

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ ЦЕРВИКАЛЬНОЙ СЛИЗИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Оксана Васильевна Скиданенко-Левина*

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

Реферат

Цель. Изучение уровней про- и противовоспалительных цитокинов в цервикальном отделяемом женщин с дисплазией эпителия шейки матки и латентной формой папилломавирусной инфекции.

Методы. В исследование вошли 120 женщин в возрасте от 20 до 40 лет с папилломавирусным поражением шейки матки, которые были разделены на две группы с использованием метода «случай-контроль». В первую группу были включены 60 женщин с латентной формой, во вторую группу — 60 женщин с дисплазией эпителия шейки матки лёгкой и умеренной степени (цервикальной интраэпителиальной неоплазией I и II). Уровни цитокинов определяли в цервикальной слизи методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы «ProCon».

Результаты. В результате проведённого иммуноферментного анализа у женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией был выявлен повышенный уровень интерлейкина-4, интерлейкина-10 (43 [21; 74] и 48 [12; 88] пг/мл соответственно) и, напротив, была снижена концентрация интерлейкина-2 (18,5 [5,5; 27,5] пг/мл), интерлейкина-6 (0,6 [0,06; 0,9] пг/мл), фактора некроза опухоли альфа (88,5 [0; 123] пг/мл), интерферона γ (2 [0; 4] пг/мл) в цервикальной слизи по сравнению с соответствующими показателями в группе женщин с латентным течением папилломавирусной инфекции. Таким образом, у женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией было выявлено повышение уровня противовоспалительных цитокинов: интерлейкина-4 — в 2,7 раза, а интерлейкина-10 — в 2,4 раза по сравнению с женщинами, имеющими латентную форму папилломавирусной инфекции. При этом концентрация провоспалительных цитокинов была снижена: интерлейкина-2 — в 1,4 раза, интерлейкина-6 — в 4,5 раза, фактора некроза опухоли альфа — в 1,8 раза, интерферона γ — в 6,3 раза ($p < 0,05$).

Вывод. Дисбаланс цитокиновой регуляции локального иммунного ответа с преобладанием противовоспалительных цитокинов может служить важным фактором, поддерживающим персистенцию вируса папилломы человека в эпителии шейки матки и способствующим развитию и прогрессированию цервикальной интраэпителиальной неоплазии.

Ключевые слова: цитокины, цервикальная слизь, вирус папилломы человека, цервикальная интраэпителиальная неоплазия (дисплазия).

CYTOKINE PROFILE OF CERVICAL MUCUS AT DIFFERENT FORMS OF PAPILLOMAVIRUS INFECTION

O.V. Skidanenko-Levina

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Aim. To study the levels of pro- and anti-inflammatory cytokines in cervical secretion in females with cervical epithelial dysplasia and latent papillomavirus infection.

Methods. The study included 120 females aged 20 to 40 years with cervical papillomavirus infection, who were assigned to two groups using «case-control» method. The first group included 60 females with latent disease, the second group — 60 females with mild and moderate cervical epithelial dysplasia (cervical intraepithelial neoplasia stages I and II). Cytokine levels in cervical secretion were measured by ELISA using «ProCon» test system.

Results. ELISA test showed increased levels of interleukin-4 and interleukin-10 (43 [21; 74] and 48 [12; 88] pg/ml, respectively) and decreased levels of interleukin-2 (18.5 [5.5; 27.5] pg/ml), interleukin-6 (0.6 [0.06; 0.9] pg/ml), tumor necrosis factor alpha (88.5 [0; 123] pg/ml), interferon γ (2 [0; 4] pg/ml) in cervical secretion of females with cervical epithelial dysplasia compared to females with latent papillomavirus infection. Thus, females with cervical epithelial dysplasia showed increased levels of anti-inflammatory cytokines: interleukin-4 — by 2.7 times and interleukin-10 — by 2.4 times compared to females with latent disease, while levels of pro-inflammatory cytokines was decreased as following: interleukin-2 — by 1.4 times, interleukin-6 — by 4.5 times, tumor necrosis factor alpha — by 1.8 times, interferon γ — by 6.3 times ($p < 0.05$).

Conclusion. Imbalance of immune response cytokine regulation with anti-inflammatory cytokines prevailing might be an important factor facilitating persistence of papillomavirus in cervical epithelium and contributing to cervical epithelial dysplasia onset and progression.

Keywords: cytokines, cervical mucus, human papillomavirus, cervical intraepithelial neoplasia (displasia).

Инфицирование вирусом папилломы человека (ВПЧ) — основной этиологический фактор развития цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN — от англ. Cervical Intraepithelial Neoplasia) и рака шейки матки [9, 10]. В Томской области наиболее часто выявляют ВПЧ 16-го типа. В 50–62% наблюдений в течение 3 лет ВПЧ-ассоциированные поражения эпителия шейки матки подвергаются регрессии при отсутствии отя-

гощающих факторов, таких как возраст старше 30 лет, большое количество половых партнёров, отсутствие барьерных методов контрацепции, нарушения гормонального гомеостаза (Всемирная организация здравоохранения). По сведениям учёных Калифорнийского университета (США) у 70% молодых ВПЧ-инфицированных женщин ДНК ВПЧ перестаёт определяться в эпителии шейки матки в течение 24 мес [7].

До настоящего времени остаётся неясным, почему в одних случаях происходит

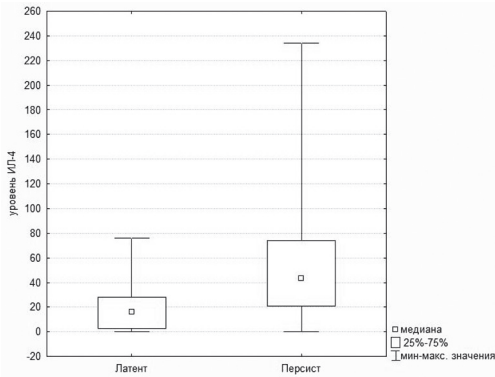


Рис. 1. Концентрация интерлейкина-4 (ИЛ-4) у женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (персистирующей формой папилломавирусной инфекции) и женщин с латентной формой папилломавирусной инфекции.

спонтанная элиминация ВПЧ, а в других наблюдается персистенция вируса. Можно предположить, что ключевую роль в этом процессе играют локальные иммунные механизмы, в частности цитокиновая регуляция локального иммунного ответа на ВПЧ. Нарушение данной регуляции, проявляющееся в преобладании провоспалительных цитокинов над противовоспалительными, возможно, повышает вероятность персистенции вируса в организме, что может способствовать формированию неопластических процессов.

Целью настоящего исследования было изучение уровня про- и противовоспалительных цитокинов в цервикальном отделяемом женщин с дисплазией эпителия шейки матки и у женщин с латентной формой ВПЧ-инфекции.

В исследование вошли 120 женщин в возрасте от 20 до 40 лет с ВПЧ-ассоциированным поражением шейки матки, которые были разделены на две группы с использованием метода «случай-контроль». В первую группу были включены 60 женщин с латентной формой, во вторую группу — 60 женщин с персистирующей формой ВПЧ (CIN I и II). Уровни цитокинов определяли в цервикальной слизи методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы «Pro-Con». Забор цервикального отделяемого осуществляли с помощью глазной губки [3–6]. Выделение форм ВПЧ-поражения эпителия шейки матки выполняли на основании классификации ВПЧ-ассоциированных поражений нижнего отдела гениталий [2].

Диагноз CIN устанавливали на основании гистологического заключения согласно классификации Всемирной организации здравоохранения. Диагноз латентной формы

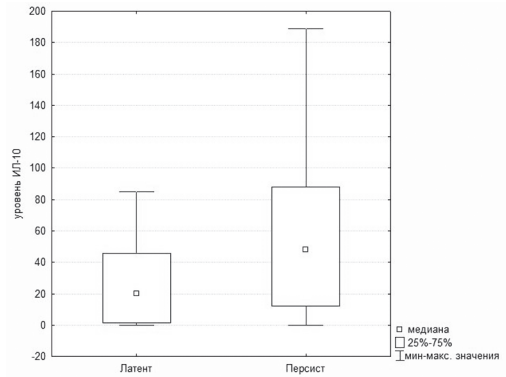


Рис. 2. Концентрация интерлейкина-10 (ИЛ-10) у женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (персистирующей формой папилломавирусной инфекции) и женщин с латентной формой папилломавирусной инфекции.

ВПЧ-ассоциированного поражения шейки матки установлен на основании отсутствия клинических, морфологических, цитологических изменений при наличии дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) ВПЧ в клетках эпителия шейки матки.

У всех женщин была выявлена ДНК ВПЧ 16-го типа методом полимеразной цепной реакции с использованием типичных праймеров (L1C1/L1C2/L1C2M) для области L1 ВПЧ [8].

Особенности цитокиновой регуляции локального иммунитета шейки матки оценивали на основании концентрации уровня цитокинов: интерферона γ (ИФН γ), интерлейкина-10 (ИЛ-10), ИЛ-4, ИЛ-2, ИЛ-6, фактора некроза опухоли альфа в цервикальном отделяемом.

Статистическая обработка проведена с использованием программы «Statistica 8.0». Результаты выражены в виде медианы и интерквартильного размаха, их считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Сравнение двух независимых групп выполняли с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни.

У всех женщин, включённых в исследование, было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании.

В результате проведённого иммуноферментного анализа у женщин с CIN (персистирующей формой ВПЧ) был выявлен повышенный уровень ИЛ-4, ИЛ-10 (43 [21; 74] пг/мл и 48 [12; 88] пг/мл соответственно) в цервикальной слизи (рис. 1, 2).

ИЛ-10 относится к группе противовоспалительных цитокинов и является ингибитором активности Т-хелперов 1-го типа (Th1-клеток). Он синтезируется Т-хелперами 2-го

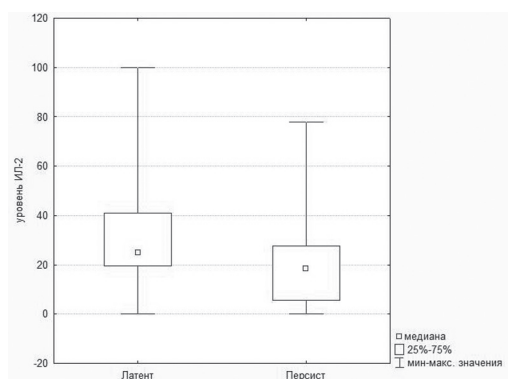


Рис. 3. Концентрация интерлейкина-2 (ИЛ-2) у женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией при персистирующей и латентной формах папилломавирусной инфекции.

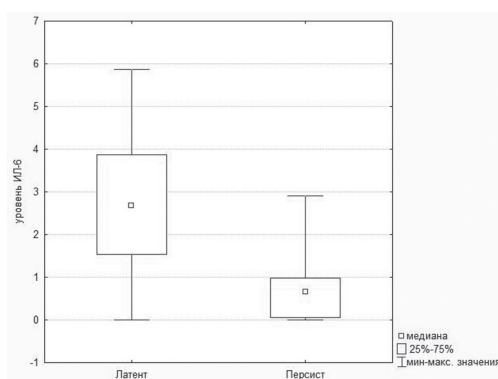


Рис. 4. Концентрация интерлейкина-6 (ИЛ-6) у женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией при персистирующей и латентной формах папилломавирусной инфекции.

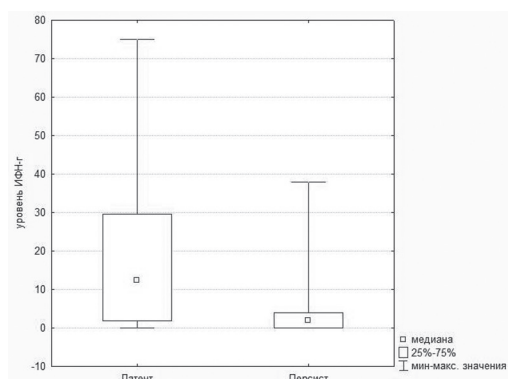


Рис. 5. Концентрация интерферона γ (ИФН-γ) у женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией при персистирующей и латентной формах папилломавирусной инфекции.

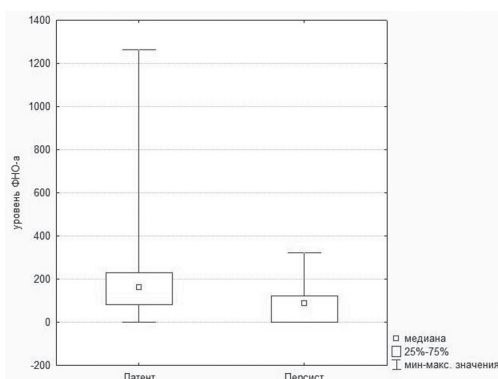


Рис. 6. Концентрация фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α) у женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией при персистирующей и латентной формах папилломавирусной инфекции.

типа (Th2-клетками), моноцитами и цитотоксическими Т-клетками. Основная функция ИЛ-10 состоит в угнетении синтеза цитокинов Th1-клетками и снижении активности макрофагов, в том числе продукции провоспалительных цитокинов. В то же время ИЛ-10 является синергистом ИЛ-4 и повышает синтез иммуноглобулинов М и А. Таким образом, ИЛ-10 служит важным регулятором иммунного ответа, подавляющим активность макрофагов и Th1-клеток (в результате чего осуществляется цитотоксический ответ макроорганизма), а также обеспечивает реализацию некоторых биологических эффектов Th2-клеток, что способствует развитию гуморальной составляющей иммунного ответа, обуславливая аллергическую реактивность организма. Однако избыток ИЛ-10 ведёт к снижению противoinфекционной защиты и развитию хронических инфекций. Также полагают, что ИЛ-10 способствует стимуляции опухолевого роста в результате ингибирования Т-клеточного иммунного ответа.

Концентрация же ИЛ-2 (18,5 [5,5; 27,5] пг/мл), ИЛ-6 (0,6 [0,06; 0,9] пг/мл), фактора некроза опухоли альфа (88,5 [0; 123] пг/мл) и ИФН γ (2 [0; 4] пг/мл) в цервикальной слизи, напротив, была снижена в группе женщин с персистирующим течением ВПЧ-инфекции по сравнению с соответствующими показателями в группе женщин с латентным течением ВПЧ-инфекции (рис. 3–6).

ИЛ-2 был открыт и клонирован как фактор роста Т-клеток. Он синтезируется активированными Т-клетками и способствует дальнейшему росту активированных Т-лимфоцитов. ИЛ-2 стимулирует синтез других продуцируемых Т-клетками цитокинов, в частности ИФН γ, фактора некроза опухоли альфа; а также стимулирует рост естественных киллеров и усиливает их цитолитические функции с образованием так называемых лимфокин-активированных киллеров [1].

ИФН γ образуется при стимуляции различными антигенами Т-лимфоцитов. ИФН γ

активирует моноклеарные фагоциты, непосредственно влияет на дифференцировку Т- и В-лимфоцитов; активирует нейтрофилы и естественные киллеры, служит активатором эндотелиальных клеток. Одним из первых было открытие противовирусного действия интерферонов, проявляющегося против как неонкогенных, так и онкогенных вирусов [1].

ВЫВОДЫ

1. У женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией было выявлено повышение уровня противовоспалительных цитокинов (интерлейкина-4 — в 2,7 раза, интерлейкина-10 — в 2,4 раза) по сравнению с женщинами, имеющими латентную форму папилломавирусной инфекции. При этом концентрация провоспалительных цитокинов была снижена: интерлейкина-2 — в 1,4 раза, интерлейкина-6 — в 4,5 раза, фактора некроза опухоли альфа — в 1,8 раза, интерферона γ — в 6,3 раза ($p < 0,05$).

2. На основании полученных данных можно предположить, что дисбаланс цитокиновой регуляции локального иммунного ответа с преобладанием противовоспалительных цитокинов становится важным фактором, поддерживающим персистенцию вируса папилломы человека в эпителии шейки матки и способствующим развитию и прогрессированию цервикальной интраэпителиальной неоплазии. В то же время повышенный уровень провоспалительных цитокинов, возможно, играет важную роль в процессе элиминации вируса папилломы человека. В дальнейшем это позволит разработать и внедрить в клиническую практику более со-

вершенные скрининговые мероприятия для выявления женщин с высоким риском развития цервикальной интраэпителиальной неоплазии и рака шейки матки до стадии интеграции вируса папилломы человека в геном человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кадагидзе З.Г. Цитокины. Практич. онкол. — 2003. — Т. 4, №3. — С. 131-139. [Kadagidze Z.G. Cytokines. *Prakticheskaya onkologiya*. 2003; 4 (3): 131-139. (In Russ.)]
2. Прилепская В.Н., Rogovskaya С.И., Межевитинова Е.А. Кольпоскопия: Практическое руководство. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2000. — 100 с. [Prilepskaya V.N., Rogovskaya S.I., Mezhevitinova E.A. Colposcopy. Practical guidelines. Moscow: GEOTAR-Media. 2000: 100. (In Russ.)]
3. Castle P.E., Hildesheim A., Bowman F.P. et al. Cervical concentrations of interleukin-10 and interleukin-12 do not correlate with plasma levels // *J. Clin. Immunol.* — 2002. — Vol. 22. — P. 23-27.
4. Gravitt P.E., Hildesheim A., Herrero R. et al. Correlates of IL-10 and IL-12 concentrations in cervical secretions // *J. Clin. Immunol.* — 2003. — Vol. 23. — P. 175-183.
5. Lieberman J.A., Moscick A.-B., Sumere J.L. et al. Determination of cytokine protein levels in cervical mucus samples from young women by a multiplex immunoassay method and assessment of correlates // *Clin. Vaccine Immunol.* — 2008. — Vol. 15, N 1. — P. 49-54.
6. Rohan L.C., Edwards R.P., Kelly L.A. et al. Optimization of the Weck-cel collection method for quantitation of cytokines in mucosal secretions // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* — 2000. — Vol. 7. — P. 45-48.
7. Takac I., Marin J., Gorisek B. Human papillomavirus 16 and 18 infection of the uterine cervix in women with different grades of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) // *Intern. J. Gynaecol. Obstet.* — 1998. — Vol. 61. — P. 269-273.
8. Yoshikawa H., Kawana T., Kitagawa K. et al. Detection and typing of multiple genital human papillomaviruses by DNA amplification with consensus primers // *Jpn. J. Cancer Res.* — 1991. — Vol. 82. — P. 524-531.
9. Zur H.H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in carcinogenesis // *J. Natl. Cancer Inst.* — 2000. — Vol. 92. — P. 690-698.
10. Zur H.H. Papillomaviruses causing cancer: from basic studies to clinical application // *Nature Rev. Cancer.* — 2002. — Vol. 2. — P. 342-350.