

УДК 618.145-002-002.4+577.112.85:577.218

Г.Д. Коваль

## РОЛЬ ТРАНСФОРМУВАЛЬНОГО ФАКТОРУ РОСТУ- $\beta$ ТА МАТРИЧНОЇ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ-9 В ІМУНОПАТОГЕНЕЗІ ЕНДОМЕТРІОЗУ, ПОЄДНАНОГО З БЕЗПЛІДДЯМ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

**Резюме.** У розвитку ендометріозу та поєданого з ним безпліддя важлива роль належить імунологічним процесам, які характеризуються високою активністю цитокінів і факторів росту (зокрема, трансформувального фактору росту- $\beta$  (ТФР- $\beta$ )) та підвищеною інвазивністю ектопічного ендометрія, у тому числі, за рахунок активності матричних металопротеїнази (ММП). ТФР- $\beta$  проявляє різні біологічні властивості і відіграє ключову роль у міграції, проліферації і диференціюванні клітин.

Досліджено концентрацію ТФР- $\beta$  у сироватці крові та перитонеальній рідині 65 жінок із зовнішнім генітальним ендометріозом та безпліддям. Виявлено підвищення рівня ТФР- $\beta$  у перитонеальній рідині, що асоціюється з підвищеною активністю ММП-9 у вогнищах ектопічного ендометрія.

**Ключові слова:** цитокіни, трансформувальний фактор росту- $\beta$ , матричні металопротеїнази, безпліддя, ендометріоз.

**Вступ.** Зовнішній генітальний ендометріоз (ЗГЕ) – доброякісне розростання тканини, за морфологічними та функціональними властивостями подібної на ендометрій, поза межами порожнини матки. Ендометріодні вогнища характеризуються гістологічно нормальним епітелієм, залозами і стромою, містять ті ж рецептори до стероїдних гормонів і можуть «відповідати» на гормональні зміни, зумовлені циклічними коливаннями активності гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникової системи [4, 6]. Ендометріоз відноситься до числа найпоширеніших захворювань. Серед жінок репродуктивного віку трапляється в 7-15 % випадків, у разі безпліддя – у 25-40 %, а при хронічних тазових болях – у 40-70 % [2, 3, 7]. Однак істинну частоту ЗГЕ оцінити вкрай важко, оскільки в частини пацієнток він проходить із маловираженими симптомами, а сучасні діагностичні методи підтверджують цю хворобу вже на етапі лапароскопічного втручання [2, 3, 7]. Великий ризик розвитку ЗГЕ відзначений у жінок із раннім менархе, нерегулярним менструальним циклом і запізненим настанням першої вагітності [1, 7]. Відповідно до сучасних уявлень про природу ендометріозу вважається, що це поліетіологічне захворювання із залученням генетичних, ендокринних та імунних механізмів [1, 3, 7]. Ендометріоз – важлива медико-соціальна проблема, оскільки уражує жінок репродуктивного віку, тяжко піддається лікуванню та призводить до безпліддя в більшості випадків. Ускладнює проблему ендометріозу відсутність інформативних, неінвазивних методів діагностики, а стандартні підходи переважно базуються на лапароскопії, що практично унеможливує контроль перебігу захворювання в динаміці лікування. Тому, останніми роками увага вчених прикута до розв'язання проблеми неінвазивної діагностики ендометріозу, на основі вивчення патогенетичних механізмів його розвитку та їх маркерів [7].

Імунні механізми розвитку ендометріозу є мішенню для активного дослідження в усьому світі. Серед великої кількості елементів імунної

системи найбільший інтерес для вивчення в аспекті можливого прикладного значення для діагностики та прогнозування перебігу ендометріозу викликають цитокіни, оскільки вони мають здатність негайно реагувати на будь-який запальний процес, змінюючи свою концентрацію, і їх легко досліджувати. З іншого боку, не зовсім зрозумілими є й причини розвитку безпліддя за ендометріозу, а частота ендометріозу без безпліддя точно не відома, тому що ендометріоз виявляється лише при діагностичній лапароскопії, а враховуючи те, що його симптоматика неспецифічна (болі в попереку, дизурія, диспареунія тощо), то пацієнтки звертаються в клініку переважно лише з причини безпліддя. Тому, вивчення ролі цитокінів при ендометріозі, поєданому з безпліддям, є ще актуальним питанням для розуміння імунологічних аспектів формування безпліддя. Відомо, що цитокіни утворюють взаємопов'язані сітки, каскадно ініціюють вивільнення один одного, можуть бути синергістами та антагоністами та мають певні особливості при кожній окремо взятій патології. Незважаючи на досить велику кількість робіт, результати досліджень стосовно особливостей цитокінового профілю та їх ролі у формуванні ендометріозу та асоційованого з ним безпліддя досить різняться між собою, і це питання не втрачає своєї актуальності.

Важливим аспектом ЗГЕ є формування спайкового процесу, який зокрема зумовлений пошкодженням мезотелію та базальної мембрани серозної оболонки перитонеальної порожнини із залученням у процес основних клітин сполучної тканини – фібробластів та підвищеною продукцією ними колагену. Серед імунних чинників, що сприяють активації розростання сполучної тканини (та самої ектопічної ендометріозної тканини), велику роль відіграє ТФР- $\beta$ , який є основним із профібротичних цитокінів [13]. ТФР- $\beta$  належить до суперсімейства трансформувальних ростових факторів- $\beta$ , які являють собою велику родину структурно пов'язаних регуляторних білків, перший з яких був описаний у 1983 році. Білки сі-

мейства ТФР- $\beta$  можуть стимулювати проліферацію деяких фібробластних клітин, блокувати ріст епітеліальних, ендотеліальних клітин та попередників гемопоєзу, і, крім того, стимулювати або інгібувати розвиток певних клітинних типів нейронального або мезенхімального походження [11, 13, 14]. ТФР- $\beta$  продукується багатьма клітинами (наприклад макрофагами, тромбоцитами), що інфільтрують зони запалення під час відновлення тканин [14].

Одним із основних біологічних ефектів ТФР- $\beta$  є сприяння набору фібробластів у місці рани і синтезу структурних білків матриксу [9]; обидва процеси мають вирішальне значення для фіброгенезу. Таким чином, ТФР- $\beta$  є одним із найважливіших посередників для генерації та мобілізації фібробластів, необхідних для фіброгенезу, а фібробласти, у свою чергу, відповідають за продукцію матриксних білків [9, 11]. ТФР- $\beta$  сприяє накопиченню цих білків, викликаючи фенотипічну зміну фібробластів до вискоєфективної продукції матричних протеїнів. Ще майже 20 років тому показано, що екзогенне застосування ТФР- $\beta$  при лікуванні ран прискорює продукцію колагену і покращує загоєння ран [13]. Таким чином, ТФР- $\beta$  має важливе значення в імунопатогенезі ендометріозу, а особливо, розростанні сполучної тканини в зонах ендометріюїдних інвазій. Окрім того, при ЗГЕ трансформуюча активність ТФР- $\beta$  виражається, насамперед, інгібуванням зростання клітин нормального ендотелію і контролюється естрадіолом.

З іншого боку, як показано в попередніх дослідженнях [6], інвазивність ендометріюїдних гетеротопій підтримується підвищеною експресією матриксних металопротеїназ (ММП), які сприяють руйнуванню міжклітинного матриксу оболонки очеревини та сприяють інвазії ектопій. У цьому аспекті відомо, що ТФР- $\beta$  також інгібує експресію ферментів, що каталізують катаболізм матриксних білків, таких, як ММП, та індукує експресію інгібіторів ММП, таких, як тканинний інгібітор металопротеїнази (ТІМП) [8, 11]. Останні, у свою чергу, відіграють важливу роль у процесах запліднення та імплантації.

Тому дослідження особливостей продукції ТФР- $\beta$  та експресії ММП при ендометріозі та безплідді, на нашу думку, має наукове та практичне значення та, в разі розв'язання, дозволить ближче підійти до розуміння механізмів безпліддя при ендометріозі та можливості патогенетичного лікування ендометріозу.

**Мета дослідження.** Визначити рівень ТФР- $\beta$  у сироватці крові та перитонеальній рідині в жінок з ендометріозом, поєднаним із безпліддям, та встановити його взаємозв'язок з активністю ММП-9 на ектопічному ендометрії.

**Матеріал і методи.** Досліджувану групу склали 65 жінок репродуктивного віку з зовнішнім генітальним ендометріозом (ЗГЕ), асоційованим із безпліддям (віком від 18 до 43 років, середній вік становив 31,01 року), а контрольну групу – 33 жінки з діагнозом безпліддя трубного генезу (віком від 19 до 44 років, середній вік становив

29,49 років). Всі жінки надійшли в клініку з діагнозом безпліддя, впродовж не менше двох років (середня тривалість безпліддя становила 4,4 року). З метою в'яснення природи безпліддя всім пацієнткам проведена діагностично-лікувальна лапароскопія, під час якої встановлений кінцевий діагноз. Зокрема, діагноз ЗГЕ встановлювався на основі характерної візуальної картини під час лапароскопічної операції та підтверджувався результатами гістологічного дослідження. Кінцевий діагноз безпліддя трубного генезу також встановлювався під час лапароскопії на основі двобічної трубної непрохідності. Причому контрольну групу склали пацієнтки, які на момент дослідження не мали ознак гострого запалення, а трубний фактор безпліддя був наслідком давно перенесеного запального процесу. Про це свідчили негативні результати мікробіологічних та вірусологічних досліджень. На момент дослідження в жінок обох груп не виявлено будь-якої патології з боку інших органів та систем. Всі операції проводилися в інтервалі 14-20 днів менструального циклу. Перитонеальна рідина відбиралася під час проведення лапароскопічного втручання, а кров – перед операцією. Визначення рівнів ТФР- $\beta$  у сироватці крові та перитонеальній рідині проводили імуноферментним методом на наборах фірми "Вектор Бест" виробництва Росія на приладі «STAT FAX 303 PLUS». Визначення активності ММП-9 проводилося імуногістохімічним методом за стандартною методикою з використанням кролячих моноклональних антитіл проти людських ММП-9 виробництва фірми Dako (досліджено 15 зразків ектопічного ендометрія від жінок з ендометріозом). Всі отримані числові дані обробляли за допомогою комп'ютерної програми «Statistika 6.0». Визначення достовірності проводилося шляхом опцій «визначення t-критерію Стьюдента для незалежних виборок» для контрольної та досліджуваної груп та «визначення t-критерію Стьюдента для залежних виборок» для порівняння рівня ТФР- $\beta$  у сироватці крові та перитонеальній рідині в межах однієї групи.

#### **Результати дослідження та їх обговорення.**

Проведене дослідження рівня ТФР- $\beta$  у сироватці крові в жінок із ЗГЕ та безпліддям продемонструвало відсутність достовірної різниці цього показника відносно такого в пацієнток контрольної групи (табл. 1).

Це можна пояснити тим, що активний запальний процес при ЗГЕ відбувається переважно локально в зонах ендометріюїдної інвазії, не призводячи до системної відповіді імунної системи.

Проведене дослідження рівня ТФР- $\beta$  у перитонеальній рідині в жінок із ЗГЕ та безпліддям показало достовірне зростання цього показника відносно такого в пацієнток контрольної групи (табл. 2).

Такі зміни можна пояснити загальною протизапальною активністю імунної системи на тлі наявності ендометріюїдних гетеротопій в очеревині, котрі, безумовно, сприятимуть запальному процесу та розростанню сполучної тканини. При

Таблиця 1

**Рівень ТФР-β у сироватці крові хворих на зовнішній генітальний ендометріоз,  
асоційований із безпліддям (M±m)**

№ п/п	Групи хворих	К-сть хворих (n)	Рівень ТФР-β пг /мл
1	Досліджувана група	65	80,93±10,08
2	Контрольна група	33	82,21±13,83
p			p>0,05*

Примітка. p відображає статистичну вірогідність різниці між показниками досліджуваної та контрольної груп, p>0,05\* - немає достовірної різниці

Таблиця 2

**Вміст ТФР-β у перитонеальній рідині хворих на зовнішній генітальний ендометріоз,  
асоційований із безпліддям (M±m)**

№п\п	Групи хворих	К-сть хворих (n)	Рівень ТФР-β пг /мл
1	Досліджувана група	65	62,98±10,09
2	Контрольна група	33	51,09±8,92
p			<0,05*

Примітка. p відображає статистичну вірогідність різниці між показниками досліджуваної та контрольної груп. p<0,05 - є достовірною різниця

Таблиця 3

**Порівняльна оцінка рівня ТФР-β у сироватці крові та перитонеальній рідині у жінок  
із зовнішнім генітальним ендометріозом, асоційованим із безпліддям (M±m)**

№ п/п	Досліджуваний матеріал	Рівень ТФР-β пг/мл		p
		Досліджувана група n=65	Контрольна група n=33	
1	Сироватка крові	80,93±10,08	82,21±13,83	p>0,05*
2	Перитонеальна рідина	62,98±10,09	51,09±8,92	p<0,05**
p		p<0,001***	p<0,001***	

Примітка. p відображає статистичну вірогідність різниці між показниками досліджуваної та контрольної груп, p>0,05\* - немає достовірної різниці, p <0,05\*\*, p <0,001\*\*\* - є достовірною різниця

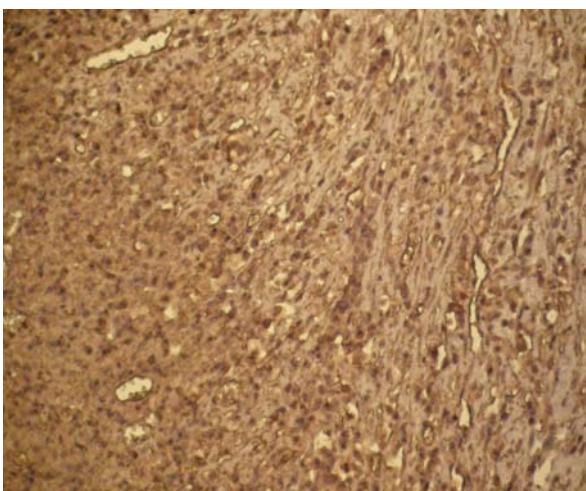


Рис. 1. Експресія ММП-9 на ектопічному ендометрії у жінок з ендометріозом

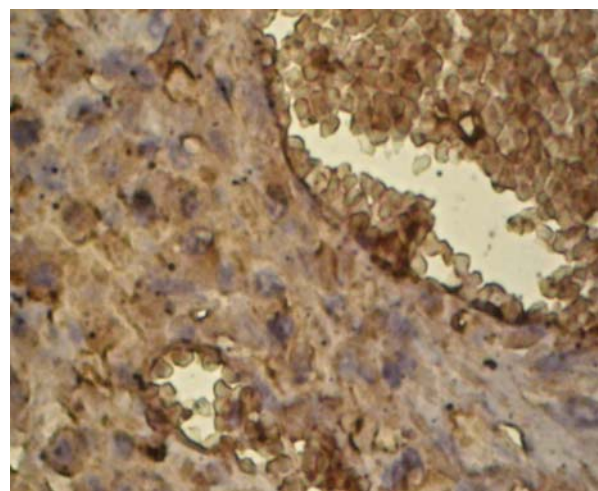


Рис. 2. Експресія ММП-9 на ектопічному ендометрії жінок з ендометріозом. Інфільтрація строми ендометрія моноцитами та макрофагами

цьому, у жінок контрольної групи, які теж страждають на безпліддя, однак, без ендометріозу, показники були значно нижчими, що вказує на значення ТФР- $\beta$  саме в патогенезі ендометріозу.

Отже, при оцінці результатів дослідження встановлено, що в жінок з ендометріозом, асоційованим із безпліддям, у порівнянні з контрольною групою відмічається зростання рівня ТФР- $\beta$  у перитонеальній рідині ( $p < 0,05$ ) при недостовірній різниці в сироватці крові ( $p > 0,05$ ). З метою з'ясування ролі ТФР- $\beta$  в імунопатогенезі ендометріозу та виявлення кількісної різниці рівня цитокіну проведена порівняльна оцінка рівня ТФР- $\beta$  у сироватці крові та перитонеальній рідині (табл. 3).

Як видно з табл. 3, рівень ТФР- $\beta$  є значно вищим у сироватці крові, ніж у перитонеальній рідині як у жінок із безпліддям на тлі ендометріозу, так і в пацієнок із безпліддям трубного генезу (без ендометріозу). Однак у пацієнок з ендометріозом відмічається значно вищий рівень цього цитокіну в перитонеальній рідині. Враховуючи те, що в жінок контрольної групи не було жодних скарг, окрім безпліддя, та не виявлено інших порушень, окрім трубної непрохідності, то таке співвідношення рівня ТФР- $\beta$  сироватка / перитонеальна рідина можна прирівняти до практично здорових жінок. Таким чином, у жінок з ендометріозом, асоційованим із безпліддям, спостерігається диспропорція рівня ТФР- $\beta$  у сироватці крові та перитонеальній рідині. На цьому тлі, зростання рівня ТФР- $\beta$  у перитонеальній рідині може вказувати на активацію протизапальної імунної активності у відповідь на ендометрію інвазію очеревини з подальшою активацією фібробластів та синтезу білків матриксу з метою замісної репарації мезотелію та сполучнотканинної базальної мембрани очеревини. Водночас, роль ТФР- $\beta$  у формуванні безпліддя при ендометріозі достеменно не з'ясована.

У цілому, отримані результати узгоджуються з даними літератури: ТФР- $\beta$ , виявлений у високих концентраціях у перитонеальній рідині хворих на ЗГЕ [8], має протизапальні властивості і здатний інгібувати синтез ІЛ-1, ІЛ-2, ФНП- $\alpha$  та інших цитокінів, пригнічувати проліферацію ендотеліальних клітин [13, 14]. У той же час дослідження експресії ММП-9 в ектопічному ендометрії показали підвищену активність ММП-9 в ектопічному ендометрії жінок з ендометріозом та безпліддям, що свідчить про підвищену здатність ендометріюїдних ектопій до інвазії шляхом підвищеної деградації матриксних білків сполучної тканини (рис. 1, 2).

Таким чином, можна припустити, що на локальному рівні в жінок з ендометріозом, поєднаним із безпліддям, відмічається підвищена інвазивність ектопічного ендометрія, одним із факторів якої є підвищена активація ММП-9, що поєднується з локальним зростанням рівня ТФР- $\beta$ .

### Висновки

1. У жінок з ендометріозом, асоційованим із безпліддям, відмічається достовірне зростання

рівня трансформувального фактору росту- $\beta$  у перитонеальній рідині.

2. Зростання рівня трансформувального фактору росту- $\beta$  у перитонеальній рідині в жінок з ендометріозом поєднаним із безпліддям, асоціюється з підвищеною експресією матричної металопротеїнази-9 у вогнищах ектопічного ендометрія.

**Перспективи подальших досліджень.** Дослідження факторів імунної регуляції є перспективним для подальших досліджень в аспекті вивчення їх як можливих маркерів неінвазивної діагностики ендометріозу, глибшого розуміння механізмів інвазивності ектопічного ендометрія та розростання сполучної тканини і є необхідним для розуміння перспективних підходів до лікування ендометріозу та безпліддя.

### Література

1. Адамян Л.В. Эндометриозы / Л.В. Адамян, В.И. Кулаков, Е.Н. Андреева. – М.: Медицина, 2006. – С. 416.
2. Айламазян Э.К. Генитальный эндометриоз / Э.К. Айламазян, В.В. Потин, М.А. Тарасова // Гинекология от пубертата до постменопаузы. – М.: Медпресс – информ, 2007. – № 1. – С. 284-302.
3. Ищенко А.И. Современные проблемы наружного генитального эндометриоза / А.И. Ищенко, Е.А. Кудрина, И.В. Станоевич // Акуш. и гинекол. – 2007. – № 5. – С. 67-73.
4. К вопросу о патогенезе наружного генитального эндометриоза / К.В. Слесарева, Н.В. Ермолова, В.А. Линде [и др.] // Ж. фундамент. мед. и биол. – 2013. – № 1. – С. 18-22.
5. Марченко Л.А. Современный взгляд на отдельные аспекты патогенеза эндометриоза (обзор литературы) / Л.А. Марченко, Л.М. Ильина // Пробл. репродукции (сборник статей по эндометриозу). – 2011. – № 1. – С. 20-25.
6. Особенности экспресии матричной металлопротеиназы 9 в ектопічному ендометрії у жінок з ендометріозом та їх роль у локальному імунітеті / Г.Д. Коваль, І.Ф. Курченко, В.В. Чоп'як [та ін.] // Імунол. та алергол. Наука і практика. – 2013. – № 2. – С. 72-76.
7. Mcleod B.S. Epidemiology of endometriosis: an assessment of risk factors / B.S. Mcleod, M.G. Retzliff // Clin. Obstet. Gynecol. – 2010. – Vol. 53. – P. 39-396.
8. NADPH oxidase-dependent redox signaling in TGF- $\beta$ -mediated fibrotic responses / Fan Jiang, Guei-Sheung Liu, J. Gregory [et al.] // Redox Biol. – 2014. – Vol. 20. – P. 267-272.
9. Charles O.A. Role of TGF- $\beta$ s in normal human endometrium and endometriosis / O.A. Charles, L. Omwandho, G. Konrad // Human Reprod. – 2010. – Vol. 1. – P. 101-109.
10. Ghosh A.K. Molecular basis of organ fibrosis: potential therapeutic approaches / A.K. Ghosh, S.E. Quaggin, D.E. Vaughan // Exp. Biol. Med. (Maywood). – 2013. – Vol. 238. – P. 461-481.
11. Pardali E. Signaling by members of the TGF-beta family in vascular morphogenesis and disease / E. Pardali, M.J. Goumans, P. Dijke // Trends Cell Biol. – 2010. – Vol. 20. – P. 556-567.
12. Platelet TGF-beta1 contributions to plasma TGF-beta1, cardiac fibrosis, and systolic dysfunction in a mouse model of pressure overload / A. Meyer, W. Wang, J. Qu [et al.] // Blood. – 2012. – Vol. 119. – P. 1064-1074.
13. Sporn M.B. The early history of TGF-beta, and a brief glimpse of its future / M.B. Sporn // Cytokine Growth Factor Rev. – 2006. – Vol. 17. – P. 3-9.
14. Wynn T.A. Common and unique mechanisms regulate fibrosis in various fibroproliferative diseases / T.A. Wynn // J. Clin. Invest. – 2007. – Vol. 117. – P. 524-529.

**РОЛЬ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА - В И МАТРИЧНОЙ  
МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-9 В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ ЭНДОМЕТРИОЗА  
АССОЦИИРОВАННОГО С БЕСПЛОДИЕМ**

*Г.Д. Коваль*

**Резюме.** В развитии эндометриоза и ассоциированного с ним бесплодия важная роль принадлежит иммунологическим процессам, которые характеризуются высокой активностью цитокинов и факторов роста (в частности, трансформирующего фактора роста- $\beta$  (ТФР- $\beta$ )) и повышенной инвазивностью эктопического эндометрия, в том числе, за счет активности матричных металлопротеиназ (ММП). ТФР- $\beta$  проявляет различные биологические свойства и играет ключевую роль в миграции, пролиферации и дифференцировке клеток. Исследовано концентрацию ТФР- $\beta$  в сыворотке крови и перитонеальной жидкости 65 женщин с наружным генитальным эндометриозом и бесплодием. Выявлено повышение уровня ТФР- $\beta$  в перитонеальной жидкости, что ассоциируется с повышенной активностью ММП-9 в очагах эктопического эндометрия.

**Ключевые слова:** цитокины, трансформирующий фактор роста- $\beta$ , матричные металлопротеиназы, бесплодие, эндометриоз.

**THE ROLE OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR - $\beta$  AND OF MATRIX  
METALLOPROTEINASE 9 IN IMMUNOPATHOGENESIS OF ENDOMETRIOSIS  
ASSOCIATED WITH INFERTILITY**

*G.D. Koval*

**Abstract.** In the development of endometriosis and infertility, associated with it, immunological processes play an important role, and they are characterized by high activity of cytokines and growth factors (e.g., transforming growth factor - $\beta$  (TGF- $\beta$ )) and increased invasiveness of ectopic endometrium, including activity of matrix metalloproteinases (MMP). TGF- $\beta$  exhibits different biological properties and plays a key role in the migration, proliferation and differentiation of cells. The concentration of TGF- $\beta$  in serum and peritoneal fluid of 65 women with external genital endometriosis and infertility has been studied. We found an increase of TGF - $\beta$  in peritoneal fluid, which is associated with an increased activity of MMP9 in the ectopic endometrium.

**Key words:** cytokines, transforming growth factor- $\beta$ , matrix metalloproteinase, infertility, endometriosis.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. Ю.М. Юзько

Buk. Med. Herald. – 2014. – Vol. 18, № 2 (70). – P. 45-49

Надійшла до редакції 17.02.2014 року