

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ У БОЛЬНЫХ МИОМОЙ МАТКИ

Мальшикина А.И., Сотникова Н.Ю., Посисеева Л.В.,
Анциферова Ю.С.

ФГУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им.В.Н.Городкова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Россия

Резюме. Представлены данные иммунологического обследования 25 фертильных здоровых женщин, 63 женщин с миомой матки стабильно малых размеров и 84 пациенток с быстрорастущей миомой матки. Исследуемый материал – перитонеальная жидкость. Показано, что быстрый рост миомы матки сопровождается выраженными признаками функциональной недостаточности иммунокомпетентных клеток перитонеальной жидкости, которые проявляются в нарушении активации регуляторных популяций лимфоцитов и функциональной активности фагоцитов, повышением уровня незрелых лимфоцитов и активацией локального цитокинового каскада с усилением выработки факторов роста.

Ключевые слова: иммунитет, перитонеальная жидкость, миома матки, IL-2

Malyshkina A.I., Sotnikova N.Ju., Posiseeva L.V., Antzyferova Ju.S.

IMMUNE PARAMETERS OF THE PERITONEAL FLUID IN UTERINE MYOMA. PROGNOSTIC RELEVANCE

Abstract. The study of immune parameters of 25 healthy fertile women, 63 women with uterine myoma of small stable size and 84 women with rapidly growing myoma was performed. The peritoneal fluid was taken as the material for investigation. It was found that rapid growth of myoma was accompanied by impairment of functional activity of immunocompetent cells of peritoneal fluid such as interruption of regulatory lymphocytes activity and functional activity of macrophages, increase in the amount of immature lymphocytes and activation of cytokine cascade with elevation of growth factors production. (*Med. Immunol.*, 2005, vol.7, № 4, pp 437-440)

Введение

Миома матки – это доброкачественная гормонально-зависимая опухоль, развивающаяся в миометрии в результате гипертрофии и пролиферации элементов мышечной и соединительной ткани. В настоящее время наблюдается отчетливая тенденция к увеличению частоты миомы матки у женщин репродуктивного возраста, причем наиболее частым

показанием к оперативному лечению у этих больных является быстрый рост опухоли [4, 6].

В последние годы получены новые данные о патогенетических механизмах формирования и роста миомы матки. Роль системного и локального иммунитета в патогенезе данного заболевания уже показана в научных исследованиях [2, 4, 6, 9]. Однако иммунологические события, происходящие в перитонеальной жидкости (ПЖ) и отсутствии и наличии быстрого роста миомы матки, остаются неизученными и вызывают особый интерес.

Цель исследования: на основании определения особенностей функционального состояния иммунокомпетентных клеток и содержания цитокинов в перитонеальной жидкости больных с быстрорастущей миомой

Адрес для переписки:

Мальшикиной А.И.

153002, г.Иваново, ул.Андрианова, д.2, кв.19,
Тел. – (0932)-37-13-97, факс – (0932)-33-62-56,
e-mail: icniimid@icnet.ru

матки установить прогностическое значение иммунологического исследования ПЖ при данной патологии.

Материалы и методы

Обследованы 147 женщин с межмышечной миомой матки, из них 63 больные имели миому стабильно малых размеров (общие размеры матки не превышали 9-недельного срока беременности и в течение года наблюдения не было отмечено роста опухоли), 84 женщины имели быстрорастущую миому с общими размерами матки 12 недель и более и темпом роста 4-5 недель беременности и более за год наблюдения. Группу контроля составили 25 фертильных женщин, не имевших гинекологической патологии. Перитонеальную жидкость получали путем аспирации из брюшной полости у женщин с миомой матки в ходе оперативного вмешательства, а у женщин группы контроля - при проведении лапароскопии с целью стерилизации.

Наряду с клиническими, были использованы иммунологические методы обследования: выделение иммунокомпетентных клеток (лимфоциты) из перитонеальной жидкости методом скоростного центрифугирования; оценка экспрессии активационных и адгезивных молекул на поверхности лимфоцитов с использованием моноклональных антител: антиCD3, антиCD4, антиCD8, антиCD22, антиCD25, антиCD11b, антиCD71, антиCD38, антиHLA-DR, антиCD16 («Клоноспектр», Москва), методом проточной цитометрии на аппарате «FACScan»; определение в ПЖ содержания иммуноглобулинов А, G, М, ЦИК, спонтанной и индуцированной зимозаном НСТ-активности макрофагов, иммуноферментные (определение основного фактора роста фибробластов - bFGF, интерлейкина-2 – IL-2 в ПЖ на аппарате «Multiscan»); микроиммуноферментные (определение в соскобах из цервикального канала антигенов *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Trichomonas vaginalis*, в периферической крови – специфических антител (Ig M) против *Chlamydia trachomatis*, *Virus herpes simplex II*, *Cytomegalovirus*, *Candida albicans*).

Группы женщин с миомой матки различных размеров были сопоставимы по среднему возрасту ($43,4 \pm 0,6$ и $44,01 \pm 0,5$ года) и характеру экстрагенитальной патологии.

Результаты и обсуждение

У женщин с миомой матки независимо от темпа роста отмечалась высокая частота выявления маркеров урогенитальной инфекции (*Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans*), которая достоверно не отличалась от таковой у женщин группы контроля. У пациенток с быстрорастущей миомой матки зна-

чительно чаще, чем в контроле и чем у женщин с малой миомой матки, выявлены антитела (IgM) против *Virus herpes simplex II*. Возможно, острая герпесвирусная инфекция является фактором, провоцирующим быстрый рост опухоли.

Сравнение иммунологических параметров ПЖ производилось у всех трех групп обследованных женщин. При этом отмечено, что быстрый темп роста миомы сопровождался локальными иммунными нарушениями, причем ряд этих нарушений был характерен в целом для миомы матки, а определенные иммунологические изменения отмечались только у женщин с быстрорастущей миомой матки.

У женщин с миомой матки независимо от темпов роста было достоверно увеличено содержание естественных киллеров (ЕК, табл.1). Как известно, основной функцией естественных киллеров является лизис трансформированных, инфицированных или пролиферирующих клеток [5, 8]. Это определяет важную роль ЕК в противоопухолевом и противои инфекционном иммунитете. По-видимому, выявленное нами высокое содержание ЕК в перитонеальной жидкости женщин с миомой матки может быть непосредственно связано с наличием у этих женщин инфекции.

При изучении параметров активации перитонеальных лимфоцитов у всех женщин с миомой матки был выявлен более высокий уровень экспрессии CD25-молекул в общей популяции лимфоцитов, а у женщин с быстрорастущей миомой матки - более низкое содержание в ПЖ активированных Т-хелперов с фенотипом CD25⁺ и Т-лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR-молекулы (табл. 1). Иными словами, на локальном уровне при быстром росте миомы матки снижена активация Т-хелперов, чего не происходит у женщин с миомой матки стабильных размеров.

Заслуживает особого внимания факт повышения уровня CD38⁺ лимфоцитов у женщин с быстрорастущей миомой матки. CD38-молекула экспрессируется сначала на самых ранних стадиях дифференциации лимфоцитов, являясь маркером незрелых клеток, затем на промежуточных этапах созревания клетки теряют ее, но на зрелых лимфоцитах, находящихся на поздних стадиях активации, экспрессия CD38-молекулы вновь возрастает [8]. Учитывая снижение содержания активированных Т-лимфоцитов (CD3⁺/HLA-DR⁺), можно заключить, что повышение количества CD38⁺ лимфоцитов в ПЖ женщин с быстрорастущей миомой матки происходит за счет пула незрелых клеток. Складывается впечатление, что в перитонеальной жидкости у женщин с быстрорастущей миомой матки нарушены процессы созревания и дифференцировки лимфоцитов, что ведет к формированию локальной иммунологической недостаточности, в результате чего иммунная система женщин данной группы неспособна развивать адекватный ответ, направленный на элиминацию аутологических клеток.

Табл.1. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСОБЕННОСТЕЙ ПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА И АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ У ЖЕНЩИН С МИОМОЙ МАТКИ И ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН

Показатель, %	Контрольная группа (n=9)	Женщины с миомой матки стабильно малых размеров (n=21)	Женщины с быстрорастущей миомой матки (n=18)
CD3 ⁺	58,49±7,44	56,79±3,07	55,22 ± 2,46
CD4 ⁺	27,64±2,43	22,90±1,69	26,90 ± 2,36
CD8 ⁺	33,84±1,99	32,92±2,37	30,01 ± 2,01
CD16 ⁺	9,25±1,36	16,02±1,77 **	19,13 ± 2,92*
CD20 ⁺	5,73±1,02	8,25±0,97	10,09 ± 2,32
CD25 ⁺	6,37±0,83	13,16±1,58****	11,32 ± 1,75 *
CD71 ⁺	8,19±2,02	9,03±1,29	8,56 ± 1,55
CD4 ⁺ /CD25 ⁺	4,91±0,81	9,23±1,38*	5,14 ± 0,44 ^y
CD4 ⁺ /CD71 ⁺	4,22±0,97	5,39±1,26	2,90 ± 0,63
HLA-DR ⁺	11,37±1,33	16,76±2,07*	10,78 ± 0,80 ^y
CD38 ⁺	15,86±1,93	20,7±3,16	28,32 ± 3,32 *** ^y
CD3 ⁺ /HLA-DR ⁺	9,28±1,40	15,06±1,17***	8,04 ± 0,84 ^{yyy}
CD3 ⁺ /CD38 ⁺	10,23±2,12	12,19±1,59	13,79 ± 1,80
CD95 ⁺	17,23 ± 2,07	13,44 ± 1,82	15,74 ± 2,03
CD11b ⁺	13,53±2,1	20,91±2,13*	19,53 ± 2,42

* – достоверность различий между результатами клинических и контрольной групп; y – достоверность различий между результатами клинических групп; * – p<0,05; ** – p<0,02; *** – p<0,01, **** – p<0,001; y – p<0,05; yyy – p<0,01.

Табл.2. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАРАМЕТРОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В-ЛИМФОЦИТОВ И МАКРОФАГОВ ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ЖЕНЩИН С МИОМОЙ МАТКИ И ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН

Показатель, %	Контрольная группа	Женщины с малой миомой матки	Женщины с быстрорастущей миомой матки
ЦИК, %	0,5±0,21 (n=18)	0,84±0,14 (n=46)	0,87±0,4 (n=45)
Ig G, г/л	5,24±0,49 (n=18)	6,77±0,57 (n=46)	5,28±0,36(n=45)
Ig A, г/л	0,96±0,15 (n=18)	1,09±0,09 (n=46)	1,1±0,08 (n=45)
Ig M, г/л	0,49±0,07 (n=18)	0,61±0,07 (n=46)	0,5±0,06 (n=45)
НСТ, %	22,29±2,06 (n=16)	24,15±3,49 (n=23)	24,25±3,09 (n=20)
НСТз, %	42,00±4,23 (n=16)	42,04±3,78 (n=23)	24,64±2,35**** ^{yyyy} (n=20)
Индекс нейтрофильной активации	0,92±0,12 (n=16)	0,82±0,21 (n=20)	0,37±0,08**** ^y (n=23)
Адгезия, %	65,29±2,38 (n=16)	40,76±4,61**** (n=23)	43,33±8,49* (n=20)

* – достоверность различий между результатами клинических и контрольной групп; y – достоверность различий между результатами клинических групп

* - p<0,05; *** – p<0,01; **** – p<0,001; y – p<0,05; yyyy – p<0,001.

Табл.3. СОДЕРЖАНИЕ IL-2 И vFGF В ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ У ЖЕНЩИН С МИОМОЙ МАТКИ И ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН

Показатель, пкг/мл	Контрольная группа	Женщины с малой миомой матки	Женщины с быстрорастущей миомой матки
IL-2	20,16±3,70 (n=11)	22,76±4,75 (n=4)	37,90±3,55 *** ^y (n=21)
vFGF	199,58±39,99 (n=9)	174,54±26,41 (n=7)	311,94±34,01 ^{yyyy} (n=18)

Примечание: * – достоверность различий между результатами клинических и контрольной групп; y – достоверность различий между результатами клинических групп; * – p<0,05; *** – p<0,01; y – p<0,05; yyyy – p<0,01.

Ранее высокий уровень незрелых CD38⁺ клеток был отмечен нами в периферической крови женщин с быстрорастущей миомой матки, на основании чего был разработан и внедрен в клиническую практику способ прогнозирования быстрого роста опухоли [2]. Стабильное повышение данной клеточной популяции как на системном, так и на локальном уровне позволяет сделать вывод о том, что это явление непосредственно связано с быстрым темпом роста миомы.

Показатели функциональной активности В-звена иммунитета на локальном уровне у женщин с быстрорастущей миомой матки соответствовали нормативным параметрам и не отличались от показателей у женщин при отсутствии роста опухоли (табл. 2).

При изучении показателей фагоцитарного звена иммунитета на локальном уровне нами было выявлено снижение адгезионной активности, которым характеризовались женщины с миомой матки в целом (табл. 2). Известно, что процессы адгезии играют основную роль при миграции фагоцитов в очаг воспаления [3, 5]. Угнетение адгезионной активности перитонеальных макрофагов у женщин с миомой матки, по-видимому, приводит к нарушению взаимодействия макрофагов с объектами фагоцитоза, что может быть одним из факторов, определяющих развитие миомы, но не темпа ее роста.

У женщин с быстрорастущей миомой матки резко снижался ответ перитонеальных макрофагов на стимуляцию зимозаном и практически отсутствовал резерв функциональной активности (табл. 2). По-видимому, неспособность перитонеальных макрофагов к адекватному ответу на стимуляцию приводит к нарушению своевременной элиминации трансформированных клеток на локальном уровне. Срыв цитотоксических реакций, обусловленных фагоцитами, может быть одним из факторов, провоцирующих быстрый рост миомы матки.

В перитонеальной жидкости женщин с быстрорастущей миомой матки было достоверно повышено содержание IL-2 (табл.3). Известно, что регуляция синтеза цитокинов осуществляется по сетевому принципу, и увеличение продукции одного цитокина может приводить к усилению или угнетению синтеза другого цитокина [1, 7], поэтому высокий локальный уровень IL-2 может приводить к усилению синтеза других цитокинов, в частности bFGF. И действительно, содержание bFGF в ПЖ больных с быстрорастущей миомой матки было достоверно повышено по сравнению с женщинами группы контроля и пациентками с миомой матки стабильно малых размеров.

Складывается впечатление, что именно на локальном уровне формируется комплекс причин,

приводящих к усилению продукции различных факторов с митогенной активностью. Это предположение согласуется с имеющимися литературными данными о повышении продукции ряда ростовых факторов в миометрии и ткани миомы [4, 6]. Все это может вести к усилению процессов ангиогенеза и обуславливать усиление темпов роста миомы матки.

Таким образом, можно заключить, что у больных с быстрорастущей миомой матки на локальном уровне отмечается выраженное нарушение активации лимфоцитов и снижение функциональной активности фагоцитов перитонеальной жидкости, сопровождающиеся повышением уровня незрелых лимфоцитов и активацией локального цитокинового каскада с усилением выработки факторов роста.

Работа поддержана грантами Президента РФ для ведущих научных школ НШ-2245.2003.4 и молодых кандидатов наук МК-1270.2004.7.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кашкин К.П. Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунобиологическая активность: (Лекция). // Клиническая лабораторная диагностика. – 1998. - №11. - С. 21-32.
2. Мальшикина А.И., Посисеева Л.В., Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С. Применение иммунологических показателей для прогнозирования роста миомы матки. // АГ-инфо. Журнал Российской ассоциации акушеров-гинекологов. - №3, 2002, с.26-27.
3. Маянский А.Н., Пикуза О.Н. Клинические аспекты фагоцитоза. - Казань: «Магариф», 1993. - 192 с.
4. Сидорова И.С., Баранова-Безуглая М.Е. Роль факторов роста в патогенезе миомы матки. // Росс. Вестник акуш.-гинеколог. – 2002. – т.2, №5. - С.28-30.
5. Смирнов В.С., Фрейдлин И.С. Иммунодефицитные состояния. - СПб: Фолиант, 2000. - 568с.
6. Тихомиров А.Л. Значение факторов роста в патогенезе миомы матки, неместран и рудид в ее профилактике и лечении (обзор). // Кремлевская медицина. Клинический вестник. - 1998. - № 1. – С. 41-47.
7. Череев А.Н. Интерлейкины: функциональная роль как медиаторов иммунной системы (Обзор литературы). // Лабораторное дело. - 1990. - №10. - С.4-10.
8. Ярилин А.А. Основы иммунологии. - М.: «Медицина», 1999. - 608 с.
9. Hrycet A., Cuzytek A., Tustanowski J. Immunological disorders in patients with uterine myomas. // Wiad-Lek. - 2000. - V.53. - №5-6. - P.271-276.

поступила в редакцию 08.06.2004
отправлена на доработку 07.12.2004
принята к печати 25.05.2005