

DOI: 10.31550/2712-8598-2024-1-5-ZhZiR

СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП В ЦЕРВИКАЛЬНОЙ СЛИЗИ ПРИ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИИ ШЕЙКИ МАТКИ

А.Н. Ригер¹✉, И.Б. Антонова², Н.В. Харченко¹, А.Д. Каприн³

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»; Россия, г. Москва

² ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации; Россия, г. Москва

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации; Россия, г. Москва

Резюме

Цель исследования. Оценка цитокинового профиля в слизи шейки матки у пациенток с разной степенью выраженности цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ЦИН).

Дизайн. Одноцентровое проспективное открытое когортное нерандомизированное интервенционное исследование.

Материалы и методы. В исследование были включены 30 женщин в возрасте от 18 до 49 лет. Контрольную группу (А) составили 10 ВПЧ-отрицательных пациенток без патологии шейки матки. В группу В были включены 10 женщин с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением шейки матки низкой степени (LSIL), в группу С — 10 пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением шейки матки высокой степени (HSIL).

У всех участниц исследования проводился забор слизи из цервикального канала для определения уровня различных цитокинов. Содержание цитокинов определяли с использованием коммерческого набора Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex Assay Bio-Plex Pro™ производства Bio-Rad Laboratories, Inc. (США) на анализаторе Luminex 200 (Luminex Corporation, США). Статистическую обработку проводили с использованием пакета программ Excel 365 и SPSS 20.0. Различия признавались статистически значимыми (нуль-гипотеза отвергалась) при $p < 0,05$.

Результаты. Исследование уровней содержания цитокинов и ростовых факторов в слизи цервикального канала выявило многочисленные различия между показателями здоровых женщин и пациенток с ЦИН разной степени выраженности. По сравнению с контролем в группе В отмечено статистически значимо более низкое (в пределах от 2 до 100 раз) содержание эотаксина, интерлейкина (ИЛ) 17 α , ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-9, интерфероном гамма индуцибельного белка (IP-10), моноцитарного хемоаттрактивного белка-1 (MCP-1) и тромбоцитарного фактора роста (PDGF-BB). Между показателями пациенток группы С и здоровых женщин выявлены статистически значимые различия значений 21 из 27 факторов: обнаружено повышенное содержание гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), ИЛ-10, ИЛ-12p70, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17 ИЛ-17 α , ИЛ-1 γ , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6, PDGF-BB, фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) и сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF). Напротив, концентрации других цитокинов: фактора роста фибробластов, интерферона гамма, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-9, IP-10 и MCP-1 — оказались статистически значимо меньшими по сравнению с контролем.

Кроме описанных различий были выявлены схожие изменения содержания цитокинов в группах В и С. Как при невыраженных, так и при тяжелых изменениях шейки матки концентрации ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-9, IP-10 и MCP-1 в слизи была достоверно меньше, чем в контрольной группе. При этом наблюдались и различия противоположного характера. В частности, уровень ИЛ-17 α и PDGF-BB в исследуемом материале у пациенток с тяжелой ЦИН оказался

значимо выше по сравнению с контрольной группой, а при менее выраженных изменениях — ниже.

Заключение. Содержание цитокинов в слизи цервикального канала у пациенток с ЦИН достоверно отличается от локального цитокинового профиля здоровых женщин. Дальнейшие исследования участия цитокинов в развитии ЦИН позволят более точно охарактеризовать механизмы канцерогенеза женской репродуктивной системы.

Ключевые слова: интраэпителиальная неоплазия шейки матки, цитокиновый профиль, иммунный ответ, иммуносупрессивные цитокины, кератиноциты.

Для цитирования

Ригер А.Н., Антонова И.Б., Харченко Н.В., Каприн А.Д. Содержание цитокинов различных групп в цервикальной слизи при интраэпителиальной неоплазии шейки матки. *Женское здоровье и репродукция*. 2024. № 1 (62). DOI: 10.31550/2712-8598-2024-1-5-ZhZiR. URL: <https://journalgynecology.ru/statyi/soderzhanie-citokinov-razlichnyh-grupp-v-cervikalnoj-slizi-pri-intraepitelialnoj-neoplazii-shejki-matki/> (дата обращения: дд.мм.гггг)

Авторы

Ригер Александра Николаевна✉ — аспирант кафедры онкологии и рентгенодиагностики Медицинского института РУДН. 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8. <https://orcid.org/0000-0002-2076-2016>. E-mail: aleksrigger96@mail.ru

Антонова Ирина Борисовна — д. м. н., заведующая лабораторией профилактики, ранней диагностики и комбинированного лечения гинекологических заболеваний ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России. 117485, Россия, г. Москва, ул. Профсоюзная, д. 86. <https://orcid.org/0000-0003-2668-2110>. E-mail: Iran24@yandex.ru

Харченко Наталья Владимировна — д. м. н., профессор кафедры онкологии и рентгенодиагностики Медицинского института РУДН. 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8. <https://orcid.org/0000-0002-5352-492X>. E-mail: nata2305@inbox.ru

Каприн Андрей Дмитриевич — д. м. н., профессор, академик РАН, академик РАО, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, директор МНИОИ им. П. А. Герцена — филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 125284, Россия, г. Москва, 2-й Боткинский пр-д, д. 3. <https://orcid.org/0000-0001-8784-8415>. E-mail: kaprin@mail.ru

INVESTIGATION OF CYTOKINES IN CERVICAL MUCUS OF DIFFERENT GROUPS WITH CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA

A.N. Rieger¹✉, I.B. Antonova², N.V. Kharchenko¹, A.D. Kaprin³

¹ Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba; 8 Miklouho-Maclay Str., Moscow, Russian Federation 117198

² Russian Scientific Center of Roentgenoradiology; 86 Profsoyuznaya Str., Moscow, Russian Federation 117997

³ National Medical Research Radiological Center; 3 2nd Botkinsky Proezd, Moscow, Russian Federation 125284

Abstract

Aim. Evaluation of cytokine profile in cervical mucus of patients with different degrees of cervical intraepithelial neoplasia (CIN).

Design. One-central prospective open cohort incomed intervention study

Materials and methods. Thirty female patients aged 18 to 49 years were included in the study. The control group (A) consisted of 10 HPV-negative patients without cervical pathology. Group B included 10 patients with low grade squamous cell intraepithelial lesion of the cervix (LSIL). Group C included 10 patients with high grade squamous cell intraepithelial lesion of the cervix (HSIL). Cervical mucus was collected from all the study participants to determine the levels of various cytokines.

Cytokine content was determined using Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex Assay Bio-Plex Pro™ commercial kit using Bio-Plex Pro™ commercial kit manufactured by Bio-Rad Laboratories, Inc. (USA) on a Luminex 200 analyzer (Luminex Corporation, USA). Statistical processing was performed using Excel 365 and SPSS 20.0 software package. Differences were recognized as statistically reliable (the null-hypothesis was rejected) at $p < 0.05$.

Results. Evaluating the obtained data of the level of cytokines and growth factors in cervical mucus, numerous differences were found between the control group and patients with CIN of different severity. In group B compare to control group was observed statistically significant decrease from 2 to 100 times of the content of EOTAXIN, Interleukin-17 α (IL-17 α), IL-7, IL-8, IL-9, Interferon-gamma-induced protein 10 (IP-10), Monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) and Platelet-derived growth factor (PDGF-BB). Between group C and control group were found statistically essential differences in the values of 21 out of 27 factors: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17 α , IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-5, IL-6, PDGF-BB, Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and Vascular endothelial growth factor (VEGF) were elevated. In contrast, the concentrations of other cytokines: Fibroblast growth factor (FGF), Interferon- γ (IFN- γ), IL-7, IL-8, IL-9, IP-10 and MCP-1 in cervical mucus were significantly lower compared to controls. In addition to the described differences, similar changes in cytokine content were found in groups B and C. In both mild and severe cervical changes the concentration of IL-7, IL-8, IL-9, IP-10 and MCP-1 in the mucus was significantly lower than in the control group. At the same time, differences of the opposite nature were also observed. In particular, the level of IL-17 α and PDGF-BB in the studied material in patients with severe CIN was significantly higher compared to the control group, and in case of mild changes — significantly lower.

Conclusion. Thus, the concentration of cytokines in the cervical mucus of patients with CIN is significantly different from the local cytokine profile of healthy women. Further studies of cytokine involvement in the development of CIN will allow to characterize more precisely the mechanisms of carcinogenesis of the female reproductive system.

Keywords: cervical intraepithelial neoplasia, cytokine profile, immune response, immunosuppressive cytokines, keratinocytes.

Введение

Инфекция вирусом папилломы человека (ВПЧ) является важным фактором развития рака шейки матки [1]. При этом у многих женщин, инфицированных ВПЧ высокого риска (HR-HPV), вирус может спонтанно элиминироваться [2]. Считается, что этот процесс обусловлен активацией механизмов иммунного ответа на ВПЧ-инфекцию в шейке матки. Цитокины, высвобождающиеся в ткани при воздействии инфекционных, воспалительных факторов или в процессе иммунного ответа на антиген, могут подавлять развитие опухоли. Однако цитокины, ослабляющие апоптоз, стимулируют злокачественную трансформацию. Они участвуют в инициации, развитии и метастазировании злокачественных новообразований посредством различных механизмов [3].

В случаях, когда нарушается эпителиальный барьер в цервикальном канале, и при контакте с ВПЧ-белками антигенпрезентирующими клетками (АПК) не распознаются антигены, активации эффекторных макрофагов и естественных киллеров (NK) не происходит, иммунный ответ на ВПЧ-инфекцию резко снижается или подавляется. Кроме того, функции АПК супрессируются инфицированными ВПЧ кератиноцитами [4]. Это позволяет ВПЧ приобретать способность к ускользанию от иммунитета хозяина. В частности,

белки Е6 и Е7 ВПЧ 16-го типа, блокируя путь активации транскрипции, подавляют секрецию интерферонов (ИФН) [5], а это стимулирует выработку трансформирующего фактора роста бета и интерлейкина (ИЛ) 10, являющихся иммуносупрессивными цитокинами [6]. ВПЧ-инфекция нарушает баланс Т-хелпера (Th) 1/Th2, приводя к относительному преобладанию Th2 и дифференцировке гемопозитических предшественников в ингибиторные дендритные клетки (ДК), что формирует в очагах иммуносупрессивное микроокружение и способствует персистенции ВПЧ-инфекции [7].

С учетом изложенного анализ цитокиновой регуляции иммунного ответа на ВПЧ-инфекцию становится необходимым для изучения механизмов развития рака шейки матки. Существует несколько методов оценки содержания цитокинов у пациентов с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (ЦИН). Уровень мРНК цитокинов можно оценить в ткани с помощью количественной полимеразной цепной реакции, однако он может не отражать локальные концентрации цитокиновых факторов. Цитокины также могут быть измерены в мононуклеарных клетках периферической крови (МПК) больных ЦИН. Однако этот метод не позволяет оценить локальную продукцию цитокинов в очагах дисплазии [3]. Было показано, что иммунный ответ на ВПЧ со стороны CD8 $^+$ /CD4 $^+$ субпопуляций МПК

отличается от реакций Т-клеток в слизистой оболочке шейки матки [8].

Участие цитокинов в процессе канцерогенеза требует полноценного анализа, что имеет большой потенциал как с точки зрения формирования прогностических моделей, так и с позиции контроля качества лечения.

Вследствие того, что многие аспекты участия иммунной системы в прогрессировании ЦИН до сих пор остаются неясными, а измерение содержания цитокинов непосредственно в цервикальном канале может быть более информативным для анализа противоопухолевого иммунитета, **целью** настоящего исследования стала оценка цитокинового профиля в слизи шейки матки у пациенток с разной степенью выраженности ЦИН.

Материалы и методы

В исследование были включены 30 пациенток в возрасте от 18 до 49 лет, находившиеся под наблюдением и проходившие обследование в отделении урологии с койками онкоурологии, онкогинекологии, противоопухолевой лекарственной терапии и кабинетах рентген-ударно-волновой дистанционной литотрипсии ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России с 2020 по 2021 год. Все женщины подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Пациентки были разделены на три группы по 10 человек в каждой. Две исследуемые группы составили пациентки с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением шейки матки низкой степени (LSIL, группа В) и высокой степени (HSIL, группа С) по классификации Бетесда (Terminology Bethesda System, TBS), которое было выявлено при цитологическом исследовании и подтверждено гистологически (CIN I-III), с положительным анализом на ВПЧ высокого канцерогенного риска (16, 18-го генотипов). В группу А (контрольную) вошли ВПЧ-отрицательные пациентки без патологии шейки матки по результатам цитологии (NILM).

Критериями исключения из исследования были беременность, менструации в период визита, половой контакт или использование вагинальных медикаментов за 3 дня, инфекционные и аутоиммунные заболевания, прием иммуносупрессивных препаратов за последние 6 месяцев и ранее проводимое лечение по поводу ЦИН или рака шейки матки в анамнезе.

Слизь из цервикального канала забирали стерильными одноразовыми пипетками Пастера в пластиковые пробирки типа Эппендорф. Затем из каждой пробирки отбирали 25 мкл материала и помещали в 100 мкл оригинальной среды для разведения образцов при проведении мультиплексного анализа с использованием коммерческого набора Bio-Rad Laboratories, Inc. (США). Конечный объем каждой пробы был одинаковым и равным 125 мкл. Полученный материал хранили при температуре -25°C . Перед проведением мультиплексного анализа его размораживали

при комнатной температуре, центрифугировали в течение 10 минут при 3000 оборотов в минуту и отбирали 25 мкл.

С использованием коммерческого набора Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex Assay Bio-Plex Pro™ производства Bio-Rad Laboratories, Inc. (США) на анализаторе Luminex 200 (Luminex Corporation, США) по технологии xMAP с применением программного обеспечения Luminex xPONENT Version 3.1 в образцах определяли содержание фактора роста фибробластов (FGF), эотаксина, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), ИФН- γ , ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-9, ИЛ-10, ИЛ-12p70, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17 α , ИФН- γ -индуцибельного белка 10 (IP-10), моноцитарного хемоаттрактивного белка-1 (MCP-1), воспалительных белков макрофагов (MIP-1 α , MIP-1 β), тромбоцитарного фактора роста (PDGF-BB), хемокина, выделяемого Т-клетками при активации (RANTES), фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) и сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF).

Статистический анализ производился с помощью пакетов программ Excel 365 и SPSS 20.0. Значения полученных показателей после статистической обработки были представлены в виде медианы (Me), максимального (Max) и минимального (Min) значений. Достоверность различий медиан содержания цитокинов в отделяемом шейки матки между группами определяли с использованием двустороннего t-теста Стьюдента. Дополнительно проверяли гипотезу о различии распределений указанных показателей с помощью непараметрического рангового U-критерия Манна — Уитни. Гипотезу о соответствии распределения изучаемых показателей нормальному закону проверяли согласно непараметрическому критерию Колмогорова — Смирнова. Во всех случаях различия признавались статистически значимыми (нуль-гипотеза отвергалась) при $p < 0,05$.

Результаты

Исследование уровней содержания цитокинов и ростовых факторов в слизи цервикального канала выявило многочисленные различия между показателями здоровых женщин и пациенток с ЦИН разной степени выраженности.

Так, в группе В по сравнению с контролем из 27 исследуемых факторов содержание 8 (эотаксина, ИЛ-17 α , ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-9, IP-10, MCP-1 и PDGF-BB) было статистически значимо меньшим (табл. 1). Степень проявления различий варьировала в достаточно широких пределах: от 2 до 100 раз. В частности, количество MCP-1 в отделяемом было в 20 раз, а IP-10 — в 100 раз меньшим, чем у здоровых пациенток (рис. 1). Показатели остальных цитокинов (эотаксина, ИЛ-17 α , ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-9 и PDGF-BB) были ниже, чем у пациенток без патологии шейки матки в 2–4 раза (табл. 1).

Таблица 1

Содержание цитокинов в отделяемом шейки матки при цервикальной интраэпителиальной неоплазии слабой степени и у пациенток без патологии шейки матки, пг/мл

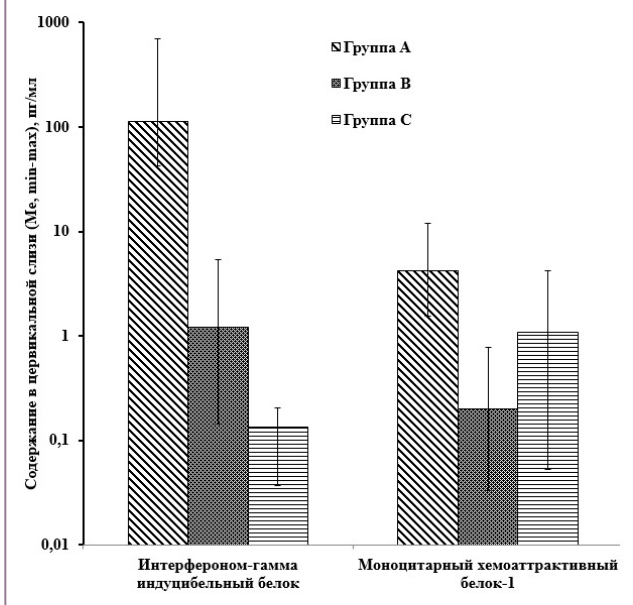
Цитокины	Группа А			Группа В			А/В
	Me	Min	Max	Me	Min	Max	
Эотаксин	0,026	0,01	0,161	0,012	0,008	0,025	2,2
Интерлейкин-17α	0,128	0,03	0,401	0,038	0,012	0,125	3,4
Интерлейкин-7	0,144	0,07	0,571	0,065	0,057	0,082	2,2
Интерлейкин-8	28,384	14,454	100,499	7,084	3,582	10,595	4,0
Интерлейкин-9	0,134	0,078	0,281	0,081	0,061	0,097	1,7
Интерфероном гамма индуцибельный белок	114,104	42,408	702,863	1,202	0,142	5,393	94,9
Моноцитарный хемоаттрактивный белок-1	4,217	1,556	12,02	0,2	0,033	0,779	21,1
Тромбоцитарный фактор роста	0,269	0,154	0,617	0,164	0,122	0,317	1,6

Примечание. Различия между группами А и В статистически значимы ($p < 0,05$). А/В – соотношение медиан (Me) цитокинов в относительных единицах.

Рисунок 1

Содержание интерфероном гамма индуцибельного белка и моноцитарного хемоаттрактивного белка-1 в цервикальной слизи при разной степени цервикальной интраэпителиальной неоплазии.

Примечание. Различия между группами А и В, А и С статистически значимы ($p < 0,05$)



Значительно больше статистически значимых различий цитокинового спектра в секрете шейки матки было выявлено между здоровыми женщинами и группой интраэпителиального пора-

жения высокой степени ($p < 0,05$), а именно 21 из 27 факторов. У пациенток с HSIL обнаружено повышенное содержание в цервикальной слизи GM-CSF, ИЛ-10, ИЛ-12p70, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17α, ИЛ-1ra, ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6, PDGF-BB, ФНО-α и VEGF. Напротив, концентрации других цитокинов (FGF, ИФН-γ, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-9, IP-10 и MCP-1) оказались статистически значимо более низкими, чем у здоровых женщин (табл. 2). При этом если в группе В содержание MCP-1 было меньше в 20 раз по сравнению с контролем, то в группе С концентрация этого хемокина оказалась ниже только в 4 раза (рис. 1). Наоборот, в группе с выраженной ЦИН концентрация IP-10 оказалась почти в 900 раз ниже, чем у женщин, не имеющих интраэпителиального поражения шейки матки (рис. 1). Концентрация остальных цитокинов (FGF, ИФН-γ, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-9) была меньше по сравнению с контролем в 2–4 раза.

В отличие от группы В, у пациенток с HSIL, подтвержденной гистологически (CIN III), и наличием ВПЧ высокого канцерогенного риска (16, 18-го генотипов) обнаружены увеличенные концентрации 14 цитокинов и факторов роста. В образцах слизи было выявлено в 6 раз повышенное содержание ИЛ-12p70, в 10 раз — ИЛ-1β, ИЛ-2 и ФНО-α, более чем в 15 раз — ИЛ-6 (табл. 2). Концентрация остальных цитокинов (GM-CSF, ИЛ-10, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17α, ИЛ-1ra, ИЛ-5, PDGF-BB и VEGF) у пациенток группы С также оказалась примерно в 2 раза выше по сравнению с показателями женщин контрольной группы (табл. 2).

Кроме описанных различий были выявлены схожие изменения содержания цитокинов в группах В и С. Как при невыраженных, так и при тяжелых изменениях эндотелия шейки матки концентрация ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-9, IP-10 и MCP-1 в слизи была значимо меньше, чем в контрольной

Таблица 2

Содержание цитокинов в отделяемом шейки матки при цервикальной интраэпителиальной неоплазии тяжелой степени и у пациенток без патологии шейки матки, пг/мл

Цитокины	Группа А			Группа С			А/С
	Me	Min	Max	Me	Min	Max	
Фактор роста фибробластов	0,235	0,074	0,984	0,066	0,042	0,088	3,6
Интерферон гамма	0,369	0,004	0,442	0,082	0,062	0,197	4,5
Интерлейкин 7	0,144	0,07	0,571	0,039	0,021	0,048	3,7
Интерлейкин 8	28,384	14,454	100,499	6,962	2,648	10,31	4,1
Интерлейкин 9	0,134	0,078	0,281	0,061	0,041	0,077	2,2
Интерфероном гамма индуцибельный белок	114,104	42,408	702,863	0,135	0,037	0,205	845,2
Моноцитарный хемоаттрактивный белок-1	4,217	1,556	12,02	1,077	0,053	4,165	3,9
Гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор	0,017	0,004	0,032	0,046	0,018	0,127	2,7
Интерлейкин 10	0,029	0,003	0,053	0,068	0,028	0,353	2,4
Интерлейкин 12p70	0,022	0,004	0,066	0,13	0,031	0,433	5,9
Интерлейкин 13	0,015	0,003	0,037	0,027	0,015	0,075	1,8
Интерлейкин 15	0,84	0,68	1,05	1,406	1,143	1,716	1,7
Интерлейкин 17α	0,128	0,03	0,401	0,299	0,182	0,552	2,3
Интерлейкин 1 га	54,727	46,143	71,035	90,846	79,756	170,235	1,7
Интерлейкин 1β	0,3	0,066	0,692	2,859	1,867	5,416	9,53
Интерлейкин 2	0,044	0,017	0,095	0,416	0,127	0,855	9,5
Интерлейкин 5	0,075	0,018	0,097	0,165	0,103	0,321	2,2
Интерлейкин 6	0,059	0,022	0,174	0,897	0,208	1,371	15,2
Тромбоцитарный фактор роста	0,269	0,154	0,617	0,603	0,107	1,173	2,2
Фактор некроза опухолей альфа	0,07	0,009	0,494	0,82	0,201	4,54	11,7
Фактор роста эндотелия сосудов	0,654	0,147	0,994	1,674	0,962	5,419	2,6

Примечание. Различия между группами А и С статистически значимы ($p < 0,05$). А/С, С/А — соотношение медиан (Me) цитокинов в относительных единицах.

группе (рис. 1 и 2). При этом наблюдались и различия противоположного характера. В частности, содержание ИЛ-17α и PDGF-BB в исследуемом материале у пациенток с тяжелой ЦИН оказалось статистически значимо большим по сравнению с контрольной группой, а при маловыраженных изменениях — меньшим (рис. 3). Стоит также отметить отсутствие различий уровней MIP-1α, MIP-1β, G-CSF, ИЛ-4 и RANTES между опытными и контрольной группами.

Обсуждение

Злокачественная трансформация эпителия шейки матки представляет собой многоступенчатый процесс, вероятнее всего, начинающийся с активации ВПЧ-онкопротеинов, одним из этапов которого является персистенция вирусной инфекции. Считается, что ей способствуют, по крайней мере, три основных фактора: жизненный

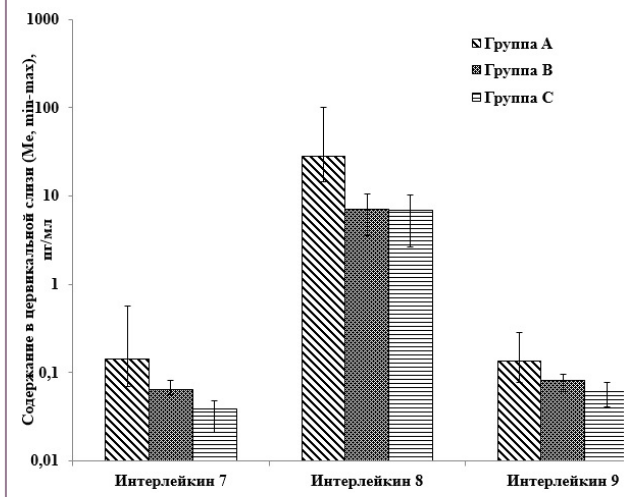
цикл вируса проходит вдали от иммунных клеток дермы [9], вирус не вызывает лизиса клеток, и, соответственно, отсутствует или слабо выражен воспалительный ответ [10], и, наконец, вирусные протеины могут активно модифицировать и даже супрессировать иммунный ответ [4, 11].

В результате этого в зависимости от выраженности интраэпителиального поражения шейки матки происходит локальное уменьшение или увеличение содержания цитокинов и ростовых факторов в слизи шейки матки. При ЦИН легкой степени на ранних этапах отсутствует или наблюдается слабый воспалительный ответ, который не препятствует персистенции ВПЧ. Об этом может свидетельствовать достоверно меньшее содержание по сравнению с контролем цитокинов, регулирующих миграцию, дифференцировку и секреторную активность клеток иммунной системы и, в частности, Т-клеточного звена: ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-9, ИЛ-17α, эотаксина, MCP-1 и IP-10 [12].

Рисунок 2

Содержание интерлейкинов 7, 8 и 9 в цервикальной слизи при разной степени цервикальной интраэпителиальной неоплазии.

Примечание. Различия между группами А и В, А и С статистически значимы ($p < 0,05$)



Однако содержание большинства показателей цитокинов, участвующих как в противоопухолевом иммунитете, так и в противовирусной защите, в группе В, в отличие от группы С, было в пределах значений, сравнимых с контрольными. Это касается в первую очередь ИЛ-12р70, который оказывает противоопухолевый эффект при различных неопластических процессах и, что достаточно важно, действует как ростовой фактор при активации Т- и NK-клеток, а также выступает в роли активатора цитотоксичности макрофагов [12].

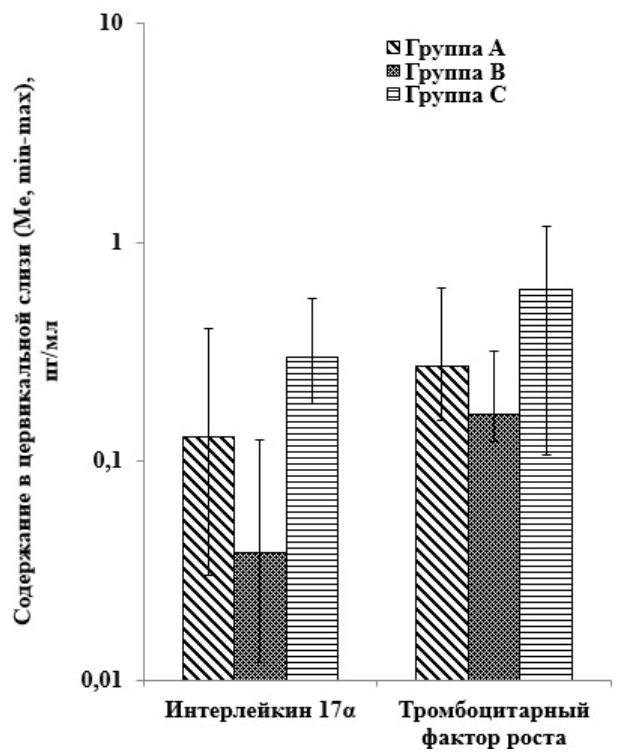
Следует отметить также, что, несмотря на сниженный уровень IP-10 (индуцируемого интерфероном белка, гомолога семейства PDGFR), пониженного содержания ИФН- γ в группе В не выявлено. Следовательно, при ЦИН легкой и средней степени тяжести сохраняется локальная продукция интерферонов и противовирусный иммунитет. Это позволяет макроорганизму элиминировать ВПЧ, что способствует в большинстве случаев спонтанной регрессии ЦИН 1-й степени и в 50% случаев — ЦИН 2-й степени [2]. При ЦИН легкой степени не увеличивается содержание основных ростовых факторов канцероматозного неоангиогенеза VEGF и PDGF-BB [13, 14], как это наблюдается в группе с тяжелой ЦИН. Напротив, уровень PDGF-BB в группе В статистически значимо был ниже.

Увеличение содержания колониестимулирующего (GM-CSF) и эндотелиально-сосудистых факторов (VEGF и PDGF-BB), в свою очередь, отражает прогрессирование ЦИН. Созревающие под влиянием GM-CSF резидентные миелоидные и лимфоидные ДК с ко-стимуляцией ИЛ-12р70 в ДК1 (миелоидные) и при индукции ИЛ-10 в ДК2 (лимфоидные) популяции, продуцируя в значительных количествах субъединицы ИЛ-12 и ИЛ-10, способствуют локаль-

Рисунок 3

Содержание интерлейкина 17 α и тромбоцитарного фактора роста в цервикальной слизи при разной степени цервикальной интраэпителиальной неоплазии.

Примечание. Различия между группами А и В, А и С статистически значимы ($p < 0,05$)



ной активации или анергии Т-лимфоцитов, поддерживая баланс Th1/Th2 [12]. Судя по цитокиновому профилю в группе С, при уменьшении продукции ИФН- γ , IP-10 и спектра цитокинов (ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-9 и MCP-1) снижается активность Th1 и формируются очаги непродуктивного воспаления.

Локальное увеличение ИЛ-1 β , ИЛ-2/ИЛ-15, ИЛ-6, ИЛ-12р70, ИЛ-17 α и ФНО- α , а также неадекватный баланс между ИЛ-1 β и его рецепторным антагонистом ИЛ-1ra свидетельствуют о тяжелой хронической воспалительной реакции у пациентки и способствуют персистенции ВПЧ-инфекции [15], а не ее элиминации [16].

ВПЧ-инфекция нарушает баланс Th1/Th2, что приводит к относительному преобладанию Th2 и дифференцировке гемопоэтических предшественников в ингибиторные дендритные клетки ДК2 с увеличением локального содержания ИЛ-10, ИЛ-5 и ИЛ-13, что формирует в очагах иммуносупрессивное микроокружение и способствует персистенции вируса [7].

Несбалансированная продукция цитокинов Th1 и Th2, повышение числа цитотоксических/супрессорных Т-лимфоцитов, подавление активности Т-лимфоцитов, уменьшение числа хелперных Т-лимфоцитов и снижение числа NK-лимфоцитов [3] поддерживает дальнейшее прогрессирование ЦИН.

Различные онкогенные белки ВПЧ также участвуют в регуляции сигнальных путей эндотелиальных факторов роста — VEGF и PDGF-BB. Увеличение содержания в слизи цервикального канала этого семейства цитокинов, ингибирующих апоптоз, активирующих клеточную пролиферацию и локальный ангиогенез, может коррелировать со степенью агрессивности ЦИН. В частности, активация специфических рецепторов к ростовым эндотелиальным факторам и запуск Ras-Raf-MAP-киназного или PI3K-Akt-путей приводит к изменению пролиферации клеток, ангиогенезу и антиапоптозу [17].

Заключение

Содержание цитокинов в слизи цервикального канала у пациенток с ЦИН достоверно отличается

от локального цитокинового профиля у здоровых женщин.

Цитокиновый профиль в слизи цервикального канала при легкой и средней степени ЦИН количественно и качественно разнится с локальным содержанием цитокинов и факторов роста при тяжелой ЦИН.

Увеличение содержания цитокинов ИЛ-10, ИЛ-5, ИЛ-13 и эндотелиальных ростовых факторов VEGF и PDGF-BB в цервикальной слизи свидетельствует о нарушениях регуляторных механизмов клеточной пролиферации и прогрессировании патологических изменений с формированием очагов тяжелой ЦИН на фоне сохраняющейся ВПЧ-инфекции.

Дальнейшие исследования участия цитокинов в развитии ЦИН позволят более точно охарактеризовать механизмы канцерогенеза женской репродуктивной системы.

Литература

1. Kombe Kombe A.J., Li B., Zahid A., Mengist H.M. et al. Epidemiology and burden of human papillomavirus and related diseases, molecular pathogenesis, and vaccine evaluation. *Front. Public Health*. 2021;8:552028. DOI: 10.3389/fpubh.2020.552028
2. Major A.L., Mayboroda I., Riger A. Successful preventive treatment of oncogenic transforming HPV infections in low-grade cytology (ASC-US/LSIL) patients with an adsorptive and antioxidant vaginal gel. *J. Clin. Med*. 2023;12(12):4142. DOI: 10.3390/jcm12124142
3. Otani S., Fujii T., Kukimoto I., Yamamoto N. et al. Cytokine expression profiles in cervical mucus from patients with cervical cancer and its precursor lesions. *Cytokine*. 2019;120:210–19. DOI: 10.1016/j.cyto.2019.05.011
4. Tamarelle J., Thiébaud A.C.M., de Barbeyrac B., Bébéar C. et al. The vaginal microbiota and its association with human papillomavirus, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae and Mycoplasma genitalium infections: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019;25(1):35–47. DOI: 10.1016/j.cmi.2018.04.019
5. Caselli E., D'Accolti M., Santi E., Soffritti I. et al. Vaginal microbiota and chemokine microenvironment in HPV clearance/persistence in women surgically treated for cervical intraepithelial neoplasia: an observational prospective study. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020;10:540900. DOI: 10.3389/fcimb.2020.540900
6. Li B., Zhang L., Zhao J., Tan G. et al. The value of cytokine levels in triage and risk prediction for women with persistent high-risk human papilloma virus infection of the cervix. *Infect. Agents Cancer*. 2019;14:16. DOI: 10.1186/s130270190231z
7. Greten F.R., Grivennikov S.I. Inflammation and cancer: triggers, mechanisms, and consequences. *Immunity*. 2019;51(1):27–41. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.06.025
8. Georgescu S.R., Mitran C.I., Mitran M.I., Caruntu C. et al. New insights in the pathogenesis of HPV infection and the associated carcinogenic processes: the role of chronic inflammation and oxidative stress. *J. Immunol. Res.* 2018;2018:5315816. DOI: 10.1155/2018/5315816
9. Huber J., Mueller A., Sailer M., Regidor P.A. Human papillomavirus persistence or clearance after infection in reproductive age. What is the status? Review of the literature and new data of a vaginal gel containing silicate dioxide, citric acid, and selenite. *Womens Health*. 2021;17:17455065211020702. DOI: 10.1177/17455065211020702
10. Wang H., Ma Y., Li R., Chen X. et al. Associations of cervicovaginal lactobacilli with high-risk human papillomavirus infection, cervical intraepithelial neoplasia, and cancer: a systematic review and meta-analysis. *J. Infect. Dis.* 2019;220:1243–54. DOI: 10.1093/infdis/jiz325
11. Norenhag J., Du J., Olovsson M., Verstraelen H. et al. The vaginal microbiota, human papillomavirus and cervical dysplasia: a systematic review and network meta-analysis. *BJOG*. 2020;127(2):171–80. DOI: 10.1111/1471-0528.15854
12. Недоспасов С. А., Купраш Д. В., ред. *Иммунология по Ярилину*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2021. 808 с. Nedospasov S. A., Kuprash D. V., eds. *Immunology according to Yarinin*. M.: GEOTAR-Media; 2021. 808 p. (in Russian). DOI:10.33029/9704-4552-5-IA-2021-1-808
13. Mohammed R.A., Green A., El-Shikh S., Paish E.C. et al. Prognostic significance of vascular endothelial cell growth factors -A, -C and -D in breast cancer and their relationship with angiogenic and lymphangiogenesis. *Br. J. Cancer*. 2007;96(7):1092–100. DOI:10.1038/sj.bjc.6603678
14. Blazevic T., Schwaiberger A.V., Schreiner C.E., Schachner D. et al. 12/15-lipoxygenase contributes to platelet-derived growth factor-induced activation of signal transducer and activator of transcription 3. *J. Biol. Chem.* 2013;288(49):35592–603. DOI: 10.1074/jbc.M113.489013
15. Scott M.E., Shvetsov Y.B., Thompson P.J., Hernandez B.Y. et al. Cervical cytokines and clearance of incident human papillomavirus infection: Hawaii HPV cohort study. *Int. J. Cancer*. 2013;133(5):1187–96. DOI: 10.1002/ijc.28119
16. Lowe D.B., Storkus W.J. Chronic inflammation and immunologic-based constraints in malignant disease. *Immunotherapy*. 2011;3(10):1265–74. DOI: 10.2217/imt.11.113
17. Venuti A., Paolini F., Nasir L., Corteggio A. et al. Papillomavirus E5: the smallest oncoprotein with many functions. *Mol. Cancer*. 2011;10:140. DOI: 10.1186/1476-4598-10-140



Статья на journalgynecology.ru



URL: <https://journalgynecology.ru/statyi/soderzhanie-citokinov-razlichnyh-grupp-v-cervikalnoj-slizi-pri-intraepitelialnoj-neoplazii-shejki-matki/>