

АКТИВНІСТЬ ЛІЗОЦИМУ ЯК КРИТЕРІЙ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ЖІНОК З ФОНОВИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ШИЙКИ МАТКИ, АСОЦІЙОВАНИМИ З ВІРУСНИМИ ІНФЕКЦІЯМИ

Івано-Франківська державна медична академія

АКТИВНІСТЬ ЛІЗОЦИМУ ЯК КРИТЕРІЙ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ЖІНОК З ФОНОВИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ШИЙКИ МАТКИ, АСОЦІЙОВАНИМИ З ВІРУСНИМИ ІНФЕКЦІЯМИ - Вивчена активність лізоциму в цервікальному вмісті та сироватці крові у жінок з фоновою патологією шийки матки в поєднанні з вірусними інфекціями.

Проведено комплексне лікування даної групи жінок з використанням противірусної та імуномодуючої терапії (препарати протекфлазид та циклоферон в порівняльній характеристиці).

Встановлено, що застосування цих противірусних препаратів призводить до покращення клінічної картини захворювання, відновлення та епітелізації слизової оболонки шийки матки, активізації місцевого імунітету.

Зроблено висновок про можливість прогнозування ефективності терапії фонних захворювань шийки матки на основі досліджень активності лізоциму в цервікальному вмісті та крові.

АКТИВНОСТЬ ЛИЗОЦИМА КАК КРИТЕРИЙ ЭФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ЖЕНЩИН С ФОНОВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ШЕЙКИ МАТКИ В СОЧЕТАНИИ С ВИРУСНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ - Изучена активность лизоцима в цервикальной слизи и сыворотке крови у женщин с фоновой патологией шейки матки в сочетании с вирусными инфекциями. Проведено комплексное лечение данной группы женщин с использованием противовирусной и иммуномоделирующей терапии (препараты протекфлазид и циклоферон в сравнительной характеристике).

Установлено, что применение этих противовирусных препаратов приводит к улучшению клинической картины заболевания, восстановлению и эпителизации шейки матки, активизации местного иммунитета.

Сделан вывод о возможности прогнозирования эффективности терапии фонных заболеваний шейки матки на основе исследований активности лизоцима в цервикальной слизи и крови.

LYSOZYME ACTIVITY AS A CRITERION OF THE TREATMENT EFFECTIVENESS IN FEMALES WITH BACKGROUND PROCESSES IN THE UTERUS NECK ASSOCIATED WITH VIRAL INFECTIONS - Lysozyme activity has been studied in both cervical mucus and blood serum of females with background uterus neck pathology associated with viral infections. The complex treatment of that group of females included antiviral and immuneresponse forming therapy (the medicinal preparations Proteflazidum and Cycloferonum were used in their comparative characteristics).

The application of those antiviral preparations has been established to result in improving the clinical picture of the disease, the uterus neck epithelium reconstruction and recovery as well as local immunity activation. It has been concluded that prognosing of therapy effectiveness for background uterus neck disorders is possible on the basis of lysozyme activity investigations in cervical mucus and blood serum.

Ключові слова: фонні процеси шийки матки, вірусна інфекція, лізоцим, протекфлазид, циклоферон.

Ключевые слова: фонные процессы шейки матки, вирусная инфекция, лизоцим, протекфлазид, циклоферон.

Key words: background processes in the uterus neck, viral infection, lysozyme, Proteflazidum, Cycloferonum.

ВСТУП Проблема вірусної інфекції залишається в центрі уваги фахівців у зв'язку з широким розповсюдженням, вираженим онкогенним ризиком захворювань шийки матки та несприятливим впливом на репродуктивну функцію жінки.

За даними J.J.Danelly (1996 р.), в тканинах генітального тракту 11-46% сексуально активних жінок діагностується наявність ДНК вірусу папіломи людини [9,10].

Проте наявна ціла низка робіт (Манухін І.Б., та інші; 1995р; Loginus A.T. et al., 1992), згідно з якими вірус папіломи людини діагностується в 79,3% випадків у осіб з патологією шийки матки. Слід зауважити, що герпетична генітальна інфекція, за даними Козлової В.І. діагностується у 83,6% хворих із стійкими рецидивуючими кольпітами, лейкоплакіями та ектопіями [4,6,11].

Загальновідомим є факт, що велика кількість випадків безсимптомного та атипового перебігу вірусної інфекції ускладнює діагностику та проведення адекватного лікування.

Вірусна інфекція володіє тропністю до багаточарового плоского епітелію, уражаючи здебільшого слизову оболон-

ку екзоцервікса. Генералізації вірусної реплікації і дисемінації в період первинної інфекції протистоїть ряд факторів неспецифічної противірусної резистентності організму. Серед них – властивість клітин багаточарового плоского епітелію слизової оболонки шийки матки до постійного злущення та оновлення, гуморальні чинники слизу цервікального каналу та клітинна активність мононуклеарних клітин та фагоцитів у зоні запалення.

Відомо, що лізоцим – це ферментно активна сполука, яка бере участь у специфічній та неспецифічній імунній відповіді. Важливі властивості лізоциму – спричиняти порушення проникності мембран та метаболізму патогенів, впливати на процеси клітинного росту та диференціації імунних та неімунних клітин.

Таким чином, вивчення такого потужного фактора захисного бар'єру, яким є лізоцим може слугувати критерієм якості та ефективності проведеного лікування жінок із фонними захворюваннями шийки матки.

Метою нашого дослідження було вивчення динаміки рівня лізоциму в цервікальному вмісті та сироватці крові в процесі комплексного лікування фонних захворювань шийки матки, асоційованих з вірусною інфекцією.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ: Обстежено 60 жінок з фонними захворюваннями шийки матки. У 28 жінок діагностовано вірусну інфекцію (HSV – 1,2 типів, та ВПЛ 6-11 типів, 16-35типів, 18-59 типів), у 16 жінок вірусна інфекція поєднувалася з хламідіозом, уреоплазмозом, чи мікоплазмозом (мікст-інфекція). Всі жінки були репродуктивного віку (19-42 р.), середній вік складав 26,2 року.

Комплексне обстеження всіх хворих включало дані анамнезу, гінекологічний огляд, бактеріоскопічне і бактеріологічне дослідження мікробіоценозу піхви та шийки матки, цитологічне обстеження, просту і розширену кольпоскопію.

Діагностику вірусної інфекції проводили методом імуноферментного аналізу та методом полімеразно-ланцюгової реакції. Виявлення мікст-інфекції (хламідій, уреоплазми, мікоплазми) здійснювали прямим імунофлюоресцентним методом у зішкрібах з слизових цервікального каналу та уретри, паралельно досліджуючи імуноферментним методом сироватку крові жінок з метою ідентифікації типоспецифічних антитіл IgG.

Відповідно до виявлення генітальних інфекцій жінки були поділені на 2 групи: 1 група – жінки з вірусною інфекцією, 2 група – вірусна інфекція в поєднанні з іншими генітальними інфекціями. Перша група жінок отримувала в комплексній терапії противірусний препарат – протекфлазид (виробник НПК "ЕКОФАРМ", Київ, Україна), друга група жінок – препарат циклоферон (виробник ТОВ НТФФ "Полісан", Санкт-Петербург, Росія). Протекфлазид призначався перорально за схемою: 1-ий тиждень – по 5 крапель 3р/добу; 2-3-ий тиждень – по 10 крапель 3 р/добу; 4-ий тиждень – по 8 крапель 3р/добу та місцево: вагінальні тампони, змочені розчином протекфлазиду в розведенні 1:4 з 0,9% розчином Na Cl 2 рази/добу, курсом 10 днів.

Циклоферон 12,5% ін'єкційний розчин вводили внутрішньом'язово згідно з базовою схемою та використовували лінімент циклоферону місцево у вигляді вагінальних тампонів 2 р/добу, курсом 10 днів.

Визначення активності лізоциму в цервікальному вмісті та сироватці крові проводили за методом О.В.Бухаріна (1974р.).

Принцип методу ґрунтується на зниженні оптичної густини суспензії бактерій при інкубації з біологічним зраз-

ком, що містить лізоцим. У роботі використовували стандартизовані змиви з добової культури *Micrococcus lysodeicticus* на фосфорному буфері pH= 6,2. Дослідження проводили на фотометрі КФК-3. Розрахунки вели за калібрувальними таблицями.

Матеріалом дослідження були сироватка крові та цервікальний вміст. Визначення активності лізоциму проводили до та після лікування.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ:

Серед основних скарг хворих значну питому вагу склали виділення з статевих шляхів слизово-гнійного характеру, різноманітні за консистенцією. Також пацієнти відмічали біль внизу живота (56%), виражений передменструальний синдром та менструації з больовим відчуттям (38%), свербіж та печію у піхві (68%). Здебільшого хворі відмічали невротичні порушення: підвищену дратівливість, знижену працездатність, головний біль. У переважній більшості жінок (89%) було діагностовано III-IV ступінь чистоти піхви та зсув кислотності піхвового середовища в лужну сторону. Аналіз кольпоскопічних даних виявив ознаки запального процесу, з характерною нечіткістю меж між циліндричним та багаточаровим плоским епітелієм, гіперемією ендочервікса, рихлістю та набряком тканин шийки матки, посиленою васкуляризацією.

При оцінці активності лізоциму в сироватці крові та цервікальному вмісті відмічено наявний дефіцит лізоциму.

Показник лізоциму у ПЗО в сироватці крові склав $(9,54 \pm 0,63)$ мкг/мл та цервікальному вмісті $(14,2 \pm 0,41)$ мкг/мл ($p < 0,05$). У першій групі, де були жінки з фоновими захворю-

ваннями шийки матки на тлі папіломовірусної та герпетичної інфекції, показник лізоциму в сироватці крові склав $(6,39 \pm 0,37)$ мкг/мл та в цервікальному вмісті $(7,25 \pm 0,84)$ мкг/мл ($p < 0,05$).

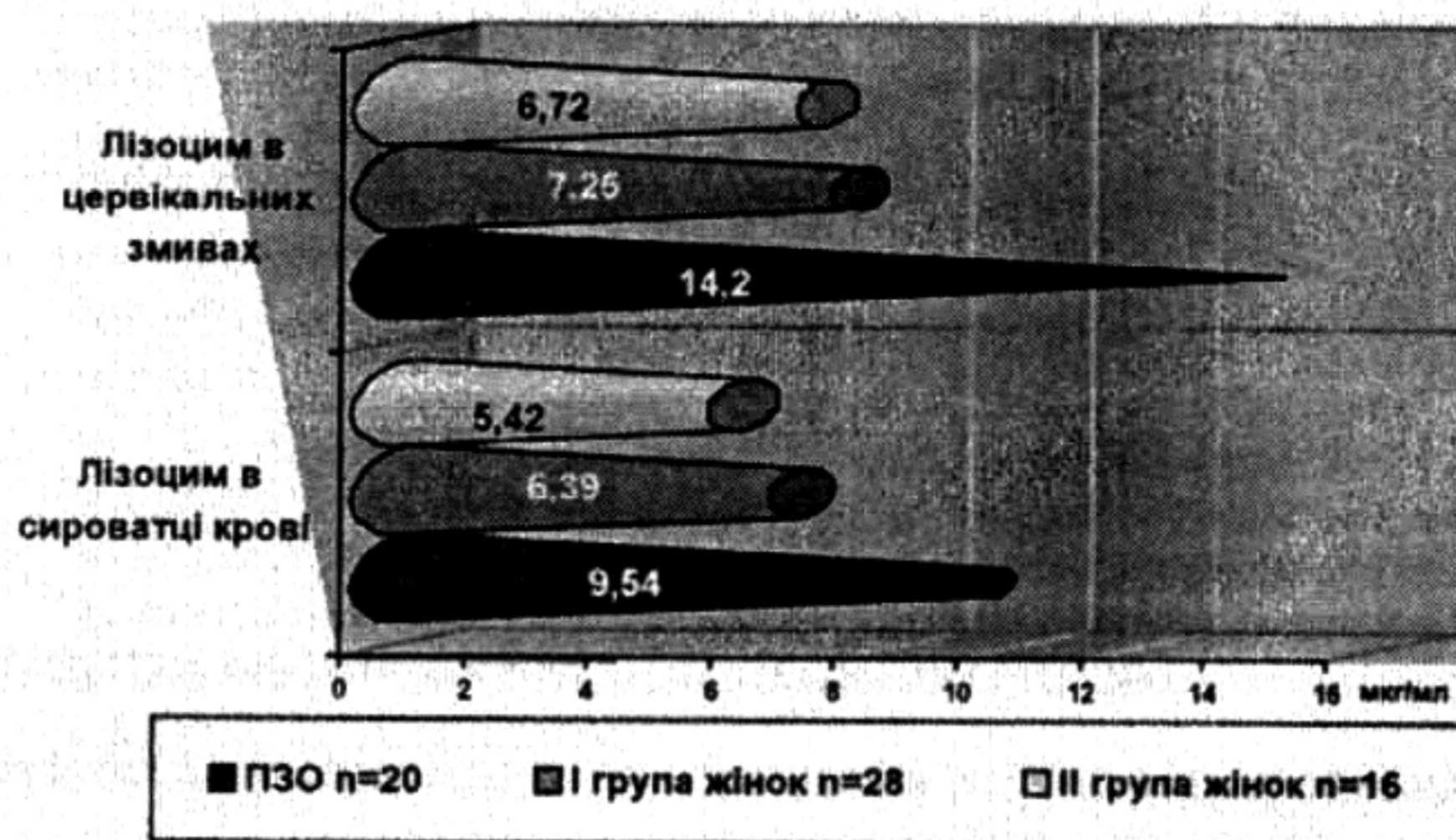


Рис.1. Концентрація лізоциму в цервікальних змивах та сироватці крові в обстежених жінок

Примітка. Вірогідність різниці показників $p < 0,05$.

В другій групі жінок, де в поєднанні з вірусною інфекцією діагностувались хламідії, уреоплазми чи мікоплазми; рівень лізоциму був достовірно ($p < 0,05$) нижчий порівняно з першою групою жінок. В сироватці крові - $(5,42 \pm 0,28)$ мкг/мл та в цервікальному вмісті $(6,72 \pm 0,36)$ мкг/мл.

Таблиця 1. Концентрація лізоциму (мкг/мл) в цервікальному вмісті та сироватці крові в процесі лікування

Показник	ПЗО n=20	Протефлазід n=28		Циклоферон N=16	
		до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
Лізоцим в сироватці крові	$9,54 \pm 0,63$	$6,39 \pm 0,73$	$8,87 \pm 0,35$	$5,42 \pm 0,28$	$8,64 \pm 0,12$
Лізоцим в цервікальних змивах	$14,2 \pm 0,41$	$7,25 \pm 0,84$	$12,85 \pm 0,2$	$6,72 \pm 0,36$	$12,54 \pm 0,18$
Достовірність різниці	$p < 0,05$	$p < 0,05$		$p < 0,05$	

Отримані нами дані, які наведені на рисунку 1, демонструють дефіцит кількості лізоциму у жінок з фоновими захворюваннями шийки матки, як у сироватці крові, так і в цервікальному вмісті. Причому вираженість депресії даного показника корелює із ступенем обсіменіння піхвового середовища інфекціями.

Аналіз даних, отриманих в процесі застосування препаратів протефлазід та циклоферон (табл. 1), виявив збільшення рівня лізоциму, як у сироватці крові так і в цервікальному вмісті. Зокрема, після отриманої терапії показники лізоциму практично наблизилися до рівня ПЗО. Слід зауважити, що активність лізоциму в цервікальному вмісті при застосуванні протефлазиду в жінок першої групи була дещо вища $(12,85 \pm 0,24)$ мкг/мл, ніж при використанні циклоферону в жінок другої групи $(12,54 \pm 0,18)$ мкг/мл при $p < 0,05$. Аналіз вмісту лізоциму сироватки крові демонструє більшу ефективність протефлазиду при використанні у жінок першої групи $(8,87 \pm 0,35)$ мкг/мл, порівняно з циклофероном при застосуванні у жінок другої групи $(8,64 \pm 0,12)$ мкг/мл.

Можна припустити, що відновлення мікробіоценозу піхви та бар'єрних властивостей слизового секрету та шийки матки, пов'язано з вірулентністю та кількістю інфекційних факторів.

Оцінюючи загальноклінічні дані на 5-6 добу лікування, нами відмічено покращення самопочуття хворих, зниження або відсутність больового синдрому, редукцію виділень з піхви, печії та свербіж. При аналізі бактеріоскопічних та кольпоскопічних даних нами також відмічено позитивну динаміку.

Отже, проведена противірусна терапія із застосуванням протефлазиду та циклоферону супроводжується зростанням рівня лізоциму як у сироватці крові, так і в цервікальному вмісті.

Крім того, вітчизняний препарат протефлазід, який містить флавоноїдні глікозиди є досить ефективним, зручний у використанні та не має побічних ефектів.

ВИСНОВКИ: 1. Рівні лізоциму сироватки крові та цервікального вмісту здатні слугувати одними з критеріїв для встановлення діагнозу фонових захворювань шийки матки, асоційованих з вірусними інфекціями.

2. Розробка та проведення терапевтичних заходів у жінок із фоновими захворюваннями шийки матки, асоційованими з вірусними інфекціями, повинні супроводжуватись визначенням рівнів лізоциму сироватки крові та цервікального вмісту, щоб поряд з клінічною компенсацією досягнути більш повного відновлення й локального захисного бар'єру.

3. Призначення у комплексному лікуванні фонових захворювань шийки матки препаратів протефлазід та циклоферон забезпечує повне відновлення активності лізоциму сироватки крові та цервікального вмісту.

1. Адашкевич В.П. Заболевания, передаваемые половым путём. – Витебск: Изд-во Витебского медицинского института, 1996. – 280 с.

2. Исаков В.А., Коваленко АЛ., Алексеева Л.Е. и др. Циклоферон: применение в терапии урогенитального хламидиоза и герпетической инфекции // Руководство для врачей. – Санкт-Петербург. - 1997. - 40 с.

3. Ершов Ф.И. Антивирусные препараты. – М.: Медицина. – 1998. – 28 с.

4. Козлова В.И., Пухнер А.Ф. Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий // Руководство для врачей. - Санкт-Петербург. - 2000. - с. 571.
5. Марченко Л.А. Современные клинические аспекты эпидемиологии генитального герпеса. // Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы / Под ред. В.Н. Приленской. - 2000. - С. 220-229.
6. Манухин И.Б., Т.П. Захарова. Клиника, диагностика и лечение генитального герпеса у женщин. - Там же. - С. 229-240.
7. НПК «ЭКОФАРМ» Протефлазид // Руководство для врачей. - Киев. - 2003. - 89 с.

8. Приленская В.Н., Роговская С.Н., Межевская Е.А. // Кольпоскопия. М., 1997. - С. 73-81.
9. Прилепская В.Н. Заболевания шейки матки // Клинические лекции. - М.: Медиа сферы. - 1997. - 88 с.
10. Larsen B. Vaginal flora in health and disease // Clin. Obstet. Gynec. - 1993. - Vol 36. - № 1. - 103 p..
11. Dalkvist J., Wahlin J.B. et al. Herpes simplex and mood: a prospective study // Psychosom. Med. 1995, Mar-Apr., 57(2):127-137.
12. Ruiters A., Thin R.N. Genital herpes. A guide to pharmacological therapy // Dreys. - 1994. - № 47(2). - P. 297-304.

Аношина Т.М., Камінський В.В., Григоренко А.М.

АПОПТОЗЗАЛЕЖНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ПЕРЕДРАКУ ТА РАКУ ШИЙКИ МАТКИ

Київська медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика

Метою даної роботи було дослідження процесу запрограмованої загибелі клітин при передракових захворюваннях шийки матки і їх прогностичної значимості в розвитку раку шийки матки. Всім пацієнткам досліджуваних груп проводилась імуногістохімічна ідентифікація в заморожених біоптатах шийки матки експресії інгібітора апоптозу білка p-53 і індуктора апоптозу протеїну bcl-2. Враховуючи результати проведених досліджень можна зробити висновок, що одним з патогенетичних механізмів виникнення передраку і раку шийки матки є порушення процесів апоптозу. Оцінка маркерів апоптозу p-53 і bcl-2 при передракових захворюваннях шийки матки може мати значення для діагностики, визначення ступеня онкогенності і контролю ефективності проведеного лікування.

Целью данной работы было исследование процесса запрограммированной гибели клеток при предраковых заболеваниях шейки матки и их прогностической значимости в развитии рака шейки матки. Всем пациенткам исследуемых групп проводилась иммуногистохимическая идентификация в замороженных биоптатах шейки матки экспрессии ингибитора апоптоза белка p-53 и индуктора апоптоза протеина bcl-2. Учитывая результаты проведенных исследований можно сделать вывод, что одним из патогенетических механизмов возникновения предрака и рака шейки матки являются нарушения процессов апоптоза. Оценка маркеров апоптоза p-53 и bcl-2 при предраковых заболеваниях шейки матки может иметь значение для диагностики, определения степени онкогенности и контроля эффективности проведенного лечения.

Taking for the basis the conception of apoptosis role in cancer genesis, the aim of our work is to research apoptosis process failure at precancerous cervical diseases and their predictable importance in cervical cancer.

The research of apoptosis process at women with cervical dysplasia of different degree of danger was done by immunohistochemical analyses by means of expression of genes products bcl-2 and p-53.

One of the pathogenic mechanisms of cervical dysplasia and cervical cancer is the failure of apoptosis process. The estimation of apoptosis at precancerous cervical processes is vital for diagnosis and malignisation risk and control of treatment effectiveness.

Ключові слова: дисплазія шийки матки, рак шийки матки, апоптоз, діагностика

Ключевые слова: дисплазия шейки матки, рак шейки матки, апоптоз, диагностика

Key words: cervical dysplasia, cervical cancer, apoptosis, diagnosis

ВСТУП В даний час, незважаючи на успіхи сучасної онкогінекології, захворюваність на рак шийки матки в країнах Східної Європи стабільно входить в п'ятірку провідних онкологічних захворювань жінок [2,4]. У зв'язку з цим рання діагностика і адекватне лікування фонових і передракових захворювань є важливим заходом, спрямованим на зниження захворюваності на рак шийки матки [4].

В останні роки вивченню ролі апоптозу, тобто запрограмованої загибелі клітин в розвитку різних патологічних процесів в організмі присвячено багато клінічних, цитологічних, імунологічних і молекулярно-біологічних досліджень. Як відомо, апоптоз є фізіологічним процесом загибелі клітин, спрямованим на підтримку клітинного гомеостазу в різних тканинах організму [1,2,5], включаючи ендо- і ектоцервікс. Незважаючи на те, що вивчення молекулярних основ апоптозу знаходиться на початкових стадіях, не вик-

лючається, що пухлинний ріст може бути пов'язаний з дисбалансом між проліферацією клітин і їх запрограмованою загибеллю [2,5].

Таким чином, опираючись на вищевказану апоптоззалежну концепцію онкогенезу, метою нашої роботи стало дослідження порушень процесів запрограмованої загибелі клітин при передракових захворюваннях шийки матки і їх прогностичної значимості в розвитку раку шийки матки.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ У досліджувану групу були включені 52 жінки, що знаходилися на обстеженні і лікуванні з приводу передракових захворювань шийки матки в жіночій консультації та гінекологічному відділенні пологового будинку №4 м. Києва та гінекологічному відділенні Київської міської клінічної лікарні №6

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ У ході дослідження виділені наступні клінічні групи: 1-ша – здорові жінки - 11 пацієнток, 2-га – легка дисплазія – IIIa тип мазка – 9 пацієнток, 3-тя – помірна дисплазія – III тип мазка – 13 пацієнток, 4-та – важка дисплазія – IIIb тип мазка – 11 пацієнток, 5-та – рак шийки матки – IV тип мазка – 8 пацієнток

Розподіл клінічних груп проводився відповідно до результатів цитологічного дослідження, а саме згідно з типом цитологічного мазка, підтвердженого результатом патоморфологічного дослідження та результатами кольпоскопічного дослідження.

Всім пацієнткам вищевказаних груп проводилась імуногістохімічна ідентифікація в заморожених біоптатах шийки матки експресії інгібітора апоптозу білка p-53 і індуктора апоптозу протеїну bcl-2. Імунореактивність визначалася за допомогою світлового мікроскопа, а ступінь імунозабарвлення bcl-2 і p-53 оцінювався за 4-бальною шкалою наступним чином: візуалізація забарвлених клітин до 25% – інтерпретувалось як відсутність імунозабарвлення (фонове забарвлення), до 50% – слабке забарвлення, до 75% клітин – розцінювалось як середня інтенсивність забарвлення і більше 75% – сильне забарвлення.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ У ході проведеного дослідження були отримані наступні результати.

При дослідженні індуктора апоптозу продуктів гена bcl-2 протеїну у диспластичному епітелії шийки матки в досліджуваних групах пацієнток було виявлено, що зі зростанням ступеня важкості дисплазії експресія зазначеного протеїну знижувалася від сильного цитоплазматичного забарвлення в групі здорових жінок до повної його відсутності в групі хворих на рак шийки матки. Так, в зразках тканини ектоцервікса в групі здорових жінок візуалізувалось близько 87% імунореактивних до продуктів гена bcl-2 клітин, в групі хворих з легким ступенем дисплазії визначалось 53% імунозабарвлених клітин, при середньому ступені дисплазії 41% імунореактивних клітин, при важкій дисплазії – 25%, а при раку шийки матки в більшості випадків клітини були