

**ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ И  
ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА  
У ЖЕНЩИН С ПРЕДРАКОВОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ШЕЙКИ  
МАТКИ НА ФОНЕ ОСТЕОПОРОЗА**

**В.В. Бибик**

*ГУ «Луганский государственный медицинский университет»*

**Вступление**

Современная статистика подтверждает известные ранее данные о том, что рак шейки матки у женщин стоит на втором месте, уступая только раку молочной железы и свидетельствует о росте летальных случаев практически не зависимо от возраста женщин [1, 3, 16, 18]. Некоторые исследователи подчеркивают омоложение групп пациенток с предраковой патологией, но несомненным является факт учащения случаев выявления и смертности от рака шейки матки в позднем репродуктивном возрасте и периоде перименопаузы [6, 7, 12]. Это можно объяснить негативным фоном целого ряда сопутствующей патологии в организме женщины, развивающейся, чаще всего, по причине возрастных изменений гормонального гомеостаза и клеточного звена иммунитета.

Цервикальная интраэпителиальная неоплазия (ЦИН) – состояние, которое сопровождается атипичными изменениями эпителия слизистой, которое представляет собой переходную форму от здоровой шейки матки до рака [5]. Не всегда, но достаточно часто ЦИН переходит в цервикальный рак, поэтому очень важным аспектом является своевременная диагностика и назначение адекватного лечения [7, 18].

Согласно анализу современной научной литературы, в патогенезе многих акушерско-гинекологических заболеваний наряду с изменениями гормонального гомеостаза, наблюдаются количественные и функциональные иммунологические нарушения [20]. В то же время конкретные иммунологические нарушения при ЦИН остаются недостаточно изученными, по крайней мере, отсутствуют убедительные данные состояния показателей цитокинового профиля крови (ЦПК) и показателей клеточного звена иммунитета у женщин с неоплазией в период менопаузы.

**Связь работы с научными программами, планами, темами.** Данная работа была выполнена в соответствии с основным планом научно-исследовательской работы (НИР) ГУ «Луганский государственный медицинский университет» и представляет собой фрагмент темы НИР «Клініко-патогенетичні особливості цервікальної інтраепітеліальної неоплазії, лікування та медична реабілітація на першому рівні надання медико-санітарної допомоги» (№ держреєстрації 0108U0092786).

**Цель работы** – изучение состояния уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (ЦК) и показателей клеточного звена иммунитета у женщин с предраковой патологией шейки матки.

#### **Материалы и методы исследования**

Было проведено обследование 47 женщин, возраст которых составлял 45-65 лет, с разной степенью выраженности ЦИН, 26 из них имели сочетанную патологию шейки с клинически выраженным системным остеопорозом, 18 женщин составили группу сравнения с диагнозом «Остеопороз», а группу контроля составили 23 практически здоровых женщины того же возраста.

Комплексное обследование) пациенток включало данные анамнеза, клинические и лабораторные исследования, среди которых осмотра шейки матки, расширенная кольпоскопия, цитологическое исследование соскобов экзо- и эндоцервикса, морфологическое исследование биопсийного материала пораженных зон, полимеразная цепная реакция (ПЦР) высокоонкогенных типов вируса папилломы человека (ВПЧ), УЗИ ОМТ, что в целом отвечает требованиям Приказа МЗ Украины № 676 от 31-12-2004 «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Акушерство і гінекологія: доброякісні та передракові процеси шийки матки» [11].

Иммунологические исследования включали изучение уровня IL- $\beta$ , IL-6, IL-8 и TNF- $\alpha$  в сыворотке крови с помощью ИФА с применением набора реагентов, сертифицированных в Украине (тест-систем ООО «Протеиновый контур» (ProCon), а именно: ProCon IL-1 $\beta$ , ProCon TNF- $\alpha$  (РФ-СПб), «ИЛ-6-ИФА-БЕСТ», «ИЛ-8-ИФА-БЕСТ» (РФ-Новосибирск); IL-10 - методом ELISA с помощью набора реагентов «BIOSOURCE» (США) согласно инструкции фирмы-производителя. Метод основан на твердофазном "сэндвич"-варианте ИФА. Специфическими реагентами набора является моноклональные антитела к IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ , которые

сорбируются на поверхности ячеек полистирольного планшета, конъюгант поликлональных антител к интерлейкинам с биотином и калибровочные образцы, содержащие интерлейкины.

Всем женщинам, которые были под наблюдением, также проводили исследования клеточных показателей иммунитета, используя цитотоксический тест и моноклональные антитела классов CD3+, CD4+, CD8+, CD22+ в общей популяции Т-лимфоцитов, Т-хелперов/индукторов, субпопуляции Т-супрессоров/киллеров и в общей популяции В-лимфоцитов соответственно.

Функциональное состояние Т-клеток оценивали при помощи реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) микрометодом и оценивали ее результаты по морфологическим данным [19]. Кроме того, оценивали соотношение между Т-хелперами/индукторами (CD4+) и Т-супрессорами/киллерами (CD8+), т.е. иммунорегуляторного индекса CD4+/CD8+ (Th/Ts), который отражает соотношение между хелперной и супрессорной субпопуляциями Т-лимфоцитов.

Полученные данные обрабатывали математически на персональном компьютере Intel Pentium D 3,0 GHz согласно данных одного и многофакторного дисперсного анализа (пакеты лицензионных программ Microsoft Windows<sup>xp</sup> professional, Microsoft Office 2003, Microsoft Excel, Stadia 6.1/prof и Statistica) [8, 9].

#### **Полученные результаты и их обсуждение**

При обследовании женщин с изучаемой сочетанной патологией было определено, что половина из них специфических жалоб со стороны органов репродуктивной системы не имели, каждая вторая – жаловалась на дискомфорт в области гениталий, периодические боли внизу живота, зуд и сухость влагалища. Треть пациенток предъявляла жалобы на усталость при ходьбе и боли чаще нижних конечностей. При бимануальном обследовании значимых отклонений, кроме признаков хронического воспаления придатков не было. Во время осмотра в зеркалах было выявлено в основном: гиперемии эндо- и экзоцервикса (21,0%), экскариацию стенок и сухость влагалища (56,0%), патологические выделения (17,0%). При кольпоскопии: эндо- и экзоцервициты (22,0%), наботовы кисты (20,0%), метаплазия эндоцервикса (46%), незаконченная зона трансформации (39,0%), патологические сосуды, которые плохо реагируют на 3% раствор уксусной кислоты (древовидные, удлинненные, расширенные, штопорообразные и т.д.) – 17,0% обследованных.

Поля дисплазии (негативная или слабонегативная проба Шиллера) определялись в 63,0% случаев, лейкоплакия – 17,0% и экзофитные кондиломы – 22,0%. Каждой женщине, которая имела кольпоскопические отклонения, были взяты соскобы из эндо- и экзоцервикса. Цитологически в эндоцервиксе преобладали изменения в цилиндрическом эпителии не выходящие за пределы ЦИН I, в экзоцервиксе – плоский эпителий был в стадии усиленной пролиферации, наблюдалась в основном умеренная неоплазия, в 9-ти случаях был выявлен ЦИН III, у двух пациенток цитологически выявлен микроинвазивный рак. Данные пациентки были направлены на консультацию в ЛООД.

У большинства женщин по кольпоскопическим показаниям был взят биопсийный материал пораженных зон и отправлен в гистологическую лабораторию, где были подтверждены диагнозы неоплазии или микроинвазивного рака.

В плане скрининговых исследований всем женщинам данной группы было предложено ПЦР влажалеищных мазков на предмет ВПЧ высокоонкогенных типов. Результаты показали, что папилломавирус 16 и 18 типов был обнаружен у 63% женщин. Пациентки данной группы были взяты на особый учет. Средне- и низкоонкогенные типы вируса исследованы не были.

При обследовании групп женщин с проявлениями системного остеопороза в качестве патогномоничных показателей было решено проанализировать уровни IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 (интерлейкины, как остеокластстимулирующие факторы, секреция которых угнетается остеобластами и макрофагами под воздействием эстрогенов), а также концентрацию IL-10, который наоборот является остеокластугнетающим фактором, который стимулируется под воздействием эстрогенов.

На основании данных исследований становится очевидным, что действительно на фоне резкого снижения эстрогенов в менопаузальном возрасте снижается их влияние на процессы пролиферации и дифференциации клеток, тем самым угнетается интрамембранная оссификация. Низкая концентрация эстрогенов не в состоянии влиять на рецепторы хондроцитов в хрящевой ткани и тем самым активировать эндохондральную оссификацию. В период менопаузы в результате снижения эстрогенов и увеличения IL-1 $\beta$  и IL-6 наблюдается нарушение равновесия в процессе перестройки костной ткани, что отображается в изменении уровня остеокластстимулирующих и остеокластугнетающих факторов относительно референтной нормы (табл. 1).

Показатели ЦПК у женщин, страдающих ЦИН (M $\pm$ m)

Показатели	Здоровые (n=23)	Неоплазия (n=3)	Остеопороз (n=18)	Неоплазия + остеопороз (n=26)
IL-1 $\beta$ , пг/мл	13,2 $\pm$ 0,02	17,3 $\pm$ 0,03	14,4 $\pm$ 0,02	22,6 $\pm$ 0,03
TNF- $\alpha$ , пг/мл	8,1 $\pm$ 0,03	11,2 $\pm$ 0,03	9,0 $\pm$ 0,02	15,3 $\pm$ 0,02
IL-6, пг/мл	10,4 $\pm$ 0,02	13,3 $\pm$ 0,02	11,06 $\pm$ 0,03	15,7 $\pm$ 0,02
IL-8, пг/мл	11,3 $\pm$ 0,02	13,1 $\pm$ 0,02	12,2 $\pm$ 0,01	18,0 $\pm$ 0,02
IL-10, пг/мл	4,1 $\pm$ 0,01	3,3 $\pm$ 0,01	3,1 $\pm$ 0,02	2,1 $\pm$ 0,01

Эстрогендефицитное состояние способствует тому, что резорбция кости происходит скорее, чем ее формирование, что приводит к выраженному негативному костному балансу, способствует истончению и перфорации трабекулярных пластинок, нарушению их взаимосвязей и существенно ухудшает качество костной ткани, снижает ее опорные характеристики.

При анализе результатов иммунологического исследования состояния клеточного звена иммунитета женщин с предраковой патологией шейки матки, которые находились под наблюдением в кабинете патологии шейки матки ГУ «Луганский государственный медицинский университет», было отмечено наличие существенных сдвигов со стороны изученных показателей (табл. 2).

Таблица 2

Показатели клеточного звена иммунитета у женщин с патологией шейки матки на фоне остеопороза (M $\pm$ m)

Иммунологические показатели	Здоровые (n=23)	Неоплазия (n=3)	Остеопороз (n=18)	Неоплазия + остеопороз (n=26)
CD3+	% 69,6 $\pm$ 1,6	55,8 $\pm$ 0,3**	60,5 $\pm$ 0,4*	43,3 $\pm$ 0,8***
CD4+	% 45,6 $\pm$ 1,1	34,9 $\pm$ 0,7*	40,2 $\pm$ 0,5*	24,8 $\pm$ 0,2***
CD8+	% 22,7 $\pm$ 0,6	20,8 $\pm$ 0,6	21,3 $\pm$ 0,8	21,8 $\pm$ 0,5
CD22+	% 21,3 $\pm$ 0,6	18,7 $\pm$ 0,5	20,7 $\pm$ 0,6	18,2 $\pm$ 0,7
CD4/CD8	2,00 $\pm$ 0,03	1,59 $\pm$ 0,04**	1,89 $\pm$ 0,03*	1,39 $\pm$ 0,05***
РБТЛ с ФГА	% 65,5 $\pm$ 1,2	47,6 $\pm$ 1,6**	61,6 $\pm$ 1,6*	37,5 $\pm$ 1,8**

**Примечание:** вероятность разницы показателей относительно нормы \* - при P<0,05, \*\* - P<0,01, \*\*\* - P<0,001.

Согласно данной таблицы, у женщин, страдающих ЦИН, количество циркулирующих лимфоцитов с фенотипом CD3+ (общей

популяции Т-клеток) в относительном расчете была сниженной в среднем в 1,3 раза относительно нормы, при остеопорозе в 1,15 раза, а при сочетанной патологии почти в 1,6 раза. Кроме четко выраженной Т-лимфопении, т.е. снижения общего количества циркулирующих лимфоцитов с фенотипом CD3+ (тотальная популяция Т-лимфоцитов), было отмечено также вероятное снижение количества циркулирующих Т-хелперов-индукторов (CD4+) у женщин с предраковой патологией. Как отображено в табл. 2, относительное количество CD4+-лимфоцитов у женщин с ЦИН была снижена в 1,3 раза относительно нормы и составляла  $(34,9 \pm 0,7)\%$ , при остеопорозе – 1,3 раза, а при сочетанной патологии почти в 2,0 раза, что составляет в среднем  $(24,8 \pm 0,2)\%$ . Относительный уровень CD8+-лимфоцитов у женщин первой группы имел некоторую умеренную тенденцию к снижению, причем число Т-супрессоров/киллеров составляла соответственно  $(20,8 \pm 0,6)\%$ ,  $(21,3 \pm 0,8)\%$  и  $(21,8 \pm 0,5)\%$ .

Иммунорегуляторный индекс CD4/CD8, который характеризует соотношение Т-лимфоцитов преимущественно с Т-хелперной и Т-супрессорной активностью был снижен в среднем в 1,5 и 2,0 раза относительно показателя нормы, при этом данный индекс составлял  $1,59 \pm 0,04\%$ ;  $1,89 \pm 0,03\%$  и  $1,39 \pm 0,05\%$  соответственно (табл. 2).

Уровень В-лимфоцитов (з фенотипом CD22+) в группах обследованных женщин изменился не существенно. В то же время при определении функциональной активности Т-клеток с использованием показателя РБТЛ с ФГА в среднем было установлено снижение данного показателя в среднем в 1,74 раза ниже нормы в группе женщин с наличием сочетанной патологии.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что у женщин с предраковой патологией имеют место существенные изменения иммунологических показателей, которые характеризуют состояние клеточного звена иммунитета. Они характеризуются наличием Т-лимфопении, дисбалансом субпопуляционного состава Т-лимфоцитов со снижением как Т-хелперов-индукторов, так и Т-супрессоров-киллеров и уменьшением иммунорегуляторного индекса, который отражает соотношение Th/Ts. Было также снижено число В-клеток и угнетена функциональная активность Т-лимфоцитов.

#### Выводы

1. В данной научной работе приведено теоретическое обобщение и практическое решение поставленной задачи в сфере гине-

кологии – повышение эффективности диагностики предраковых состояний шейки матки женщин перименопаузального возраста на фоне системного остеопороза.

2. В период менопаузы эстрогендефицитные состояния приводят к увеличению уровня IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 нарушая равновесие в процессе перестройки костной ткани и способствуя ускорению резорбции костей, что приводит к выраженному негативному костному балансу, способствует истончению и перфорации трабекулярных пластинок, нарушению их взаимосвязей и существенно ухудшает качество костной ткани, снижает ее опорные характеристики.

3. Выраженные изменения показателей остеокластогенетических факторов в группе женщин с сочетанной патологией, подтвержденные более выраженным дисбалансом клеточного звена иммунитета у данной категории, свидетельствуют о единой этиопатогенетической цепи развития.

4. Полученные показатели подтверждают возможность ранней диагностики предраковой патологии шейки матки, осложненной системным остеопорозом у женщин перименопаузального возраста в условиях первичной медико-санитарной помощи.

5. Данные результаты актуализируют продолжение научных исследований в части подбора эффективных и безопасных схем лечения патологии шейки матки, сочетанной с остеопорозом.

#### Литература

1. Аكوпова Е.С. Возможности диагностики и лечения заболеваний шейки матки, ассоциированных с вирусом папилломы человека / Е.С. Аكوпова, С.И. Роговская // Вестник новых мед. 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 // Здоров'я жінчини. – 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 жінчини. – 2011. – № 7 (63). – С. 208-209.
6. Каратюк Т.И. Клинико-диагностические особенности цервикальных интраэпителиальных неоплазий, ассоциированных с папилломавирусной ин-

фекцією: автореф. дис. ... канд. мед. наук : спец. 14.01.01 «Акушерство и гинекология» / 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 / С.И. Роговская. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. - [2-е изд., доп.]. - 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 женщины. - 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. Тропцова Н.В. Остеопороз – социальная проблема XXI века / Н.В. Тропцова, О.А. Никитинская, Л.И. Беневоленская // Рус. мед. журн. – 2007. – Т. 15, № 4. – С. 315-318.

18. Филиппова И.В. Быть или не быть... раку шейки матки / И.В. Филиппова // Ремедиум. – 2009. – №. 1. – С. 42-44.

19. 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.

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

### Резюме

**Бибик В.В.** Цитокиновий профіль крові та показники клітинної ланки імунітета у жінок з передраковою патологією шийки матки на тлі остеопорозу.

Вивчено цитокиновий профіль крові та показники клітинної ланки імунітета у жінок з передраковою патологією шийки матки на тлі остеопорозу. Встановлено наявність виражених змін показників цитокинового профілю крові, які полягають у збільшенні рівня остеокластстимулюючих цитокинів (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8) і зниженні остеокластпригнічуючого цитокину IL-10, що супроводжується пригніченням показників клітинної ланки імунітету.

**Ключові слова:** цервікальна інтраепітеліальна неоплазія, остеопороз, клітинна ланка імунітету, цитокіни, патогенез.

### Резюме

**Бибик В.В.** Цитокиновый профиль крови и показатели клеточного звена иммунитета у женщин с предраковой патологией шейки матки на фоне остеопороза.

Изучен цитокиновый профиль крови и показатели клеточного звена иммунитета у женщин с предраковой патологией шейки матки на фоне остеопороза. Установлено наличие выраженных изменений показателей цитокинового профиля крови, заключающиеся в увеличении уровня остеокластстимулирующих цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8) и снижением остеокластугнетающего цитокина IL-10, сопровождающиеся угнетением показателей клеточного звена иммунитета.

**Ключевые слова:** цервикальная интраэпителиальная неоплазия, остеопороз, клеточное звено иммунитета, цитокины, патогенез.

### Summary

**Bibik V.V.** Cytokine profile of blood and cellular immunity indexes in women with precancerous cervical pathology on the background of osteoporosis.

The cytokine profile of blood and cellular immunity indexes in women with precancerous cervical pathology on the background of osteoporosis was studied. The presence of pronounced changes in indicators of cytokine profile of blood, is to increase the level osteoclaststimulatory cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8) and a decrease osteoclastinhibitory cytokine IL-10 on background of inhibition of cellular immunity was indicated.

**Key words:** cervical intraepithelial neoplasia, osteoporosis, cellular immunity, cytokines, pathogenesis.

**Рецензент:** д.мед.н., проф. К.Ф. Чернушенко