

КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ АДЕНОМИОЗЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ В СТАНДАРТНОМ ЛЕЧЕНИИ СОЧЕТАНИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРА И АНТИОКСИДАНТА

Незнамова Н.В., Иванова О.Ю., Мальцева А.Н., Конопля А.А., Локтионов А.Л.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия (305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3), e-mail: ala-loc@yandex.ru

У пациенток с внутренним эндометриозом (аденомиозом) установлены нарушения врожденного иммунитета: повышение уровня секреторного иммуноглобулина А, провоспалительных цитокинов, активация системы комплемента, дисбаланс в содержании противовоспалительных цитокинов (повышение ИЛ-4, снижение РАИЛ) на местном (в цервикально-влагалищном смыве) уровне. Со стороны функционально-метаболической активности полиморфно-ядерных лейкоцитов периферической крови выявлено снижение активности и интенсивности фагоцитоза с одновременным увеличением активности кислородзависимых систем. При недостаточной эффективности стандартного лечения использование Циклоферона и Мексидола позволило скорректировать и нормализовать показатели иммунного статуса на системном и локальном уровне.

Ключевые слова: аденомиоз, иммунные нарушения, иммунореабилитация

CORRECTION OF DISTURBANCES OF CONGENITAL IMMUNITY AT THE ADENOMYOSIS USE IN STANDARD TREATMENT OF THE COMBINATION OF THE IMMUNOMODULATOR AND ANTIOXIDANT

Neznamova N.V., Ivanova O.Y., Maltseva A.N., Konoplya A.A., Loktionov A.L.

Public budgetary educational institution of higher education «Kursk State Medical University» Ministry of Health of Russian Federation, Kursk, Russia(305041, Kursk, K. Marx St., 3),e-mail: ala-loc@yandex.ru

At patients with an internal endometriosis (adenomyosis) disturbances of congenital immunity are established: rising of level of a secretory immunoglobulin And, pro-inflammatory cytokines, activation of system of a complement, an imbalance in the maintenance of antiinflammatory cytokines (IL-4 rising, depression of IL-1 Ra) on local (in cervical and vaginal washout) level. From functional and metabolic activity of neutrophils of a peripheral blood decrease of the activity and intensity of a phagocytosis with simultaneous augmentation of activity the oxygen dependent systems is taped. At insufficient efficiency of standard treatment Meglumini acridonacetat and Meksidolum's use allowed to correct and normalize indicators of the immune status at the systemic and local level.

Keywords: adenomyosis, immune disturbances, immunoaftertreatment

В настоящее время все активнее внимание гинекологов и клинических иммунологов уделяется состоянию иммунометаболического статуса и роли нарушений в патогенезе эндометриоза [3, 5, 8, 11, 13]. Эндометриоз традиционно подразделяют на генитальный и экстрагенитальный, а генитальный в свою очередь – на внутренний (эндометриоз тела матки) и наружный, причем последние годы «внутренний эндометриоз» все чаще рассматривают как совершенно особое заболевание, и его обозначают термином «аденомиоз» (Ам) [2, 3, 16]. Большинство исследований по участию иммунных механизмов в патогенезе данной патологии посвящено наружному генитальному эндометриозу. Показаны снижение активности натуральных киллеров, повышение иммуносупрессорных цитокинов в периферической крови и перитонеальной жидкости, снижение способности лейкоцитов крови к продукции интерферонов, повышение количества перитонеальных макрофагов, а

также секретируемых ими провоспалительных цитокинов и хемокинов как в перитонеальной жидкости, так и в эндометриодных имплантах. Данные изменения оказывают влияние на оогенез, фиксируют удлинение фолликулиновой фазы, уменьшение размеров доминантного фолликула и активацию апоптоза клеток кумулюса. Измененный состав перитонеальной жидкости нарушает подвижность сперматозоидов, усиливает их апоптоз, препятствует адекватной акросомальной реакции и прикреплению сперматозоидов к zona pellucida [1, 8, 12, 13, 14].

Учитывая малочисленность исследований по роли иммунитета при Ам, в том числе врожденных форм, важность и трудность коррекции иммунных нарушений при эндометриозе, **целью** настоящей работы стало установление характера изменений врожденного иммунитета и проведение фармакологической коррекции нарушений при аденомиозе.

Материал и методы

Под постоянным наблюдением были 32 женщины с Ам в возрасте $39,7 \pm 3,6$ лет, находившиеся на стационарном лечении в ОБУЗ «Городская больница «Липецк-Мед»» г. Липецка в период 2012–2014 гг. Включение больных в исследование осуществлялось на основании информированного согласия. Женщины были разделены на две равные группы, рандомизированы по возрасту, минимальным сопутствующим заболеваниям в стадии ремиссии, прогнозируемой тяжести заболевания, всем было проведено эндоскопическое оперативное вмешательство по поводу эндометриоз-ассоциированного бесплодия. В послеоперационном периоде пациентки первой группы получали гормональное лечение КОК, препаратами группы диеногеста. Вторая часть больных дополнительно получала Циклоферон (12,5% 2,0 внутримышечно, 10 раз, по схеме 1-е, 2-е, 4-е, 6-е, 8-е, 11-е, 14-е, 17-е, 20-е, 23-и сутки) и Мексидол (внутри по 1 табл. (125 мг) 3 раза в сутки в течение 3 недель).

Лабораторные методы исследования проводились до начала лечения и на 24-е сутки после. Содержание C_3 -, C_{3a} -, C_4 -, C_5 -, C_{5a} -, C_4 -компонентов комплемента, фактора Н и C_1 -ингибитора, sIgA, ФНО, ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИНФ γ , ИЛ-4, рецепторного антагониста ИЛ-1 (РАИЛ), лактоферрина (ЛФ) определяли в вагинально-цервикальном секрете с помощью наборов реагентов ЗАО «Вектор Бест» (г. Новосибирск) и ООО «Протеиновый контур» (г. Санкт-Петербург) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Активность и интенсивность фагоцитоза нейтрофилов, выделенных из периферической крови, оценивали по фагоцитарному индексу (ФИ), фагоцитарному числу (ФЧ) и индексу активности фагоцитоза (ИАФ) [9]. Активность кислородзависимых систем нейтрофилов оценивали по реакции восстановления нитросинего тетразолия, спонтанного и стимулированного зимозаном (НСТ-сп., НСТ-ст.) с расчетом функционального резерва

нейтрофилов (ФРН) [15].

В качестве контроля исследовали периферическую кровь и вагинально-цервикальный смыв 16 здоровых женщин.

Статистическую обработку результатов исследования проводили по общепринятым критериям вариационно-статистического анализа с вычислением средних величин (М), ошибки средней арифметической (m) с помощью пакета компьютерных программ Microsoft Excel, 2010. Для оценки статистической значимости различий средних величин использовался критерий Вилкоксона—Манна и Уитни. Статистически значимыми считали различия с $p < 0,05$ [7].

Результаты и обсуждение

У больных Ам при поступлении в стационар установлено снижение активности и интенсивности фагоцитоза нейтрофилами периферической крови (снижение ФИ, ФЧ, ИАФ) с одновременным повышением активности кислородзависимых систем полиморфно-ядерных лейкоцитов (повышение НСТ-сп., НСТ-стим., ФРН. Уровень ЛФ оказался сниженным (табл. 1).

Проведенное стандартное лечение частично компенсирует нарушенную функционально-метаболическую активность нейтрофилов (коррекция, но не до уровня доноров, ФИ, ИАФ, ЛФ, нормализация ФРН) (табл. 1).

Введение в стандартное лечение сочетания иммуномодулятора (Циклоферона), антиоксиданта (Цитофлавина) и мембранопротектора (Фосфоглива) нормализует все показатели активности и интенсивности фагоцитоза и кислородзависимых систем и нейтрофилов (табл. 1).

На местном уровне в вагинально-цервикальном секрете выявлено повышение уровня цитокинов: провоспалительных (ФНО, ИЛ-6, ИЛ-8), ИЛ-2, ИНФ γ , противовоспалительного ИЛ-4 с одновременным снижением противовоспалительного рецепторного антагониста ИЛ-1. Кроме этого, выявлено повышение как компонентов (С₃, С_{3а}, С₄, С₅, С_{5а}), так и регуляторов (фактор Н и С₁-ингибитор) системы комплемента (табл. 2).

Таблица 1

Коррекция функционально-метаболической активности
нейтрофилов крови при аденомиозе (М±m)

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4
		Здоровые	Больные		
			До лечения	Стандартное лечение	Стандартное лечение + циклоферон + мексидол
ФИ	%	74,2±5,4	60,1±2,84 ^{*1}	69,5±3,2 ^{*1,2}	76,3±4,7 ^{*2,3}
ФЧ	абс.	6,0±0,33	4,3±0,21 ^{*1}	4,7±0,38 ^{*1}	6,03±0,52 ^{*2,3}
ИАФ	-	4,45±0,21	2,58±0,14 ^{*1}	3,27±0,26 ^{*1,2}	4,6±0,3 ^{*2,3}

НСТ-сп.	%	8,0±0,68	12,9±0,54 ^{*1}	11,9±0,6 ^{*1}	8,9±0,31 ^{*2,3}
НСТ-стим.	%	23,3±2,4	34,8±1,7 ^{*1}	29,2±2,6 ^{*1}	27,8±3,1 ^{*2}
ФРН	%	15,3±1,1	21,9±2,4 ^{*1}	17,9±2,1 ^{*2}	18,9±2,1 ^{*2}
ЛФ	нг/мл	705,3±34,1	556,3±40,1 ^{*1}	680,5±36,1 ^{*1,2}	789,4±28,2 ^{*2,3}

Примечание: на этой и таблице 2: * – p=0,05; цифра рядом со звездочкой указывает, по отношению к показателю какой группы различия достоверны

Таблица 2

Коррекция иммунных нарушений на локальном уровне при аденомиозе (M±m)

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4
		Здоровые	Больные		
			До лечения	Стандартное лечение	Стандартное лечение + циклоферон + мексидол
ФНО	пг/мл	1,75±0,13	3,02±0,12 ^{*1}	2,79±0,13 ^{*1}	1,66±0,09 ^{*2,3}
ИЛ-6	пг/мл	4,41±0,17	9,56±0,87 ^{*1}	7,32±0,11 ^{*1,2}	5,3±0,27 ^{*1-3}
ИЛ-8	пг/мл	5,92±1,13	19,3±1,01 ^{*1}	11,6±0,82 ^{*1,2}	8,7±0,42 ^{*1-3}
ИЛ-4	пг/мл	0,54±0,03	6,3±0,68 ^{*1}	13,8±0,53 ^{*1,2}	18,5±3,2 ^{*1-3}
РАИЛ	пг/мл	64,1±3,4	31,3±2,37 ^{*1}	42,3±3,0 ^{*1,2}	105,8±12,1 ^{*1-3}
ИЛ-2	пг/мл	0,28±0,02	0,83±0,05 ^{*1}	0,82±0,04 ^{*1}	0,51±0,02 ^{*1-3}
ИНФλ	пг/мл	0,79±0,06	4,78±0,5 ^{*1}	2,43±0,21 ^{*1,2}	1,25±0,1 ^{*1-3}
C ₃	мг/л	108,3±7,4	200,6±8,8 ^{*1}	150,6±10,4 ^{*1,2}	94,3±6,2 ^{*2,3}
C _{3a}	нг/мл	83,2±2,73	193,4±5,4 ^{*1}	121,0±11,5 ^{*1,2}	87,2±5,1 ^{*2,3}
C ₄	мг/л	5,7±0,41	8,3±0,31 ^{*1}	9,1±0,89 ^{*1}	5,81±0,62 ^{*2,3}
C ₅	нг/мл	93,7±6,2	128,7±5,5 ^{*1}	90,6±4,8 ^{*2}	96,7±4,1 ^{*2}
C _{5a}	нг/мл	34,6±1,78	130,1±9,1 ^{*1}	195,8±12,2 ^{*1,2}	63,7±4,9 ^{*1-3}
C ₁ -инг.	нг/мл	117,2±7,8	281,7±17,3 ^{*1}	276,8±33,5 ^{*1}	168,3±5,8 ^{*1-3}
Фактор Н	нг/мл	38,7±4,7	186,7±10,4 ^{*1}	204,4±9,8 ^{*1}	97,2±5,8 ^{*1-3}
sIgA	г/л	58,4±4,24	39,3±3,1 ^{*1}	41,8±4,7 ^{*1}	69,7±4,9 ^{*1-3}

Стандартное лечение пациенток с Ам корригирует (не до показателей здоровых доноров) уровень ИЛ-6, ИЛ-8, ИНФγ, компенсаторно повышает содержание противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4 и РАИЛ), не влияя на содержание ФНО и ИНФγ. В отношении системы комплемента выявлено, что проведенное стандартное лечение полностью нормализует уровень C₅, частично C₃ и C_{3a}, повышает концентрацию C_{5a} компонентов комплемента, не влияя на содержание C₄ и регуляторов системы комплемента (табл. 2).

Применение в стандартном лечении Ам Циклоферона, Цитофлавина и Фосфоглива дополнительно нормализует концентрацию ФНО, C₃-, C_{3a}-, C₄-компонентов комплемента, корригирует уровень ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-2, ИЛ-4, ИНФγ, C_{5a}, регуляторов системы комплемента и в еще большей степени повышает уровень РАИЛ (табл. 2).

Стандартная фармакотерапия Ам после эндоскопического оперативного вмешательства по поводу бесплодия не оказала эффективного результата в коррекции нарушенных параметров иммунного статуса, так как нормализовала 2 (9,1%) из 22

исследованных и измененных до начала лечения показателей и корригировала в сторону данных здоровых доноров 11 (50%) из них. Дополнительное применение сочетания Циклоферона, Цитофлавина и Фосфоглива позволило дополнительно нормализовать 10 (45,5%) и корригировать 10 (45,5%) показателей.

Таким образом, у пациенток с Ам на момент поступления в стационар выявлены повышение уровня секреторного иммуноглобулина А, провоспалительных цитокинов и активация системы комплемента при дисбалансе в содержании противовоспалительных цитокинов (повышение ИЛ-4, снижение РАИЛ) на местном (в цервикально-влагалищном смыве) уровне. Кроме этого, значительными оказались изменения со стороны функционально-метаболической активности полиморфно-ядерных лейкоцитов периферической крови, проявившиеся снижением активности и интенсивности фагоцитоза с одновременным увеличением активности кислородзависимых систем нейтрофилов. Полученные данные свидетельствуют о признаках иммунного воспаления, приводящего к ослаблению иммунного контроля, создающего условия для имплантации и развития функциональных очагов эндометрия вне их нормальной локализации [1, 8, 11, 12, 13].

При этом эффективность традиционной фармакотерапии в отношении нарушенных показателей иммунного статуса как на системном, так и на местном уровне оставляет желать лучшего, что обосновывает необходимость использования в дополнение к стандартной фармакотерапии иммунокорригирующих и антиоксидантных препаратов. Необходимость последних фармакологических средств обусловлена литературными и ранее полученными нами данными [4, 5, 6, 10].

Использование Циклоферона и Мексидола у пациенток с Ам позволило корригировать и нормализовать большое количество нарушенных показателей цитокиновой и комплементарной систем на местном уровне, функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови. В этой ситуации всегда возникает вопрос о причинах различных фармакологических эффектов, а также о том, включение какого из компонентов лечебной схемы стало решающим для реализации корригирующих эффектов лечения в максимальной степени. Однозначно ответить на эти вопросы сложно. Однако, если рассматривать дизайн настоящего исследования, то можно утверждать, что Мексидол можно считать фоновыми препаратом, с одной стороны, напрямую способствующим появлению антиоксидантных, антигипоксантных и мембраностабилизирующих эффектов клеточных мембран иммуноцитов и клеток-мишеней, с другой — создающим хорошую базу для того, чтобы иммуномодулятор Циклоферон оказал максимальные корригирующие эффекты, а организм в достаточной степени адекватно отреагировал на проводимое лечение.

Заключение

Полученные результаты необходимо использовать при разработке эффективных способов фармакологической иммунореабилитации, что будет способствовать повышению фертильности пациенток с аденомиозом.

Список литературы

1. Агаркова Т.А., Кублинский К.С., Наследникова И.О., Евтушенко И.Д., Агаркова Л.А., Новицкий В.В. Иммуногенетические факторы риска нарушения репродуктивной функции у женщин с наружным генитальным эндометриозом // *Фундаментальные исследования*. – 2014. — № 10. – С. 1445–1450.
2. Адамян Л.В., Кулаков В.И., Андреева Е.Н. Эндометриозы: руководство для врачей. Изд. 2-е, перераб. и доп. М.: Медицина. – 2006. – 416 с.
3. Адамян Л.В., Андреева Е.Н., Аполихина И.А., Беженарь В.Ф., Геворкян М.А., Гус А.И. и др. Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитология. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных. – М.; 2013. – 66 с.
4. Качалина Т.С., Стронгин Л.Г., Семерикова М.В., Андосова Л.Д. Окислительный стресс при наружном генитальном эндометриозе в сочетании с гипотиреозом // *Медицинский альманах*. – 2010. — № 3. – С. 113–117.
5. Мальцева А.Н., Ярош А.А., Цариченко Т.А., Чернышова О.В., Конопля А.И., Гаврилюк В.П. Иммуные и метаболические нарушения на системном и местном уровнях у пациенток с генитальным эндометриозом до и после стандартного лечения // *Аллергология и иммунология*. – 2014. – Т.15, № 2. – С. 124.
6. Мальцева А.Н., Конопля А.А., Ярош А.А. Взаимосвязь иммунных и метаболических нарушений при эндометриозе // *Медицинская иммунология*. – 2015. – Т. 15, специальный выпуск. – С. 176–177.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980. – 243 с.
8. Линде В.А., Ермолова Н.В., Колесникова Л.В., Ширинг А.В., Слесарева К.В., Скачков Н.Н., Маркарьян И.В., Томай Л.Р. Значение нарушения продукции цитокинов и липидов в формировании наружного генитального эндометриоза // *Таврический медико-биологический вестник*. – 2013. – Т. 16, № 2, ч. 2 (62). – С. 57–61.
9. Медведев А. Н., Чаленко В. В. Способ исследования поглотительной фазы фагоцитоза // *Лаб. дело*. – 1991. – №2. – С. 19–20.
10. Меньшикова Н.С. Функциональный полиморфизм генов иммуносупрессорных цитокинов при наружном генитальном эндометриозе // *Мать и дитя в Кузбассе*. – 2013. — № 1 (52). – С. 24–26.

11. Незнамова Н.В., Ярош А.А., Конопля А.А., Гаврилюк В.П. Цитокины и система комплемента на системном и локальном уровнях у больных аденомиозом // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2012. – Т. 11 № 1. – С. 103–106.
12. Овакимян А.С., Кречетова Л.В., Вторушина В.В., Ванько Л.В., Козаченко И.Ф., Адамян Л.В. Содержание интерлейкина-1 β , интерлейкина-8 и субстанции Р в плазме крови и перитонеальной жидкости пациенток с различными формами наружного генитального эндометриоза и хронической тазовой болью // Акушерство и гинекология. – 2015. — № 3. – С. 79–86.
13. Османова Ф.Т. Роль иммунологических факторов в патогенезе наружного генитального эндометриоза у женщин // Фундаментальные исследования. – 2013. — № 9. – С. 108–111.
14. Соснин А.Н., Калинина Н.М., Берлев И.В. Содержание про- и противовоспалительных цитокинов, фактора роста тромбоцитов в перитонеальной жидкости у женщин с наружным генитальным эндометриозом // Цитокины и воспаление. – 2013. – Т. 12, № 4. – С. 92–95.
15. Щербаков В. И. Применение НСТ-теста для оценки чувствительности нейтрофилов к стимуляторам // Лаб. дело. – 1989. – №1. – С. 30–33.
16. Karen Kinkel, Kathrin A. Frei. Diagnosis of endometriosis with imaging: a review. Eur. Radiol. – 2006. – P. 1323–1329.

Рецензенты:

Золоедов В.И., д.м.н., профессор кафедры госпитальной терапии и эндокринологии ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, г. Воронеж;

Ярош А.Л., д.м.н., профессор кафедры госпитальной хирургии Медицинского института НИУ «Белгородский государственный университет», г. Белгород.