

УДК: 616.35-006-089.819:612.019

## В.В. Бибик ВИВЧЕННЯ СТАНУ КЛІТИННОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ У ЖІНОК З ЦЕРВІКАЛЬНОЮ ІНТРАЕПІТЕЛІАЛЬНОЮ НЕОПЛАЗІЄЮ ПОМІРНОГО СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ НА ПЕРШОМУ РІВНІ НАДАННЯ МЕДИКО- САНІТАРНОЇ ДОПОМОГИ

ДЗ «Луганський державний медичний університет»

**Бибик В.В.** Вивчення стану клітинної ланки імунітету у жінок з цервікальною інтраепітеліальною неоплазією помірною ступеня тяжкості на першому рівні надання медико-санітарної допомоги // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 3. – С. 22-25.

У жінок з цервікальною інтраепітеліальною неоплазією II ступеня (CIN II), виявлено наявності Т-лімфопенії, дисбалансу субпопуляційного складу Т-лімфоцитів, переважно із зниженням кількості Т-хелперів/індукторів (CD4<sup>+</sup>), та в меншому ступені Т-супресорів/кілерів (CD8<sup>+</sup>), тому імунорегуляторний індекс CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> був переважно знижений в більшості обстежених. Отримані дані дозволяють вважати, що наявність зсувів у клітинній ланці імунітету є характерною ознакою CIN II.

**Ключові слова:** цервікальна інтраепітеліальна неоплазія II ступеня, клітинна ланка імунітету, перший рівень надання медико-санітарної допомоги.

**Бибик В.В.** Изучение состояния клеточного звена иммунитета у женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией умеренной степени тяжести на первом уровне оказания медико-санитарной помощи // Украинський медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 3. – С. 22-25.

У женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией II степени (CIN II) обнаружено наличие Т-лимфопении, дисбаланса субпопуляционного состава Т-лимфоцитов, преимущественно со снижением количества Т-хелперов/индукторов (CD4), и в меньшей степени Т-супрессоров/киллеров (CD8), поэтому и иммунорегуляторный индекс CD4 / CD8 был преимущественно снижен у большинства обследованных. Полученные данные позволяют считать, что наличие изменений в клеточном звене иммунитета является характерным признаком CIN II.

**Ключевые слова:** цервикальная интраэпителиальная неоплазия II степени, клеточное звено иммунитета, первый уровень оказания медико-санитарной помощи.

**Bibik V.V.** The Study of cellular immunity in women with cervical intraepithelial neoplasia grade II on the first level of health care // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 3. – С. 22-25.

In the patients with cervical intraepithelial neoplasia grade II (CIN-II) is detected T-lymphopenia, an imbalance of the subpopulation of T-lymphocytes, and immunoregulatory index CD4+/CD8+ was largely reduced in the majority of the patients. These data suggest that the presence of shifts in the cellular link of immunity is the hallmark of CIN-II.

**Keywords:** the cervical intraepithelial neoplasia grade II, cellular immunity, first level of health care.

**Вступ.** Цервікальна інтраепітеліальна неоплазія (Cervical intraepithelial neoplasia - CIN) – захворювання, яке супроводжується атиповими змінами епітелію слизової оболонки та являє собою перехідну форму від здорової шийки матки до раку [7]. Не завжди, але досить часто CIN переходить у рак шийки матки, тому дуже важливою є своєчасна діагностика захворювання та призначення адекватного лікування [2, 5]. Раніше вважалось, що в більшості випадків захворювання виникає у жінок віком від 30 років, однак на сьогоднішній день вірогідність розвитку CIN однакова як у віці 16 так і 35 років [4, 16]. Більше 90% жінок із CIN мають папіломавірусну інфекцію, яка може бути латентною, субклінічною або клінічно вираженою [1, 6]. Часто, крім папіломавірусної інфекції, у пацієнтки діагностують супутні інфекційні захворювання, які передаються статевим шляхом. Однак, головним фактором розвитку неопластичних процесів шийки матки на сьогоднішній день вважають вірус папіломи людини (ВПЛ) [13, 14, 18]. При встановленні діагнозу лікарі використовують класифікацію, яка була запропонована ВООЗ у 1995

році: CIN I (легка дисплазія) – характерні не виражені зміни будови епітелію, які охоплюють не більше третини товщі епітеліального пласту; CIN II (помірна дисплазія) – зміни будови епітелію не більше половини товщі епітеліального пласту; CIN III (тяжка дисплазія та карцинома in situ) – значні зміни будови епітелію більше половини товщі епітеліального пласту [1, 4].

Згідно аналізу сучасної наукової літератури, в патогенезі багатьох хвороб, в тому числі акушерсько-гінекологічного профілю, спостерігаються як кількісні, так і функціональні імунологічні порушення [1, 3, 10]. В той же час конкретні імунологічні порушення при CIN залишаються недостатньо вивченими, зокрема відсутні дані стану клітинної ланки імунітету у жінок, які хворі на дану патологію.

**Метою** роботи було вивчення стану клітинної ланки імунітету у жінок з CIN II на першому рівні надання медико-санітарної допомоги.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дана робота виконувалась відповідно з основним планом науково-

дослідницької роботи (НДР) ДЗ «Луганський державний медичний університет» і являє собою фрагменти теми НДР «Клініко-патогенетичні особливості цервікальної інтраепітеліальної неоплазії, лікування та медична реабілітація на першому рівні надання медико-санітарної допомоги» (№ держреєстрації 0108U0092786).

**Матеріали і методи досліджень.** Проведено обстеження 44 жінок з CIN II. Вік хворих складав від 25 до 55 років. Спостереження проводилось під час профоглядів працюючих жінок репродуктивного віку у сільській місцевості північних районів Луганської області (Сватівський, Білокуракінський, Троїцький та Старобільський райони).

Комплексне дослідження жінок складалося з даних анамнезу, клінічних та лабораторних досліджень, огляду шийки матки, бімануального дослідження, розширеної кольпоскопії, цитологічного дослідження зіскобів з ектоцервіксу та ендocerвіксу, морфологічного дослідження біопсійного матеріалу вражених зон шийки матки, ПЛР на високоонкогенні (16, 18, 31, 45) типи ВПЛ з цервікального матеріалу, за результатами сонографічного дослідження органів малого тазу, що в цілому відповідало вимогам Наказу МОЗ України № 676 від 31-12-2004 „Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю "Акушерство і гінекологія: доброякісні та передракові процеси шийки матки" [11, 12, 15].

Усім жінкам, що були під наглядом, поряд з загальноприйнятим клініко-патологічним обстеженням проводилося також дослідження клітинних показників імунітету. При цьому використовували цитотоксичний текст та моноклональні антитіла (МКАТ) класів CD3<sup>+</sup> (до загальної популяції Т-лімфоцитів) CD4<sup>+</sup> (до субпопуляції Т-хелперів/індукторів), CD8<sup>+</sup> (до субпопуляції Т-супресорів/кілерів) та CD22<sup>+</sup> (до загальної популяції В-лімфоцитів). У роботі використовували комерційні МКАТ фірми Ortho Diagnostic Systems Inc (USA), що були адаптовані для використання у цитотоксичному тесті. Функціональний стан Т-клітин оцінювали за допомогою реакції бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) при її постановці мікрометодом та з оцінкою результатів реакції за морфологічними даними. В якості мітогену при постановці РБТЛ використовували ФГА. Про функціональний стан Т-клітин судили також виходячи із співвідношення між Т-хелперами/індукторами (CD4<sup>+</sup>) та Т-супресорами/кілерами (CD8<sup>+</sup>), тобто імунорегуляторного індексу CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> (Th/Ts), що віддзеркалює співвідношення між хелперною та супресорною субпопуляціями Т-лімфоцитів [17].

Статистичну обробку отриманих результатів дослідження здійснювали на персональному комп'ютері Intel Pentium III 800 за допомогою одно- і багатofакторного дисперсійного

аналізу (пакети ліцензійних програм Microsoft Office 97, Microsoft Exel Stadia 6.1/prof та Statistica), при цьому враховували основні принципи використання статистичних методів [8, 9].

**Отримані дані та їхній аналіз.** При обстеженні хворих з CIN II було виявлено, що серед 44 жінок специфічних скарг не мало 79 % жінок, біля 21% мали скарги на дискомфорт в області геніталій та незначні періодичні болі внизу живота, незначні виділення тощо. Біля 32% жінок з CIN II, скаржилися на порушення менструальної функції, патологічні виділення з піхви, які супроводжуються періодичним больовим синдромом. При бімануальному дослідженні помітних відхилень, окрім ознак хронічних запальних захворювань яєчників та маткових труб не було. При огляді хворих з CIN II в дзеркалах було виявлено: патологічні виділення – у 17% хворих жінок, гіперемію ендo- та екзоцервіксу – у 21% пацієнток. При кольпоскопії: ендo- та екзоцервіцити – 28%, наботові кісти – 17%, ектопія (ектропіон) циліндричного епітелію – 38%, незакінчена зона трансформації – 38%, патологічні суди, які мляво реагують на 3% розчин оцтової кислоти (розширені, видовжені, деревоподібні тощо) – 16%, проба Шиллера (розчин Люголю) була негативною та слабонегативною у 48% випадків, поля дисплазії були помітні майже у кожній другій дослідженій жінки. Кожній жінці, яка мала кольпоскопічні відхилення, було взято два зіскоби за допомогою цервікобраншів (з едоцервіксу - внутрішньої поверхні цервікального каналу та екзоцервіксу – наружної поверхні). Цитологічно в ендocerвіксі превалювали зміни будови епітелію не більше половини товщі епітеліального пласту, а в екзоцервіксі – помірною неоплазією плоского епітелію (CIN II). У третини жінок з CIN II, цитологічно виявляли епітелій в стадії проліферації, у кожній другій були ознаки хронічного запалення (лейкоцитоз), атипічних клітин не знайдено.

У більшості жінок з CIN II, за кольпоскопічними показаннями було взято біопсійний матеріал з уражених зон та відправлено в гістологічну лабораторію ЛОКЛ. При цьому було виявлено ендo- та екзоцервікоз. Злоякісної патології не знайдено.

У плані скринінгових досліджень усім жінкам даної групи було запропоновано ПЛР піхвових мазків на предмет ВПЛ високоонкогенних типів. Результати показали, що позитивні реакції були підтверджені у 25% досліджених жінок, при цьому превалювали 16 та 18 типи вірусу. Ці жінки були носіями ВПЛ та були взяті на окремий облік.

При аналізі результатів імунологічного обстеження жінок, хворих на CIN II, які знаходились під наглядом в обласному центрі в кабінеті патології шийки матки ЛугДМУ, було встановлено наявність суттєвих зсувів з боку клітинної ланки імунітету (табл.).

Таблиця. Показники клітинної ланки імунітету у жінок з CIN II (M±m)

Імунологічні показники	Норма	Жінки з CIN II
CD3+ %	69,6±1,6	53,3±0,8***
109/л	1,3±0,03	0,88±0,02**
CD4+ %	45,6±1,1	34,8±0,7*
109/л	0,86±0,02	0,57±0,02**
CD8+ %	22,7±0,6	21,8±0,5
109/л	0,43±0,01	0,29±0,02*
CD22+ %	21,3±0,6	18,2±0,5
109/л	0,41±0,01	0,3±0,01
CD4/CD8	2,00±0,03	1,59±0,03***
РБТЛ з ФГА %	65,5±1,2	47,5±1,8**

**Примітка:** в таблиці вірогідність різниці показників відносно норми \* - при  $P < 0,05$ , \*\* -  $P < 0,01$ , \*\*\* -  $P < 0,001$ .

Згідно цієї таблиці, у хворих з CIN II кількість циркулюючих лімфоцитів з фенотипом CD3+ (тобто загальної популяції Т-клітин) у абсолютному вирахованні була знижена до  $(0,88 \pm 0,02) \cdot 10^9/\text{л}$ , тобто в середньому в 1,48 рази стосовно норми ( $P < 0,01$ ). У відносному вирахованні кількість CD3+-лімфоцитів у жінок, хворих на CIN II, була зниженою в середньому в 1,31 рази стосовно норми та складала  $(53,3 \pm 0,8)\%$  ( $P < 0,01$ ).

Крім чітко вираженої Т-лімфопенії, тобто зниження загальної кількості циркулюючих лімфоцитів з фенотипом CD3+ (тотальна популяція Т-лімфоцитів), було відмічено також вірогідне зниження кількості циркулюючих Т-хелперів/індукторів (CD4+) - жінок, хворих на CIN II. Так, число Т-лімфоцитів з фенотипом CD4+ (субпопуляція Т-хелперів/індукторів) у абсолютному вирахованні складало в середньому  $(0,57 \pm 0,02) \cdot 10^9/\text{л}$ , що було в 1,5 рази нижче відповідного показника норми  $(0,86 \pm 0,02) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $P < 0,001$ ). Відносна кількість CD4+-лімфоцитів у обстежених хворих була знижена в середньому в 1,31 рази стосовно норми та складала  $(34,8 \pm 0,7)\%$ . Отже, отримані дані свідчать, що кількість циркулюючих Т-хелперів/індукторів (CD4+-клітин) була знижена в периферійній крові у всіх хворих жінок, які були під наглядом.

Відносний рівень CD8+-лімфоцитів у жінок з CIN II, також мав деяку тенденцію до зниження, але дуже помірну. При цьому число Т-супресорів/кілерів (Т-клітин з фенотипом CD8+) у обстежених пацієнток у абсолютному вирахованні складало  $(0,29 \pm 0,02) \cdot 10^9/\text{л}$ , що було в 1,46 рази нижче відповідного показника норми  $(0,43 \pm 0,01) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $P < 0,001$ ). Відносна кількість CD8+-лімфоцитів у обстежених хворих жінок була знижена в середньому в 0,96 раз стосовно норми та складала  $(21,8 \pm 0,5)\%$ .

Імунорегуляторний індекс CD4/CD8, який характеризує співвідношення Т-лімфоцитів переважно з Т-хелперною та Т-супресорною активністю (Th/Ts) у жінок, хворих на CIN II був знижений у середньому в 1,59 рази стосовно норми та дорівнював  $1,59 \pm 0,03$  ( $P < 0,001$ ).

Рівень В-лімфоцитів в обстежених хворих

жінок змінювався незначно. Так, абсолютна кількість клітин з фенотипом CD22+ (загальна популяція В-лімфоцитів) була помірно знижена і становила в середньому  $(0,3 \pm 0,01) \cdot 10^9/\text{л}$  у жінок, хворих на CIN II ( $P < 0,01$ ), що було в 1,36 рази нижче відповідного показника норми  $(0,41 \pm 0,01) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $P < 0,001$ ). Однак при цьому відносна кількість CD8+-лімфоцитів у обстежених хворих була знижена в середньому в 1,17 рази стосовно норми та складала  $(18,2 \pm 0,5)\%$ .

При визначенні показників клітинного імунітету, окрім кількісної оцінки вмісту основних популяцій та субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів, була проаналізована також функціональна активність Т-клітин з використанням показника РБТЛ з ФГА. При цьому середні значення показника РБТЛ з ФГА, який відображає функціональну активність Т-лімфоцитів у жінок, хворих на CIN II, складала  $(47,5 \pm 1,8)\%$ , що було в середньому в 1,38 рази нижче норми ( $P < 0,01$ ).

Таким чином, отримані нами дані свідчать, що у жінок з CIN II, мають місце суттєві зсуви імунологічних показників, що характеризують стан клітинної ланки імунітету. Вони характеризуються наявністю Т-лімфопенії, дисбалансу субпопуляційного складу Т-лімфоцитів із зниженням як Т-хелперів/індукторів (CD4+) так і Т-супресорів/кілерів (CD8+) та зменшенням імунорегуляторного індексу CD4/CD8, що відзеркалює співвідношення Th/Ts. Було знижено також число В-клітин (CD22+) та суттєво пригнічена функціональна активність Т-лімфоцитів, яка вивчалася за допомогою РБТЛ з ФГА.

#### Висновки:

1. У даній роботі наведено теоретичне узагальнення та практичне вирішення актуальної наукової задачі в галузі гінекології – підвищення ефективності діагностики у жінок з CIN II.

2. До початку лікування у жінок з CIN II були виявлені порушення з боку клітинної ланки імунітету, а саме зниження кількості CD3+ в 1,48 рази стосовно норми, зменшення CD4+-клітин в 1,5 рази, зменшення CD22+ в 1,36 рази, імунорегуляторного індексу

CD4/CD8 в 1,59 рази та показника РБТЛ з ФГА - в середньому в 1,38 рази нижче відповідного показника норми.

3. Отримані показники клітинної ланки імунітету було виявлено у жінок з CIN II на

першому рівні надання медико-санітарної допомоги.

4. В наступних наших роботах планується вивчення показників клітинної ланки імунітету у жінок з CIN III.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. **Акопова Е.С.** Возможности диагностики и лечения заболеваний шейки матки, ассоциированных с вирусом папилломы человека / **Е. С. Акопова, С. И. Роговская** // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. 17, № 4. – С. 208–210.
2. **Вдовиченко Ю.П.** Підвищення ефективності ранньої діагностики захворювань шийки матки, враховуючи клініко-спадкові фактори ризику / **Ю.П. Вдовиченко** // Здоровье женщины. – 2012. – № 6 (72). – С. 126-128.
3. **Волошина Н.Н.** Скрининг и профилактика рака шейки матки / **Н.Н. Волошина** // Запорожье: Печатный Мир, 2010. – 155 с.
4. **Воробйова Л.І.** Проблеми патології шийки матки в Україні: аналітичний огляд наукової літератури / **Л.І. Воробйова** // Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. – 2012. – № 2. – С. 14-16.
5. **Дмитриева Е.И.** Цитологический скрининг как неотъемлемый элемент в профилактике рака шейки матки / **Е.И. Дмитриева** // Здоровье женщины. – 2011. – № 7 (63). – С. 208-209.
6. **Каратюк Т.И.** Клинико-диагностические особенности цервикальных интраэпителиальных неоплазий, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.01 / **Каратюк Т. И.**; Омская ГМА. – Омск, 2011. – 22 с.
7. **Короленков Л.И.** Тяжелые цервикальные интраэпителиальные неоплазии (CIN II-III/преинвазивный рак) и микрокарцинома шейки матки у беременных / **Л.И. Короленков** // Акушерство и гинекология. – 2011. – № 5. – С. 68-73.
8. **Лапач С.Н.** Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / **С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич.** – Киев: Морион, 2000. – 320 с.
9. **Лапач С.Н.** Основные принципы применения статистических методов в клинических испытаниях / **С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич.** – Киев: Морион, 2002. – 160 с.
10. **Мусаева К.М.** Иммуногенетические особенности фоновых и предраковых заболеваний шейки матки / **К. М. Мусаева** // Вестник Российского Университета дружбы народов. – 2008. – № 5. – С. 209–212
11. Наказ МОЗ України № 676 від 31.12.2004 р. «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної патології».
12. Основы кольпоскопической диагностики / **Роговская С.И., Татарчук Т.Ф., Подзолкова Н.М.** [и др.]- М.,К., 2012. – 64 с.
13. **Роговская С.И.** Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки. – 2-е изд., доп. / **С.И. Роговская.** - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – С.78-79.
14. **Рудакова Е.Б.** Папилломавирусная инфекция и влагалищный микробиоценоз / **Е.Б. Рудакова** // Здоровье женщины. – 2012. – № 5 (71). – С. 26-28.
15. **Сімрок В.В.** Місцеве застосування тіотриазоліну в комплексній терапії доброякісних процесів матки / **В.В. Сімрок** // Здоровье женщи-

ны. – 2013. – № 1 (77). – С. 165 - 167.

16. **Супрунова Т.В.** Аналіз захворюваності на рак шийки та тіла матки в жінок у м. Вінниця й Вінницькій області / **Т.В. Супрунова** // Сімейна медицина. – 2011. – № 2. – С. 94-96.

17. **Фролов В.М.** Моноклональные антитела в изучении показателей клеточного иммунитета у больных / **В.М. Фролов, И.Н. Баскаков** // Лаборат. дело.- 1989.- № 6. – С. 71-72.

18. **Sahasrabudde V.** Human Papillomavirus and Cervical Cancer Biomarkers for Improved Prevention Efforts / **V. Sahasrabudde, P. Luhn, N. Wentzen** // Future Microbiology. – 2011. – Vol. 6 (9). – P. 1083–1098.

*Надійшла 14.04.2013 р.*

*Рецензент: проф. Ю.Г.Бурмак*