

На правах рукописи

СОСНИН
Александр Николаевич

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИТОКИНОВ
И РОСТОВОГО ФАКТОРА ТРОМБОЦИТОВ В ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ
ЖИДКОСТИ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА С
НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика
14.01.01 – акушерство и гинекология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России

Научные руководители:

доктор медицинских наук профессор **Калинина Наталия Михайловна**
доктор медицинских наук профессор **Берлев Игорь Викторович**

Официальные оппоненты:

Симбирцев Андрей Семенович - доктор медицинских наук профессор, ФГУП «Государственный НИИ особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, директор

Ярмолинская Мария Игоревна - доктор медицинских наук профессор, ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», ведущий научный сотрудник отделения гинекологической эндокринологии

Ведущая организация:

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится: «__» _____ 2016 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России (194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д.54 и на сайте: [http:// www.arcerm.spb.ru](http://www.arcerm.spb.ru).

Автореферат разослан «__» _____ 2016 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В настоящее время одним из важных направлений клинической лабораторной диагностики заболеваний женской репродуктивной системы является определение параметров местного иммунитета, в том числе у женщин с эндометриозом - заболеванием, которое занимает ведущие роли у женщин репродуктивного возраста [Берлев И.В., 2012; Калинина Н. М., 2010; Romer T., 2012].

Эндометриоз – заболевание, характеризующееся ростом ткани, сходной по структуре и функции с эндометрием за пределами его нормальной локализации, развивающееся в условиях нарушений гормонального и иммунного гомеостаза [Айламазян Э.К. и соавт., 2007]. В структуре гинекологической заболеваемости эндометриоз занимает третье место после воспалительных заболеваний и миомы матки. Эндометриоз имеет различные клинические проявления - тазовые боли, бесплодие, нарушение менструальной функции, диспареунию, дисхезию. Эндометриоз наиболее часто встречается в репродуктивном возрасте, больные с эндометриозом составляют 10-15% от общего числа гинекологических заболеваний [Vigant P. Et al., 2004]. Несмотря на появление новых диагностических и лечебных возможностей, в настоящее время имеется тенденция к увеличению встречаемости данного заболевания [Баскаков В.П., 2002; Адамян Л.В., 2006; Bulun S., 2009; Giudice L. et al., 2012]. У больных с бесплодием при лапароскопии наружный генитальный эндометриоз может выявляться в 50-60% случаев [Missmer S.A. et al., 2004]. Существует несколько концепций возникновения и прогрессирования заболевания. Но ни одна из них не может объяснить всего многообразия клинических проявлений заболевания. Основные работы по изучению этиологии и звеньев патогенеза сосредоточены на эпигенетических аспектах, метаболизме половых гормонов и молекулярных особенностях эндометриоидных гетеротопий [Ярмолинская М.И., 2010; Ge C., 2012]. В последние годы одним из приоритетных направлений является изучение иммунных механизмов развития эндометриоза [Михнина Е.А., 2006; Айламазян Э.К., Сельков С.А., Ярмолинская М.И., 1997; Dmowski W.P., 1994]. Уточнению роли провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, оценке ростовых факторов (PDGF, VEGF, EGF, FGF, IGF, TGF- β) в перитонеальной жидкости у женщин репродуктивного возраста посвящены ряд исследований последнего десятилетия [Ярмолинская М.И., 2012; Vercillini P., et al. 2013].

В настоящее время гормональный и хирургический методы лечения не являются альтернативами друг другу, а признаются как необходимые этапы комбинированного лечения заболевания большинством авторов. [Römer T., 2012; Ge C., et al., 2012; Alkatout I., et

al., 2013]. «Золотым» стандартом в лечении эндометриоза являются хирургические методы. [Yeung P.P.Jr. et al., 2009]. В качестве консервативной терапии в настоящее время широко применяются агонисты гонадотроп релизинг-гормонов (АГнРГ), гестагены, комбинированные эстроген-гестагены, нестероидные противовоспалительные препараты и ингибиторы ароматазы [American College of Obstetricians and Gynecologists, 2010]. На данный момент ни одна из схем лечения заболевания не может гарантировать отсутствие рецидива, а наличие противопоказаний к ряду препаратов ограничивает их применение.

Учитывая, что контроль тканевого гомеостаза обеспечивается иммунной системой человека, очевидно, что в основе нарушений своевременной элиминации аутологичных клеток из организма лежат иммунологические дисфункции [Пальцев М.А., Кветной И.М. 2006; Hill J.A., etc, 1993; Dmowski W.P., Braun D.P., 2004].

В связи с этим особую актуальность приобретает уточнение механизмов развития иммунопатологического процесса, исследование клинических проявлений и иммунологических нарушений при различных стадиях заболевания.

Степень разработанности темы

Иммунопатогенезу наружного генитального эндометриоза (НГЭ) в настоящее время уделяется внимание многими школами зарубежных и отечественных исследователей [Адамян Л.В. 2006; Михнина Е.А., 2006; Burney R., 2012]. Изучению роли цитокинов также посвящено ряд работ [Анциферова Ю.С., 2007, Dmowski W., 2004; Carmona F., 2012]. Тем не менее, до сих пор, нет четкого представления о том, насколько каждый из изученных иммунологических параметров соотносится с тяжестью заболевания, эффективностью проводимой терапии и прогнозом течения заболевания, в частности с восстановлением репродуктивной функции.

Цель исследования

Выявить диагностическую значимость определения про- и противовоспалительных цитокинов, ростовых факторов в перитонеальной жидкости пациентов с эндометриозом для прогноза течения заболевания.

Задачи исследования

1. Оценить содержание провоспалительных цитокинов TNF α , IFN γ , IL-6, IL-8, IL-1 β и противовоспалительного цитокина IL-10, а также фактора роста тромбоцитов (PDGF) в перитонеальной жидкости у пациенток с эндометриозом различных стадий заболевания в момент оперативного вмешательства.

2. Выявить взаимосвязь между стадиями эндометриоза и продукцией провоспалительных цитокинов и фактора роста тромбоцитов в перитонеальной жидкости у женщин с эндометриозом.

3. На основании оценки продукции цитокинов в перитонеальной

жидкости выявить предикторы развития рецидивов эндометриоза.

4. Обосновать на основании оценки уровня продукции цитокинов схемы терапии эндометриоза в послеоперационном периоде.

Научная новизна

Впервые проведена сравнительная оценка между уровнями продукции цитокинов и ростовых факторов в перитонеальной жидкости с тяжестью клинических проявлений наружного генитального эндометриоза.

Выявлена четкая взаимосвязь между уровнем продукции провоспалительных цитокинов и стадией заболевания.

Впервые проведено сравнительное исследование факторов ангиогенеза (PDGF) в перитонеальной жидкости при различных стадиях наружного генитального эндометриоза.

Выявлено, что прогностически неблагоприятными маркерами рецидива заболевания являются: уровни IL-1 β >100 пг/мл, IL-8 > 120 пг/мл, IFN- γ > 120 пг/мл, TNF- α > 90 пг/мл.

Теоретическая и практическая значимость работы

Уточнен иммунопатогенез наружного генитального эндометриоза, подтверждена аутовоспалительная природа заболевания. Выявлено значительное повышение фактора роста тромбоцитов, чем подтверждено его участие в иммунопатогенезе заболевания.

Доказано, что повышение продукции провоспалительных цитокинов способствует ангиогенезу и развитию очагов наружного генитального эндометриоза.

Неадекватная продукция противовоспалительного цитокина IL-10, объясняет длительное течение локального иммунного воспаления при наружном генитальном эндометриозе.

Определение цитокинов и фактора роста тромбоцитов в перитонеальной жидкости у больных с наружным генитальным эндометриозом, позволяет прогнозировать тяжесть заболевания и возможность рецидива, а также индивидуализировать комбинированное патогенетическое лечение.

Методология и методы исследования

Методологической основой исследования явилось последовательное применение методов научного познания. Работа выполнена с использованием лабораторных (иммунологических, гистологических), хирургических, аналитических и статистических методов. Объектом исследования явились женщины, репродуктивного возраста с НГЭ и пациентки контрольной группы. Предметом анализа была перитонеальная жидкость у пациенток проходившим хирургическое лечение. Статистическую обработку и анализ данных проводили с помощью пакета программ Microsoft Office Excel 2010 для Windows 7.0. Используются методы описательной статистики.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Выраженность дисрегуляторных нарушений продукции про- и противовоспалительных цитокинов в перитонеальной жидкости коррелирует со стадиями эндометриоза.

2. Предикторами рецидивирующего характера течения эндометриоза являются высокие уровни провоспалительных цитокинов, повышение продукции тромбоцитарного фактора роста в перитонеальной жидкости, и неадекватное повышение IL-10.

3. Сочетанное использование данных клинического наблюдения и оценки уровня цитокинов, фактора роста тромбоцитов в перитонеальной жидкости в момент оперативного вмешательства, позволяет при малой распространенности процесса и низком уровне продукции цитокинов назначать низко дозированные комбинированные оральные контрацептивы в пролонгированном режиме, а при III-IV стадиях эндометриоза, высокой продукции провоспалительных цитокинов и тромбоцитарного фактора роста использовать препараты агонистов гонадотропин-рилизинг гормона и нестероидные противовоспалительные препараты.

Степень достоверности и апробация результатов диссертации

Достоверность полученных результатов обеспечена репрезентативным объемом выборок обследованных пациенток, достаточным количеством выполненных наблюдений с использованием современных методов исследования и адекватным статистическим анализом данных. Научные положения документированы таблицами, рисунками, диаграммами. Результаты работы представлены, доложены и обсуждены на международных и российских конференциях: Всемирный конгресс по эндометриозу (Монтпелье, Франция 2011), научно-практическая конференция «Никифоровские чтения–2012: передовые отечественные и зарубежные медицинские технологии» (Санкт-Петербург, 2012), научно-практическая конференция, посвященной 50-летию основания Санкт-Петербургской клинической больницы Российской академии наук (Санкт-Петербург, 2012), международная научно-практическая конференция «Многопрофильная клиника XXI века. Современные технологии в эндовидеохирургии» (Санкт-Петербург, 2013), I международная Итальяно-Российская конференция «Лечение эндометриоза с курсом лапароскопии. Онкология и эндометриоз» (Авеллино, Италия 2013), международная научно-практическая конференция «Многопрофильная клиника XXI века. Высокотехнологичная медицинская помощь» (Санкт-Петербург, 2014).

Результаты диссертационной работы внедрены и реализованы в практической работе отделения гинекологии и отдела клинической лабораторной диагностики ФГБУ «Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС России, а также хирургического отделения ФГБУЗ Клинической больницы Российской академии наук г. Санкт-Петербурга.

Работа выполнена в соответствии с планом научно-технической

деятельности МЧС России, утвержденным приказом МЧС России №140 от 27.03.2014, в рамках научно-исследовательской работы 5.2.-3/Б «Клиническая лабораторная диагностика соматической патологии», выполненной на базе отдела клинической лабораторной диагностики и отделения гинекологии ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России.

По материалам диссертации опубликовано 8 научных работ, среди них 2 – в ведущих рецензируемых журналах и изданиях, определенных ВАК РФ.

Личный вклад автора в получение результатов

Диссертант самостоятельно провел анализ современной литературы, посвященной проблеме диагностики и лечения наружного генитального эндометриоза. Принимал непосредственное участие в оперативном лечении пациенток, проводил забор перитонеальной жидкости с целью дальнейшего исследования в ней уровня цитокинов. Участвовал в лабораторных исследованиях, самостоятельно провел оценку и анализ полученных материалов. Автором обоснованы цели, задачи, научная новизна и практическая значимость исследования, сформулированы основные положения, выносимые на защиту и выводы. Статистическая обработка данных анализ, полученных данных и обобщение результатов исследований были также произведены лично автором. Результаты работы представлены автором лично в публикациях и научных докладах.

Объем и структура работы

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, глав описания материала и методов исследования, собственных исследований, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы, включающего 22 отечественных и 111 зарубежных источников. Материалы диссертации изложены на 101 страницах машинописного текста, иллюстрированы 17 рисунками и 12 таблицами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования.

Работа выполнена на базе отдела клиничко-лабораторной диагностики и оперативной гинекологии клиники №2 ФГБУ ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России. За период с 2011 по 2012 гг. Проведен анализ результатов обследованных 62 пациенток, которые находились на стационарном лечении в отделении гинекологии. Для решения поставленных в диссертационной работе задач были сформированы две группы женщин: основная и группа сравнения.

Критериями включения в основную группу были наличие у пациентки эндометриоза, установленного при проведении лапароскопии и подтвержденного результатами гистологического исследования; возраст

пациенток от 18 до 44 лет, а также жалобы на хронические тазовые боли различной интенсивности, отсутствие на момент обращения беременности.

Критериями исключения были пациентки в возрасте моложе 18 и старше 45 лет, беременные на момент начала исследования, пациентки, имеющие тяжелую сопутствующую соматическую патологию (декомпенсированные заболевания эндокринной системы, тяжелые заболевания печени, свертывающей системы крови, системные аутоиммунные заболевания), а также женщины с сопутствующими пролиферативными заболеваниями (миомой матки, гиперпластическими процессами в эндометрии), и воспалительными заболеваниями органов малого таза. Группу сравнения составили 11 пациенток, обратившихся к гинекологу с нарушением репродуктивной функции, у которых был исключен эндометриоз и воспалительные заболевания женских половых органов. Средний возраст всех пациенток составил $31,2 \pm 2$ года.

При поступлении в стационар всем пациенткам выполнялось предоперационное обследование, которое включало в себя клинический анализ крови, биохимические исследования крови, коагулограмму, диагностику особо-опасных инфекций.

Все оперативные вмешательства были выполнены лапароскопическим доступом, по стандартной методике. В ходе оперативного вмешательства осуществлялся забор перитонеальной жидкости, с помощью одноразовой дренажной трубки из ПВХ под контролем оптики. Полученные образцы перитонеальной жидкости хранили до анализа концентрации цитокинов при температуре -20 С.

Далее при помощи метода иммуноферментного анализа, основанным на твердофазном «сэндвич» варианте в перитонеальной жидкости определялось количественное содержание провоспалительных цитокинов IL-6, IL-1 β , IL-8, IFN- γ , TNF- α и противовоспалительного цитокина IL-10, и фактора роста тромбоцитов (PDGF).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением программных пакетов Microsoft Excel XP (Microsoft Corp., США) и Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Для оценки статистических различий использовали параметрический метод Стьюдента и непараметрический метод Манна-Уитни.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В связи с недостаточностью информации о влиянии уровня локальной продукции цитокинов на течение заболевания представлялось важным оценить вклад иммунного воспаления в течение послеоперационного периода и на основании этого формировать прогноз заболевания.

Всем пациенткам выполнялось плановое оперативное лечение, под эндотрахеальным наркозом, лапароскопическим доступом в различном объеме (табл. 1).

Длительность операции составила от 20 до 255 минут и в среднем составила $115,67 \pm 10,03$ минут.

Таблица 1.

Объем проведенного оперативного лечения	
Оперативные вмешательства	Количество вмешательств
Иссечение и коагуляция очагов эндометриоза брюшины малого таза	53
Цистэктомии	36
- односторонние	27
- двухсторонние	9
Иссечение и коагуляция инфильтрата прямокишечно-влагалищной перегородки («shaving»)	10
Резекция стенки мочевого пузыря	1
Резекция стенки влагалища	2
Резекция участка сигмовидной кишки	2
Резекция участка прямой кишки	4

Следует отметить, что у всех пациенток первой группы, при гистологическом исследовании операционного материала, были выявлены изменения, характерные для эндометриоза: типичная строма и железы эндометрия, в строме нередко обнаруживались макрофаги с большим количеством гемосидерина. Для инфильтративного эндометриоза было характерно врастание желез в подлежащую гладкомышечную или соединительную ткань. В очагах эндометриоза отмечалась секреция желез и пролиферация их клеток.

Все женщины с эндометриозом были разделены на 4 группы, согласно классификации AFS (American Society for Reproductive Medicine Revised American Society for Reproductive Medicine Classification of endometriosis, 1997). Распределение по стадиям выглядело следующим образом: I стадия - 23,53%, II стадия – 39,21%, III стадия – 21,57% и IV стадия 15,68%. Группы объединены по стадиям заболевания: пациентки с I-II стадией заболевания были объединены в первую группу, тогда как пациентки с III-IV стадией заболевания вошли во вторую группу.

При исследовании уровня IL-6 в перитонеальной жидкости было обнаружено повышенное его содержание у больных с наружным генитальным эндометриозом, с I-II стадией заболевания уровень IL-6 составил 45,6 пг/мл, тогда как у пациенток с III-IV стадией эндометриоза 52,2 пг/мл. В группе сравнения уровень IL-6 был 19,1 пг/мл. Как известно IL-6

способствует переходу В1 аутореактивных лимфоцитов в плазматические антителообразующие клетки, которые продуцируют аутоантитела к тканям генитального тракта, и участвует в иммунопатогенезе эндометриоза.

IL-8, являясь не только провоспалительным цитокином, но и фактором, принимающим участие в ангиогенезе, был обнаружен в образцах перитонеальной жидкости, в концентрациях превышающих концентрацию в группе сравнения в 4 раза. У пациенток с III-IV стадиями эндометриоза содержание IL-8 в перитонеальной жидкости достигло 119,1 пг/мл (в группе сравнения 22,1 пг/мл). В связи с тем, что IL-8 является хемоаттрактантом значительное увеличение содержания этого хемокина приводит к миграции множества клеток, имеющих рецепторы к хемокинам в очаги эндометриоидных гетеротопий и поддерживает воспаление.

IL-10 противовоспалительный цитокин, продукция которого должна превышать в норме продукцию провоспалительных цитокинов, увеличивался незначительно. Уровень IL-10 в группе пациенток с I-II стадией эндометриоза составил 19,4 пг/мл, тогда как у пациенток с III-IV стадией эндометриоза 38,6 пг/мл, в группе сравнения он составил 14,5 пг/мл. Такое незначительное повышение уровня IL-10 говорит о неадекватности противовоспалительной защиты при эндометриозе. Данные представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Уровень IL-6, IL-8, IL-10 в перитонеальной жидкости в зависимости от стадий эндометриоза.

Цитокины	Все пациентки с эндометриозом (n=51)	Группа с I-II ст. (n=32)	Группа с III-IV ст. (n=19)	Группа сравнения (n=11)
IL-6 пг/мл	47,3	45,6±0,1	52,2±0,5*	19,1±0,7
IL-8 пг/мл	91,8	87,7±0,2*	119,1±0,6*	22,1±0,4
IL-10 пг/мл	23,4	19,4±0,3*	38,6±0,3	14,5±0,4

* $p < 0,01$ - по сравнению с пациентками без эндометриоза

Уровень IL-1 β , который является индуктором каскада продукции провоспалительных цитокинов, был достоверно выше в группе пациенток с эндометриозом, по сравнению с контрольной группой. В группе с I-II стадией эндометриоза содержание в перитонеальной жидкости IL-1 β составило 70,2 пг/мл, тогда как у пациентов с III-IV стадиями эндометриоза 95,6 пг/мл, (в группе сравнения - 14,3 пг/мл).

Уровень TNF- α в перитонеальной жидкости у пациенток с эндометриозом I-II стадии составил 32,2 пг/мл, а с III-IV стадией - 69,9 пг/мл,

в группе сравнения 7,8 пг/мл.

TNF α - провоспалительный цитокин, который вызывает краевое стояние тромбоцитов, кроме эффектов иммунного воспаления участвует в нарушении гемостаза и способствует тромбированию капилляров эндометриоидных очагов, что в свою очередь приводит к микронекрозам в эктопической ткани.

У пациенток с эндометриозом уровень IFN- γ в перитонеальной жидкости также был повышен. При I-II стадии заболевания уровень IFN- γ составил 98,7 пг/мл, тогда как у пациенток с III-IV стадией эндометриоза 119,2 пг/мл, (в группе сравнения 22,1 пг/мл). Известно, что IFN- γ определяет характер иммунного ответа и его реализацию по Th1 типу, что характерно для аутоиммунного процесса. Данные о продукции провоспалительных цитокинов представлены в таблице 3.

Таблица 3.

Уровень TNF- α , IL-1 β , IFN- γ в перитонеальной жидкости у пациенток с различными стадиями эндометриоза.

Цитокины	Все пациентки с эндометриозом (n=51)	Пациентки (группа с I-II стадией) (n=32)	Пациентки (III-IV стадией) (n=19)	Группа сравнения (n=11)
TNF α пг/мл	40,4	32,2 \pm 0,9*	69,9 \pm 0,5	7,8 \pm 0,7
IL-1 β пг/мл	78,6	70,2 \pm 0,8*	95,6 \pm 0,7*	14,3 \pm 0,8
IFN γ пг/мл	103,4	98,7 \pm 0,1*	119,2 \pm 0,2	22,1 \pm 0,6

*p<0,01 - по сравнению с пациентками без эндометриоза

Анализ полученных результатов, при изучении цитокинов в перитонеальной жидкости выявил повышение провоспалительных цитокинов, недостаточную продукцию противовоспалительного цитокина IL-10. Степень нарушений зависела от стадии заболевания – по мере прогрессирования заболевания дисбаланс в локальной продукции цитокинов усиливался.

Учитывая, что развитию эндометриоидных гетеротопий способствуют ангиогенные факторы роста, синтезированные макрофагами перитонеальной жидкости, клетками эндотелия и ретроградно поступившими клетками эндометрия, нами определялось содержание в перитонеальной жидкости тромбоцитарного фактора роста PDGF. Фактор роста тромбоцитов (PDGF), секретируемый активированными клетками, является одним из факторов, способствующим развитию эндометриоза. Концентрация фактора роста тромбоцитов в перитонеальной жидкости у обследованных больных, с подтвержденным диагнозом НГЭ была выше (36,2 пг/мл), чем у пациенток контрольной группы (27,1 пг/мл). Полученные результаты подтверждают,

что для развития и инвазивного роста эндометриоидных очагов необходимы ангиогенные факторы роста, которые отвечают за васкуляризацию эктопических очагов, данные представлены в таблице 4.

Таблица 4.

Уровень продукция фактора роста тромбоцитов (PDGF) в перитонеальной жидкости у женщин с различными стадиями эндометриоза

	Все пациентки с эндометриозом (n=51)	Пациентки (группа с I-II стадией) (n=32)	Пациентки (III-IV стадией) (n=19)	Группа сравнения (n=11)
PDGF пг/мл	36,2	30,1±0,5*	58,4±0,5*	27,1±0,5

* $p < 0,01$ - по сравнению с пациентками без эндометриоза

При наблюдении в течение двух лет, в ходе проводимого комбинированного лечения, у 38 пациенток отмечалось отсутствие болевого синдрома, у 45 пациенток отсутствие диспареунии. Наступления спонтанной беременности произошло у 15 пациенток первой группы (I-II стадий НГЭ), у второй группы (III-IV стадий НГЭ) у 3 женщин. В 3 случаях беременность наступила с помощью вспомогательных репродуктивных технологий.

Таблица 5.

Сравнительное содержание про- и противовоспалительных цитокинов и PDGF в перитонеальной жидкости у пациенток при повторной лапароскопии

Цитокины пг/мл	Группа сравнения	III-IV ст. НГЭ (n=19)	III-IV ст. с рецидивом НГЭ (I лапароскопия) (n=7)	Рецидив НГЭ (II лапароскопия) (n=7)
TNF α	7,8±0,7	69,9±0,5	97,4±0,1	41,2±0,4
IL-1 β	14,3±0,8	95,6±0,7	107,6±0,3	76,1±0,5
IFN γ	22,1±0,6	119,2±0,2	140,3±0,2	79,2±0,6
IL-6	19,1±0,7	52,2±0,5	54,5±0,7	42,4±0,1
IL-8	22,1±0,4	119,1±0,6	135,4±0,5	82,1±0,2
IL-10	14,5±0,4	38,6±0,3	35,6±0,1	57,8±0,1
PDGF	27,1±0,5	58,4±0,5	65,2±0,4	43,2±0,3

Из всей группы пациенток, у семи с III-IV стадией НГЭ возникли рецидивы заболевания. Возникновение рецидивов заболевания у части пациенток, требует их выделения в отдельную группу. Данным больным нами была выполнена повторная лапароскопия (все больные входили в

группу с НГЭ III-IV стадий). При детальном анализе полученных данных выявлено, что уровень про- и противовоспалительных цитокинов до комбинированного лечения у группы пациенток с рецидивом заболевания, был выше, чем в общей группе пациенток с эндометриозом III-IV стадии (таблица 5., рисунок 1), что в целом можно расценивать в качестве предиктора возможного рецидива данного заболевания.

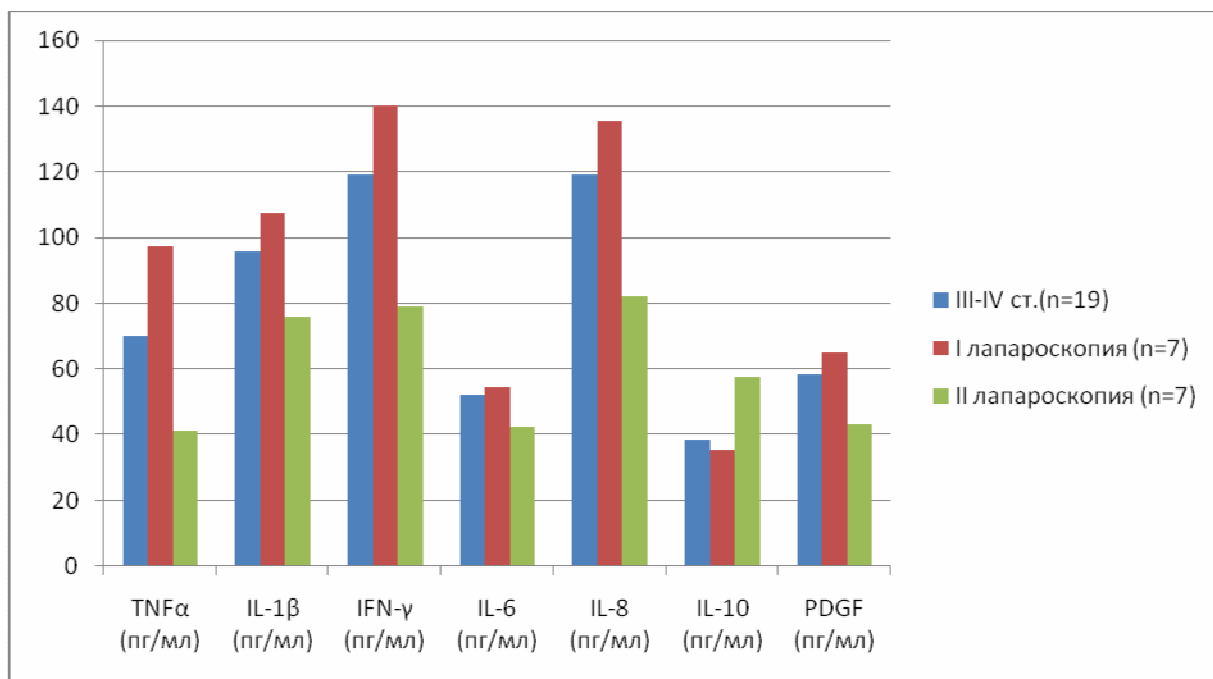


Рис. 1. Сравнение количественного содержания про- и противовоспалительных цитокинов в перитонеальной жидкости при первой и второй лапароскопии.

Также, в группе женщин с рецидивом заболевания, были подсчитаны коэффициенты соотношения про- и противовоспалительных цитокинов для сравнительной оценки эффективности проводимой терапии - IL-10/IL1β который равнялся 0,33, и коэффициент IL-10/IFN-γ равен 0,25 при первой лапароскопии, при повторной лапароскопии коэффициенты увеличились, и равнялись 0,75 и 0,73 соответственно, что говорит об имевшем место положительном эффекте первого этапа проведенной терапии.

Следует отметить, что увеличение местной продукции провоспалительных цитокинов при НГЭ было пропорционально изменению размеров и количества эндометриоидных гетеротопий, выраженности клинической картины и стадии эндометриоза,

Полученные в ходе диссертационного исследования результаты показали, что изменение в соотношении про- и противовоспалительных цитокинов создает в перитонеальной полости благоприятные условия для имплантации и последующего развития эндометриоидных гетеротопий.

Исследование про- и противовоспалительных цитокинов а также тромбоцитарного фактора роста в перитонеальной жидкости, полученной во

время оперативного вмешательства позволяет прогнозировать возникновение рецидивов заболевания, оценить местную продукцию факторов иммунного воспаления, а также определяет необходимость коррекции проводимой терапии в послеоперационном периоде.

ВЫВОДЫ

1. Доказана диагностическая значимость определения в перитонеальной жидкости про- и противовоспалительных цитокинов, фактора роста тромбоцитов у пациенток с эндометриозом для оценки прогноза течения заболевания.

2. Уровни провоспалительных цитокинов в перитонеальной жидкости нарастают по мере прогрессирования заболевания и достоверно отличаются от показателей продукции цитокинов у женщин без эндометриоза.

3. Пациентки с наружным генитальным эндометриозом, и содержанием провоспалительных цитокинов в перитонеальной жидкости - $IL1\beta >100$ пг/мл, $IL8 >120$ пг/мл, $IFN\gamma >120$ пг/мл, $TNF\alpha >90$ пг/мл подлежат динамическому мониторингу с целью ранней диагностики рецидива заболевания.

4. Прогрессирующее повышение уровня фактора ангиогенеза – фактора роста тромбоцитов - в перитонеальной жидкости в зависимости от стадии заболевания подтверждает его участие в иммунопатогенезе заболевания (при III стадиях - 30,1 пг/мл, при III-IV стадиях - 58,4 пг/мл).

5. Данные повторного определения цитокинов в перитонеальной жидкости при рецидиве заболевания подтверждают роль иммунного воспаления в патогенезе эндометриоза.

6. Сочетанное использование данных клинического наблюдения и оценки уровня цитокинов в перитонеальной жидкости в момент оперативного вмешательства, позволяет дифференцированно подходить к назначению терапии в послеоперационном периоде: при I-II стадиях НГЭ - низкодозированные комбинированные оральные контрацептивы в пролонгированном режиме, в III-IV стадиях эндометриоза и высокой продукции провоспалительных цитокинов и тромбоцитарного фактора роста - использовать препараты агонистов гонадотропин-рилизинг гормона и нестероидные противовоспалительные препараты.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:

При наблюдении пациенток с эндометриозом врачам гинекологам рекомендуется:

1. Для выявления группы с максимальным риском рецидива заболевания следует выполнять забор перитонеальной жидкости во время проведения оперативного вмешательства с последующей оценкой уровня про- и противовоспалительных цитокинов, а также фактора роста тромбоцитов PDGF.

2. При выявлении в перитонеальной жидкости уровня провоспалительных цитокинов IL-1 β >100 пг/мл, IL-8 > 120 пг/мл, IFN- γ > 120 пг/мл, TNF- α > 90 пг/мл, и недостаточной продукции IL-10, следует выделить данных пациенток в отдельную группу с целью раннего выявления возможного рецидива эндометриоза.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Исходя из результатов проведенной работы следует ввести в лабораторный мониторинг всех женщин с эндометриозом, подвергшихся оперативному лечению для исследования уровней про- и противовоспалительных цитокинов и фактора роста тромбоцитов (PDGF) для определения прогноза и тактики ведения данных пациенток в послеоперационном периоде. В перспективе для дифференцированного подхода к ведению послеоперационного периода достаточно проведения анализа соотношения уровней про- и противовоспалительных цитокинов IL-10/IL1 β и IL-10/IFN γ , в качестве предикторов рецидивирующего течения заболевания. Исследования в сравнении параметров местного и системного иммунитета у женщин с эндометриозом позволит уточнить патогенез заболевания и используя патогенетическую терапию снизить число женщин с нарушением репродуктивной функции.

Включение исследования перитонеальной жидкости на про- и противовоспалительные цитокины и фактора роста тромбоцитов (PDGF) будет способствовать оптимизации лечения женщин с эндометриозом.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертации.

1. Соснин А.Н. Содержание про- и противовоспалительных цитокинов, фактора роста тромбоцитов в перитонеальной жидкости у женщин с наружным генитальным эндометриозом / А.Н. Соснин, Н.М. Калинина, И.В. Берлев // Цитокины и воспаление. – 2013. – Т.12, №4. – С. 92-95.

2. Соснин А.Н. Диагностическая значимость определения цитокинов и ростового фактора тромбоцитов в перитонеальной жидкости у женщин репродуктивного возраста с наружным генитальным эндометриозом / А.Н. Соснин, Н.М. Калинина, Берлев И.В. // Молекулярная медицина. – 2015. – №1– С. 52-54.

Статьи, тезисы докладов в материалах конференций и симпозиумов

3. Соснин А.Н. Оценка количественного состава провоспалительных цитокинов в перитонеальной жидкости у женщин репродуктивного возраста с эндометриозом яичников / А.Н. Соснин, И.В. Берлев, Н. М. Калинина, А.С. Басос, С.В. Кузнецов, Л.О. Чагунава // Сборник научных трудов «От фундаментальных наук к клинической практике». – СПб., 2012. – С. 199-200.

4. Соснин А.Н. Характеристика рецепторов стероидных гормонов – эстрогенов и прогестерона при эндометриозе яичников у женщин репродуктивного возраста в очагах эндометриоидных цистадемом яичников / А.Н. Соснин, Н.М. Калинина, И.В. Берлев // Материалы международной научно-практической конференции посвященной 20-летию Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России. – СПб., 2011 – С. 191-192.

5. Соснин А.Н. Роль про- и противовоспалительных цитокинов, фактора роста тромбоцитов в перитонеальной жидкости у женщин с наружным генитальным эндометриозом / А.Н. Соснин, Н.М. Калинина, И.В. Берлев // Тезисы международной научно-практической конференции «Многопрофильная клиника XXI века. Высокотехнологичная медицинская помощь». – СПб., 2014. – С. 217-220.

6. Берлев И.В. Современное выполнение лапароскопической гистерэктомии в многопрофильной клинике (15-и летний опыт выполнения) / И.В. Берлев, С.В. Кузнецов, А.С. Басос, А.Н. Соснин, О.Д. Чернухова, А.Б. Сапаров, О.С. Швырева //Тезисы международной научно-практической конференции «Многопрофильная клиника XXI века. Высокотехнологичная медицинская помощь». – СПб., 2014. – С.

28-34.

7. Берлев И.В. Современные способы эндовидеохирургического лечения пролапса гениталий с использованием сетчатых протезов (MESH-вагинопромонтофиксация) с многопрофильной клинике XXI века / И.В. Берлев, С.В. Кузнецов, А.Н. Соснин, Е.Ю. Амзаева // Тезисы международной научно-практической конференции «Многопрофильная клиника XXI века. Высокотехнологичная медицинская помощь». – СПб., 2014. – С. 34-35.

8. Кузнецов С.В. Принципы эндовидеохирургического лечения доброкачественных опухолей яичников при беременности в многопрофильном лечебном учреждении / С.В. Кузнецов, И.В. Берлев, А.Н. Соснин, О.С. Швырева, Е.Ю. Амзаева // Тезисы международной научно-практической конференции «Многопрофильная клиника XXI века. Высокотехнологичная медицинская помощь». – СПб., 2014. – С. 129-130.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

CD – cluster of differentiation (кластер дифференцировки)

IFN γ – интерферон - γ

IL-10 – интерлейкин 10

IL-1 β – интерлейкин 1 β

IL-6 – интерлейкин 6

IL-8 – интерлейкин 8

NK – натуральные киллеры

PDGF – (platelet-derived growth factor, англ.) фактор роста тромбоцитов

Th1- Т-хелперный первый тип ответа

TNF α – (tumor necrosis factor, англ.) фактор некроза опухоли альфа

аГнРГ – агонисты гонадотропин релизинг-гормона

ИФА – иммуноферментный анализ

Мф – макрофаги

МПК – макрофаги периферической крови

НГЭ – наружный генитальный эндометриоз

ПЖ – перитонеальная жидкость

ПМ - перитонеальные макрофаги

ЭК – эндометриоидные клетки