актуальным изучить роль цитокинов, обуславливающих развитие Th1- либо Th2-тип ответа у пациентов с лейомиомой матки.

Материалы и методы

При выполнении настоящей работы проведено клиническое обследование 27 пациенток: 20 жен-

щин, имевших ЛМ (основная группа) и семи женщин, не имевших миомы матки (группа сравнения), которым проводилась диагностическая лапароскопия в связи с трубной формой бесплодия на фоне хронического воспалительного процесса в анамнезе. Пациентки группы сравнения на момент обследования находились в состоянии ремиссии. Возраст обследованных женщин в двух группах колебался от 20 до 54 лет (средний возраст составил $43,5 \pm 0,6$ лет). Длительность течения заболевания (ЛМ) в основной группе варьировала от 0 (впервые выявленный случай) до 18 лет.

В схему обследования входили анамнестические и общеклинические исследования, эхографическое исследование, доплерометрия, цветовое доплеровское картирование (ЦДК) органов малого таза, морфологическое исследование эндометрия. Ультразвуковое исследование в сочетании с цветовой доплерографией и импульсной доплерометрией выполнены на ультразвуковых аппаратах «Logic 500» фирмы «General Electric» и «Acuson Aspen» фирмы Siemens. УЗИ проводили в первую фазу при сохраненном менструальном цикле трансабдоминальным доступом конвексным датчиком с частотой 3,5 МГц и трансвагинальным доступом конвексным датчиком с частотой 8 МГц. При исследовании с использованием серой шкалы оценивали размеры матки, величину, число и локализацию узлов, состояние яичников. ЦДК производили в области сосудистых пучков матки с обеих сторон, а также исследовали состояние миометрия. Был определен характер кровотока (артериальный или венозный), преимущественная локализация внутриопухолевого кровотока (центральная или периферическая), показатели индекса резистентности в миоматозных узлах, максимальной скорости артериального и венозного кровотока, на основании которых диагностировались различные варианты ЛМ: простая и пролиферирующая [2].

Вычисление объема матки и миоматозных узлов осуществляли по предложенной G.B.Healy [10] формуле, основанной на данных ультразвукового сканирования с определением продольно-

го (А), поперечного (В) и передне-заднего (С) размеров в см [10]:

$$V (\text{см}^3) = \pi / 6 \times A \times B \times C.$$

Темп роста узлов ЛМ или ее регресс оценивали в динамике по данным эхографии, проводившейся каждые шесть месяцев.

Материалом для иммунологического исследования являлась перитонеальная жидкость (ПЖ), полученная в ходе оперативного вмешательства при лапароскопии или лапаротомии. Полученные пробы перитонеальной жидкости подвергались исследованию с помощью мультиплексного определения цитокинов на аппарате «Bio-Plex» (Bio-Rad, США). Использовалась стандартная Th1/Th2-панель, состоящая из 9 показателей: IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-13, GM-CSF, IFN- γ и TNF- α . Полученные данные подвергались статистической обработке с помощью пакета SPSS 12.0. Были использованы непараметрические методы сравнения групп (критерий Манна-Уилкоксона-Уитни), корреляционный анализ (критерий Спирмена) и коэффициент детерминации R^2 .

Результаты

По данным анамнеза длительность существования ЛМ до 5 лет отмечена у 10 женщин (50%), у такого же количества пациенток отмечена продолжительность заболевания более 5 лет (табл. 1).

У 17 пациенток (85%) ЛМ протекала с такими клиническими проявлениями как циклические и ациклические кровотечения, нарушение функции смежных органов, болевой синдром, быстрое увеличение опухоли до размеров, потребовавших хирургического лечения. У трех (15%) женщин – ЛМ протекала бессимптомно.

Объем матки у обследованных пациенток колебался от $48,98 \text{ см}^3$ до $3142,61 \text{ см}^3$, составляя в среднем $628,59 \pm 32,64 \text{ см}^3$.

Субсерозная локализация миоматозных узлов обнаружена у трех больных (15%), интрамуральная – у четырех (20%), субмукозная – у шести (30%) женщин. Сочетание субсерозной и интрамуральной

Табл. 1. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОК ОСНОВНОЙ ГРУППЫ

Характеристика		Количество больных, n	Относительное количество, %
Длительность заболевания	до 5 лет	10	50
	более 10 лет	10	50
Клинические проявления миомы матки	нет	3	15
	есть	17	85
Темп роста миомы	нет данных	6	30
	медленный	10	50
	быстрый	4	20
Форма миомы матки	простая	16	80
	пролиферирующая	4	20

Табл.2. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КЛИНИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛЕЙМИОМЫ

Данные		Цитокины (пг/мл, М±m)									
		IL-2	IL-4	IL-5	IL-10	IL-12	IL-13	GM-CSF	IFN- γ	TNF- α	
Пациентки с ПМ (вся группа), n=20		8,52± 11,42	3,63± 7,90	0,92± 3,77	0,07± 0,13	2,67± 10,00	82,00± 166,01	39,83± 60,80	246,68± 368,38	23,98± 43,96	
	Менее 5 лет, n=10	4,29± 3,07	1,73± 2,26	1,76± 5,32	0,02± 0,01*	0,06± 0,13	13,72± 20,28	13,83± 8,72*	69,10± 90,80*	2,78± 2,61***	
	Более 5 лет, n=10	12,74± 15,05	5,54± 10,89	0,07± 0,20	0,12± 0,16**	5,28± 15,50	150,26± 217,74	65,83± 78,91	424,25± 456,25	45,18± 54,94	
Размер матки	Менее 8 нед., n=8	13,38± 18,17	6,78± 13,04	0,10± 0,24	0,12± 0,21	7,41± 18,51	150,29± 231,39	72,08± 91,04	688,87± 483,48*	45,00± 60,40	
	Более 8 нед., n=12	6,29± 4,52	1,55± 1,75	1,47± 4,86	0,04± 0,04	0,12± 0,22	51,83± 115,86	24,83± 28,53	97,74± 97,47	15,09± 28,95	
Тип опухоли	Простая, n=5	9,50± 13,08	4,66± 8,94	1,19± 4,35	0,08± 0,14**	3,55± 12,68	99,01± 189,79	45,79± 69,17	294,48± 413,99	28,09± 49,83	
	Пролиферирующая, n=15	5,56± 2,61	0,56± 0,80	0,11± 0,23	0,06± 0,04**	0,04± 0,07	30,95± 22,07	21,98± 16,78	103,27± 102,15	11,64± 10,53	
Темп роста	Нет роста, n=8	6,20± 7,08	2,31± 2,44	2,14± 5,96	0,03± 0,04**	0,31± 0,79	89,20± 212,86	27,57± 46,40	329,96± 550,34	23,63± 55,89	
	Медленный рост, n=6	11,98± 19,50	7,71± 13,98	0,11± 0,26	0,13± 0,22**	8,34± 20,09	69,64± 121,28	58,13± 95,45	244,75± 228,44	21,32± 36,91	
	Быстрый рост, n=6	8,15± 4,72	1,31± 1,98	0,09± 0,21	0,06± 0,04	0,15± 0,28	84,74± 162,20	37,88± 35,73	137,56± 118,62	27,10± 38,57	
Количество узлов	Единичные, n=8	13,88± 17,07	6,41± 12,04	2,54± 6,34***	0,12± 0,19	6,57± 17,30	172,16± 242,05	70,89± 89,17	444,00± 525,46	47,58± 63,07	
	Множественные, n=12	4,95± 2,29	1,78± 2,49	0,05± 0,15	0,04± 0,04	0,07± 0,13	21,88± 21,54	19,13± 12,49	114,47± 104,96	8,24± 9,27	
Локализация узлов	Субмукозная, n=11	5,35± 4,10	1,43± 2,37	0,05± 0,15	0,04± 0,04	0,13± 0,23	59,60± 119,27	25,57± 28,73	185,09± 309,19	17,40± 29,93	
	Интрамуральная и субсерозная, n=9	12,39± 16,07	6,33± 11,23	2,22± 5,94*	0,11± 0,18	5,77± 16,35	109,36± 214,80	57,27± 84,42	321,95± 437,27	32,02± 57,23	
Аденомиоз	Есть, n=8	9,94± 17,01	5,22± 12,39	0,17± 0,26	0,10± 0,19	6,17± 17,44	57,77± 105,87	45,15± 84,25	279,84± 381,27	19,45± 31,43	
	Нет, n=12	7,57± 6,20	2,57± 2,64	1,42± 4,88*	0,05± 0,05**	0,33± 0,65	98,14± 199,39	36,29± 42,82	224,57± 374,90	27,00± 51,37	
Группа сравнения	n=7	4,92± 1,38	4,00± 5,99	0±0	0,01± 0,01	0,01± 0,03	61,35± 116,26	23,25± 9,50	202,50± 115,87	11,37± 8,55	

* – достоверность различий от группы сравнения при $p < 0,05$, ** – достоверность различий между группами при $p < 0,05$

локализации миоматозных узлов выявлено у семи (35%) пациенток. Единичные миоматозные узлы обнаружены у семи больных (35%), а множественные (более 5 узлов) – у 13 (65%) женщин.

Быстрый темп роста опухоли отмечен у четырех (24%) пациенток, медленный – у 10 (50%), у шести (30%) пациенток данных о динамике размеров опухоли нет, так как она была обнаружена впервые.

По данным результатов доплерометрии и цветового доплеровского картирования простая форма ЛМ выявлена у 16 (80%) женщин, а пролиферирующая у четверых (20%).

При морфологическом исследовании эндометрия у пациенток с ЛМ у восьми (40%) женщин выявлено его соответствие фазе менструального цикла, у трех (15%) обнаружена железистая или железисто-кистозная гиперплазия, у пяти (25%) – полип эндометрия и у четырех (20%) – гипопластичный или атрофичный эндометрий.

Из гинекологических заболеваний наиболее часто миоме матки сопутствовал аденомиоз, отмечавшийся у семи (35%) больных. Доброкачественные опухоли яичников (кисты) обнаружены у пяти (25%) обследованных больных.

По структуре и частоте выявленной экстрагенитальной патологии группы были сопоставимы.

По результатам настоящего исследования установлено достоверное повышение уровня IL-10 у пациенток с ЛМ при сопоставлении с группой сравнения ($p=0,016$). При дальнейшей статистической обработке уровень цитокинов при ЛМ был проанализирован в зависимости от клинических: длительности заболевания, типа опухоли, количества узлов, темпов роста, наличия аденомиоза и локализации ЛМ (табл. 2).

В результате проведенных исследований были выявлены достоверно повышенные уровни IL-10, GM-CSF, IFN- γ и TNF- α у пациенток с длительностью течения заболевания более 5 лет по сравнению с пациентками, у которых ЛМ существовала менее 5 лет (рис.1). Показатели остальных цитокинов достоверно не различались.

Нами обнаружено, что у пациенток с размером матки менее 8 недель беременности уровень IFN- γ был достоверно выше, чем в группе больных с размером более 8 недель (рис.2). Помимо этого содержание IFN- γ в перитонеальной жидкости пациенток с ЛМ обратно коррелирует с размером матки (рис.3). R^2 (равный 0,716) – коэффициент детерминации – отражает процент дисперсии, укладывающийся в выбранную модель (кубическая кривая), что подтверждает ведущее влияние фактора объема (размер матки) на содержание IFN- γ .

При изучении содержания IL-10 был обнаружен его повышенный уровень у пациенток с аденомиозом, быстрым и медленным ростом лейиомы, а также с простым и пролиферирующим типом опухоли (рис.4).

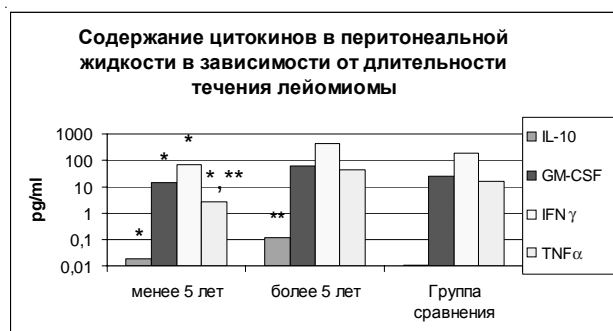


Рис. 1. Различия между группами достоверны ($p<0,05$): * - между группами пациенток, ** - с группой сравнения.

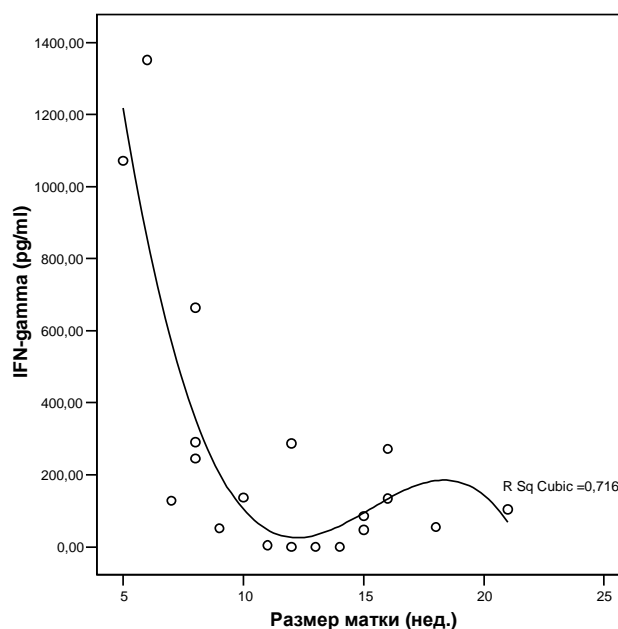


Рис.2. Зависимость между содержанием IFN γ и размером матки у пациенток с лейиомой, $r=-0,5$, $p=0,029$

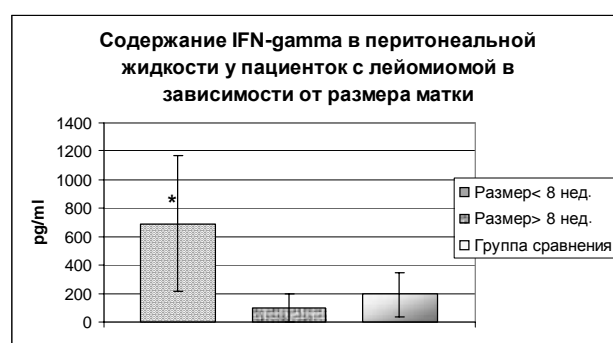


Рис.3. * - Различия между группами пациенток с ЛМ достоверны при $p=0,002$.

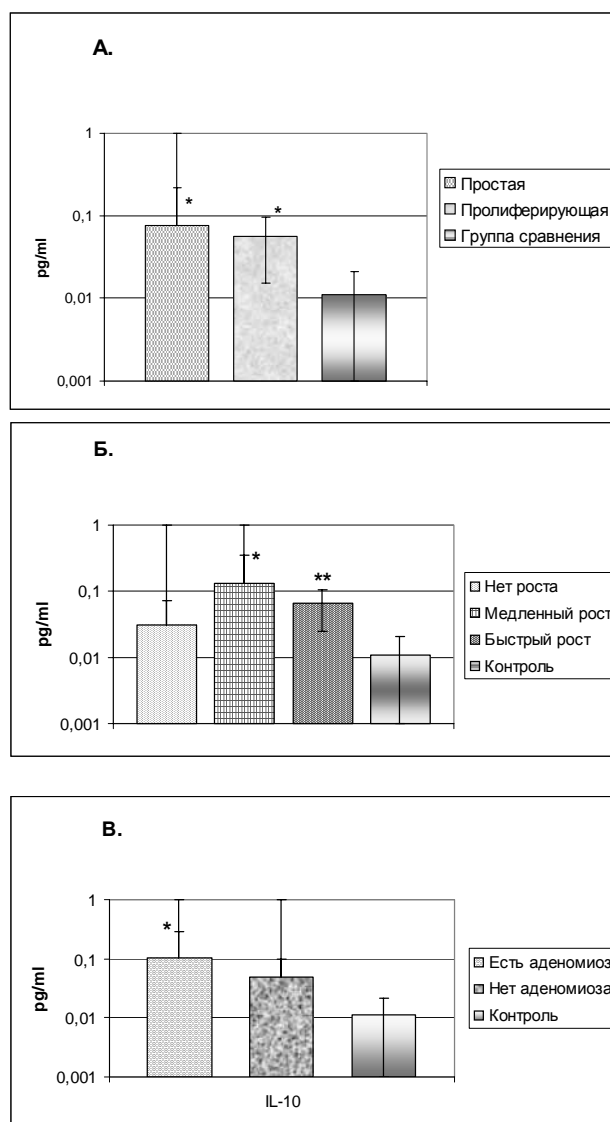


Рис.4. Особенности содержания IL-10 в перитонеальной жидкости в зависимости от клинического течения лейомиомы: а) Типа ЛМ, б) Темпов роста ЛМ, в) Наличия или отсутствия аденомиоза. Различия с группой сравнения достоверны при $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ ().**

В нашем исследовании уровень IL-5 был повышен у пациенток с единичными миоматозными узлами в сопоставлении с группой с множественными узлами и группой сравнения (рис.5). Кроме того, интрамуральная и субсерозная локализация узлов также характеризовалась повышенным содержанием IL-5 перитонеальной жидкости (рис.5). Помимо этого у пациенток с отсутствием аденомиоза уровень IL-5 был достоверно выше, чем в группе сравнения (рис.5).

В содержании IL-2, IL-4, IL-12 и IL-13 у пациенток с ЛМ достоверных изменений не выявлено.

Обсуждение

Несмотря на ряд проведенных исследований, роль цитокинов при ЛМ изучена недостаточно.

В нашей работе была предпринята попытка оценить при ЛМ содержание в перитонеальной жидкости цитокинов, ответственных за Th1- и Th2-тип иммунного ответа, в зависимости от клинической картины заболевания. Отмеченная нами отрицательная корреляция между размером матки и содержанием IFN- γ в перитонеальной жидкости свидетельствует о сдерживающей роли Th1-типа иммунного ответа в прогрессировании ЛМ. В группе пациенток с длительностью течения ЛМ свыше 5 лет отмечено повышенное содержание IL-10, GM-CSF, IFN- γ и TNF- α по сравнению с группой с длительностью заболевания менее 5 лет. Указанные различия свидетельствуют о том, что длительность опухолевого процесса в миометрии обуславливает выраженность активации иммунной системы в большей степени по

Th1-пути. IFN- γ — это цитокин, продуцируемый активированными Т-лимфоцитами и NK-клетками, стимулирующий моноциты и макрофаги. Наблюдаемый в нашем исследовании достоверно повышенный уровень IFN- γ у пациенток с длительностью заболевания более 5 лет очевидно связан с тем, что длительная антигенная нагрузка в виде патологически измененного коллагена миоматозных узлов ведет к активации иммунной системы по Th1-пути. Известно, что в перитонеальной жидкости в норме присутствуют как CD4⁺- и CD8⁺-лимфоциты (Т-клетки), так и CD56⁺-лимфоциты (NK-клетки) [14]. По данным Зуевой и соавт. [6], у пациенток с пролиферирующей формой ЛМ отмечено повышенное содержание NK-клеток в периферической крови по сравнению с простым типом опухоли. Все перечисленные субпопуляции лимфоцитов в активированном состоянии способны продуцировать IFN- γ .

Повышенное содержание IL-10 у женщин с длительным (более 5 лет) анамнезом существова-

ния ЛМ, возможно, является следствием активации по принципу отрицательной обратной связи: большая выраженность иммунного ответа по Th1-типу обуславливает повышенную продукцию IL-10.

IL-10 — цитокин, опосредующий Th2-тип иммунного ответа. Кроме того, IL-10 является противовоспалительным цитокином. Отмеченный выше повышенный уровень IL-10 у пациенток с аденомиозом, быстрым ростом лейомиомы, а также в связи с пролиферирующим типом опухоли может свидетельствовать о неблагоприятной роли Th2-типа иммунного ответа в развитии ЛМ.

В группе сравнения нами отмечено повышенное содержание TNF- α , IFN- γ и IL-10 относительно пациенток с длительностью существования миомы матки менее 5 лет, что, вероятно, связано с тем, что длительность патологического процесса при трубной форме бесплодия точно не установлена. Вместе с тем по сравнению с группой сравнения у пациен-

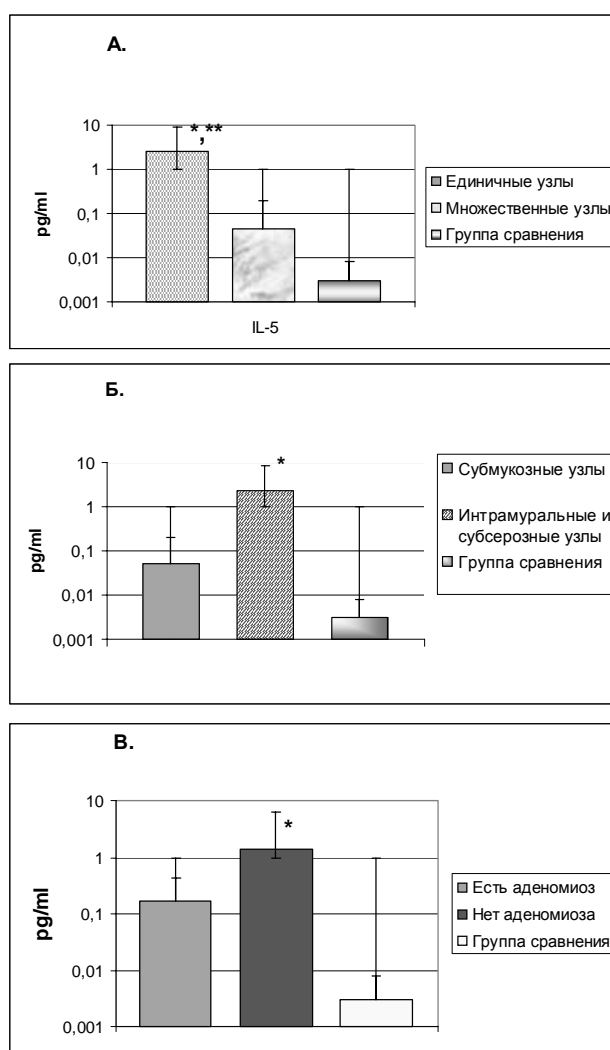


Рис.5. Содержание IL-5 в перитонеальной жидкости в зависимости от клинической картины заболевания: а) количества узлов, б) локализации узлов, в) наличия или отсутствия аденомиоза. Различия достоверны: * - с группой сравнения, ** - между группами ($p < 0,05$).

ток с длительностью течения ЛМ более 5 лет наблюдалось достоверное повышение концентрации TNF- α , IFN- γ и IL-10, что указывает на выраженность влияния длительной антигенной нагрузки в виде миоматозных узлов на продукцию цитокинов в перитонеальной жидкости.

Как было отмечено выше, перестройка внеклеточного матрикса при ЛМ сопровождается усиленной продукцией TGF- β . Сигнальным путем, активируемым данным ростовым фактором, является TAK1 (TGF- β -активированная киназа 1), принадлежащая к семейству MAPK [16]. По данным Goh и соавт. [15], MAP-киназа p38 является необходимым компонентом для активационного пути STAT1, индуцированного IFN- γ . Таким образом, отмеченное нами повышенное содержание GM-CSF у пациенток с длительностью течения ЛМ свыше 5 лет, вероятно, объясняется сочетанной активацией перитонеальных макрофагов (основных клеток-продуцентов GM-CSF в брюшной полости) как со стороны TGF- β , так и вследствие запуска сигнального каскада IFN- γ .

IFN- γ является цитокином, ответственным за развитие иммунного ответа по Th1-типу. Вместе с тем в литературе имеются убедительные данные, свидетельствующие о важной роли IFN- γ в процессах функционирования и воспроизводства внеклеточного матрикса, в частности коллагена. Так, Buttice и соавт. [17] отмечено, что IFN- γ подавляет транскрипцию гена коллагена I типа фибробластами. В работе Ghosh и соавт. [18] показано, что сигнальные пути, ответственные за негативную регуляцию промотора коллагена, активируются IFN- γ . Указанная закономерность свидетельствует о снижении способности организма к регуляции экспрессии коллагена по мере прогрессирования заболевания. Xu и соавт. [19] выявлено, что подавление экспрессии коллагена II типа IFN- γ опосредуется активацией МНС II через стимуляцию белкового комплекса RFX5, связывающего стартовые сайты транскрипции коллагена. Морозовой и соавт. [7] отмечена прогностически неблагоприятная ассоциация аллельных вариантов генов коллагеназы MMP-1 с количеством узлов и аденомиозом при ЛМ. В работе, проведенной Gu и соавт. [20], показано, что IFN- γ блокировал дифференцировку фибробластов в миофибробласты, вызванную TGF- β . Таким образом, наблюдаемая при лейомиоме матки гиперпродукция TGF- β [13], возможно, сдерживается эндогенно синтезируемым IFN- γ , что является фактором, замедляющим развитие заболевания. Очевидно, что недостаточность Th1-ответа является одной из предпосылок ускоренного развития лейомиомы.

Аденомиоз, являющийся формой эндометриоза, по данным Antsiferova и соавт. [21], сопровождается Th2-типом иммунного ответа как

на местном, так и на системном уровнях. Согласно данным Lee и соавт. [22], в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом наблюдается обратная корреляция между уровнем IL-10 и МНС II. Tabibzadeh и соавт. [23] отмечен повышенный уровень IL-10 в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом. Исходя из полученных нами данных можно заключить, что Th2-тип иммунного ответа ассоциирован с пролиферирующим типом лейомиомы, развитием аденомиоза и быстрым ростом опухоли.

В литературе имеются единичные упоминания о роли эозинофилов в течении лейомиомы [24, 25]. Вместе с тем роль наблюдаемой в ряде случаев ЛМ эозинофильной инфильтрации не имеет четкой трактовки.

IL-5 является ростовым фактором для эозинофилов, кроме того активность цитокина направлена на привлечение эозинофилов в очаг патологического процесса. Известно, что субмукозная локализация узлов при ЛМ является прогностически неблагоприятной вследствие более частого развития осложнений. Таким образом, вероятно, что эозинофильная инфильтрация миометрия, возможно, сопутствующая повышенной продукции IL-5 в перитонеальной жидкости, является протективным признаком применительно к локализации и количеству миоматозных узлов у пациенток с ЛМ.

Заключение

Таким образом, нами установлено, что у пациенток с ЛМ отмечены изменения в локальной продукции цитокинов (TNF- α , IFN- γ , GM-CSF, IL-5, IL-10), характеризующиеся статистически достоверной тенденцией к повышению относительно длительности заболевания. Обратная корреляция между содержанием IFN- γ и размером матки свидетельствует о ведущей роли эффективного Th1-типа иммунного ответа в положительной динамике ЛМ. Наличие ассоциаций между содержанием IL-10 в перитонеальной жидкости и наличием аденомиоза, а также в связи с типом лейомиомы характеризует роль Th2-типа иммунного ответа в развитии заболевания как неблагоприятную.

Благодарности

Авторы выражают благодарность зав. лабораторией биостатистики СПбГМУ Елене Владимировне Вербицкой за помощь в статистической обработке полученных результатов

Список литературы

1. Аревадзе И.Э. Особенности функционального состояния и апоптоза иммунокомпетентных

клеток периферической крови и перитонеальной жидкости у женщин с лейомиомой матки: Автореф. дис....канд. мед. наук. - Иваново, 2003. - 23 с.

2. Леваков С.А. Диагностика простой и пролиферирующей миомы матки // Вестник новых медицинских технологий. - 2000. - Т. VII, № 2. - С. 82-86.

3. Малышкина А.И., Аревадзе И.Э., Анциферова Ю.С., Суворкина Е.Е. Особенности функционального состояния иммунокомпетентных клеток периферической крови у женщин с малыми миомами матки / Материалы II-го Российского форума «Мать и дитя». - М., 2000. - С. 244.

4. Суворкина Е.Е. Значение иммунологических факторов в патогенезе быстрорастущей лейомиомы матки: Автореф. дис....канд. мед. наук. - Иваново, 2003. - 23 с.

5. Ярилин А.А. Основы иммунологии. - М.: Медицина, 1999. - 608 с.

6. Зуева Е.Е., Кулагина Н.В., Комарова Л.С., Куртова А.В., Молчанова И.В., Алексеева Е.Ф., Тотолян Арег А. Представленность различных популяций лимфоцитов в периферической крови больных миомой матки // Мед. иммунология - 2005. - № 5-6. - С. 532-542.

7. Морозова Е.Б., Чухловин А.Б., Тотолян Арег А. Прогностическая значимость генного полиморфизма ММП-1, ММП-3 и MTHFR в развитии лейомиомы матки // Журнал акушерства и женских болезней - 2005. - Т. 54. - Вып. 3. - С. 54-59.

8. Hrycek A., Cuzytek A., Tustanowski J. Immunological disorders in patients with uterine myomas // Wiad-Lek. - 2000. - V. 53. - № 5-6. - P. 271-276.

9. Sikorski R., Kapec E., Zaleska W. Serum levels of proinflammatory cytokines in women with uterine myomas // Ginecol Pol. - 2001; 72 (12A). - P. 1485-1488.

10. Shaw R.W. Gonadotropin hormone-releasing hormone analogue treatment of fibroids // Baillier's Clinical. Obstetrics, Gynaecology. - 1998. - Vol. 12. - № 2. - P. 245-267.

11. Ding L., Xu J., Luo X., Chegini N. Gonadotropin releasing hormone and transforming growth factor beta activate mitogen-activated protein kinase/extracellularly regulated kinase and differentially regulate fibronectin, type I collagen, and plasminogen activator inhibitor-1 expression in leiomyoma and myometrial smooth muscle cells // J. Clin Endocrinol Metab. - 2004. - Vol. 89. - N11. - P. 5549-5557.

12. Punnonen R., Teisala K., Kuoppala T., Bennett B., Punnonen J. Cytokine production profiles in the peritoneal fluids of patients with malignant or benign gynecologic tumors // Cancer - 1998. - Vol. 83. - N4. - P. 788-796.

13. Lee B.S., Nowak R.A. Human leiomyoma smooth muscle cells show increased expression of

transforming growth factor-beta 3 (TGF beta 3) and altered responses to the antiproliferative effects of TGF beta // J Clin Endocrinol Metab. - 2001. - Vol. 86. - N2. - P. 913-920.

14. Gomez-Torres M.J., Acien P., Campos A., Velasco I. Embryotoxicity of peritoneal fluid in women with endometriosis. Its relation with cytokines and lymphocyte populations // Hum Reprod. - 2002. Vol. 17. - N3. - P. 777-781.

15. Goh K.C., Haque S.J., Williams B.R. p38 MAP kinase is required for STAT1 serine phosphorylation and transcriptional activation induced by interferons. // EMBO J. - 1999. - Vol. 18. - N20. - P. 5601-5608.

16. Shim J.H., Xiao C., Paschal A.E., Bailey S.T., Rao P., Hayden M.S., Lee K.Y., Bussey C., Steckel M., Tanaka N., Yamada G., Akira S., Matsumoto K., Ghosh S. TAK1, but not TAB1 or TAB2, plays an essential role in multiple signaling pathways *in vivo* // Genes Dev. - 2005. - Vol. 19. - N22. - P. 2668-2681. Epub 2005 Oct 31.

17. Buttice G., Miller J., Wang L., Smith B.D. Interferon-gamma induces major histocompatibility class II transactivator (CIITA) that mediates collagen repression and major histocompatibility class II activation by human aortic smooth muscle cells // Circ Res. - 2006. - Jan 26. [Epub ahead of print]

18. Ghosh A.K., Bhattacharyya S., Mori Y., Varga J. Inhibition of collagen gene expression by interferon-gamma: Novel role of the CCAAT/enhancer binding protein beta (C/EBPbeta) // J Cell Physiol. - 2006. - Vol. 207. - N1. - P. 251-260.

19. Xu Y., Wang L., Buttice G., Sengupta P.K., Smith B.D. Interferon gamma repression of collagen (COL1A2) transcription is mediated by the RFX5 complex // J Biol Chem. - 2003. - Vol. 278. - N49. - P. 49134-49144.

20. Gu L., Zhu Y.J., Guo Z.J., Xu X.X., Xu W.B. Effect of IFN-gamma and dexamethasone on TGF-beta1-induced human fetal lung fibroblast-myofibroblast differentiation // Acta Pharmacol Sin. - 2004. - Vol. 25. - N11. - P. 1479-1488.

21. Antsiferova Y.S., Sotnikova N.Y., Posiseeva L.V., Shor A.L. Changes in the T-helper cytokine profile and in lymphocyte activation at the systemic and local levels in women with endometriosis // Fertil Steril. - 2005. - Vol. 84. - N6. - P. 1705-1711.

22. Lee K.S., Baek D.W., Kim K.H., Shin B.S., Lee D.H., Kim J.W., Hong Y.S., Bae Y.S., Kwak J.Y. IL-10-dependent down-regulation of MHC class II expression level on monocytes by peritoneal fluid from endometriosis patients // Int Immunopharmacol. - 2005. - Vol. 5. - N12. - P. 1699-1712.

23. Tabibzadeh S., Becker J.L., Parsons A.K. Endometriosis is associated with alterations in the rel-

ative abundance of proteins and IL-10 in the peritoneal fluid // Front Biosci. - 2003. - Vol.1. - N8. - P.a70-78.

24. Vang R., Medeiros L.J., Samoszuk M., Deavers M.T. Uterine leiomyomas with Eosinophils: a clini-

copathologic study of 3 cases // Int J Gynecol Pathol. - 2001. - Vol.20. - N3. - P.239-243.

25. Buka N.J. Eosinophilia associated with uterine leiomyomas // Can Med Assoc J. - 1965. - Vol.93. - N24. - P.163-165.

поступила в редакцию 16.02.2006

принята к печати 30.04.2006