

УДК 618-053.6-06:618.174-084:612.017.1-092

РЕПРОДУКТИВНОЕ ЗДОРОВЬЕ ДЕВОЧЕК. РОЛЬ ЦИТОКИНОВ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА ПРИ ЮВЕНИЛЬНЫХ МАТОЧНЫХ КРОВОТЕЧЕНИЯХ

© 2007 © 2007 Т.А. Сивохина¹, А.А. Лашкина², Р.Б. Балтер, В.И. Чепанова, Э.Н. Малютина³

Исследована роль цитокинов в обеспечении гемостаза у девочек с ювенильными маточными кровотечениями. Показано, что у девочек с ЮМК, значительно меняется содержание интерлейкинов в сыворотке крови, и эти изменения зависят от степени выраженности анемии, развившейся в результате кровотечения и, вероятно, изменений в свертывающей системе крови.

Введение

Исследования цитокинов в физиологических и патологических реакциях человеческого организма – относительно новая область биологии и медицины. Предметом ее изучения являются информационные молекулы, продуцируемые различными клонами макрофагов, моноцитов и лимфоцитов, которые обеспечивают кооперацию и ответ клеток в процессе реализации их функций [1].

Следует отметить, что особое внимание в последние годы исследователи уделяют цитокинам, которые участвуют в формировании и регуляции защитных реакций организма и его гомеостаза [2].

Установлено, что цитокины вовлечены во все звенья гуморального и клеточного иммунного ответа, включая дифференцировку иммунокомпетентных клеток-предшественников, представление антигена, клеточную активацию и пролиферацию, экспрессию молекул адгезии и острофазового ответа. Некоторые из них способны проявлять множество биологических эффектов по отношению к различным клеткам-мишеням [3,4,5].

Действие цитокинов на клетки осуществляется следующими путями: аутокринно — на клетку, синтезирующую и секретирующую данный цитокин; пара-

¹ Сивохина Татьяна Александровна (sivohina@mail.ru), кафедра госпитальной педиатрии Самарского государственного медицинского университета. 443079, Россия, г. Самара, ул. Карла Маркса, 165.

² Лашкина Анна Александровна, кафедра акушерства и гинекологии ИПО СамГМУ. 443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, 89.

³ Балтер Регина Борисовна, Чепанова Виктория Ивановна, Малютина Элла Николаевна, кафедра акушерства и гинекологии №2 СамГМУ. 443010, ул. Галактионовская, 21.

кринно — на клетки, расположенные вблизи клетки-продуцента; эндокринно-дистанционно — на клетки любых органов и тканей после попадания цитокина в циркуляцию крови [6]. Образование и высвобождение цитокинов обычно происходит кратковременно и жёстко регулируется. Цитокины воздействуют на клетку, связываясь со специфическими рецепторами на цитоплазматической мембране, вызывая этим каскад реакций, ведущий к индукции, усилению или подавлению активности ряда регулируемых ими генов. Для цитокинов характерен сложный сетевой характер функционирования, при котором продукция одного из них влияет на образование или проявление активности ряда других [4,6].

Первичными медиаторами цитокиновой сети являются монокины (ИЛ-1, ИЛ-3, ИЛ-6, ФНО). Эти вещества включают каскад вторичных медиаторов, продуцируемых как макрофагами, так и Т-хелперами 1 и 2 типов [6].

Цитокины при этом, обладая полифункциональностью, обеспечивают все этапы воспалительного, гемостатического и иммунологического процессов [7,8,9].

До настоящего времени наибольшее число работ, посвященных исследованию содержания цитокинов в гинекологии, касались воспалительных процессов органов репродуктивной системы [7,10]. В нашем исследовании мы попытались оценить участие цитокинов в процессах обеспечения гемостаза у девочек с ювенильными маточными кровотечениями (ЮМК).

Материал и методы исследования

Для определения роли цитокинов в обеспечении процессов гемостаза, нами было обследовано 198 девушек-подростков с ЮМК, составивших основную группу и 92 практически здоровых девушек с нормальным менструальным циклом, которые составили контрольную группу. Возраст пациенток колебался от 11 до 17 лет при средних показателях $14,2 \pm 0,2$ года и $14,1 \pm 0,2$ года соответственно ($p > 0,05$).

Определение цитокинов осуществлялось на фотометре STAT FAX303plus иммуноферментным методом. Использовались следующие наборы реактивов Bender Medsystems: Human IL-8/NAP-1, человеческий TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-8.

Наш выбор был обусловлен биологическим действием указанных цитокинов и изменением их содержания в ответ на патологические процессы, происходящие в организме. Содержание цитокинов сопоставлялось с показателями периферической крови, которые определялись у всех девочек основной и контрольной группы.

При обработке полученных результатов использовались общепринятые методы медицинской статистики.

Результаты исследования

Учитывая тот факт, что сопутствующая ЮМК соматическая или гинекологическая патология, может оказывать влияние на выработку цитокинов, в процессе обследования, нами была проведена общая оценка состояния здоровья девочек, как в основной, так и в контрольной группе (табл.1).

Таблица 1

Выявленная в процессе обследования соматическая и гинекологическая патология у обследуемых девочек в основной и контрольной группе (% к числу девочек в группе)

Форма заболевания	МКБ	Число девочек в обследуемых группах (абс.- %)		Р
		Основная группа (n=198)	Контрольная группа (n=92)	
1	2	3	4	5
Анемия легкой степени (Hb 90-115 г/л)		94 47,5±3,6	3 3,2±1,9	<0,001
Анемия средней степени (Hb70-89 г/л)		58 29,3±3,2	-	-
Анемия тяжелой степени (Hb<70 г/л)		46 23,2±3,0	-	-
Хронические болезни миндалин	J 35	36 18,2±2,7	2 2,2±1,5	<0,001
Заболевания системы пищеварения	K 29.4	29 14,6±2,5	9 9,8±3,1	<0,01
Заболевания сердечно-сосудистой системы	I 10	19 9,6±2,1	8 8,6±6,7	<0,01
Заболевания почек и мочевыделительной системы	N 11.1	3 1,5±0,9	-	-
Ожирение I – IV степени	E 02	16 8,1±1,9	2 2,2±1,5	<0,05
Дефицит массы тела	E 01	36 18,2±1,9	4 4,3±2,1	<0,01
Нейроэндокринные синдромы	N 94.3	34 17,1±2,6	5 5,4±2,4	<0,05
Не выявлено патологии		-	59 64,1±5,0	-
Примечание:	p- показатель достоверности различия данных в сравниваемых группах			

Как видно из данных, представленных в таблице, все девочки основной группы страдали анемией различной степени тяжести, причем доля тяжелых анемий, послуживших причиной проведения хирургического гемостаза, составила 32,3%.

Оценивая структуру сопутствующих заболеваний в период обследования девочек, следует отметить, что группу «заболевания системы пищеварения» составили, преимущественно хронические гастриты, вне периода обострения.

В «заболевания сердечно-сосудистой системы» вошли такие нозологические формы, как пролапс митрального клапана и нарушение проводимости сердечной мышцы. Следует отметить, что эти состояния не требовали коррекции в период обращения девочек по поводу ЮМК. «Заболевания почек и мочевыделительной системы» составили хронические пиелонефриты в процессе ремиссии. Из нейро-эндокринных синдромов, следует выделить СКЯ (5 $2,5 \pm 1,1\%$) и гипоталамический синдром (4 $2,0 \pm 1,0\%$).

Учитывая значимость анемии в тактике выбора лечебных мероприятий, а также включение компенсаторных механизмов, в том числе изменения в системе гемостаза, как реакцию на кровопотерю, нами подробно были исследованы показатели периферической крови у девочек с ЮМК и девушек контрольной группы.

Таблица 2

Средние показатели периферической крови у девочек с ЮМК и в контрольной группе в зависимости от степени анемии

Показатель	Основная группа (n=198)			Контрольная группа (n=92)
	Анемия легкой степени (n=94)	Анемия средней степени (n=58)	Анемия тяжелой степени (n=46)	
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	$3,2 \pm 0,4$	$2,6 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,3^*$	$4,5 \pm 0,3$
Гемоглобин, г/л	$95,4 \pm 2,1$	$79,3 \pm 0,4$	$63,7 \pm 0,3^*$	$125,0 \pm 1,5$
Гематокрит, %	$32,1 \pm 0,4$	$31,6 \pm 0,2$	$27,3 \pm 0,4$	$38,6 \pm 0,4$
Лейкоциты, $\times 10^9$	$6,9 \pm 0,2$	$7,5 \pm 0,4$	$8,4 \pm 0,5$	$6,9 \pm 0,4$
Эозинофилы, %	$1,4 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,2$	$2,0 \pm 0,4$	$1,7 \pm 0,2$
Миелоциты и юные нейтрофилы, %	$0,12 \pm 0,03$	$0,22 \pm 0,04^{***}$	$0,36 \pm 0,03^{**}$ *	$0,05 \pm 0,02$
Палочкоядерные нейтрофилы, %	$6,1 \pm 0,4$	$6,7 \pm 0,3^*$	$7,1 \pm 0,5^*$	$4,9 \pm 0,3$
Сегментоядерные нейтрофилы, %	$63,5 \pm 1,6$	$69,5 \pm 1,5$	$70,0 \pm 1,4$	$67,0 \pm 1,3$
Лимфоциты, %	$22,4 \pm 0,5$	$17,5 \pm 0,4$	$14,6 \pm 0,3^*$	$27,5 \pm 0,7$
Моноциты, %	$5,1 \pm 0,4$	$5,3 \pm 0,3$	$5,6 \pm 0,2^*$	$4,8 \pm 0,3$
Средний объем эритроцитов, $мкм^3$	$93 \pm 1,5$	$74 \pm 1,5^*$	$68 \pm 1,8^{**}$	$90 \pm 1,0$

Продолжение таблицы 2

Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	29,5±0,4	25,4±0,5*	22,4±0,3**	31,2±0,3
Среднее концентрация гемоглобина в эритроците, %	31,5±0,3	28,2±0,5	26,4±0,4*	34,6±0,4
СОЭ, мм/ч	12,4±1,9	19±1,6**	35±2,0***	10,5±1,8
Примечание: *- показатель достоверности различия показателей у девочек в сравниваемых группах (p<0,05) ** показатель достоверности различия показателей у девочек в сравниваемых группах (p<0,01) ***показатель достоверности различия показателей у девочек в сравниваемых группах (p<0,001)				

Как видно из данных, представленных в таблице, помимо снижения уровня гемоглобина и эритроцитов, у девочек с анемией среднетяжелой и тяжелой степени повышался уровень миелоцитов и нейтрофилов, отмечался умеренный лейкоцитоз, повышение скорости оседания эритроцитов, связанное, по-видимому, с уменьшением среднего объема эритроцитов. Все эти реакции свидетельствуют о включении механизмов компенсации кровопотери, подтверждением которых являются описанные далее изменения цитокиновых показателей.

Обобщая сведения о состоянии здоровья девочек с ЮМК и контрольной группы следует отметить, что сопутствующая патология, за исключением анемии, не должна существенно отразиться на лабораторных показателях.

Дальнейшее изучение содержания цитокинов у девочек с ЮМК и в контрольной группе позволили выявить ряд различий (Табл. 3).

Таблица 3

Среднее содержание цитокинов в крови девочек в основной (до проведения гемостаза) и контрольной группе(по уровню показателя пг/мл)

Группы девочек	Содержание цитокинов (пг/мл)			
	IL-1β	IL-4	IL-8	TNFα
Основная группа (n=198)	26,9±1,6	86,6±14,7	25,6±0,9	9,3±0,5
Контрольная группа (n=92)	5,88±0,4	9,3±1,6	1,4±0,2	1,5±0,3
P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Примечание:	p- показатель достоверности различия показателей у девочек в сравниваемых группах			

Как видно из данных, представленных в таблице, у девочек с ЮМК имеют место достоверные различия в содержании практически всех цитокинов, особенно значимые (превышение показателей в 18,2 раза) по содержанию IL-8.

Дальнейшие исследования показали, что у девочек с ЮМК в зависимости от степени выраженности анемии имеют место различия в содержании того или иного вида цитокинов.

Так, показатели цитокинов у пациенток с легкой степенью анемии, отражены на рисунке 1.

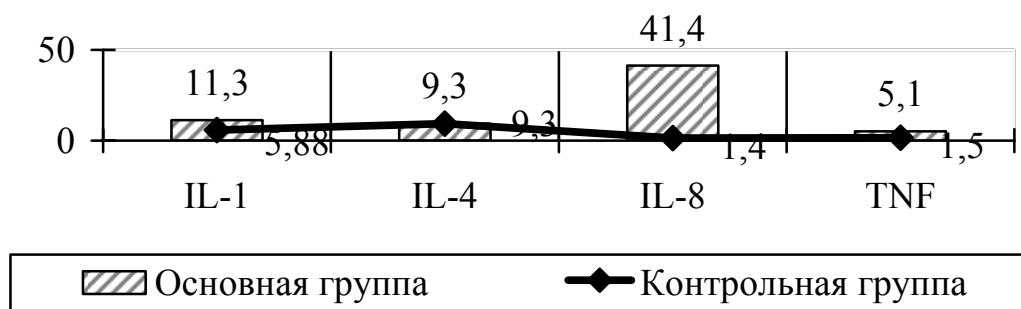


Рис. 1. Среднее содержание цитокинов у девочек с ЮМК и анемией легкой степени тяжести (пг/мл)

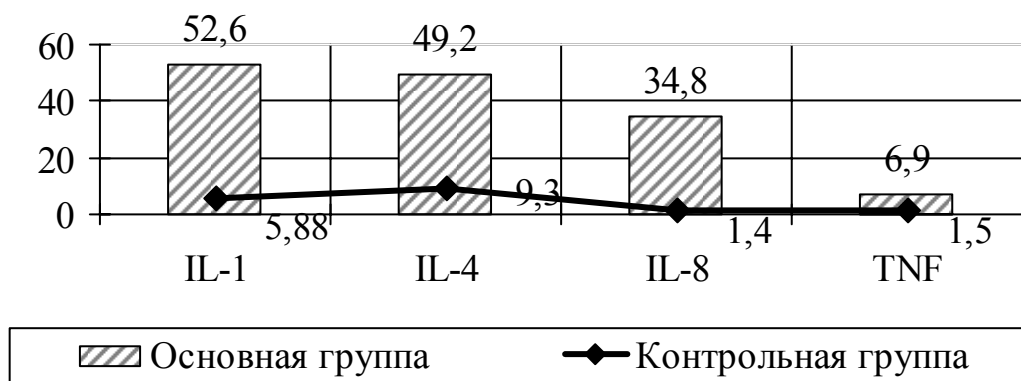


Рис. 2. Среднее содержание цитокинов у девочек с ЮМК и анемией средней степени тяжести (пг/мл)

Из представленного рисунка видно, что у девочек с анемией легкой степени имеет место умеренное повышение содержания IL-1 β и TNF α , значительное (почти в 30 раз) повышение содержания IL-8 и практически нормальный уровень IL-4. На наш взгляд это связано с запуском компенсаторных механизмов, имеющих место при маточном кровотечении. Учитывая тот факт, что IL-1 β индуцирует прокоагулянтную активность и регулирует функции эндотелия, а также совместно с IL-8 и TNF α стимулирует образование апопротеина III, повышение этих

цитокинов закономерно. Что касается IL-4, этот цитокин относится к противовоспалительным и имеет значение при присоединении иммунного реагирования на патологический процесс.

Цитокиновые показатели девочек с ЮМК и анемией средней степени тяжести отражены на рисунке 2.

Как видно из данных, представленных в рисунке 2, у этих пациенток уровень всех цитокинов значительно выше, чем в группе контроля. Вместе с тем, IL-1 β повышен более значительно, чем при анемии легкой степени, его значения превышают контрольные показатели почти в 10 раз. Значительно повышается уровень IL-4 (почти в 5 раз от показателей контрольной группы и значений девочек с анемией легкой степени). На наш взгляд это связано с присоединением воспалительной реакции и свойством IL-4 усиливать хемотаксис и адгезивные свойства лейкоцитов, рост которых отмечается при анемии средней степени тяжести.

У девочек с анемией тяжелой степени, у которых регистрируются помимо изменения показателей периферической крови, нарушения гемостаза, изменения содержания цитокинов носят еще более выраженный характер. Так, содержание IL-1 β превышает уровень контрольной группы только в 3 раза, вместе с тем имеется значительный рост TNF α (почти в 10 раз), уровень IL-4 увеличивается более чем в 20 раз, в то время как продукция IL-8 превышает контрольные показатели только в 5 раз (Рис. 3).

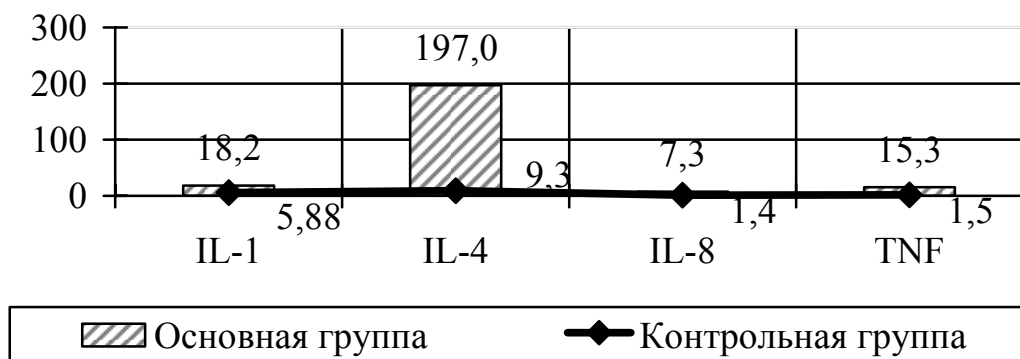


Рисунок 3. Среднее содержание цитокинов у девочек с ЮМК и анемией тяжелой степени (пг/мл)

Имеющиеся изменения содержания цитокинов мы связываем с развитием значительных нарушений в системе гемостаза.

Таким образом, суммируя сведения, полученные в результате исследования цитокинов, установлено, что у девочек с ЮМК, значительно меняется содержание интерлейкинов в сыворотке крови, и эти изменения зависят от степени выраженности анемии, развившейся в результате кровотечения и, вероятно изменений в свертывающей системе крови.

Учитывая вышеизложенное, мы считаем целесообразным рассматривать клинические проявления ЮМК в контексте с содержанием цитокинов в сыворотке крови, что позволит прогнозировать дальнейшее течение заболевания и возможный рецидив кровотечения.

В тоже время в процессе обследования и лечения необходимо сопоставление цитокиновых показателей с данными гемостазиограммы, поскольку каждый их перечисленных цитокинов принимает участие в обеспечении сосудисто-тромбоцитарного гемостаза.

Проведенные исследования подтверждают, что изменения содержания цитокинов в сыворотке крови девочек, страдающих ЮМК, являются важными лабораторными показателями, а их определение при массовых исследованиях позволит выделить группы повышенного риска по развитию рецидива кровотечения и, соответственно, проводить своевременную коррекцию патологических состояний.

Вместе с тем, для более четкого представления о цитокиновой активности у девочек с ЮМК необходима разработка норм конкретной лаборатории, в которой проводится исследование, в целях предотвращения диагностических ошибок и некорректной трактовки полученных результатов.

Литература

- [1] Витковский, Ю.А. Влияние интерлейкинов 4 и 10 на систему гемостаза *in vitro* / Ю.А. Витковский // Иммунология. – 2001. – № 1. – С. 43-46.
- [2] Витковский, Ю.А. Влияние интерлейкина 1 на свертываемость крови и фибринолиз / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник // Гематол. трансфузиол. – 1999. – № 2. – С. 27-30.
- [3] Гумилевская, О.П. Цитокины и воспаление / О.П. Гумилевская, Б.Ю. Гумилевский, Ю.В. Антонов. – 2002. – № 2. – С. 94.
- [4] Демьянов, А.В. Цитокины и воспаление / А.В. Демьянов, А.Ю. Котов, А.С. Симбирцев. – 2003. – № 3. – С. 20–35.
- [5] Дьяченко, А.А. Пролиферативная активность лимфоцитов и цитокиновый профиль при хронических гепатитах / А.А. Дьяченко // Аллергология и иммунология. – 2000. – Т. 1. – № 2. – С. 108.
- [6] Кетлинский, С.А. Роль Т-хелперов типов 1 и 2 в регуляции клеточного и гуморального иммунитета / С.А. Кетлинский // Иммунология. – 2002. – Т. 23. – № 2. – С. 77-79.
- [7] Кузник, Б.И. Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма / Б.И. Кузник // АМН СССР. – М., 1989. – С. 320.
- [8] Струкова, С.М. Гемостаз в динамике первой недели жизни как отражение механизмов адаптации к внеутробной жизни новорожденного / С.М. Струкова // Педиатрия и неонатология: <http://www.medlinks.ru> – 26.09.2005.
- [9] Симбирцев, А.С. Цитокины и воспаление. – 2002. – № 1. – С. 9-16.

- [10] Тугуз, А.Р. Динамика содержания TNF, IL1, IL4, IL6 в раннем послеоперационном периоде у больных раком желудка / А.Р. Тугуз // Иммунология. – 2002. – Т. 23. – № 1. – С. 59 – 61.

Статья поступила в редакцию 25/IX/2006;
в окончательном варианте – 26/XII/2006.

GIRLS REPRODUCTIVE HEALTH. THE ROLE OF CYTOKINE IN HEMOSTASIS SYSTEM JUVENILE METRORRHAGIA

© 2007 T.A. Sivokhina⁴, A. Lashkina, R. Balter, R. Chepanova, E. Malutina⁵

In the paper the role of cytokine in guaranteeing of hemostasis at girls with juvenile metrorrhagia (JM) is studied. It is shown that girls with JM have much changeable interleukin content in blood serum, and this changes depends on degree of manifestation of anaemia progressing as a result of bleeding.

Paper received 25/IX/2006.

Paper accepted 26/XII/2006.

⁴ Sivokhina Tatiana Alexandrovna, Dept. of Pediatrics, Samara State Medical University, Samara, 443079, Russia.

⁵ Lashkina Anna, Balter Regina, Chepanova Viktoria, Malutina Ella, Dept. of Obstetrics and Gynaecology, State Medical University, Samara, 443010, Russia.