

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАКТОРА, ИНГИБИРУЮЩЕГО ЛЕЙКЕМИЮ, В ЦЕРВИКАЛЬНОЙ СЛИЗИ МАТКИ КАК МЕТОД ДИАГНОСТИКИ НАРУШЕНИЙ РОСТА И РАЗВИТИЯ ЭНДОМЕТРИЯ

Э.М.Амбарцумян

/Госпиталь Антуана-Беклера, Кламар, Париж/

Ключевые слова: фактор, ингибирующий лейкемию; цервикальная слизь матки, эндометрий, неинвазивный метод, бесплодие

Несмотря на значительный прогресс последних лет в лечении бесплодия, успешная беременность после экстракорпорального оплодотворения наступает только в 20–25% случаев. Это обусловлено тем, что многие тонкие молекулярные механизмы, сопровождающие процесс имплантации не выяснены, и надежных методов, обеспечивающих шансы успешной беременности при лечении бесплодия, пока нет.

В последнее время внимание ученых всего мира привлечено к изучению роли цитокинов в репродукции человека. Цитокины — это биологически активные вещества, играющие важную роль в функции клетки и передаче сигналов. Роли этих молекул в процессе имплантации, прогрессирования беременности и родов посвящено множество исследований [1].

Было описано наличие в цервикальной слизи (ЦС) матки таких важных в репродукции человека цитокинов, как Tumor Necrosis Factor- α , Interferon- γ , Interleukin-6 (IL-6), IL-8 [2,4,5].

Были выдвинуты предположения о посреднической роли этих цитокинов в таких важных функциях ЦС, как иммунная и барьерная, при восходящей инфекции матки или малигнизации эпителия шейки матки, депо-транспортная функция сперматозоидов. Показано также, что уровень цитокина IL-6 в ЦС матки у бесплодных женщин ниже по сравнению с фертильной группой [6].

Однако вопрос о том, отражает ли активность цитокинов в ЦС процессы, происходящие в матке, в частности уровень рецептивности матки к беременности, до сих пор в доступной нам литературе не освещен.

С целью исследования этой гипотезы в настоящей работе мы изучили взаимоотношения между уровнем фактора, ингибирующего лейкемию (ФИЛ) в ЦС, и данными влагалищного ультразвукового исследования эндометрия.

Исследования последних лет, включая и наши, показали, что ФИЛ является одним из важнейших цитокинов, вовлеченных в репродуктивный процесс животных и человека [7-11]. Нами было показано, что недостаточная продукция эндометриального ФИЛ является одной из причин женского бесплодия неясной этиологии, а также была выявлена секреция этого цитокина в ЦС матки и тесная взаимосвязь между его уровнем в ЦС и эндометрии [11,12].

Материал и методы

Уровень рецептивности матки к беременности определялся нами ультразвуковым исследованием роста, развития и зрелости эндометрия.

Исследования проведены у одиннадцати женщин-добровольцев, которые являлись кандидатами для экстракорпорального оплодотворения, из них девять женщин страдали первичным, две — вторичным бесплодием. Возраст женщин составлял 26 — 38 лет ($35 \pm 1,6$), продолжительность бесплодия колебалась от 1 до 9 лет ($4,4 \pm 0,8$). Каких-либо урогенитальных инфекций не отмечалось.

Ввиду того, что биохимические характеристики ЦС, так же как и секреция ФИЛ маткой гормонально зависимы, забор ЦС был произведен на 10-й день цикла. Этот срок был выбран по причине его относительной отдаленности от менструации, с одной стороны, и от преовуляторного пика лютеинизирующего гормона, — с другой. Забор ЦС производился стерильной пипеткой Cornier (CCD Laboratoire, France). Протокол культивирования подробно описан в предыдущих работах [11]. После тщательного визуального исследования ЦС отделялась от примеси крови и тканей.

ЦС (200 мг) культивировалась в 12 мл среды, содержащей RPMI 1640, 10% бычьей плодовой сыворотки и антибиотика при $t 37C^0$ и CO_2 5%. После 24 ч инкубации произведен забор среды, которая слепо кодировалась перед определением ФИЛ. Определение количества ФИЛ производилось методом ELIZA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), подробно описанным Таурен et al. [13]. Уровень ФИЛ в наших исследованиях выражен в пикограммах (пг) общей продукции цитокина в среде в течение 24 ч инкубации. Порог определения цитокина был ниже 25 нг/мл.

Влагалищное ультразвуковое исследование матки производилось сразу после забора слизи шейки матки. Исследования произведены с использованием сканера, работающего в режиме реального времени (Mitsubishi, Diamond Scan 20M, USA) и экипированного проводником 7 МГц (модель С 9-5). Продольный разрез матки был исследован для определения толщины эндометрия (сумма двух слоев). Консистенция эндометрия оценивалась как благоприятная для беременности (зрелый эндометрий, градация "А") при наличии трех слоев характерной гетерогенности. Неблагоприятный для беременности эндометрий (незрелый

эндометрий градация "В") был определен при эхоскопической картине гомозиготно-уплотненной консистенции эндометрия.

Цифровые данные выражены как среднее \pm SEM. Линейный регрессивный анализ использован для определения корреляции между данными. Результаты считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Продукция ФИЛ in vitro была выявлена в ЦС матки у 10 из 11 женщин. Последующий статистический анализ произведен только для этих 10 женщин, однако на рис. 1 и 2 представлены данные всех исследований.

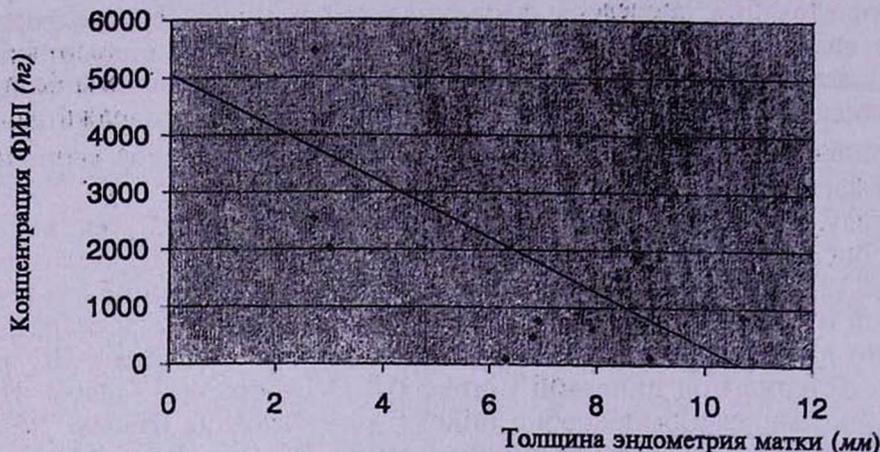


Рис. 1. Зависимость толщины эндометрия от концентрации ФИЛ в ЦС матки

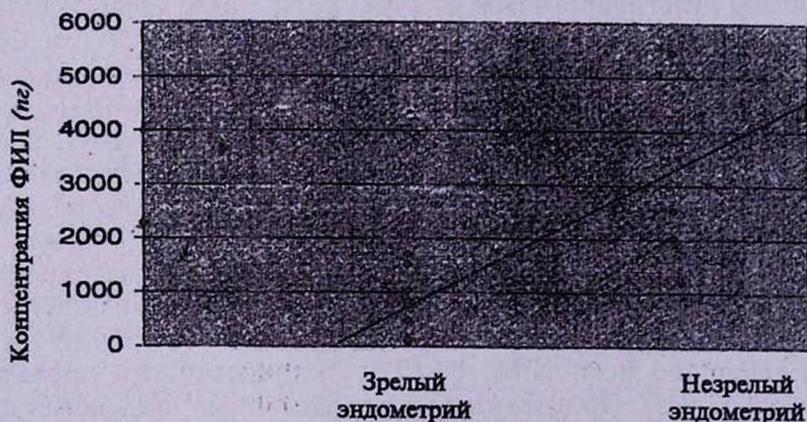


Рис. 2. Соотношение между уровнем ФИЛ в ЦС матки со степенью зрелости эндометрия

Концентрация ФИЛ в среде варьировала от 132 до 5460 пг (1671 ± 478 пг), толщина эндометрия — от 2,7 до 10,7 мм, в среднем составляя $6,8 \pm 0,9$ мм. Зрелый эндометрий (градация "А") выявлен у 7, незрелый (градация "В") — у 3 женщин.

Линейный регрессивный анализ выявил выраженную негативную корреляцию между уровнем ФИЛ в ЦС матки и толщиной эндометрия ($R = -0,64$, $p < 0,05$; рис. 1). Аналогичная достоверная взаимосвязь обнаружена между уровнем ФИЛ в ЦС и степенью зрелости эндометрия ($R = -0,72$, $p < 0,05$; рис. 2). Уровень ФИЛ в ЦС не коррелировал с возрастом обследованных или продолжительностью бесплодия ($p > 0,1$).

В настоящей работе нами проведена одна из первых попыток диагностировать готовность эндометрия к беременности на основе неинвазивных иммунохимических исследований. Результаты ультразвуковых исследований показали, что уровень цитокина ФИЛ в ЦС матки находится в тесной обратозависимой корреляции с такими циклическими параметрами эндометриальной рецептивности, как рост, развитие и зрелость.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в пролиферативной фазе цикла высокий уровень ФИЛ в ЦС матки может сопутствовать нарушениям в росте и рецептивности эндометрия. В предыдущих исследованиях нами показано, что высокая концентрация ФИЛ в пролиферативном эндометрии связана с недостаточным его ростом и развитием [14], что говорит о дисфункции продукции цитокина у женщин, страдающих бесплодием [11].

Результаты этих работ свидетельствуют, что определение уровня ФИЛ в эндометрии может служить потенциально важным критерием степени готовности матки к беременности при лечении бесплодия. Однако определение уровня ФИЛ в эндометрии требует проведения биопсии, что снижает диагностическую ценность метода, так как беременность не может быть рекомендована, а экстракорпоральное оплодотворение не может быть произведено в тот же месяц.

Предложенный в настоящей работе метод определения ФИЛ в ЦС позволяет не только избежать потенциальную опасность, но и получить информацию о готовности эндометрия к беременности в пределах того же цикла.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что определение уровня ФИЛ в ЦС матки является новым неинвазивным диагностическим тестом определения готовности матки к последующей беременности.

Поступила 15.08.99

ԱՐԳԱՆԴԻ ՎՁԻԿԻ ԼՈՐՉՈՒՄ ԼԵՑԿԵՄԻԱՅԻ ԱՐԳԵԼԱԿԻՉ ԳՈՐԾՈՆԻ
ՈՐՈՇՈՒՄԸ ՈՐՊԵՍ ԷՆԴՈՄԵՏՐԻՈՒՄԻ ԱՃԻ ԵՎ ԶԱՐԳԱՑՄԱՆ
ԽԱՆԳԱՐՄԱՆ ԱՆՏՈՐՈՇՄԱՆ ՄԵԹՈԴ

Է.Մ.Համբարձումյան

Հետազոտված 11 կանանցից 10-ի արգանդի վզիկի լորձում (ՎԼ) հայտնաբերված է լեյկեմիայի արգելակիչ գործոն (ԼԱԳ): ԼԱԳ-ի քանակը միջին հաշվով հավասար է 1671 ± 478 պգ: Գծային ռեգրեսիվ վիճակագրական մշակման եղանակով պարզվում է, որ էնդոմետրիումի հաստության և արգանդի ՎԼ-ի ԼԱԳ-ի մակարդակի միջև գոյություն ունի հակադարձ հարաբերական կապ ($R = -0,64$; $P < 0,05$): Մերա հակադարձ հարաբերություն գոյություն ունի նաև արգանդի ՎԼ-ի ԼԱԳ-ի և էնդոմետրիումի հասունացման աստիճանի միջև ($R = -0,72$; $P < 0,05$): Արգանդի ՎԼ-ի ԼԱԳ-ի և էնդոմետրիումի աճի և զարգացման աստիճանի հարաբերակցությունն այս ձևով արտացոլում է արգանդի հետագա հղիության հուսալիությունը:

Գտնում ենք, որ արգանդի ՎԼ-ի ԼԱԳ-ի որոշումը վերարտադրողական բժշկության մեջ կարող է հանդիսանալ նոր անվնաս ախտորոշիչ եղանակ:

LEUKEMIA INHIBITORY FACTOR DETERMINATION IN ENDOMETRIAL CERVICAL
MUCOSE AS A METHOD FOR DIAGNOS OF DISORDERS
IN ENDOMETRIA GROWTH AND DEVELOPMENT

E.M.Hambartsoumian

Leukemia inhibitory factor (LIF) was revealed in 10 out of 11 biopats of endometrial cervical mucose (CM). The average level of LIF was 1671 ± 478 pg. Statistic analysis by the method of linear regression has demonstrated a reliable negative correlation between the endometrial thickness and the LIF level in CM ($R = -0,64$; $p < 0,05$). A close feedback is revealed between the LIF level in CM and the level of endometrial maturity also. ($R = -0,72$; $p < 0,05$). The LIF level in CM closely correlates with the level of endometrial growth and maturity, reflecting its readiness to pregnancy.

We suppose that LIF determination in CM may become a new noninvasive diagnostic method in reproductive medicine.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Hambartsoumian E., Taylor S., Villes Y. et al.* Gynecol. Internationale, 1998, 7-8, p. 278.
2. *Naz R.K., Kaplan P. J.* Androl., 1994, 15, p. 228.
3. *Hill J.A., Haimovichi F., Politch J.A., Anderson D.J.* Fertil. Steril., 1987, 47, p. 460.
4. *Kutteh W.H., Yetman D.L.* Fertil. Steril., 1996 (Suppl.) Abstr. O-132.
5. *Naz R.K., Butler A., Witt B.R. et al.* J. Reprod. Immunol., 1995, 29, p.105.
6. *Naz R.K., Butler A.* Am. J. Reprod. Immunol., 1996, 35, p. 534.
7. *Stewart C.L., Kapsar P., Brunet L.J. et al.* Nature, 1992, 359, p. 76.
8. *Arici A., Engin O., Atar E. et al.* J. Clin. Endocrinol. Metab., 1995, 80, p. 1908.
9. *Delage G., Moreau J.F., Taupin J.L. et al.* Hum. Reprod., 1995, 10, p. 2483.
10. *Kojima K., Kanzaki H., Iwai M. et al.* Biol. Reprod., 1994, 50, p. 882.
11. *Hambartsoumian E.* Am. J. Reprod. Immunol., 1998, 39, p. 137.
12. *Hambartsoumian E.* Fertil. Steril., 1997a, O-035.
13. *Taupin J.L., Acres B., Dott K. et al.* Scand. J. Immunol., 1993, 38, p.293.
14. *Hambartsoumian E.* Am. J. Reprod. Immunol., 1997b, 37, 4, p. 320.