

# СИСТЕМА ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У ЖЕНЩИН С УРОГЕНИТАЛЬНЫМ ТРИХОМОНИАЗОМ

Гизингер О.А., Долгушин И.И.

НИИ иммунологии Челябинской государственной медицинской академии МУЗ,  
Кожно-венерологический диспансер №1, г. Челябинск, Россия

**Резюме.** Представлены результаты исследований системы цитокинов вагинального секрета у 25 больных с мочеполовым трихомониазом. Проведено определение концентрации интерлейкинов: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , RAIL-1, TNF $\alpha$ , IL-8, IFN- $\gamma$ . Изучен характер изменений содержания провоспалительных цитокинов в системе местного иммунитета у женщин с урогенитальным трихомониазом по сравнению с показателями здоровых женщин. Установлено, что у инфицированных женщин наблюдается повышение уровней IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , RAIL-1, IL-8, снижение концентрации IFN- $\gamma$ . Полученные результаты расширяют представление о цитокин - опосредованных реакциях в системе местного иммунитета репродуктивного тракта при трихомониазе.

**Ключевые слова:** местный иммунитет, мочеполовой трихомониаз, вагинальный секрет, цитокины.

Gizinger O.A., Dolgushin I.I.

## PROINFLAMMATORY CYTOKINES PROFILE IN WOMEN WITH GENITOURINARY TRICHOMONIASIS

**Abstract.** Study results of vaginal secretion cytokine system in 25 patients with urogenital trichomoniasis are presented. Concentration of interleukins: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , RAIL-1, TNF $\alpha$ , IL-8, IFN- $\gamma$  has been performed. The character of pro-inflammatory cytokines changes in the local immunity system in females with urogenital trichomoniasis has been studied in comparison with these values in healthy females. It has been established that infected females have increased levels of IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , RAIL-1, TNF $\alpha$ , IL-8, while IFN- $\gamma$  concentration is decreased. The obtained results enable to get a deeper insight into the cytokine – mediated reactions in the local immunity system of genital tracts in case of trichomoniasis. (*Med. Immunol.*, 2005, vol.7, № 5-6, pp 601-604)

Трихомониаз является одной из наиболее распространенных инфекций, передаваемых половым путём в мире. Ежегодное количество случаев этого заболевания оценивается примерно в 170 млн [9]. На наш взгляд проблема урогенитального трихомониаза требует более пристального внимания. Возбудителем этого заболевания является влагалищная трихомонада *Trichomonos vaginalis*, которая относится к типу простейших, классу жгутиковых *Mastigophora*, отряду *Polymastigina*, подотряду *Monotonadina*, семейству *Trichomonidae* Wengon [8] и представляет собой одноклеточный организм грушевидной формы размером 8-24 мкм со жгутиками и ундулирующей мембраной, обеспечивающей возможность активного перемещения. Трихомонады могут паразитировать как в жгутиковой, так и в амё-

боидной формах, преимущественно на плоском эпителии, распространяясь по слизистой оболочке, проникая в межклеточные пространства, и приводя к развитию воспалительного процесса [8].

У женщин трихомонады обитают в основном во влагалище, откуда проникают в уретру, парауретральные ходы, бартолиновые железы, реже в мочевой пузырь, канал шейки матки. Вместе с тем жгутиковые формы не способны внедряться в ткани и клетки, выделять токсины и формировать антигенные продукты. Амёбоидные же формы трихомонад в тканевых культурах могут повреждать макрофаги, фибробласты и эпителиальные клетки [1].

Являясь внеклеточными паразитами, трихомонады могут участвовать в инициации и, возможно, реализации клеточного иммунного ответа с включением каскада цитокин-опосредованных реакций. Характер воспаления, исход взаимодействия между патогеном и механизмами противомикробной защиты хозяина в значительной мере зависят от спектра и уровня продуцируемых цитокинов [6]. Учитывая

### Адрес для переписки:

Гизингер Оксана Анатольевна,  
454016, г. Челябинск, ул. Чайковского, д.185 кв.994  
Тел.: (3512)797-09-09. E-mail: oksana-gizinger@mail.ru

тропизм трихомонад к плоскому эпителию, возможно, первичным очагом локализации патогенного микроорганизма является влагалище. При этом секрет слизистой влагалища играет важную роль в функционировании локального иммунного комплекса. Это обеспечивается достаточным спектром иммунологических факторов, которые представляют собой не просто форпост системного иммунитета, а уникальную иммунологическую среду со своими количественными и качественными характеристиками [2].

При воспалительном иммунном ответе на присутствие трихомонад ключевую роль играют цитокины, которые не влияют непосредственно на возбудителя, но, изменяя метаболизм клеток хозяина, интерферируют с процессами нормального развития трихомонад. Кроме того, цитокины оказывают плеiotропные биологические эффекты на различные типы клеток, главным образом, участвуя в формировании и регуляции защитных реакций. Защита на местном уровне развивается путём формирования типичной воспалительной реакции после взаимодействия патогенов с паттерн-распознающими рецепторами (мембранными Toll-рецепторами) с последующим синтезом провоспалительных цитокинов. Синтезируясь в очаге воспаления, цитокины воздействуют практически на все клетки, участвующие в развитии воспаления, включая нейтрофильные гранулоциты, макрофаги, фибробласты, клетки эндотелия и эпителиев, а также Т- и В-лимфоциты [6]. Под их влиянием, возможно, происходит активация фагоцитирующих и эндотелиальных клеток, макрофагов, что приводит к повышению синтеза цитокинов, проницаемости сосудов, миграции в очаг воспаления большого количества лейкоцитов, моноцитов и лимфоцитов. Мигрирующие клетки, активизируясь, выделяют цитокины IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-8 [3, 7]. Заключительный этап иммунного ответа в слизистых оболочках осуществляется в области Lamina propria и подслизистом слое, куда активированные клетки заносятся током крови, благодаря приобретённой ими способности распознавать маркеры активированного эндотелия [8].

Таким образом, при трихомонадной инфекции создаются условия к синтезу провоспалительных цитокинов и возможности их появления в продуктах воспаления и развитии воспалительного процесса у больных мочеполовым трихомониазом.

**Целью настоящего исследования** явилось изучение особенностей цитокинового статуса вагинального секрета женщин репродуктивного возраста с мочеполовым трихомониазом.

## Материалы и методы

Под наблюдением находились 25 женщин с урогенитальным трихомониазом. Группу контроля составили 30 женщин без трихомонадной инфекции и гинекологической патологии. Возраст обследо-

ванных колебался от 20 до 34 лет, средний возраст инфицированных женщин составил  $27,5 \pm 0,95$  лет и существенно не отличался от среднего возраста женщин здоровых женщин.

Диагноз трихомониаз устанавливали на основании клинико-лабораторных данных с обязательным подтверждением наличия ДНК возбудителя в цервикальном канале методами полимеразной цепной реакции (НПО «Литех», г. Москва) и с помощью культурального метода. Выявлено, что клинически остро протекающее заболевание составило  $81,9 \pm 0,9$  % от общего числа наблюдений. Подострое торпидное течение заболевания было у  $8,1 \pm 0,1$  % инфицированных женщин.

Анализируя клиническую картину у больных с трихомониазом, мы выявили гиперемии слизистых оболочек влагалища и уретры, с гнойными (12 больных) или слизистыми (13 больных) выделениями. У всех женщин отмечен лейкоцитоз в отделяемом из свода влагалища.

Нами было исследовано содержание в вагинальном секрете следующих цитокинов: IL-1 $\alpha$  (интерлейкина-1 $\alpha$ ), IL-1 $\beta$  (интерлейкина-1 $\beta$ ), RAIL-1 (рецепторного антагониста IL-1), TNF $\alpha$  (фактора некроза опухоли- $\alpha$ ), IL-8 (интерлейкина-8). Кроме того, в вагинальной слизи был определён уровень IFN $\gamma$  (интерферона  $\gamma$ ).

Материал для исследования (вагинальный секрет) забирали стерильной градуированной стеклянной пипеткой в силиконовые пробирки. Пробирки центрифугировали 10 мин. при 800 g, супернатант отбирали в стерильные пробирки типа Эппендорф и замораживали при  $-20^{\circ}\text{C}$ . Для определения цитокинов были использованы соответствующие тест-системы ТОО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург). Эти тест-системы основаны на «сэндвич»-методе твердофазного ИФА с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента. Полученные результаты исследований были подвергнуты обработке методами вариационной статистики с вычислением средней арифметической и её стандартной ошибки ( $M \pm m$ ). Для каждого показателя проверялась статистическая гипотеза о нормальности распределения данных по критерию  $\chi^2$  и Колмогорова-Смирнова о равенстве дисперсий. В случае нормального распределения о достоверности различий средних величин судили по критерию Стьюдента (t). Если условия нормальности распределения не выполнялись, применяли непараметрический критерий Манна-Уитни.

Цифровой материал обрабатывался методом вариационной статистики с помощью пакета прикладных программ «Statistica for Windows».

## Результаты и обсуждение

Содержание IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  в вагинальном секрете у больных с мочеполовым трихомониазом было достоверно повышено (табл.1).

Из приведённых в таблице значений видно, что у больных с мочеполовым трихомониазом наблюдается повышенный уровень провоспалительных цитокинов IL-1 $\alpha$  (3,11 $\pm$ 0,03 нг/мл), IL-1 $\beta$  (2,79 $\pm$ 0,43 нг/мл), по сравнению с показателями женщин без инфекции (IL-1 $\alpha$  - 2,19 $\pm$ 0,09 нг/мл; IL-1 $\beta$  - 2,79 $\pm$ 0,43 нг/мл;  $p < 0,005$ ). По-видимому, повышенное по сравнению с контрольными значениями, содержание вышеуказанных цитокинов связано с характером воспалительного процесса, который у большинства обследованных женщин был острым (81,9 $\pm$ 0,9 % от общего числа наблюдений). У больных с гнойными пенистыми выделениями с характерным запахом, содержание IL-1 $\alpha$  составило 3,22 $\pm$ 0,05 нг/мл и IL-1 $\beta$  - 2,80 $\pm$ 0,39 нг/мл, со слизистыми выделениями уровень IL-1 $\alpha$  - 3,10  $\pm$  0,05, IL-1 $\beta$  - 2,55 $\pm$ 0,13 нг/мл (табл. 2). Следовательно, у больных с выраженными признаками воспаления наблюдалось увеличение уровней IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$  в вагинальном секрете. Являясь продуктами активированных моноцитов, макрофагов, нейтрофилов Т-хелперов первого порядка, фибробластов и эндотелиальных клеток, изученные цитокины обеспечивают развитие воспалительного ответа, и от их количества, возможно, зависит характер выделений у больных [3, 10].

Содержание RAIL-1 было повышено по сравнению с показателями контрольной группы. Колебания уровня RAIL-1 составили 0,73 $\pm$ 0,11 нг/мл по сравнению со здоровыми женщинами, у которых уровень RAIL-1 колебался в пределах 0,55 $\pm$ 0,15 нг/мл. По-видимому, увеличение содержания RAIL-1 при повышенном уровне IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  в цервикальном секрете является свидетельством нарушения баланса между цитокинами семейства IL-1 в вагинальном секрете при трихомонадной инфекции.

В ходе исследования нами установлено существенное повышение уровня IL-8 у инфицированных женщин. Уровень этого полипептида в вагинальном секрете инфицированных *Trichomonos vaginalis* женщин составил 0,85 $\pm$ 0,10 нг/мл и был достоверно повышен по сравнению с показателями контрольной группы (0,45 $\pm$ 0,11 нг/мл,  $p < 0,005$ ). Это, по нашему мнению, подчёркивает особую роль IL-8 в патогенезе мочеполового трихомониаза. Вероятно, именно этот интерлейкин усиливает миграцию нейтрофилов в вагинальный секрет (табл.1).

Нами было определена концентрация IFN $\gamma$  в вагинальной слизи (табл.1). В процессе исследования зафиксировано, что при трихомониазе происходит достоверное снижение уровня IFN $\gamma$  у всех инфицированных женщин по сравнению с группой контроля. Среднее значение IFN $\gamma$  в группах сравнения составило 0,012 $\pm$ 0,001 нг/мл, в группе контроля 0,02 $\pm$ 0,003 нг/мл.

Как было сказано выше, течение и исход трихомонадной инфекции, эффективность её лечения во многом зависят от состояния местного иммунитета. Пролиферация иммунокомпетентных клеток - необходимый этап любого иммунного ответа. Нормальный пролиферативный ответ определяет прежде всего продукция TNF- $\alpha$  - важнейшего цитокина первой фазы иммунного ответа, служащего индуктором Т- и В-клеточного иммунитета. Этот цитокин оказывает сходное IL-1 действие, что выражается в низкой регуляции генома внеклеточных патогенов, каковыми являются трихомонады [4, 5, 8]. Следовательно, исследование этого цитокина особенно важно для более полного понимания иммунных механизмов при мочеполовом трихомониазе. Кроме

Табл. 1. УРОВНИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ВАГИНАЛЬНОМ СЕКРЕТЕ ЖЕНЩИН С ТРИХОМОНИАЗОМ

Показатели	Здоровые (n=30)	Женщины с мочеполовым трихомониазом (n=25)
IL-1 $\alpha$ , нг/мл	2,19 $\pm$ 0,09	3,11 $\pm$ 0,03*
IL-1 $\beta$ , нг/мл	1,63 $\pm$ 0,63	2,79 $\pm$ 0,43*
RAIL-1, нг/мл	0,55 $\pm$ 0,15	0,73 $\pm$ 0,11*
IL-8, нг/мл	0,45 $\pm$ 0,11	0,85 $\pm$ 0,10*
TNF- $\alpha$ , нг/мл	2,02 $\pm$ 0,04	2,98 $\pm$ 0,07*
IFN- $\gamma$ , нг/мл	0,020 $\pm$ 0,003	0,012 $\pm$ 0,001*

Примечание: В таблицах приведены лишь достоверные различия между сравниваемыми группами. С учетом поправки Бонферрони критический уровень  $p$  составил 0,005; \* - достоверность по отношению к группе здоровых женщин

Табл.2. УРОВНИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ IL-1 $\alpha$  IL-1 $\beta$  В ВАГИНАЛЬНОМ СЕКРЕТЕ ЖЕНЩИН С ТРИХОМОНИАЗОМ

Группа	Здоровые (n=30)	Женщины со слизистыми выделениями (n=12)	Женщины с гнойными выделениями (n=13)
IL-1 $\alpha$ , нг/мл	2,19 $\pm$ 0,09	3,10 $\pm$ 0,05*	3,22 $\pm$ 0,05**
IL-1 $\beta$ , нг/мл	1,63 $\pm$ 0,63	2,55 $\pm$ 0,13*	2,80 $\pm$ 0,39**

Примечание: В таблицах приведены лишь достоверные различия между сравниваемыми группами. С учетом поправки Бонферрони критический уровень  $p$  составил 0,005; \* достоверность по отношению к группе здоровых женщин, \*\* - достоверность по отношению к группе женщин со слизистыми выделениями

того, TNF- $\alpha$  обеспечивает широкий спектр биологических сигналов, участвующих в регуляции иммунного гомеостаза [5]. Он вызывает усиление фагоцитоза, активности дыхательного взрыва и дегрануляцию нейтрофилов [5, 6]. Иммунологическое исследование пациенток с мочеполовым трихомониазом выявило значительное увеличение спонтанного выброса TNF- $\alpha$ . У инфицированных женщин содержание исследуемого полипептида колебалось в пределах  $2,47 \pm 0,23$  нг/мл; в группе контроля показатели TNF- $\alpha$  были  $2,02 \pm 0,04$  нг/мл. Учитывая, что TNF- $\alpha$  продуцируется моноцитами, макрофагами и Th1-лимфоцитами, повышение его уровня у инфицированных женщин, очевидно, свидетельствует о повышении активизации клеточно-опосредованных иммунных реакций, дисфункция которых часто встречается у больных с урогенитальным трихомониазом [1, 2]. Приведенные в таблице данные, о повышении уровня TNF- $\alpha$ , могут свидетельствовать также о нарушениях клеточного и гуморального звеньев местного иммунитета репродуктивной системы женщин, инфицированных трихомонадами и указывать на усиление резервных механизмов поддержания гомеостаза [6].

Итак, снижение уровня одних провоспалительных цитокинов в вагинальном секрете и повышение содержания других у больных с мочеполовым трихомониазом может указывать на дисбаланс регуляторных процессов, ответственных за поддержание оптимального уровня клеточной активности.

Нельзя не отметить тот факт, что мы регистрируем присутствие цитокинов в вагинальном секрете практически здоровых женщин (без гинекологической патологии и генитальной инфекции). Наличие провоспалительных цитокинов в вагинальной слизи здоровых женщин можно объяснить тем, что исследованное нами функционирование местного иммунитета клинически здоровых женщин не является полностью спокойным состоянием иммунной системы, поскольку в исследуемых секретах появляются собственные отмирающие клетки. При этом слизистые влагалища всё время контактируют с нормальной микрофлорой и с микроорганизмами, поступающими извне. По-видимому, выработка цитокинов является физиологически необходимой для поддержания антимикробной защиты репродуктивного тракта в состоянии постоянной активации, так как влагалище является пограничным органом, которое препятствует попаданию патогенов в шейку и полость матки.

## Выводы

1. В вагинальном секрете женщин с мочеполовым трихомониазом отмечено повышение уровня IL-8, RAIL-1, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  и снижение содержания IFN- $\gamma$  по сравнению с показателями здоровых женщин.

2. Провоспалительные цитокины IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  отражают состояние местного иммунитета и интенсивность воспалительных реакций урогенитального тракта при инфицировании трихомонадами. При этом отмечены более высокие концентрации IL-1 $\beta$ , что может служить маркером местного воспалительного ответа при трихомонадной инфекции.

## Список литературы

1. Горина Е.Ю., Бутов Ю.С., Резайкина А.В. Провоспалительные цитокины (ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6) у больных мочеполовым трихомониазом // Росс. Журнал кожных и вен. болезней. - 2001. - № 6. - С.43-46.
2. Кисина В.И. Урогенитальный трихомониаз: проблемы и пути их решения // Инфекции, передаваемые половым путём. - 2001. - №6. - С.14-17.
3. Ковальчук Л.В., Соболев Б.Н., Ганковская Л.Н., Юдин А.А. Анализ молекулярного взаимодействия в системе ИЛ-1 $\alpha$  ИЛ-РА- ИЛ-1 $\beta$  // Иммунология. - 2001. - №1. - С.6-10.
4. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Рубашова Э.И. Система цитокинов. - М. - 1999.
5. Маянский Н.А., Рос Д., Кайперс Т. Каспазо-независимый путь клеточной гибели нейтрофилов человека индуцированный TNF $\alpha$  // Цитокины и воспаление. - Том 2. - №1. - 2003. - С 29-35.
6. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление. - 2004. - Том 3. - №2. - С.16-22.
7. Фрейдлин И.С., Назаров П.Г. Регуляторные функции провоспалительных цитокинов и острофазных белков // Вестн. РАМН. - 1999. - № 5. - С. 28-32.
8. Френсис Дж. Боуден, П.Джеффри Гарнет. Эпидемиология трихомониаза: параметры и анализ модели лечебных вмешательств // Инфекции, передаваемые половым путём. - 2001. - №6. - С.5-13.
9. Petrin D., Delgaty K., Bhatt R. Clinical and microbiological aspects of Trichomonos vaginalis // Clin. Microbiol. Rev. 1998;11: 300-317.
10. Malyak M., Smith M.F.Jr., Abel A.A. The differential production of three forms of IL-1 receptor antagonist by human neutrophils and monocytes // J. Immunol. - 1998. - Vol.161. - P. 2004-2010.

поступила в редакцию 01.08.2005  
принята к печати 14.09.2005