ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ВНУТРИУТРОБНОГО ИНФИЦИРОВАНИЯ ПЛОДА И НОВОРОЖДЁННОГО ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ, ОТЯГОЩЁННОЙ БАКТЕРИАЛЬНО-ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Н. А. Щербина, Л. А. Выговская (Харьков)

Изучено состояние иммунной системы у беременных с урогенитальной инфекцией бактериально-вирусного генеза для определения критериев реализации внутриутробного инфицирования (ВУИ) плода и новорождённого. Проведено сравнительное исследование состояния некоторых показателей иммунной системы 150 беременных с урогенитальными инфекциями смешанного бактериально-вирусного генеза, составивших группу риска развития ВУИ плода во II–III триместрах гестационного периода. Основную группу составили 68 (45,3 %) рожениц, у детей которых в результате клинико-лабораторного обследования было подтверждено ВУИ; группу сравнения – 82 (54,7 %) роженицы с носительством возбудителей перинатально значимых инфекций бактериально-вирусной природы, родивших здоровых детей; в контрольную группу – 50 здоровых женщин с нормально протекающей беременностью. В результате исследований установлены иммунологические особенности при беременности, отягощённой ВУИ. Оценка цитокинового звена регуляции иммунитета позволила установить в группе беременных с реализацией ВУИ достоверное увеличение во II–III триместрах уровней IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α с одновременным снижением уровня IL-10, более выраженное в подгруппе беременных, родивших детей с диагнозом ВУИ, по сравнению с беременными, у новорождённых которых не обнаружены клинические проявления болезни при подтверждённом ВУИ. Реализация ВУИ при беременности, отягощённой урогенитальной инфекцией бактериально-вирусной этиологии, сопровождается на поздних сроках гестации нарушением баланса про- и противовоспалительных цитокинов с доминированием провоспалительных, показатели которых могут быть использованы как предикторы реализации ВУИ плода.

Ключевые слова: внутриутробное инфицирование плода, клеточный иммунитет, цитокины.

УДК 618.146-022.7:578.827.1:612.017.2

DOI 10.31640/3-4.2018(6)

Надійшла 20.03.2017

О. Л. ДОЛА¹, В. П. ЛАКАТОШ², М. І. АНТОНЮК², П. В. ЛАКАТОШ²

ПОКАЗНИКИ МІСЦЕВОГО ІМУНІТЕТУ У ЖІНОК З ПЕРСИСТУЮЧОЮ ФОРМОЮ ЛАТЕНТНОЇ ПАПІЛОМАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ ШИЙКИ МАТКИ ПІСЛЯ ВАКЦИНАЦІЇ ПРОТИ ВІРУСУ ПАПІЛОМИ ЛЮДИНИ

¹Перинатальний центр Києва; ²Кафедра акушерства та гінекології 1 (зав. – проф. Б. М. Венцківський) Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця

Проаналізовано зміни показників місцевого імунітету, виявлені через 1 та 6 міс після вакцинації ЦервариксомTM 35 жінок з діагностованою персистуючою формою латентної папіломавірусної інфекції (ПВІ) шийки матки (ШМ). Під впливом вакцинації вірусом папіломи людини (ВПЛ) через 6 міс у жінок з латентною ПВІ ШМ відмічено тенденцію до нормалізації показників, що характеризують місцевий імунітет, – вмісту в цервікальному відділі sIgA, α - та γ -ІФН, ФНП- α та ІЛ-10 (підвищення співвідношення двох останніх показників вказувало на відновлення балансу про- і антизапальних цитокінів). Активізацію гуморального шляху імунної відповіді спостерігали через 1 міс після введення першої дози ЦервариксуTM – відмічено підвищення порівняно з контролем медіани для ІЛ-10 в 2,5 раза проти 2,2 раза до вакцинації.

Ключові слова: папіломавірусна інфекція, шийка матки, місцевий імунітет, вакцинація.

Вступ. Нині папіломавірусна інфекція (ПВІ) є актуальною соціально обумовленою проблемою в зв'язку з високою контагіозністю, поширенням та онкогенним потенціалом вірусу папіломи людини (ВПЛ), який визнано етіологічним фактором в генезі рака шийки матки (ШМ) [1, 5]. Доведено роль ПВІ в розвитку доброякісних і злоякісних новоутворень статевих органів – ВПЛ високого ризику ініціює

і підтримує хронічні запальні процеси в нижньому відділі статетвх органів, спричинюючи порушення репродуктивної функції і формування неопластичних процесів в ШМ [4].

Лікування ВПЛ-інфекції не є етіотропним, воно не має протівірусної специфічності і полягає в проведенні імунотерапії. Актуальним спрямуванням імунотерапії та профілактики ПВІ є розробка та застосування ВПЛ-вакцин. Метою вакцинації в першу чергу є захист від негативного впливу даного вірусу на слизову оболонку ШМ жінки, враховуючи тропність ВПЛ до багатошарового плоского епітелію.

Нині вакцинація є єдиним ефективним способом захисту від раку ШМ і спрямована або на підвищення імунітету, і тоді організм сам краще справляється з вірусом, або на порушення розмноження вірусу та зниження його активності.

Вакцинацію рекомендують у всьому світі як профілактику ПВІ [6, 7] і також жінкам молодого віку та дівчаткам у віці від 9 до 25 років, не інфікованим ВПЛ, але її доцільно застосовувати у носіїв ВПЛ. Однак даних про стан імунітету під час вакцинації недостатньо. Відомі методи лікування клінічних проявів ВПЛ, але залишається нез'ясованим питання так званого вірусоносійства або безсимптомного виділення вірусу. Тому актуальним є визначення ефективності вакцинації у жінок з латентною формою персистуючої ПВІ.

Папіломавірусна вакцина штучна, не здатна до розмноження і впровадження в клітини людини, бо замість інфекційного агента вакцини містять вірусоподібні частинки (VLP – viruslike particles) – продукт збирання білка L1. Вірусоподібні частинки не містять ДНК збудника, не вірулентні, але здатні викликати імунну відповідь в організмі при введенні. Вакцина від ВПЛ здатна не тільки запобігати розвитку інфекції в організмі, але і бути методом ефективної профілактики тяжких захворювань, до яких призводить ВПЛ онкогенного типу. Щеплення від ВПЛ створює в організмі тривалий імунітет. Після введення вакцини в першу чергу починається вироблення антитіл, які захищають організм від вірусу та його негативного впливу. Але актуальними є дослідження стану місцевого імунітету, оскільки ВПЛ володіє тропністю до епітеліальних клітин шкіри та слизових оболонок. Після надходження вірусу в базальні клітини епідермісу та клітини слизової оболонки в них відбувається накопичення вірусу і його реплікація. У подальшому настає персистенція вірусу в різних шарах епітеліальної тканини з включенням механізмів канцерогенезу. В умовах пошкодження структури та функції епітелію фактори резистентності не забезпечують елімінації патогенів.

В Україні восени 2014 р. зареєстрована вакцина Церварікс™, який містить не вірус, а рекомбінантні білки вірусного капсиду (антигени ВПЛ-16 та ВПЛ-18), а також ад'ювант AS04, що забезпечує більш стійкий імунітет проти ВПЛ. Ще однією потенційною перевагою Церваріксу™ в профілактиці раку ШМ є можливе індукування імунної відповіді до двох інших онкогенних типів ВПЛ 31 та 45.

Мета дослідження – вивчення показників місцевого імунітету у жінок з персистуючою формою латентної папіломавірусної інфекції під впливом вакцинації проти ВПЛ.

Матеріали і методи. Вакцинацію Церваріксом™ проведено у 35 жінок з діагностованою персистуючою формою латентної ПВІ за схемою: 0–1–6 міс: перша доза – в призначений день; друга доза – через 1 міс після першої; третя доза – через 6 міс після першої.

Для з'ясування особливостей формування поствакцинального імунітету проти ВПЛ дослідження стану імунної системи проведено на початку вакцинації, через 1 та 6 міс після першого щеплення. Контрольну групу становили 15 практично здорових жінок.

Місцевий імунітет оцінювали за рівнем секреторного імуноглобуліну А (sIgA), фактора некрозу пухлин-альфа (ФНП-α), інтерлейкіну-10 (ІЛ-10), інтерферону-альфа (ІФН-α) та інтерферону-гамма (ІФН-γ) в цервікальному відділі, який відбирали з цервікального каналу стерильною пластиковою піпеткою у центрифужну пробірку з 1 мл гіпертонічного розчину натрію хлориду, гомогенізували та центрифугували в режимі 1500 об./хв впродовж 10 хв, надосадову рідину розливали по

пробірках типу «Епендорф» і зберігали до проведення аналізів при -20°C . Концентрацію sIgA, ІФН- α та ІФН- γ визначали методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою наборів «sIgA-ИФА-БЕСТ», «гамма-ИНТЕРФЕРОН-ИФА-БЕСТ» та «альфа-ИНТЕРФЕРОН-ИФА-БЕСТ» (Новосибірськ, Росія); рівень ФНП- α та ІЛ-10 – за допомогою ІФА наборів («Procon», Санкт-Петербург, Росія).

Для уніфікації отриманих результатів при дослідженні гуморальних факторів використовували розрахунок визначеної концентрації на 1 мг білка в цервікальному відділі. Концентрацію білка визначали за методикою Бредфорд [3]: до зразка, який містить білок 1–10 мкг в 0,1 мл, додавали 1 мл забарвлювача – Кумасі діамантовий синій G-250, змішували та визначали спектр поглинання при 570 нм на спектрофотометрі. Концентрацію білка визначали за допомогою калібрувальної кривої, збудованої по білку – альбумін людини (Sigma-Aldrich, Німеччина).

Статистичну обробку проводили за програмою Microsoft Office Excel 2003 for Windows та STATISTIKA 6.0 [2]. Порівняння двох незалежних груп виконували із застосуванням непараметричного *U*-критерію Манна – Уїтні. Для кожного показника визначали медіану (*Me*) та інтерквартильний розмах у вигляді 25 та 75 перцентилей (25 та 75 %).

Результати та їх обговорення. Дослідження стану місцевого імунітету впродовж всього періоду вакцинації у жінок з персистуючою формою латентної ПВІ показало такі особливості. По-перше, спостерігали незначне зниження медіани та інтерквартильного розмаху (25–75 %) для основного захисного фактора мукозального імунітету – sIgA в цервікальному відділі: на початку вакцинації визначені показники становили 47,2 [32,86–95,6] мкг/мг білка, через 1 міс – 42,6 [32,5–64,1] мкг/мг, через 6 міс – 29,1 [22,3–36,7] мкг/мг і всі достовірно перевищували контрольні величини (20,4 [11,25–27,7] мкг/мг) (рис. 1). При цьому встановлено достовірну різницю ($P < 0,05$) між величинами в перших двох точках вакцинації та аналогічними параметрами, визначеними через 6 міс.

Рис. 1. Динаміка вмісту sIgA в цервікальному відділі у жінок з персистуючою формою латентної папіломавірусної інфекції (ПВІ) шийки матки впродовж вакцинації:

■ – медіана; ■ – 25–75 %; — – розмах без викидів; ○ – викидні; * – крайні точки; 1–3 – точки вакцинації

По-друге, дослідження цитокінового статусу, який оцінювали за концентрацією ФНП- α та ІЛ-10, показало, що тільки через 6 міс після початку вакцинації спостерігали достовірне підвищення медіани для ФНП- α у цервікальному відділі провакцинованих жінок порівняно з даними до початку вакцинації та через 1 міс після неї, а також одночасне поступове зниження *Me* для ІЛ-10, але її величина ще залишалась достовірно вищою від контрольної (табл. 1, рис. 2).

Таблиця 1. Динаміка вмісту цитокінів у цервікальному відділі у жінок із персистуючою формою латентної папіломавірусної інфекції до та впродовж вакцинації вірусу папіломи людини (Me, 25%; 75 %)

Показник (пг/мг білка)	Здорові жінки (n = 15)	Жінки з персистуючою ПВІ (n = 35)		
		до вакцинації	через 1 міс після вакцинації	через 6 міс після вакцинації
ФНП-α	33,8 20,4; 63,6	26,3 11,09; 46,3	28,3 19,5; 46,0	37,3* 29,0; 56,7
ІЛ-10	21 12; 43,0	46,3 * 35; 62	53,2 * 38,2; 86,3	37,4* 28,3; 63,2

*P < 0,05 порівняно з групою здорових донорів. *P < 0,05 порівняно з даними до вакцинації.

∇P < 0,05 порівняно з даними через 1 міс після вакцинації.

Рис. 2. Динаміка цитокінів (ФНП-α та ІЛ-10) в цервікальному відділі у жінок з персистуючою формою латентної папіломавірусної інфекції шийки матки впродовж вакцинації:

■ – медіана; ■ – 25–75 %; ┘ – розмах без викиднів; ○ – викидні; * – крайні точки; 1–3 – точки вакцинації

Слід відмітити, що в другій за часом точці відмічено незначне підвищення медіани для ІЛ-10 (в 1,1 раза) порівняно з першою точкою, що може бути результатом впливу включеного до складу вакцини Церварікс™ ад'юванту AsO₄, здатного стимулювати гуморальну відповідь. Через 6 міс спостерігали відновлення співвідношення ФНП-α/ІЛ-10 у пацієнток з латентною формою ПВІ і величина його наближалась до контрольної (1,0 проти 1,61, тоді як на початку вакцинації цей параметр становив всього 0,57).

По-третє, при аналізі результатів дослідження вмісту α-ІФН та γ-ІФН впродовж періоду вакцинації виявлено поступове підвищення рівня α-ІФН на фоні одночасного зниження концентрації γ-ІФН в цервікальному відділі жінок з персистуючою формою латентної ПВІ. На завершальному етапі (через 6 міс) це привело до достовірних відмінностей порівняно з даними на початку вакцинації (рис. 3, табл. 2).

Рис. 3. Динаміка вмісту α -ІФН та γ -ІФН в цервікальному відділі у жінок з персистуючою формою латентної папіломавірусної інфекції шийки матки впродовж вакцинації:

■ – медіана; ■ – 25–75 %; — – розмах без викидів; ○ – викиди; 1–3 – точки вакцинації

Таблиця 2. Динаміка вмісту α -ІФН та γ -ІФН у цервікальному відділі у жінок з персистуючою формою латентної папіломавірусної інфекції до та впродовж вакцинації вірусу папіломи людини (Me, 25 %; 75 %)

Показник, пг/мг білка	Здорові жінки (n = 15)	Жінки з персистуючою формою латентної ПВІ (n = 35)		
		до вакцинації	через 1 міс після вакцинації	через 6 міс після вакцинації
ІФН- α	39,8 19; 60,5	33,3 18,1; 43,8	37,9 31,6; 48,5	42,5* 29,4; 53,5
ІФН- γ	59,9 42,6; 74,5	94,5 * 66,2; 165,3	87,4 * 62,2; 135,3	64,8* 52,6; 99,9

* P < 0,05 порівняно з групою здорових донорів. • P < 0,05 порівняно з даними до вакцинації.

∇ P < 0,05 порівняно з даними через 1 міс після вакцинації.

Висновки. Таким чином, під впливом ВПЛ-вакцинації у жінок з персистуючою формою латентної ПВІ ПІМ спостерігали тенденцію до нормалізації показників, що характеризують місцевий імунітет, – вмісту в цервікальному відділі sIgA, α - та γ -ІФН, ФНП- α та ІЛ-10 (підвищення співвідношення двох останніх показників вказувало на відновлення балансу про- та антизапальних цитокінів). Активізацію гуморального шляху імунної відповіді відмічали через 1 міс після введення першої дози ЦервариксуTM – підвищення порівняно з контролем медіани для ІЛ-10 в 2,5 раза проти 2,2 раза до вакцинації.

Список литературы

1. Киселёв Ф. Л. Вирусы папиллом человека как этиологический фактор рака шейки матки: значение для практики здравоохранения // Вопр. вирусологии. – 1997. – Т. 42, № 6. – С. 248–251.
2. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных: применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: Медиа Сфера, 2002. – 312 с.
3. Скоупс Р. Методы очистки белков. – М.: Мир, 1985. – С. 466–467.
4. Трушина О. И. Роль папилломавирусной инфекции в генезе РШМ // Рос. онкол. журн. – 2005. – № 1. – С. 45–52.
5. Franco E. L., Villa L. L., Richardson H. et al. Epidemiology of Cervical Human Papillomavirus Infection // In: New developments in cervical cancer screening and prevention. – Oxford: Blackwell Science, 1997. – P. 14–22.
6. Insinga R. P., Dasbach E. J., Elbasha E. H. et al. Cost-effectiveness of quadrivalent human papillomavirus (HPV) vaccination in Mexico: a transmission dynamic model-based evaluation // Vaccine. – 2007. – Vol. 26, N 1. – P. 128–139.
7. Keam S. J., Harper D. M. Human papillomavirus types 16 and 18 vaccine (recombinant, AS04 adjuvanted, adsorbed) [Cervarix] // Drugs. – 2008. – Vol. 68, N 3. – P. 359–372.
1. Kiselyov F. L. Virussy papillom cheloveka kak etiologicheskii faktor raka sheyki matki: znachenie dlya praktiki zdavoohraneniya // Vopr. virusologii. – 1997. – T. 42, # 6. – S. 248–251.
2. Rebrova O. Yu. Statisticheskii analiz meditsinskih dannyih: primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA. – M.: Media Sfera, 2002. – 312 s.
3. Skoups R. Metodyi ochistki belkov. – M.: Mir, 1985. – S. 466–467.
4. Trushina O. I. Rol papillomavirusnoy infektsii v geneze RShM // Ros. onkol. zhurn. – 2005. – # 1. – S. 45–52.

ПОКАЗАТЕЛИ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА У ЖЕНЩИН С ПЕРСИСТИРУЮЩЕЙ
ФОРМОЙ ЛАТЕНТНОЙ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ШЕЙКИ МАТКИ
ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА

О. Л. Дола, В. П. Лакатош, М. И. Антонюк, П. В. Лакатош (Киев)

Проанализированы изменения показателей местного иммунитета, выявленные через 1 и 6 мес после вакцинации ЦервариксомTM 35 женщин с диагностированной персистирующей латентной папилломавирусной инфекцией (ПВИ) шейки матки (ШМ). Под влиянием вакцинации вируса папилломы человека (ВПЧ) через 6 мес у женщин с латентной ПВИ ШМ отмечена тенденция к нормализации показателей, характеризующих местный иммунитет, – содержания в цервикальном отделяемом sIgA, α - и γ -ИФН, ФНО- α и ИЛ-10 (повышение соотношения двух последних показателей свидетельствует о восстановлении баланса про- и противовоспалительных цитокинов). Активизацию гуморального пути иммунного ответа наблюдали через 1 мес после введения первой дозы ЦервариксаTM – отмечено повышение по сравнению с контролем медианы для ИЛ-10 в 2,5 раза против 2,2 раза до вакцинации.

Ключевые слова: папилломавирусная инфекция, шейка матки, местный иммунитет, вакцинация.

INDICATORS OF LOCAL IMMUNITY IN WOMEN WITH PERCISTANT FORM
OF LATENT PAPILLOMAVIRUS CERVICAL INFECTION
AFTER IMMUNIZATION WITH VACCINE AGAINST HPV

O. L. Dola¹, V. P. Lakatos², M. I. Antonuk², P. V. Lakatos² (Kyiv, Ukraine)

¹Перинатальный центр Киева; ²Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця

In this study, the changes in the local immunity indices were detected across one and six months after CervarixTM vaccination of 35 women with diagnosed persistent latent papillomavirus infection (PVI) of the cervix uteri (CU). Under the influence of HPV-vaccination, after 6 months was noted the desire to normalization of indices, characterizing local immunity in women with latent PVI CU – of the level in the cervical separable sIgA, α - and γ -IFN, TNF- α and IL-10 (the last two indices indicated a restoration of the balance of pro- and anti-inflammatory cytokines). Activation of the humoral pathway of the immune response was observed after month after the introduction of the first dose of CervarixTM – an increase in comparison with control the median for IL-10 was observed 2.5 – fold against with 2.2 – fold before vaccination.

Key words: papillomavirus infection, cervix, local immunity, vaccination.