

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФАКТОРОВ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА
В РАЗЛИЧНЫЕ СТАДИИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ**

Л.Д. АНДОСОВА, К.Н. КОНТОРЩИКОВА, К.А. ШАХОВА

*ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России,
пл. Минина и Пожарского, г. Нижний Новгород, д.10/1, 603950, Россия*

Аннотация. Общепринято, что важную роль в генезе развития неопластических изменений шейки матки при папилломавирусной инфекции играет система иммунитета, в первую очередь, локальная защита репродуктивного тракта женщины. В этой связи рассматриваются и обсуждаются иммунологические показатели цервикальной слизи и их роль в манифестации патологических процессов шейки матки, ассоциированных с вирусами папилломы человека высокого канцерогенного риска. Было установлено, что цитоморфологические формы цервикальной патологии не отражают патогенетические аспекты формирования локального иммунитета. Формирование иммуносупрессии происходит уже на ранних этапах цервикальной патологии в группе плоскоклеточных поражений низкой степени при переходе в интегративную форму. Далее в процессе канцерогенеза на стадии интегративной инфекции усиливается и расширяется иммунная супрессия. Установлено, что характер локальных иммунологических нарушений при ВПЧ-ассоциированной цервикальной патологии имеет особенности, обусловленные патогенетическими формами, продуктивной и интегративной стадиями папилломавирусной инфекции.

Ключевые слова: шейка матки, папилломавирусная инфекция, локальный иммунный ответ.

**PATHOGENETIC ASPECTS OF LOCAL IMMUNITY FACTORS IN DIFFERENT STAGES
OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION**

L.D. ANDOSOVA, K.N. KONTORSHIKOVA, K.A. SHAKHOVA

*Nizhny Novgorod State Medical Academy of the Russian Ministry of Health,
pl. Minin and Pozharsky, Nizhny Novgorod, 10/1, 603950, Russia*

Abstract. It is generally accepted that an important role in the genesis of cervical neoplastic changes in human papilloma virus infection plays a system of immunity, in the first place, a local protection of the reproductive tract of women. In this regard, the authors reviewed and discussed the immunological parameters of cervical mucus and their role in the manifestation of pathological processes associated with human papilloma viruses of high carcinogenic risk. It was found that the cytomorphological forms of cervical pathology don't reflect the pathogenetic aspects of the formation of local immunity. Formation of immune suppression occurs in the early stages of cervical pathology group squamous lesions low degree at the transition in an integrative form. Furthermore, immune suppression increases and expands in the process of carcinogenesis at the stage of integrative infection. It was found that a character of the local immunological disorders in HPV-associated cervical pathology is particularly due to the pathogenic forms, productive and integrative stages of HPV infection.

Key words: uterine cervix, human papilloma virus infection, local immune response.

В результате проведенных эпидемиологических и клинических исследований установлено, что *вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска* (ВПЧ ВКР) является важнейшим фактором в канцерогенезе шейки матки, однако, механизмы, определяющие характер и течение патологического процесса, обусловленного вирусом, риск развития злокачественной трансформации цервикального эпителия полностью не изучены [3, 4, 8]. Практически все дисплазии содержат вирус ВПЧ либо в виде инфекционных вирионов, либо в виде эписомальной или интегративной ДНК [5]. Ключевым событием в злокачественной трансформации эпителиальных клеток считается интеграция вирусной ДНК в ДНК клетки «хозяина», *формирование интегративной (E7+) стадии папилломавирусной инфекции (ПВИ)* [2]. Несмотря на то, что явление интеграции вирусной ДНК активно изучается, имеющиеся данные не позволяют однозначно оценить его клиническое значение [6]. Согласно существующим наблюдениям, важную роль в генезе развития неопластических изменений шейки матки при ПВИ играет система иммунитета, в первую очередь, локальная защита репродуктивного тракта женщины [1, 7].

Цель исследования – определить уровень цитокинов, интерферонов в цервикальной слизи для оценки роли факторов местного иммунитета в манифестации патологических процессов шейки матки, ассоциированных с вирусами папилломы человека высокого канцерогенного риска.

Материалы и методы исследования. Для реализации поставленной цели изучали иммунологические показатели цервикальной слизи у 280 женщин (средний возраст $32 \pm 2,56$ года), у которых предварительно методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) выявили ВПЧ ВКР. Пациентки были разделены на группы по экспрессии протеина *E7* (продуктивная и интегративная формы ПВИ): 1 группа: 20 практически здоровых женщин, с отрицательным результатом ВПЧ-теста ($n=20$); 2 группа: латентная форма ПВИ, категория «ВПЧ-инфицирование», белок *E7* отрицательный результат «ВПЧ+*E7*-» ($n=40$); 3 группа: латентная форма ПВИ, категория «ВПЧ-инфицирование», белок *E7* положительный результат «ВПЧ+*E7*+» ($n=40$); 4 группа: низкая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения (LSIL), белок *E7* отрицательный результат «LSIL *E7*-» ($n=40$); 5 группа: низкая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения (LSIL), белок *E7* положительный результат «LSIL *E7*+» ($n=40$); 6 группа: высокая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения (HSIL), белок *E7* отрицательный результат «HSIL *E7*-» ($n=20$); 7 группа: высокая степень HSIL, белок *E7* положительный результат «HSIL *E7*+» ($n=40$); 8 группа: рак шейки матки «РШМ *E7*+» ($n=40$).

Материалом для исследования методом ПЦР-РВ служили образцы эпителия шейки матки, забранные с использованием одноразовых универсальных зондов в транспортную среду торговой марки «Ампли Сенс» для материала из урогенитального тракта женщин. Материал исследовали с использованием анализатора «iQ5» CyCler («Bio-RAD», США) комплекта тест-систем ФГУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора. ВПЧ-скрининг осуществлялся с применением набора реагентов для выявления ДНК ВПЧ ВКР 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 53, 56, 58, 59, 60, 70 типов «Ампли Сенс ВПЧ ВКР скрин-*EPh*». Определение онкобелка *E7* ВПЧ 16 и 18 типов проводилось с применением набора реагентов для иммуноферментного выявления – «*E7*-ВПЧ-16/18-Диагност» производства ОАО «Биомед» им. И.И. Мечникова, Россия. Количественное определение интерферонов и цитокинов проводилось иммуноферментными наборами *Bender Med Systems*, США. В наборах для измерения уровня цитокинов и интерферонов применялся твердофазный иммуноферментный метод с использованием прибора «*Expert*», Австрия. Соблюдение этических принципов исследования с участием человека отмечено в протоколе № 8 от 23 сентября 2009 года заседания Этического комитета по проведению научных исследований ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России. Полученные результаты были обработаны общепринятыми методами вариационной статистики с использованием пакета статистических программ *Statistica for Windows 6.0*. При сравнительном анализе рядов переменных для случаев множественного сравнения использовали критерий Ньюмена – Кейлса, во всех случаях критическое значение уровня достоверности принималось $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Характер локальных иммунологических нарушений при ВПЧ-ассоциированной цервикальной патологии имеет особенности, обусловленные патогенетическими формами, продуктивной и интегративной стадиями ПВИ. Продуктивная форма (*E7*-), категория «ВПЧ-инфицирование», характеризуется повышением выработки интерферонов альфа и гамма, – на рис. 1 – пик – группы 2, 3, 4; низкими значениями экспрессии ИЛ-10 и ТФР- β на стадиях латентной инфекции (ВПЧ+*E7*-, *E7*+) и эпителиальных поражений низкой степени (LSIL *E7*-) на рис. 2 те же группы (2, 3, 4) – пика нет или «плато».

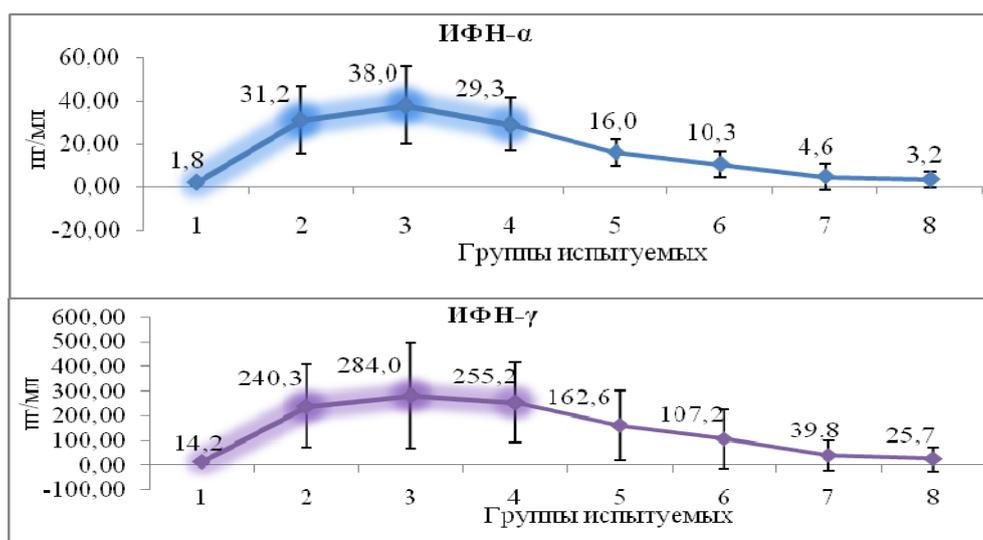


Рис. 1. Показатели интерферонов, «рост пика», в группах женщин в различные стадии ПВИ. 1 – здоровые женщины с отрицательным результатом ВПЧ-теста; 2 – «ВПЧ+*E7*-»; 3 – «ВПЧ+*E7*+»; 4 – «LSIL *E7*-»; 5 – «LSIL *E7*+»; 6 – «HSIL *E7*-»; 7 – «HSIL *E7*+»; 8 – «РШМ *E7*+»

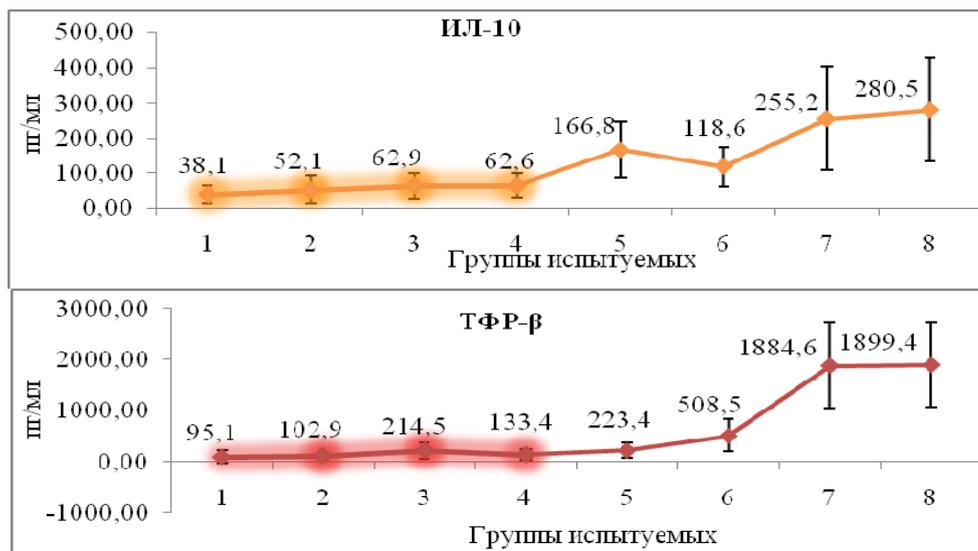


Рис. 2. Показатели цитокинов, «плато», в группах женщин в различные стадии ПВИ.
 1 – здоровые женщины с отрицательным результатом ВПЧ-теста; 2 – «ВПЧ+E7+»; 3 – «ВПЧ+E7+»;
 4 – «LSIL E7-»; 5 – «LSIL E7+»; 6 – «HSIL E7-»; 7 – «HSIL E7+»; 8 – «РШМ E7+»

Интегративная форма (E7+), категория «тяжелые интраэпителиальные поражения» обнаруживает снижение концентрации интерферонов альфа и гамма-группы 5, 6, 7, 8 – вектор пика вниз (рис. 3); а также локальную иммуносупрессию, выражающуюся повышением значений ИЛ-10 на стадиях эпителиальных поражений низкой и высокой степени E7+ (LSIL E7+), (HSIL E7+) и на стадии рак шейки матки (РШМ E7+) – рост пика 5, 7, 8 группы и ТФР-β на стадиях эпителиальных поражений высокой степени «HSIL E7-», «HSIL E7+», РШМ E7+) – рост пика 6, 7, 8 группы (рис. 4).

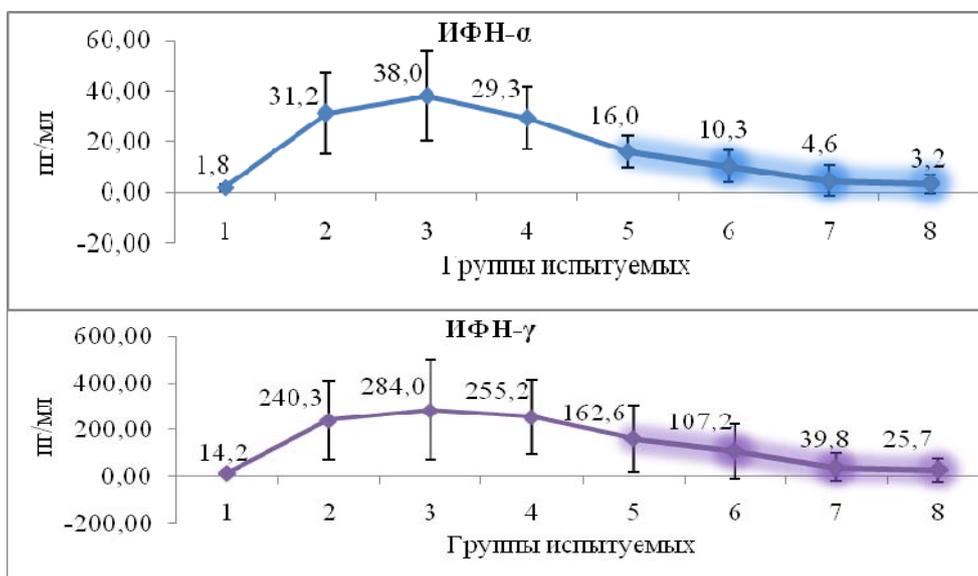


Рис. 3. Показатели интерферонов, «вектор пика вниз», в группах женщин в различные стадии ПВИ.
 Примечание: 1 – здоровые женщины с отрицательным результатом ВПЧ-теста; 2 – «ВПЧ+E7-»; 3 –
 «ВПЧ+E7+»; 4 – «LSIL E7-»; 5 – «LSIL E7+»; 6 – «HSIL E7-»; 7 – «HSIL E7+»; 8 – «РШМ E7+»

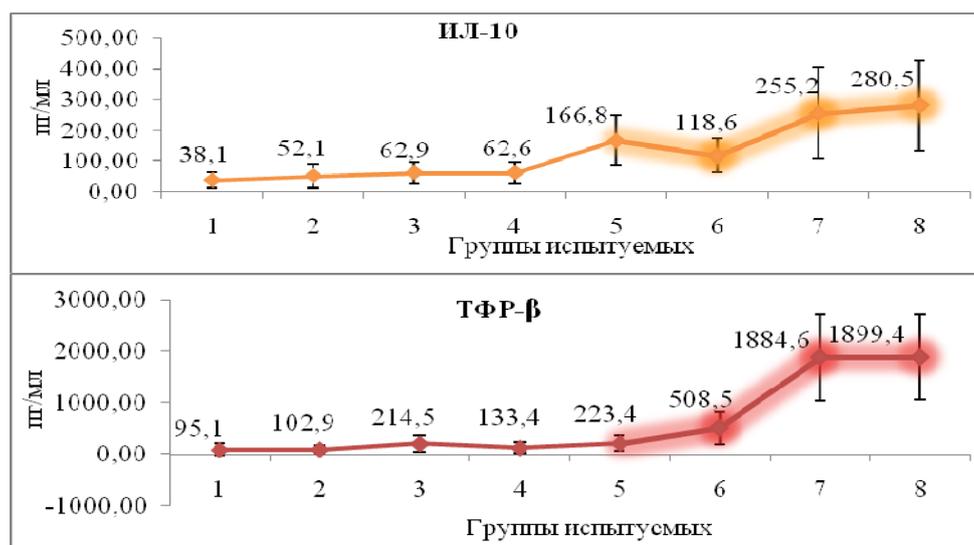


Рис. 4. Показатели цитокинов, «рост пика», в группах женщин в различные стадии ПВИ.

Примечание: 1 – здоровые женщины с отрицательным результатом ВПЧ-теста; 2 – «ВПЧ+E7-»; 3 – «ВПЧ+E7+»; 4 – «LSIL E7-»; 5 – «LSIL E7+»; 6 – «HSIL E7-»; 7 – «HSIL E7+»; 8 – «РШМ E7+»

Повышение экспрессии ИЛ-10 начинается уже на стадии эпителиальных поражений низкой степени – «LSIL E7+», при интегративной форме ПВИ – 5 группа – 1 пик, рисунок 4 продолжение, и прогрессивно увеличивается в течение всего периода, способствуя формированию локальной иммуносупрессии, а именно – это повышение ТФР-β в группах тяжелых поражений «HSIL E7-» – 1 пик, «HSIL E7+» 2 – пик, 6, 7 группы, рис. 4 продолжение. Гиперэкспрессия ИЛ-10 в группах «LSIL E7+», «HSIL E7-», «HSIL E7+», ТФР-β в группах «HSIL E7-», «HSIL E7+» может служить одним из признаков неблагоприятного развития цервикальной патологии. Увеличение экспрессии ИЛ-10, ТФР-β в группе «HSIL E7-» позволяет предположить, что ИЛ-10 и ТФР-β не только присутствуют в большом количестве на начальной стадии возможной опухолевой прогрессии «HSIL E7-», но и служат в качестве основного механизма уклонения трансформированных клеток от иммунной атаки [9, 10].

Таким образом, формирование локальной иммуносупрессии происходит уже на ранних этапах цервикальной патологии – в группе *плоскоклеточных интраэпителиальных поражений низкой степени* (LSIL) при переходе в интегративную форму т.е. – диагноз LSIL, E7+ и на этой стадии появляются маркеры иммуносупрессии, а именно – повышение содержания ИЛ10, на рис. 4 рост пика – 5 группа, далее в процессе канцерогенеза на стадии интегративной инфекции (E7+) – 5 группа, прогрессирует иммунная супрессия – в виде повышения содержания ТФР-β – рост пика 5, 6, 7 группы.

Можно предположить, что локальное накопление *T-reg* ассоциируемых, супрессирующих цитокинов ИЛ-10, ТФР-β начинается на стадии плоскоклеточных интраэпителиальных поражений низкой степени с интегративной формой ПВИ (LSIL E7+) и прогрессивно увеличивается в течение всего периода болезни на стадиях эпителиальных поражений высокой степени (HSIL E7-, HSIL E7+). Следовательно, формирование локальной иммуносупрессии происходит уже на ранних этапах цервикальной патологии в группе LSIL при переходе в интегративную форму. Далее в процессе канцерогенеза на стадии интегративной инфекции (E7+) усиливается и расширяется иммунная супрессия, которая способствует опухолевой прогрессии. Полученные результаты указывают на дезорганизацию иммунной системы в локальном выражении, что в совокупности с возможными мультиинфицированием ВПЧ ВКР, высокой вирусной нагрузкой, дисбиотическими нарушениями вагинального биотопа поддерживает хроническую персистенцию ВПЧ-инфекции и увеличивает вероятность неопластической трансформации цервикального эпителия.

Выводы. Цитоморфологические формы цервикальной патологии не отражают патогенетические аспекты формирования иммунитета при папилломавирусной инфекции. Для оценки характера патологического процесса в шейке матки с определением аспектов местного иммунитета необходимо установить форму инфекции, продуктивная или интегративная, что позволит улучшить прогноз ВПЧ-обусловленного заболевания.

Литература

1. Бибнева Т.Н., Прилепская В.Н. Профилактика рака шейки матки: скрининг (обзор литературы) // Научно-практический медицинский журнал Доктор.Ру. 2009. № 6(50). С. 14–15.
2. Киселев В.И., Муйжнек Е.Л. Молекулярные механизмы развития дисплазии шейки матки: новые знания – новые возможности. М., 2011. С. 1–20.

3. Клиническая онкогинекология / перевод с англ. под ред. Новиковой Е.Г. М.: Рид Элсивер, 2011. Т.1. С. 22–73.
4. Папилломавирусная инфекция / под ред. Говоруна В.М. М.: НПФ Литех, 2009. С. 43–45.
5. Питер Л. Стерн, Китченера Генри С. Вакцины для профилактики рака шейки матки / перевод с англ. под ред. акад. РАМН Сухих Г.Т., Прилепской В.Н. М.: МЕДпресс-информ, 2009. С. 49–58.
6. Прилепская В.Н., Роговская С.И. Новые технологии профилактики рака шейки матки. В кн.: Патология шейки матки и генитальной инфекции. М.: МЕДпресс-информ, 2008. С. 8–14.
7. Семенов Д.М., Занько С.Н., Дмитраченко Т.И. Папилломавирусная инфекция. СПб.: Диалект, 2008. С. 12–26.
8. Сухих Г.Т., Прилепская В.Н. Профилактика рака шейки матки. М.: МЕДпресс-информ, 2012. С. 116–139.
9. Терехов И.В., Хадарцев А.А., Никифоров В.С., Бондарь С.С. Продукция цитокинов клетками цельной крови реконвалесцентов внебольничной пневмонии под влиянием низкоинтенсивного СВЧ-облучения // Вестник новых медицинских технологий (электронный журнал). 2014. №1. Публикация 2-57. URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4815.pdf> (дата обращения 30.06.2014). DOI 10.12737/5025.
10. Терехов И.В., Хадарцев А.А., Никифоров В.С., Бондарь С.С. Функциональное состояние клеток цельной крови при внебольничной пневмонии и его коррекция СВЧ-излучением // Фундаментальные исследования. 2014. № 10 (4). С. 737–741.

References

1. Bebneva TN, Prilepskaya VN. Profilaktika raka sheyki matki: skrining (obzor literatury) [Preventing Cervical Cancer: Screening (review)]. Nauchno-prakticheskiy meditsinskiy zhurnal Doktor.Ru. 2009;6:14-5. Russian.
2. Kiselev VI, Muzyzhnek EL. Molekulyarnye mekhanizmy razvitiya displazii sheyki matki: novye znaniya – novye vozmozhnosti [Molecular mechanisms of developing cervical dysplasia: new knowledge - new opportunities.]. Moscow; 2011. Russian.
3. Klinicheskaya onkoginekologiya [Clinical cancers]. perevod s angl. pod red. Novikovoy EG. Moscow: Rid Elsvier; 2011;1:22-73. Russian.
4. Papillomavirusnaya infektsiya [HPV infection]. Pod red. Govoruna VM. Moscow: NPF Litekh; 2009. Russian.
5. Piter L. Stern, Kitchenera Genri S. Vaksiny dlya profilaktiki raka sheyki matki [Vaccines for prevention of cervical cancer]. Perevod s angl. pod red. akad. RAMN Sukhikh GT, Prilepskoy VN. Moscow: MEDpress-inform; 2009. Russian.
6. Prilepskaya VN, Rogovskaya SI. Noveye tekhnologii profilaktiki raka sheyki matki [New prevention technologies for cervical cancer. Proc. : Cervical Pathology and genital infections]. V kn.: Patologiya sheyki matki i genital'noy infektsii. Moscow: MEDpress-inform; 2008. Russian.
7. Semenov DM, Zan'ko SN, Dmitrachenko TI. Papillomavirusnaya infektsiya [HPV infection]. Sankt-Peterburg: Dialekt; 2008. Russian.
8. Sukhikh GT, Prilepskaya VN. Profilaktika raka sheyki matki [Prevention of cervical cancer]. Moscow: MEDpress-inform; 2012. Russian.
9. Terekhov IV, Khadartsev AA, Nikiforov VS, Bondar' SS. Produktsiya tsitokinov kletkami tsel'noy krovi rekonvalentsentov vnebol'nichnoy pnevmonii pod vliyaniyam nizkointensivnogo SVCh-oblucheniya [Cytokine production by whole blood cells convalescents CAP under the influence of low-intensity microwave radiation]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy (elektronnyy zhurnal). 2014 [cited 2014 Jun 30];1 [about 6 p.]. Russian. Available from: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4815.pdf>. DOI 10.12737/5025.
10. Terekhov IV, Khadartsev AA, Nikiforov VS, Bondar' SS. Funktsional'noe sostoyanie kletok tsel'noy krovi pri vnebol'nichnoy pnevmonii i ego korrektsiya SVCh-izlucheniem [Functional state of whole blood cells with community-acquired pneumonia and microwave radiation correction]. Fundamental'nye issledovaniya. 2014;10:737-41. Russian.

Библиографическая ссылка:

Андосова Л.Д., Конторщикова К.Н., Шахова К.А. Патогенетические аспекты факторов местного иммунитета в различные стадии папилломавирусной инфекции // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2016. №4. Публикация 2-8. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2016-4/2-8.pdf> (дата обращения: 25.10.2016). DOI: 10.12737/22636.