

УДК 618.145-007.61-085.256.5

## ПРИМЕНЕНИЕ ИНТРИНОЛА ПРИ ГИПЕРПЛАЗИИ ЭНДОМЕТРИЯ

И.А. Храмова<sup>1</sup>, Е.Е. Слюсарева<sup>1</sup>, Т.Ю. Курлева<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2),

<sup>2</sup> Приморский краевой перинатальный центр (690011, г. Владивосток, ул. Можайская, 16)

**Ключевые слова:** «Индинол Форто», моноциты, макрофаги, лизоцим.

### INTRINOL USE AT ENDOMETRIAL HYPERPLASIA

I.A. Hramova<sup>1</sup>, E.E. Slyusareva<sup>1</sup>, T.Y. Kurleva<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave. Vladivostok 690950 Russian Federation), <sup>2</sup> Primorsky Regional Perinatal Center (1B Mozhaikaya Str. Vladivostok 690011 Russian Federation)

**Background.** Currently endometrial hyperplasia refers to a group of hormone-dependent and proliferative diseases. Universal corrector of hyperplastic processes the endometrium is a metabolic drug "Indinol Forto" (intrinol).

**Methods.** The intrinola effect on adhesion and secretory activity of the synthetic monocytes/macrophages was studied in 28 premenopausal women with glandular cystic endometrial hyperplasia (control group – 15 healthy women).

**Results.** Women with endometrial hyperplasia revealed increasing adhesion activity of blood monocytes and peritoneal macrophages labilization of lysosomal membranes, accompanied by increased secretion and decreased of the synthesis of intracellular lysozyme. Indinol fort use as a remedy led to the regression of the disease, reduction in macrophage cell adhesive activity, the stabilization of lysosomal membranes, reduction secretion and increase of intracellular synthesis of lysozyme.

**Conclusions.** The data expand the understanding of the mechanism of action of the drug "Indinol Forto", which causes regression of the disease, and also makes adjustments to the immune system.

**Keywords:** Indinol Forto, monocytes, macrophages, lysozyme.

Pacific Medical Journal, 2015, No. 2, p. 80–82.

Гиперпластические процессы эндометрия (ГПЭ) являются одной из наиболее значимых проблем в гинекологической практике. Они приводят к преждевременной утрате репродуктивной функции, росту числа оперативных вмешательств, увеличению риска рака эндометрия [1, 6]. Гиперпластические процессы чаще возникают при неблагоприятном преморбидном фоне: раннем менархе, поздней менопаузе, отсутствии родов в анамнезе, нарушении менструального цикла, обусловленного ановуляцией, эндокринном бесплодии, на фоне применения заместительной гормональной терапии в постменопаузе [4, 12]. В основе их развития лежит гормональный дисбаланс, который выражается в абсолютной или относительной гиперэстрогемии [2]. Определенную роль в патогенезе ГПЭ играет состояние рецепторов половых гормонов в ткани эндометрия. Наличие активного рецепторного аппарата здесь может вызвать гиперплазию даже в условиях относительно низкого уровня эстрогенов [3, 7].

Клетки макрофагальной системы также взаимодействуют с эстрогенами за счет присутствующих на их плазматической мембране рецепторов к стероидным

гормонам. В процессе активации макрофагов, происходящей под влиянием экзогенных неспецифических и специфических иммунных факторов, происходит усиление экспрессии клеточных рецепторов [8]. В этих клетках увеличивается количество первичных и вторичных лизосом, повышается активность лизосомных ферментов, наступает лабильзация лизосомных мембран. Выход лизоцима и других ферментов из макрофагов может привести к повреждению окружающих тканей. Экзогенными факторами, влияющими на стабильность лизосомных мембран, могут служить и лекарственные препараты [10].

Лечебная тактика при ГПЭ вырабатывается после морфологической верификации диагноза и зависит от возраста пациентки, наличия сопутствующей гинекологической патологии и экстрагенитальных заболеваний [7]. Одним из наиболее распространенных методов лечения ГПЭ без атипии сегодня является гормональная терапия. Однако эффективность ее невысока и составляет около 42% [12].

Универсальным корректором патологических гиперпластических процессов в тканях женской репродуктивной системы может быть признан метаболитический препарат «Индинол Форто» (интринол) производства ЗАО «МираксБиоФарма», зарегистрированный в 2013 г. Препарат оказывает антиэстрогенное и антипролиферативное действие [14]. Проведенное нами ранее клиническое исследование доказало высокую эффективность интринола для лечения гиперплазии эндометрия без атипии. Влияние этого препарата на секреторно-синтетические процессы в макрофагальных клетках и стабильность их лизосомных мембран при данной патологии не изучалось.

**Материал и методы.** В исследовании принимали участие 28 женщин с железисто-кистозной гиперплазией эндометрия (код по МКБ-10 – N85.0) в возрасте 44–49 лет (средний возраст  $47,5 \pm 2,5$  года), находившиеся на лечении в Краевом клиническом центре специализированных видов медицинской помощи и Приморском краевом перинатальном центре. Во всех случаях регистрировалось нарушение менструального цикла в виде гиперменструального синдрома или ациклических маточных кровотечений, по данным гистологического исследования, проведенного во Владивостокском патологоанатомическом бюро, диагностирована простая гиперплазия эндометрия без атипии. Контрольную группу составили 15 здоровых женщин

Храмова Ирина Афанасьевна – д-р мед. наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии ТГМУ; e-mail: irhramova@mail.ru

сопоставимого возраста, проходивших диспансерный осмотр. Все представители основной группы получали «Индиол Форто» в течение 6 месяцев в суточной дозе 400 мг. Обследования проведены с учетом информированного согласия пациенток.

Поскольку гиперпластические процессы эндометрия являются преимущественно морфологическим диагнозом, эффективность лечения оценивалась после выскабливания полости матки через 6 месяцев от его начала. В это же время проводилась ультразвуковая оценка М-эха и определение адгезивной и секреторно-синтетической активности макрофагальных клеток.

Для оценки состояния фагоцитарной защиты до и после лечения определяли показатель прилипаемости (ПП) моноцитов крови и перитонеальных макрофагов, уровень секреции и синтеза лизоцима этими клетками, показатель стабильности их лизосомных мембран. Выделение моноцитов крови проводилось на градиенте плотности фиколл-верографина центрифугированием крови в течение 30 мин при 400 G с последующим отсасыванием микропипеткой кольца градиента [11]. Клетки прикреплялись к поверхности стекла в течение 60 мин при температуре 37 °С. Перитонеальные макрофаги получали из суспензии, взятой методом пункций заднего влагалищного свода, и также выделяли прикреплением клеток к поверхности стекла.

Приготовленные препараты окрашивали по Романовскому–Гимза и иммуноцитохимическим методом с использованием стандартных наборов реагентов фирмы Novocastra lab. для выявления 16-го кластера дифференцировки, находящегося на макрофагах. Концентрацию клеток подсчитали в камере Горяева и доводили стерильным физиологическим раствором до  $6 \times 10^6$  кл./мл. Для определения ПП исследуемых клеток в стерильные плоскодонные флаконы объемом 2 мл (3 флакона на одно исследование) вносили по 0,25 мл клеточной взвеси, и флаконы помещали на 60 мин в термостат (37 °С) для прикрепления клеток. Затем содержимое флаконов трижды промывали средой 199 и в приготовленные лунки вносили по 0,25 мл той же среды, после чего проводили 4–6-кратное замораживание–оттаивание материала с целью разрушения клеток и их лизосом для дальнейшего определения уровня лизоцима. ПП оценивался в мкг/мл по общему лизоциму, состоящему из секретированного и внутриклеточного.

Расчет показателя стабильности лизосомных мембран (ПСЛМ) моноцитов крови и перитонеальных макрофагов выполняли методом культивирования выделенных клеток в среде 199 с добавлением 0,5% стерильного L-глутамин и 2,5% смешанной человеческой сыворотки, прогретой

в течение 30 мин при 56 °С и в течение 12–15 часов при 37 °С. Микрометодом определяли уровень секретированного, а после замораживания–оттаивания – общего лизоцима. На основании полученных результатов рассчитывали ПСЛМ по формуле:

$$\text{ПСЛМ} = \text{Лсекр./Лобщ.} \times 100 \%,$$

где Лсекр. – секретированный, а Лобщ. – общий лизоцим.

Повышение ПСЛМ выше оптимального значения (53–58 %) расценивалось как лабилизация лизосомных мембран, снижение этого показателя – как их стабилизация. По результатам оценки разницы уровней общего лизоцима после и до культивирования вычисляли количество синтезированного лизоцима [9].

Статистическую обработку результатов исследования проводили с применением стандартных методов вариационной статистики и критерия Манна–Уитни для оценки статистически значимых различий [5]. Полученные данные приведены с расчетом средней арифметической и ее средней ошибки.

**Результаты исследования.** Адгезивные свойства моноцитов крови и перитонеальных макрофагов у женщин с гиперплазией эндометрия были значимо выше, чем у здоровых женщин. Лечение интринолом не только восстанавливало нормальную архитектуру слизистой оболочки матки, но и способствовало снижению показателя прилипаемости макрофагов даже ниже уровня контроля. У женщин с гиперплазией эндометрия ПСЛМ до лечения превышал значения контроля. После приема «Индиола Форто» этот показатель снижался, что свидетельствовало о стабилизации лизосомных мембран исследуемых клеток (табл. 1).

Таблица 1

Уровни ПП и ПСЛМ моноцитами и макрофагами у женщин с гиперплазией эндометрия до и после лечения интринолом

Группа	ПП, мкг/мл		ПСЛМ, %	
	моноцитов	макрофагов	моноцитов	макрофагов
Контроль	3,7±0,1	4,4±0,1	53,8±1,3	59,6±1,4
Основная	до лечения	4,8±0,3*	60,3±1,5*	67,7±2,3*
	после лечения	3,3±0,1	3,7±0,2*	48,9±1,1

\* Разница с контролем статистически значима.

Таблица 2

Уровни секреции лизоцима моноцитами и макрофагами у женщин с гиперплазией эндометрия до и после лечения интринолом, мкг/мл

Группа	Секретированный лизоцим		Синтезированный лизоцим	
	моноцитов	макрофагов	моноцитов	макрофагов
Контроль	0,75±0,03	0,90±0,07	0,44±0,01	0,70±0,01
Основная	до лечения	0,93±0,05*	0,39±0,01*	0,65±0,01*
	после лечения	0,60±0,07*	0,72±0,02	0,42±0,02

\* Разница с контролем статистически значима.

Уровень секреции лизоцима моноцитами крови и перитонеальными макрофагами сопряжен с состоянием стабильности клеточных лизосомных мембран. Он был значительно увеличен в клетках женщин с гиперплазией эндометрия и несколько снижался после приема интринола. Интенсивность синтеза лизоцима макрофагальными клетками у женщин с гиперплазией эндометрия, напротив, была ниже, чем у здоровых. Хотя лечение и приводило к повышению синтетической активности моноцитов крови и перитонеальных макрофагов, она оставалась несколько ниже, чем в контроле (табл. 2).

**Обсуждение полученных данных.** Проведенный анализ показал, что у женщин с гиперплазией эндометрия нарушен процесс активации макрофагальных клеток. Зарегистрировано повышение адгезивной активности (ПП) моноцитов крови и перитонеальных макрофагов, лабилизация их лизосомных мембран, повышение секреции лизосомного фермента (лизоцима) и выраженное снижение его синтеза. Описанные процессы можно связать с избыточной эстрогенной стимуляцией эндометрия при данной патологии [1]. Причем, лабилизирующее влияние эстрадиола на клеточные лизосомные мембраны опосредуется через рецепторы к эстрадиолу [9].

Также известно, что одним из факторов этиопатогенеза ГПЭ является хронический эндометрит, при котором нами ранее выявлено изменение секреторно-синтетической активности макрофагальных клеток [9, 12]. Клеточные изменения, происходящие при ГПЭ, могут привести к его прогрессированию и повысить риск злокачественной трансформации [1, 13].

Использование «Индинола Форто» в качестве лечебного средства на нашем материале привело к нормализации менструального цикла, уменьшению М-эха по данным ультразвукового исследования и изменению секреторно-синтетической активности моноцитов крови и перитонеальных макрофагов. После лечения отмечено снижение адгезивной активности макрофагальных клеток, выраженная лабилизация лизосомных мембран сменилась их стабилизацией, уменьшилась секреция и увеличился синтез внутриклеточного лизоцима. Повторное диагностическое выскабливание полости матки и гистологическое исследование ткани эндометрия констатировали регресс заболевания. Только у 4 женщин основной группы эффекта от лечения не получено.

Таким образом, в ходе настоящего исследования показано иммуномодулирующее влияние «Индинола Форто» на клетки макрофагальной системы у женщин с железисто-кистозной гиперплазией эндометрия. Учитывая, что известные механизмы действия этого препарата характеризуют его как средство, обладающее антиэстрогенным и антипролиферативным эффектами, выявленный иммуномодулирующий результат важен в плане профилактики рака матки у пациенток с ГПЭ.

#### Литература

1. Аскольская С.И., Коган Е.А., Сагиндыкова Р.Р. Частота выявления эндометриоидной аденокарциномы у пациенток перименопаузального периода с предоперационным диагнозом атипической гиперплазии эндометрия // *Акушерство и гинекология*. 2014. № 9. С.59–62.
2. Клиническая гинекология: избран. лекции / под ред. В.Н. Прилепской. М.: МЕДпресс-информ, 2007. 480 с.
3. Кузнецова И.В. Возможности терапии гиперпластических процессов эндометрия // *Трудный пациент*. 2010. № 1–2. С.18–22.
4. Озолина Л.А., Патрушев Л.И., Болдина Е.Б. Современные представления о патогенезе гиперпластических процессов эндометрия и возможности их лечения // *Лечение и профилактика*. 2013. № 2. С.106–112.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение прикладных программ «Statistica». М.: Медиа сфера, 2002. 305 с.
6. Руководство по эндокринной гинекологии / под ред. Е.М. Вихляевой. М.: МИА, 2006. 786 с.
7. Стрижаков А.Н., Кушлинский Н.Е., Шахламова М.Н. [и др.] Дифференцированный подход к диагностике и тактике ведения больных с гиперпластическими процессами эндометрия в постменопаузе // *Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2014. № 1. С.5–14.
8. Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы: развитие, активация, эффекторные функции // *Рос. иммунол. журн.* 1999. Т. 4, № 1. С. 9–15.
9. Храмова И.А. Перитонеальные макрофаги и репродуктивная система женщин. Владивосток: Медицина ДВ, 2015. 142 с.
10. Храмова И.А., Слюсарева Е.Е., Антонюк М.В. Влияние йодобромных ванн на клетки макрофагальной системы женщин с климактерическим синдромом // *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2014. № 2. С. 43–45.
11. Шаронов А.С. Фагоциты, лизосомы, мембраны. Владивосток: Дальнаука, 2007. 128 с.
12. Шешукова Н.А., Макаров И.О., Фомина М.Н. Гиперпластические процессы эндометрия: этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение // *Акушерство и гинекология*. 2011. № 4. С. 16–21.
13. Mutter G.L., Baak J.P., Crum C.B. [et al.] Endometrial precancer diagnosis by histopathology clonal analyses and computerized morphometry // *J. Pathol.* 2001. Vol. 190, No. 4. P. 462–469.
14. Wong G.Y., Bradlow I., Sepkovic D. [et al.] Dose-ranging study of indole-3-carbinol for breast cancer prevention // *J. Cell. Biochem.* 1997. Suppl. 28–29. P. 111–116.

Поступила в редакцию 29.05.2015.

#### Применение интринола при гиперплазии эндометрия

И.А. Храмова<sup>1</sup>, Е.Е. Слюсарева<sup>1</sup>, Т.Ю. Курлеева<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2), <sup>2</sup> Приморский краевой перинатальный центр (690011, г. Владивосток, ул. Можайская, 16)

**Резюме.** Проведено исследование адгезивной и секреторно-синтетической активности моноцитов крови и перитонеальных макрофагов у 28 женщин перименопаузального периода с железисто-кистозной гиперплазией эндометрия. Установлено, что при гиперплазии эндометрия повышается адгезивная активность макрофагов, происходит лабилизация их лизосомных мембран, что сопровождается усилением секреции и снижением синтеза внутриклеточного лизоцима. Лечение метаболитическим препаратом «Индинол Форто» (интринол) привело в большинстве случаев к регрессу заболевания, восстановлению адгезивных свойств моноцитов крови и перитонеальных макрофагов, стабилизации лизосомных мембран этих клеток, снижению секреции и повышению синтеза лизоцима.

**Ключевые слова:** «Индинол Форто», моноциты, макрофаги, лизоцим.