

УДК 618.146:616-018:616-097
DOI©А. В. Бойчук¹, В. О. Худоб'як²ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського"¹
ННІ ПО, кафедра акушерства та гінекології, пологовий будинок Рівненської міської ради²

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗНИКІВ АПОПТОЗУ ТА РІВНЯ ЛОКАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ В ЖІНОК ІЗ ПАТОЛОГІЧНИМИ ПРОЦЕСАМИ ШИЙКИ МАТКИ

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗНИКІВ АПОПТОЗУ ТА РІВНЯ ЛОКАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ В ЖІНОК ІЗ ПАТОЛОГІЧНИМИ ПРОЦЕСАМИ ШИЙКИ МАТКИ – Метою було дослідження стану локального імунітету та показників апоптозу в жінок із патологічними процесами шийки матки і супутнім вірусним інфікуванням. Під нашим спостереженням перебувало 80 жінок із патологією шийки матки і супутнім вірусним інфікуванням у віці від 18 і до 46 років, середній вік яких становив 25,2 року. Контрольну групу склали 20 гінекологічно здорових невагітних жінок. Визначення збудників *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma spp.* (*urealiticum*+*parvum*), вірусу папіломи людини, вірусу герпесу ½ типу, цитомегаловірусу, вірусу Епштейна–Барр проводили методом полімеразно-ланцюгової реакції. Для оцінки показників місцевого імунітету використовували змиви з цервікального каналу і шийки матки. Рівень імуноглобулінів класів G, A визначали методом радіальної імунодифузії в гелі за Манчіні. При оцінці рівня апоптозу крові визначали декілька параметрів: індекс апоптозу (AN) та індекс некрозу (PI). Отримані результати представляли у відсотках. Виявлено, що процеси апоптозу в пацієнок із патологічними станами шийки матки (AN=(21,67±1,13) %, PI=(1,71±0,12) %) у першій групі та AN=(22,45±1,71) %, PI=(1,87±0,08) % у другій групі) достовірно відрізняються від показників рівня апоптозу в пацієнок контрольної групи (AN=(30,98±0,59) %, PI=(1,16±0,08) %), що може свідчити про негативний вплив вірусного інфікування шийки матки на стан апоптозу в організмі жінки і прогностично несприятливий перебіг захворювання. Також у жінок із патологічними процесами шийки матки виявлено, що співвідношення IgG/IgA підвищується більше ніж в 1,7 раза порівняно із здоровими жінками. Це також свідчить про негативний вплив вірусного інфікування на стан локального імунітету жінок. Аналізуючи отримані дані, можна зробити висновок, що з метою підвищення частоти виликування і зниження кількості рецидивів необхідна розробка комплексного методу лікування, який буде враховувати усі ланки патогенезу даного захворювання.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ АПОПТОЗА І УРОВНЯ ЛОКАЛЬНОГО ІМУНІТЕТА У ЖЕНЩИН С ПАТОЛОГІЧЕСКИМИ ПРОЦЕСАМИ ШИЙКИ МАТКИ – Целью исследования было изучение состояния местного иммунитета и показателей апоптоза у женщин с патологическими процессами шейки матки и сопутствующим вирусным инфицированием. Под нашим наблюдением находилось 80 женщин с патологией шейки матки и сопутствующим вирусным инфицированием в возрасте от 18 и до 46 лет, средний возраст которых составлял 25,2 года. Контрольную группу составило 20 гинекологически здоровых небеременных женщин. Определение возбудителей *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma spp.* (*urealiticum* + *parvum*), вируса папилломы человека, вируса герпеса ½ типа, цитомегаловируса, вируса Эпштейна–Барр проводилось методом полимеразно-цепной реакции. Для оценки показателей местного иммунитета использовали смывы из цервикального канала и шейки матки. Уровень иммуноглобулинов классов G, A определяли методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини. При оценке уровня апоптоза крови определяли несколько параметров: индекс апоптоза (AN) и индекс некроза (PI). Полученные результаты представляли в процентах. Выявлено, что процессы апоптоза у пациенток с патологическими состояниями шейки матки (AN = (21,67±1,13) %, PI = (1,71±0,12) %

в первой группе и AN = (22,45±1,71) %, PI = (1,87±0,08) % во второй группе) достоверно отличаются от показателей уровня апоптоза у пациенток контрольной группы (AN = (30,98±0,59) %, PI = (1,16±0,08) %), что может свидетельствовать о негативном влиянии вирусного инфицирования шейки матки на состояние апоптоза в организме женщины и прогностически неблагоприятное течение заболевания. Также у женщин с патологическими процессами шейки матки обнаружено, что соотношение IgG/IgA повышается больше чем в 1,7 раза по сравнению со здоровыми женщинами. Это также свидетельствует о негативном влиянии вирусного инфицирования на состояние местного иммунитета женщин. Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что с целью повышения частоты излечения и снижения количества рецидивов необходима разработка комплексного метода лечения, который будет учитывать все звенья патогенеза данного заболевания.

CHARACTERISTICS OF INDICATORS APOPTOSIS AND LOCAL IMMUNITY IN WOMEN WITH CERVICAL PATHOLOGICAL PROCESSES – The aim of the research was to study the state of local immunity and apoptosis indices in women with cervical pathological processes and concomitant viral infection. Under our supervision there were 80 women with cervical pathology and concomitant viral infection aged 18 to 46 years, whose average age was 25.2 years. In the control group there were 20 gynecologically healthy, non-pregnant women. Definition pathogens *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma spp.* (*urealiticum* + *parvum*), human papilloma virus, herpes virus ½ type, cytomegalovirus, Epstein-Barr virus were measured by polymerase chain reaction. To assess the performance of local immunity used swipes from the cervical canal and cervix. The level of immunoglobulin classes G, A were determined by radial immunodiffusion gels for Mancini. In assessing blood levels of apoptosis determining several parameters: the index of apoptosis (AN) and necrosis index (PI) The results were presented in percentages. Revealed that apoptosis in patients with pathological conditions of the cervix (AN = (21.67±1.13) %, PI = (1.71±0.12) % in group 1 and AN = (22.45±1.71) %, PI = (1.87±0.08) % in group 2) significantly differ from the indicators of apoptosis in patients of the control group (AN = (30.98±0.59) %, PI = (1.16±0.08) %) which may indicate the negative impact of viral infection on the state of the cervix in women apoptosis and prognostically unfavorable course of the disease. Also, women with cervical pathological processes found that the ratio of IgG/IgA increased more than 1.7 times, comparing with healthy women. It also shows the negative impact of viral infection on the immune status of women. Analyzing the data, we can conclude that in order to improve cure rate and to reduce the number of relapses is necessary to develop a comprehensive method of treatment, which will take into account all aspects of the pathogenesis of this disease.

Ключові слова: показники апоптозу, рівень локального імунітету, патологічні процеси шийки матки.

Ключевые слова: показатели апоптоза, уровень местного иммунитета, патологические процессы шейки матки.

Key words: apoptosis rates, the level of local immune pathological processes cervix.

ВСТУП Питанням діагностики та лікування патологій шийки матки на сьогодні присвячено багато досліджень

[1–3]. Але патогенез фонових захворювань шийки матки досі є дискусійним, немає в доступній нам літературі визначених усіх ланок розвитку даного процесу, так само, як окрім впливу ВПЛ, немає визначених інших чітких факторів ризику прогресування фонових захворювань передракових процесів та раку шийки матки. Це, у свою чергу, визначає той факт, що, незважаючи на значний арсенал заходів та засобів для лікування патології шийки матки, їхня ефективність є недостатньою, що призводить до значної кількості рецидивів, прогресування захворювання або відсутності позитивних результатів лікування [4].

На сьогодні виділяють 4 найпоширеніші групи етіологічних факторів, які призводять до морфофункціональних змін епітелію шийки матки: механічні травми і хімічні впливи на шийку матки, гормональна недостатність функції яєчників, інфекційні захворювання шийки матки і піхви, особливо вірусної і хламідійної етіології та порушення імунного статусу.

Згідно з даними багатьох авторів, найчастішою причиною виникнення доброякісних патологічних процесів шийки матки є післяпологова або пов'язана з абортном травма [5]. Ще однією, і надзвичайно поширеною, є теорія інфекційного агента в розвитку фонових захворювань шийки матки. Найпоширенішими інфекціями, які виділяють при ектопіях шийки матки, є *Chlamydia trachomatis*, вірус простого герпесу (ВПГ), цитомегаловірус (ЦМВ), ВПЛ і гарднерелі [6, 7]. Окрім ВПЛ широко дискутується онкогенний вплив ВПГ 1/2 типів на епітелій шийки матки. При цьому, на відміну від ВПЛ, для розвитку онкотрансформації не потрібно постійної присутності вірусу в даній клітині, достатньо лише "одного удару" [7]. Найменш дослідженою є імунологічна теорія, згідно з якою, ектопія циліндричного епітелію розвивається як недостатність активації місцевих захисних факторів імунної системи при хронічному запальному процесі слизових оболонок піхви і шийки матки [8, 9]. Хоча окремі автори відзначають, що стан імунної системи у жінок з фоновими захворюваннями шийки матки не відрізняється від показників у здорових жінок, а характерні зміни відбуваються лише при папіломавірусному інфікуванні [10], а вже наявність ВПЛ призводить до зниження активності імунної системи, що, у свою чергу, викликає тривале ігнорування інфекції імунітетом, активну реплікацію вірусу і, відповідно, прогресування захворювання до дисплазії різного ступеня тяжкості [11]. Визначення індексу апоптозу є новим, сучасним, але недостатньо дослідженим методом прогнозування розвитку передракових процесів і раку шийки матки. Апоптоз – це запрограмована гибель клітин тваринного та людського організму. Апоптоз є універсальним фізіологічним процесом, що в комплексі з клітинним дозріванням і проліферацією підтримує гомеостаз на тканинному та соматичному рівнях. Однак відомі такі патологічні стани, при яких апоптоз блокується. У таких випадках процес проліферації звільнено від контролюючого впливу клітинного фагоцитозу, що призводить до бурхливого процесу поділу клітин [12].

Метою дослідження було вивчити стан локального імунітету та показники апоптозу в жінок із патологічними процесами шийки матки і супутнім вірусним інфікуванням.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Обстеження жінок проводили в умовах центру планування сім'ї пологового будинку Рівненської міської ради і жіночої консультації № 1 поліклініки № 2 Рівненської міської ради. Під нашим спостереженням перебувало 80 жінок із патологією шийки матки у віці від 18 і до 46 років. Середній вік жінок становив 25,2 року. Контрольну групу склали 20 гінекологічно здорових невагітних жінок.

Критеріями для включення жінок у дослідження були патологічні процеси шийки матки, що супроводжувалися вірусним інфікуванням. Визначення збудників *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma spp.* (*urealiticum+parvum*), вірусу папіломи людини, вірусу герпесу 1/2 типу, цитомегаловірусу, вірусу Епштейна–Барр проводили методом полімеразно-ланцюгової реакції. Для оцінки показників місцевого імунітету використовували змиви з цервікального каналу і шийки матки. Рівень імуноглобулінів класів G, A визначали у твердо-фазовому ІФА з використанням специфічних тест-систем та методом радіальної імунодифузії в гелі за Манчіні. Оцінку рівня апоптозу крові проводили на проточному цитометрі Erics XL ("Beckman Coulter", США) з аргоновим лазером, при цьому визначали декілька параметрів: індекс апоптозу (AN) та індекс некрозу (PI). Отримані результати представляли у відсотках. Оцінювали відмінності між групами середніх величин і їх похибку за критерієм Манна–Уїтні. Статистично достовірними вважали відмінності при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Усім обстежуваним жінкам проводили обстеження на наявність в організмі інфекцій, що передаються статевим шляхом (ІПСШ), зокрема *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma spp.*, а також на вірусне інфікування – ВПЛ, ВПГ 1/2 типу, ЦМВ, ВЕБ).

Згідно з отриманими результатами, у жінок контрольної групи *Chlamydia trachomatis* не було виявлено, *Mycoplasma genitalium* була інфікована 1 (5,0 %) жінка, *Ureaplasma spp.* – у 9 (45,0 %) жінок. ВПЛ-інфікування було виявлено у 3 (15 %) жінок контрольної групи, інфікування ВПГ 1/2 типу – у 5 (25,0 %), ЦМВ – у 4 (20 %), інфікування ВЕБ не було виявлено в обстежуваних жінок контрольної групи. Серед пацієнток першої групи *Chlamydia trachomatis* були інфіковані 5 (12,5%) жінок. *Mycoplasma genitalium* – 2 (5,0 %), *Ureaplasma spp.* – 22 (55,0 %) жінок. ВПЛ-інфікування було виявлено у всіх 40 обстежуваних (100 %). Серед пацієнток другої групи *Chlamydia trachomatis* були інфіковані 5 (12,5 %) жінок. *Mycoplasma genitalium* не було виявлено у пацієнток другої групи, *Ureaplasma spp.* – у 25 (62,5 %) жінок. Інфікування ВПГ 1/2 типу було у 23 жінок (57,5 %), ЦМВ – в 14 (35,0 %), інфікування вірусом Епштейна–Барр – в 8 (20,0 %) пацієнток. При цьому поєднане інфікування декількома типами вірусів відмічали у 16 (40 %) жінок другої групи. Найбільш поширені вірусні асоціації такі: ЦМВ+ВПГ 1/2 типу – в 6 жінок, що становить 37,5 % від загальної кількості комбінованого інфікування. Також слід відмітити, що комбіноване вірусне ураження, згідно з результатами гістологічного дослідження, призводило до більш тяжких уражень шийки матки.

Згідно із метою і завданням дослідження, ми визначали індекс апоптозу в обстежуваних жінок – співвідношення числа анексинпозитивних клітин до загальної кількості фракції лейкоцитів периферичної крові. Отримані результати – індекс апоптозу (AN) та індекс некрозу (PI) представляли у відсотках. Результати обстеження показали у таблиці 1.

Аналізуючи отримані дані, можна зробити висновок, що процеси апоптозу в пацієнток із патологічними станами шийки матки достовірно не відрізняються в обох обстежуваних групах ($p_2 > 0,05$) і достовірно відрізняються ($p_1 < 0,01$ і $p_1 < 0,05$) від показників рівня апоптозу в пацієнток контрольної групи, що може свідчити про негативний вплив вірусного інфікування шийки матки на стан апоптозу в організмі жінки і прогностично несприятливий перебіг захворювання.

Таблиця 1. Характеристика процесів апоптозу в пацієнток із захворюваннями шийки матки

Середні величини, похибка, критерій достовірності	Контрольна група (n=20)		Перша група (n=40)		Друга група (n=40)	
	AN %	PI %	AN %	PI %	AN %	PI %
M±m	30,98±0,59	1,16±0,08	21,67±1,13	1,71±0,12	22,45±1,71	1,87±0,08
p			p ₁ <0,01	p ₁ <0,05	p ₁ <0,01 p ₂ >0,05	p ₁ <0,05 p ₂ >0,05

З метою визначення показників локального імунітету, ми проводили дослідження рівня Ig G та Ig A у змивах із піхви та цервікального каналу методом радіальної імунодифузії в гелі за Манчіні. Також беручи до уваги сучасні рекомендації (А. Л. Каграманян, 2014), ми розраховували співвідношення Ig G/Ig A, яке в нормі має 1. Оскільки Ig A проявляє захисну дію на епітелій піхви та шийки матки, тобто захищає від впливу інфекційних та вірусних агентів, а Ig G характеризує хронічний інфекційний процес і нейтралізує вплив Ig A, то підвищення співвідношення Ig G/Ig A більше 1 свідчить про тяжкість інфекційного ураження.

Результати обстежень представлено в таблиці 2.

Оцінюючи отримані результати, можемо зробити висновок, що стан локального імунітету в жінок групи

контролю достовірно відрізнявся (p₁<0,01) від показників локального імунітету в пацієнток досліджуваних груп, і достовірно не відрізнявся між показниками першої і другої груп обстежуваних. Це свідчить про те, що вірусне навантаження негативно впливає на зміни локального імунітету і знижує захисні властивості організму.

Аналізуючи отримані результати, ми можемо зробити висновки, що у пацієнток із патологічними станами шийки матки і вірусним ураженням відбуваються зміни в системі локального імунітету та порушуються процеси апоптозу. Це все в сукупності призводить до прогресування патологічних процесів шийки матки і вимагає розробки покращеного комплексного лікування даної категорії жінок, яке буде враховувати усі фактори ризику подальшого прогресування захворювання і знизить частоту розвитку рецидивів.

Таблиця 2. Стан локального імунітету в обстежуваних жінок

Показник локального імунітету, критерій достовірності	Контрольна група (n=20)	Перша група (n=40)	Друга група (n=40)
Ig G/Ig A	1,78±0,11*	3,10±0,11*	3,43±0,03*◇

Примітки: 1)* – різниця достовірна відносно показників контролю (p₁<0,01);

2) ◇ – різниця недостовірна відносно показників першої групи (p₂>0,05).

ВИСНОВКИ 1. У жінок із патологічними процесами шийки матки виявлено 3 найбільш інформативних лабораторних показники локального імунітету – IgG, IgA та співвідношення IgG/IgA підвищується більше ніж в 1,7 раза, порівняно із здоровими жінками, що свідчить про негативний вплив вірусного інфікування на стан локального імунітету жінок. Ці зміни поєднані з клінічними проявами захворювань шийки матки.

2. Прогностичним фактором маніфестації глибоких деструктивних процесів шийки матки є показники апоптозу в плазмі крові. Так, індекс апоптозу нижче 21,67 % та індекс некрозу вище 1,71 % виявляється при патологічних змінах шийки матки у жінок із вірусним ураженням і є маркером прогресування патологічних змін шийки матки.

Перспективи подальших досліджень Враховуючи порушення в системі локального імунітету і зміни показників апоптозу, можна зробити висновок, що лікування пацієнток із вірусним ураженням шийки матки вимагає в подальшому розробки комплексного підходу, який буде враховувати усі ланки патогенезу даного захворювання. Це підвищить частоту одужання і знизить кількість рецидивів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Мынбаев О. А. Вирус папилломы: вековая история коварного спутника человечества / О. А. Мынбаев, М. Ю. Елисеєва // 3 турботою про жінку. – 2011. – № 9. – С. 14–18.
2. Татарчук Т. Ф. Современная тактика ведения пациенток с ВПЧ-ассоциированными неоплазиями. Основные рекомендации Eurogin 2011 / Т. Ф. Татарчук, Н. К. Силина // Репродуктивная гинекология. – 2011. – № 1. – С. 78–79.
3. Жук С. І. Використання препарату Лаферон-ФармБіотек у лікуванні патології шийки матки, асоційованої з ВПЛ / С. І. Жук,

- І. Ю. Поліщук // Медицинские аспекты здоровья женщины. – 2010. – № 1. – С. 47–51.

4. Бауэр Г. Цветной атлас по кольпоскопии / Г. Бауер. – М.: Гэотар-Мед, 2002. – 287 с.

5. Коханевич Е. В. Кольпоцервикоскопия: атлас / Е. В. Коханевич, К. П. Ганина, В. В. Суменко. – К.: "Гидромакс", 2004. – 116 с.

6. Кишакевич І. Т. Сучасні аспекти лікування доброякісних процесів шийки матки, асоційованих з папіломавірусною інфекцією / І. Т. Кишакевич // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2004. – № 2. – С. 116–118.

7. Застосування препарату "Протекфлазид" у лікуванні вірусних ендодерміцитів, ерозій шийки матки / Б. Д. Луцки, С. О. Кравець, Л. С. Гуцак [та ін.] // Медицина залізничного транспорту України. – 2003. – № 4. – С. 57–59.

8. Осипова Л. С. Особенности течения и лечения инфекции, вызванной вирусом Епштейн-Барр / Л. С. Осипова // Новости медицины и фармации. – 2011. – № 18.

9. Грибова Н. С. Особенности изменения иммунорегуляторной системы у женщин с фоновой патологией шейки матки / Н. С. Грибова, Г. И. Хрипунова, Н. Б. Захарова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2009. – Т. 5, № 1. – С. 49–51.

10. Гнатко О. П. Системний та локальний імунітет при уrogenітальній інфекції у жінок з порушенням репродуктивної функції / О. П. Гнатко, Н. Г. Скурятіна // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2007. – № 1. – С. 37–40.

11. Коротич С. Є. Імунні і мікробіологічні аспекти захворювань шийки матки [інтернет ресурс] / С. Є. Коротич // Жіночий лікар. – 2008. – № 4. Режим доступу до статті: <http://z-l.com.ua/ua/article/205>.

12. Хаца І. І. Сучасні аспекти діагностики, лікування і профілактики папіломавірусної інфекції у жінок / І. І. Хаца, Ю. В. Андрашко // 3 турботою про жінку. – 2009. – № 3. – С. 10–12.

Отримано 11.09.15