

Современные подходы к диагностике и терапии цервикальной неоплазии, ассоциированной с папилломавирусной инфекцией

С.И. Жук, О.А. Таран, А.Н. Кошмеринская

Национальная медицинская академия последипломного образования им. П.Л. Шупика, г. Киев
Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова

Результаты исследования свидетельствуют о наличии нарушений локальных иммунных реакций, обусловленных дисбалансом продукции цитокинов при ассоциированном инфекционном поражении шейки матки у больных с цервикальной неоплазией. Включение в схему лечения таких пациенток препарата Аллокин-альфа способствует восстановлению провоспалительного цитокинного статуса, повышая тем самым противовирусную защиту, что позволяет ускорить процесс выздоровления, сократить количество рецидивов и привести к полному выздоровлению.

Ключевые слова: цервикальная неоплазия, вирус папилломы человека, цитокинный статус, Аллокин-альфа.

Папилломавирусная инфекция (ПВИ) считается самой распространенной инфекцией, передающейся половым путем, – ее частота достигает 82% среди сексуально активного населения [1]. За последние 10–15 лет резко увеличилось число людей, у которых обнаружена генитальная ПВИ [10]. На сегодняшний момент доказано, что вирус папилломы человека (ВПЧ) является причиной рака шейки матки [2]. Ежегодно во всех странах регистрируется свыше 500 тыс. новых случаев рака шейки матки и свыше 300 тыс. женщин умирают от этого заболевания [4]. Долгосрочные исследования показали, что у женщин с наличием ДНК ВПЧ высоко онкогенного риска дисплазия развивается в 15–28% случаев, в то время как при отсутствии ДНК ВПЧ – лишь в 1–3% случаев.

Иммунный ответ организма больной играет важную роль в предотвращении клинической манифестации ПВИ. Многочисленные исследования, посвященные участию цитокинов в регуляции механизмов папилломавирусного поражения шейки матки, характеризуются противоречивостью результатов [1, 9, 10]. Перспективным является изучение особенностей локальной продукции цитокинов при ПВИ, связанной с неопластическими изменениями цервикального эпителия, что необходимо для оценки иммунного ответа и прогнозирования риска злокачественной трансформации инфицированных клеток [6, 7].

Учитывая вышесказанное, возрастает значимость разработки эффективных методов лечения поражений шейки матки ВПЧ на основе данных о нарушениях локальных иммунных реакций, которые обусловлены дисбалансом продукции цитокинов. В настоящее время в комплексе с деструктивными методами лечения для элиминации вируса и снижения количества рецидивов рекомендуется проводить противовирусное лечение с иммунокоррекцией нарушений, на фоне которых развивается поражение шейки матки. Большинство иммуномодуляторов зачастую действуют не только в очаге поражения, но и вызывают избыточные реакции иммунной системы в виде аутоиммунных реакций, повышения аллергенности организма [3, 5].

В последнее время обращено внимание на аллофероны – новую группу противовирусных препаратов (рабочее название группы: «препараты запрещающие выключение цитокинов»), представителем которой является Аллокин-альфа. В отличие от многих индукторов интерферона, Аллокин-альфа выступает в качестве кофактора, позволяя продуцирующим альфа-интерферон лейкоцитам эффективно реагировать на основной сигнал – вирусный антиген, а также способствует восстановлению функциональной активности Т-клеточного иммунитета [3]. Эта особенность позволяет локализовать действие препарата непосредственно в очаге поражения, избегая избыточных реакций иммунной системы.

Целью настоящего исследования явилось изучение терапевтической эффективности противовирусного препарата нового поколения Аллокин-альфа (BRAND-PHARM, Россия) в лечении неоплазий шейки матки, ассоциированных с ПВИ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение эффективности Аллокина-альфа проводили у 30 пациенток с неоплазией шейки матки, которые находились на обследовании и лечении в кабинете патологии шейки матки ГКРД № 1 г. Винница и Житомирском областном онкологическом диспансере в 2011–2012 годах. Средняя продолжительность заболевания составила 4–5 лет. Диагностика неоплазий шейки матки включала клинические, кольпоскопические, цитогистологические и иммуногистохимические методы исследования. Определение патологических процессов цервикального эпителия проводилось в соответствии с общепринятой Международной статистической классификацией болезней (1992). В зависимости от степени поражения шейки матки пациенток распределили следующим образом: неоплазия шейки матки II степени – у 21 (70%) женщины и III степени – у 9 (30%). Средний возраст обследованных пациенток составил $32,4 \pm 4,2$ года, варьируя от 19 до 46 лет.

Контрольную группу составили 20 здоровых женщин, сопоставимых по возрасту и данным анамнеза и не имеющих в настоящее время генитальных инфекций и изменений на шейке матки.

Материалом для исследования служили цервикальная слизь и соскобы эпителия шейки матки, которые забирались в фолликулярную фазу овариального цикла до проведения комплексного обследования и лечения заболеваний шейки матки. Определение провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF α и TGF β (пкг/мл) в цервикальной слизи проводили с помощью стандартных коммерческих наборов для иммуноферментного анализа в диагностической лаборатории медицинского центра «Медивин». ПЦР-диагностику HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33-го типов, Chlamydia trachomatis (CT), CMV-

Динамика IL-1 β , TNF α и TGF β в цервикальном секрете при неоплазии на фоне терапии Аллокином-альфа, n=50 (M \pm m)

Инфекционная патология	Количество пациентов (n)	Цитокины, пг/мл		
		IL-1 β	TNF α	TGF β
HPV моноинфекция (до лечения)				
HPV 6,11 тип	4	72,4 \pm 6,4	49,3 \pm 5,1	186,1 \pm 9,2*
HPV 16, 18, 31,33 тип	17	78,4 \pm 7,2	48,6 \pm 5,4	94,6 \pm 7,5
HPV моноинфекция (после лечения)				
HPV 6,11 тип	4	67,2 \pm 5,2	46,8 \pm 4,3	92,6 \pm 7,2
HPV 16, 18, 31,33 тип	17	66,8 \pm 5,1	47,1 \pm 3,8	74,8 \pm 6,2
Смешанная с HPV инфекция (до лечения)				
СТ	5	69,4 \pm 6,2	54,2 \pm 6,1	338,2 \pm 20,4*
HSV	3	163,2 \pm 11,1*	164,2 \pm 11,2*	111,4 \pm 9,6*
CMV	1	198,2 \pm 10,3*	112,7 \pm 8,4*	104,2 \pm 7,2*
Смешанная с HPV инфекция (после лечения)				
СТ	5	66,1 \pm 4,8	48,4 \pm 3,6	124,3 \pm 9,2*
HSV	3	85,2 \pm 6,4	64,6 \pm 4,9*	82,3 \pm 7,3
CMV	1	92,1 \pm 7,2*	54,5 \pm 4,6	77,6 \pm 7,9
Контрольная группа	20	65,4 \pm 7,8	46,3 \pm 5,2	74,1 \pm 8,6

Примечание: * – статистическая значимость различий по сравнению с контрольной группой, p<0,05.

500, HSV-430 I и II типов проводили по общепринятой методике с применением соответствующих тест-систем в лаборатории «Синево» на 0 и 8-й день исследования.

При выявлении HPV 16, 18, 31, 33-го типов в сочетании с субклиническими и клиническими проявлениями ПВИ на шейке матки применялась схема комплексного лечения (лазерная вапоризация и противовирусное лечение препаратом Аллокин-альфа по 1 мг (1 ампула) один раз в день подкожно через день – 3 ампулы на курс). Оценивали клиническую эффективность препарата Аллокин-альфа как противовирусного средства с помощью ПЦР-контроля через 1; 3 и 6 мес от начала лечения.

Полученные результаты обрабатывались с применением пакета прикладных программ для статистической обработки «Excel». Различия между сравниваемыми величинами считались статистически достоверными при уровне значимости p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования было выявлено, что поражения шейки матки были ассоциированы с HPV-инфицированием, которое в 70% случаев протекало как моноинфекция. Превалирующим (83,3%) было поражение шейки матки 16, 18, 31 и 33-м типами HPV, которые принято считать канцерогенными [9]. Низкоонкогенные 6 и 11-й типы HPV при поражениях шейки матки составили лишь 16,7%. Как известно, наиболее агрессивными являются ассоциированные инфекции, возникающие в результате хронизации процесса с формированием стойких, неспецифических патологических изменений цервикального эпителия и усиливающегося дисбаланса локальных иммунных реакций [6, 7]. При цервикальной дисплазии ПВИ в 30% случаев имела ассоциированный характер, при этом чаще всего (55,5%) она сочеталась с СТ, а также с HSV (33,3%) и CMV (11,2%).

При исследовании содержания цитокинов в цервикальном секрете пациенток с цервикальными неоплазиями были выявлены существенные различия в зависимости от

характера инфекционного поражения шейки матки. Содержание IL-1 β и TNF α при инфицировании ВПЧ низкого и высокого онкогенного риска не имело достоверных отличий по сравнению с контрольной группой, тогда как концентрации TGF β в цервикальной слизи пациенток с этими вариантами инфекций были более чем в два раза выше по сравнению с показателями здоровых неинфицированных женщин. Значительное по сравнению с контрольными величинами уменьшение концентраций IL-1 β и TNF α на фоне высоких значений TGF β обнаруживалось при сочетании СТ и HPV. Увеличение концентраций провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF α и отсутствие динамики содержания TGF β , по сравнению с контролем, было отмечено при инфицировании шейки матки HPV в ассоциации с HSV и CMV (таблица).

Выявленные изменения содержания цитокинов в цервикальном секрете при цервикальной неоплазии на фоне генитальных инфекций позволяют предположить, что HPV-инфекция является ведущим патогенетическим звеном по отношению к другим вариантам инфицирования, изменяя функциональную активность иммунокомпетентных клеток и способствуя формированию иммунодефицита.

Отсутствие клеточных защитных реакций, в результате которых и развивается воспаление как адекватная реакция слизистой оболочки шейки матки, при ПВИ может быть связано с иммуносупрессивными свойствами персистирующего вируса. В отличие от других вирусов, и тем более бактерий, HPV не реплицируется и не инфицирует эпителиальные антигенпрезентирующие клетки, не разрушает эпителиоциты, в которых происходит репликация вируса, ограничивая выход вирус-специфических белков и контакт с ними иммунокомпетентных клеток [10]. Но, тем не менее, очевидно, что постоянная персистенция вируса приводит к изменению антигенной структуры эпителиоцитов, что закономерно инициирует увеличение продукции TGF β с преобладанием Th-2 иммунного ответа [7]. Высокие уровни TGF β при ассоциированной хламидийно-папилломавирусной инфекции могут быть связаны с про-

дукцией белков теплового шока, в частности Hsp 60, которые продуцируются хламидиями в течение всего периода персистенции и стимулируют секрецию TGFβ [8]. Увеличение продукции TGFβ, инактивирующего цитотоксическую активность макрофагов, сопровождается снижением экспрессии TNFα и IL-1β [6]. Обнаруженные закономерности локальной продукции цитокинов при цервикальных неоплазиях, на наш взгляд, также могут быть использованы в прогнозировании их развития.

Полученные нами результаты демонстрируют выраженные нарушения локальных иммунных реакций, обусловленные дисбалансом продукции цитокинов при инфекционном поражении шейки матки различными возбудителями, что впоследствии может инициировать прогрессию предраковых поражений в более тяжелые состояния. Аллокин-альфа способствует восстановлению функциональной активности Т-клеточного иммунитета (Th-1 тип иммунного ответа). Это проявляется снижением показателей провоспалительных цитокинов, которые практически достигли показателей у здоровых женщин ($p > 0,05$) – см. таблицу. По-видимому, данный эффект связан с тем, что Аллокин-альфа индуцирует синтез противовоспалительного цитокина ИЛ-10, чем, возможно, объясняется противовоспалительное действие препарата при лечении больных в нашем исследовании. Опубликованные результаты влияния Аллокина-альфа на интерфероновый статус, цитокиновый профиль и экспрессию цитокиновых генов [10] позволяют во многом объяснить выявленную нами высокую клиническую эффективность Аллокина-альфа в терапии цервикальной неоплазии на фоне ПВИ.

У пациенток с папилломавирусной моноинфекцией отмечалась положительная клиническая динамика. Методом ПЦР лишь у 1 больной через 3 месяца после проведенного лечения выявлялась ДНК ПВЧ. Ни у одной из женщин не отмечалось каких-либо побочных действий или аллергических реакций на применение Аллокин-альфа. У пациенток со смешанной инфекцией на фоне ПВИ клиническая эффективность отмечалась в 5 случаях (55,5%), отрицательные результаты ПЦР-исследования на ДНК ВПЧ после проведенного лечения – у 7 женщин (77,8%). Ни у одной больной не выявлялось каких-либо побочных действий или аллергических реакций, но большая часть пациенток отмечала болезненность при подкожном введении препарата.

ВЫВОДЫ

Таким образом, включение в комплексную схему лечения цервикальной неоплазии, ассоциированной с ПВИ, препарата Аллокин-альфа способствует восстановлению провоспалительного цитокинового статуса, повышая тем самым противовирусную защиту, что позволяет ускорить процесс выздоровления, сократить количество рецидивов и привести к полному выздоровлению.

Доступные в настоящее время материалы доклинических и клинических исследований, а также опыт исследования препарата в клинической практике позволяют с высокой степенью эффективности рекомендовать применение Аллокина-альфа в гинекологической практике для лечения папилломавирусных поражений шейки матки.

Сучасні підходи до діагностики і терапії цервікальної неоплазії, асоційованої з папіломавірусною інфекцією С.І. Жук, О.А. Таран, А.М. Кошмеринська

Результати дослідження свідчать про наявність порушень локальних імунних реакцій, які зумовлені дисбалансом продукції цитокінів при асоційованому інфекційному ураженні шийки матки у хворих із цервікальною неоплазією. Включення в схему лікування таких пацієнток препарату Аллокін-альфа сприяє відновленню прозапального цитокінового статусу, що підвищує антивірусний захист та дозволяє прискорити процес одужання, скоротити кількість рецидивів і призвести до повного одужання.

Ключові слова: цервікальна неоплазія, вірус папіломи людини, цитокіновий статус, Аллокін-альфа.

Modern approaches to the diagnosis and treatment of cervical neoplasia associated with papillomavirus infection

S.I. Zhuk, O.A. Taran, A.N. Koshmerynska

The present examinations indicate the presence of disorders of local immune reactions caused by an imbalance of cytokine production associated with infectious lesions of the cervix within patients with cervical neoplasia. Inclusion in the scheme of treatment of Allokin-alpha preparation for such patients contributes to the restoration of proinflammatory cytokine status, thereby increasing the anti-virus protection, that allows accelerate the healing process, reduce the number of relapses and lead to convalescence.

Key words: cervical neoplasia, human papilloma virus, cytokines status, Allokin-alpha.

ЛИТЕРАТУРА

1. Киселев В.И. Этиологическая роль вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки: генетические и патогенетические механизмы / Киселев В.И., Киселев О.И. // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2, № 4. – С. 31–38.
2. Новик В.И. Скрининг рака шейки матки / Новик В.И. // Практическая онкология. – 2010. – Т. 11, № 2. – С. 66–73.
3. Роль иммуномодулятора Аллокин-альфа в комплексном лечении папилломавирусных поражений шейки матки / Гайдуков С.Н., Петряева М.А., Ключ О.С., Комисарова О.Н. // Terra Medica, 2007, 2 (46). – С. 44–46.
4. Уварова Е.В. Проблемы ВПЧ-инфекции. Аналитический обзор по материалам IX Международного конгресса EUROGIN 2010 (Монте-Карло, Монако, 17–20 февраля 2010 г.) / Уварова Е.В., Кумыкова З.Х. // Репродуктивное здоровье детей и подростков». – 2010. – № 4. – С. 12–19.
5. Черныш С.И. Аллокины, антивирусные и противоопухолевые препараты нового типа, XII национальный конгресс «Человек и лекарство». – М., 2005. – С. 723.
6. Cytokine expression in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix: implications for the generation of local immunosuppression / S.L. Giannini, W. Al-Saleh, H. Piron, N. Jacobs [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 1998. – Vol. 113, N 2. – P. 183–189.
7. Cytokines in cervicovaginal washing fluid from patients with cervical neoplasia / M.Y. Tjong, N. van der Vange, J.S. ter Schegget, M.P. Burger [et al.] // Cytokine. – 2001. – Vol. 21. – P. 357–360.
8. Is chlamydial heat shock protein 60 a risk factor for oncogenesis / V. Di Felice, S. David, F. Capello [et al.] // Cell Mol. Life Sci. – 2005. – Vol. 62, N 1. – P. 4–9.
9. Human papillomavirus vaccines: World Health Organization position paper. Weekly Epidemiological Record. – 2009. – Vol. 84. – P. 18–131.
10. Tying S.K. Human papillomavirus infections: epidemiology, pathogenesis, and host immune response / Tying S.K. // J. Amer. Acad. Dermatol. – 2000. – Vol. 43. – P. 218–226.

