

ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ПАТОЛОГИИ ШЕЙКИ МАТКИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Абрамовских О.С.

НИИ иммунологии ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», г. Челябинск

Резюме. Пусковым фактором развития цервикальных неопластических процессов (CIN) считается папилломавирусная инфекция. CIN чаще возникает на фоне хронических воспалительных процессов шейки матки. Развитие цервикальной патологии во многом определяется состоянием иммунной реактивности организма и, в первую очередь, локальной защиты репродуктивного тракта женщины. Нейтрофилы являются основными клетками, осуществляющими первую встречу с патогеном и мощными эффекторами воспаления. Они вовлечены в развитие противоопухолевого ответа. Целью работы стала оценка показателей функционального состояния нейтрофилов при CIN, ассоциированной с ПВИ. Выявлено, что при CIN II-III степени, ассоциированной с ПВИ, происходит выраженное изменение функционального состояния нейтрофилов цервикальной слизи по сравнению с показателями пациенток, у которых диагностирован хронический воспалительный процесс в сочетании с эктопией шейки матки. Изменения функциональных способностей нейтрофилов цервикальной слизи у женщин с CIN II-III степени поддерживают хроническое воспаление, вызванное ПВИ, тем самым, увеличивая вероятность развития онкологического заболевания.

Ключевые слова: папилломавирусная инфекция, цервикальная интраэпителиальная неоплазия, нейтрофилы, иммунитет, шейка матки.

Abramovskikh O.S.

FUNCTIONAL ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN CUTANEOUS AND MUCOSAL LESIONS OF CERVIX UTERI, ASSOCIATED WITH PAPILLOMAVIRUS INFECTION

Abstract. Human papillomaviruses (HPV) infection are considered as a triggering factor of cervical neoplastic events (e.g., CIN) and are responsible for many cutaneous and mucosal lesions of cervix uteri. CIN commonly emerges from benign cervical tissue changes. There is clear evidence that local immune response in reproductive system plays a major role in the control and course of benign cervical tissue changes. Neutrophils play main role in encountering pathogens, primary antigen reactions and mediate powerful inflammatory effects. They are involved into development of antitumor response. The main purpose of our investigation was to study some indexes of neutrophil functional activity in women with CIN II-III associated with HPV-infection. It was shown that considerable changes in functional activity of neutrophils in mucous cervical secretions from women with CIN II-III, as compared to patients with chronic inflammation, accompanied by benign cervical changes (cervical ectopia). The alterations of neutrophil functional activity in women with CIN II-III may sustain a local chronic inflammation, associated with HPV-infection, thus increasing probability and predicting a of higher-grade tumor disease. (*Med. Immunol.*, vol. 12, N 4-5, pp 409-412)

Адрес для переписки:

Абрамовских Ольга Сергеевна
ЧелГМА, НИИ иммунологии
г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
Тел.: (351) 232-01-51.
Факс: (351) 778-01-71.
E-mail: abramoschel@mail.ru

Keywords: papillomavirus infection, cervical intraepithelial neoplasia, neutrophiles, immunity, cervix uteri.

Введение

Большая частота встречаемости диспластических процессов шейки матки и их неблагоприятное влияние на репродуктивное здоровье женщины определяет необходимость совершенствования диагностики и лечения данной патологии. Цервикальная интраэпителиальная неоплазия (CIN) является самой частой формой морфологического предрака шейки матки и чаще возникает на фоне хронических воспалительных процессов, которые увеличивают вероятность онкологического заболевания. Согласно данным современной литературы иницирующая роль в развитии CIN принадлежит вирусу папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) [1, 3, 6, 15].

Несмотря на тот факт, что ВПЧ-индуцированные изменения структуры эпителия создают предпосылки для манифестации цервикальной неопластической патологии, инфицирование вирусом не всегда вызывает патологический процесс [6, 7]. Развитие изучаемой патологии во многом определяется состоянием иммунной реактивности организма и, в первую очередь, локальной защиты репродуктивного тракта женщины [1, 5, 13, 14]. При нарастании агрессивности антигенного воздействия на слизистую оболочку шейки матки у больных хроническим воспалительным процессом прогрессируют деструктивные изменения эпителиоцитов, нарушаются межклеточные контакты, снижается герметизация эпителия [9]. Параллельно развивается вторичный местный иммунодефицит, который во многом и предопределяет исходы патологического процесса [8].

Наряду с многочисленными исследованиями факторов клеточного и гуморального звеньев локального иммунитета [8, 12], данные о функциональном состоянии нейтрофилов при цервикальной патологии, ассоциированной с ВПЧ-инфекцией, ограничиваются единичными работами и являются противоречивыми. Нейтрофилы – важные функциональные элементы врожденного иммунитета. По количеству и функциональной активности нейтрофилы цервикальной слизи превосходят гранулоциты других секретов гениталий. Они являются основными клетками, осуществляющими первую встречу с патогеном, и мощными эффекторами воспаления [10, 11]. Нейтрофилы вовлечены в развитие противоопухолевого ответа, однако роль нейтрофилов в возникновении и развитии опухолей неоднозначна [2].

Учитывая вышеизложенное, целесообразным и перспективным направлением для оценки роли нейтрофилов в манифестации неопластических процессов шейки матки, ассоциированных

с ПВИ, является исследование их функциональной активности, что и явилось целью нашего исследования.

Материалы и методы

Для реализации поставленной цели было проведено изучение иммунологических показателей цервикальной слизи у 83-х женщин (средний возраст $28,1 \pm 0,9$ лет) с патологией шейки матки, у которых предварительно методом ПЦР в режиме реального времени был выявлен ВПЧ ВКР. В соответствии с целью исследования пациентки были разделены на 3 группы: 1 группа – 19 пациенток с CIN I степени; 2 группа – 21 пациентка с CIN II степени; 3 группа – 21 пациентка с CIN III степени. Группу сравнения составили 22 женщины с хроническим цервицитом в сочетании с эктопией шейки матки (ХЦ+ЭШМ). Диагноз был выставлен акушерами-гинекологами женской консультации ГKB № 8 г. Челябинска на основании анамнестических, клинических, кольпоскопических и гистологических методов исследования.

Материалом для выделения ДНК ВПЧ и последующей амплификации послужили соскобы эпителия цервикального канала, взятые одноразовыми цитощетками до начала курса лечения. В качестве метода выявления ДНК ВПЧ ВКР использовалась ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени при помощи диагностического набора «Амплисенс ВПЧ ВКР – СКРИН-ТИТР FRT» производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва. Для оценки иммунологических показателей исследовалась цервикальная слизь. Забор материала проводился в первую фазу менструального цикла. Было определено общее количество лейкоцитов, абсолютное и относительное содержание жизнеспособных клеток в 1 мл слизи, функциональная активность нейтрофилов – фагоцитарная и лизосомальная активности, кислородзависимый метаболизм и функциональный резерв нейтрофилов (ФРН) в НСТ-тесте [4].

Полученные результаты исследования были обработаны общепринятыми методами вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0». При анализе количественных признаков оценка достоверности различий между группами производилась с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

При исследовании клеточных факторов цервикальной слизи было установлено, что в группе с CIN I, по сравнению с группой сравнения, достоверных изменений изучаемых показателей

не выявлено (табл. 1, 2). Существенное изменение функций нейтрофилов наблюдалось нами при ВПЧ-ассоциированной CIN II и III степени. В обеих группах установлено снижение фагоцитарной активности, более выраженное в группе с CIN III ($p = 0,0484$ и $p = 0,0004$, соответственно). Функциональный резерв нейтрофилов так же существенно снижался как в группе CIN II ($p = 0,0382$), так и в группе CIN III ($p = 0,0077$) по сравнению с аналогичными показателями в группе сравнения. Для пациенток группы с CIN II было характерным снижение интенсивности индуцированного НСТ-теста ($p = 0,0264$), для пациенток группы с CIN III – снижение интенсивности фагоцитоза и фагоцитарного числа ($p = 0,0003$ и $p = 0,0265$, соответственно); увеличение процентного содержания жизнеспособных клеток в цервикальной слизи ($p = 0,0243$), по сравнению с пациентками, у которых диагностирован хронический воспалительный процесс шейки матки.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при CIN II-III степени, ассоциированной с ПВИ, происходит выраженное изменение функционального состояния нейтрофилов цер-

викальной слизи по сравнению с аналогичными показателями пациенток, у которых диагностирован хронический воспалительный процесс в сочетании с эктопией шейки матки. Нарушения функциональных способностей нейтрофилов выражаются в угнетении фагоцитарной функции, более выраженном при CIN III, изменении окислительно-восстановительных процессов при CIN II степени, резком снижении функционального резерва нейтрофилов при CIN II-III степени. При этом CIN III сопровождалось увеличением содержания в цервикальной слизи жизнеспособных клеток.

Развитие патологического процесса в репродуктивном тракте женщин является активной реакцией иммунной системы, в целом, и иммунологических факторов секретов гениталий, в частности, на внедрение инфекционного агента и дальнейшее течение заболевания. По-нашему мнению, выявленные нами изменения функциональных способностей нейтрофилов цервикальной слизи у женщин с CIN II-III степени поддерживают хроническое воспаление, вызванное ПВИ, тем самым, увеличивая вероятность развития онкологического заболевания. Увеличение

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЛЕЙКОЦИТОВ В ЦЕРВИКАЛЬНОЙ СЛИЗИ У ЖЕНЩИН С CIN I-III СТЕПЕНИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ПВИ, ($M \pm m$)

| Показатели | Группа сравнения (n=22) | Группы | | |
|---|-------------------------|------------------|------------------|-------------------|
| | | CIN I (n = 19) | CIN II (n = 21) | CIN III (n = 21) |
| Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$ | 23,72 \pm 4,93 | 15,05 \pm 4,71 | 17,69 \pm 3,67 | 18,84 \pm 2,45 |
| Жизнеспособные лейкоциты, % | 38,25 \pm 3,91 | 43,83 \pm 7,71 | 39,55 \pm 4,59 | 55,37 \pm 4,83* |
| Жизнеспособные лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ | 7,31 \pm 1,20 | 7,04 \pm 2,76 | 7,38 \pm 2,03 | 12,00 \pm 1,88 |

Примечание. * – различия достоверны по отношению к группе сравнения.

ТАБЛИЦА 2. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ В ЦЕРВИКАЛЬНОЙ СЛИЗИ У ЖЕНЩИН С CIN I-III СТЕПЕНИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ПВИ, ($M \pm m$)

| Показатели | Группа сравнения (n = 22) | Группы | | |
|--|---------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | CIN I (n = 19) | CIN II (n = 21) | CIN III (n = 21) |
| Активность фагоцитоза нейтрофилов, % | 46,50 \pm 2,87 | 54,67 \pm 5,58 | 36,00 \pm 4,31* | 28,21 \pm 2,97* |
| Интенсивность фагоцитоза нейтрофилов, у.е. | 1,44 \pm 0,14 | 1,93 \pm 0,37 | 1,12 \pm 0,22 | 0,70 \pm 0,107* |
| Фагоцитарное число | 3,09 \pm 0,23 | 3,39 \pm 0,37 | 2,93 \pm 0,32 | 2,41 \pm 0,17* |
| НСТ-тест спонтанный, % | 27,69 \pm 4,02 | 29,33 \pm 8,91 | 28,18 \pm 3,25 | 29,79 \pm 3,73 |
| НСТ-тест спонтанный, у.е. | 0,32 \pm 0,05 | 0,38 \pm 0,12 | 0,35 \pm 0,05 | 0,44 \pm 0,076 |
| НСТ-тест индуцированный, % | 38,25 \pm 3,18 | 42,33 \pm 8,59 | 30,55 \pm 2,83 | 34,79 \pm 4,02 |
| НСТ-тест индуцированный, у.е. | 0,55 \pm 0,06 | 0,57 \pm 0,14 | 0,38 \pm 0,04* | 0,54 \pm 0,08 |
| Функциональный резерв нейтрофилов, у.е. | 2,51 \pm 0,45 | 2,11 \pm 0,59 | 1,38 \pm 0,26* | 1,49 \pm 0,26* |
| Лизосомальная активность нейтрофилов, у.е. | 132,25 \pm 25,02 | 244,33 \pm 64,92 | 171,27 \pm 28,25 | 189,63 \pm 39,97 |

Примечание. * – различия достоверны по отношению к группе сравнения.

притока жизнеспособных клеток при CIN III, по-видимому, связано с усугублением диспластического процесса шейки матки. Изменение функционального статуса нейтрофилов приводит к повышенной продукции в очаге воспаления активных форм кислорода, которые имеют огромный канцерогенный потенциал. Реализация онкогенного потенциала приводит к увеличению количества мутаций в клетках, тем самым вносит существенный вклад в мультистадийный процесс канцерогенеза.

Список литературы

1. Киселев Ф.Л. Генетические и эпигенетические факторы прогрессии опухолей шейки матки // Вестник РАМН. – 2007. – № 11. – С.25-32.
2. Мальцева В.Н. Респираторный взрыв и особенности его регуляции в периферических нейтрофилах при росте опухоли *in vivo*: Автореф. дис. ...канд. биол. наук. – Пущино, 2007. – 138 с.
3. Манынбаев О.А., Елисева М.Ю., Доорбар Дж., Манухин И.Б. Эпидемиология, молекулярная биология, патофизиология и принципы иммунотерапии ПВИ // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2009. – Т. 8, № 3. – С.69-79.
4. Методы изучения местного иммунитета репродуктивного тракта женщин: Метод. рекомендации / сост.: В.Н. Долгушина, И.И. Долгушин, Л.Ф. Телешева и др. Челябин. гос. мед. акад. – Челябинск: Челяб. гос. мед. акад, 1999. – 22 с.
5. Падруль В.М. Комплексный анализ клинико-иммунологических особенностей при эктопии шейки матки, ассоциированной с папилломавирусной инфекцией, как основа оптимизации терапии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Пермь, 2007. – 22 с.
6. Прилепская В.Н., Роговская С.И., Кондриков Н.И., Сухих Г.Т. Папилломавирусная инфекция: диагностика, лечение и профилактика. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 32 с.
7. Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция нижних отделов гениталий (клиника, диагностика и лечение): дис. ... д-ра мед. наук – М., 2003. – 273 с.
8. Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки: руководство для практикующего врача. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 144 с.
9. Рудакова Е.Б., Панова О.Ю., Вотрина И.Р. Возрастные особенности патологии шейки матки // Гинекология. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 184-188.
10. Савочкина А.Ю. Иммунологические показатели в диагностике хронического цервицита и при его сочетании с хроническим эндометритом: Автореф. дис. ...канд. мед. наук. – Челябинск, 2006. – 324 с.
11. Телешева Л.Ф. Иммунологические факторы секретов репродуктивного тракта женщин: дис. ... д-ра мед. наук – Челябинск, 2000. – 324 с.
12. Fichorova R.N., Anderson D.J. Differential expression of immunobiological mediators by immortalized human cervical and vaginal epithelial cells // Biol. Reprod. – 1999. – Vol. 60, N 2. – P. 508-514.
13. Rudolf S., Riethdorf L., Schulz G. Relationship between telomerase activation and HPV16/18 oncogene expression in squamous intraepithelial lesions and squamous cell carcinomas of the uterine cervix // Int. J. Gynecol. Pathol. – 2001. – Vol. 20. – P. 177-185.
14. Stanley M., Immune responses to human papillomavirus // Vaccine. – 2006. – Vol. 24, N 1. – P. 16-22.
15. Stanley M.A., Pett M.R., Coleman N. HPV: from infection to cancer // Biochem. Soc. Trans. – 2007. – Vol. 35, P. 6. – P. 1456-1460.

поступила в редакцию 03.03.2010

отправлена на доработку 08.03.2010

принята к печати 29.03.2010