

ИЗМЕНЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ПРЕИНВАЗИВНЫМ И МИКРОИНВАЗИВНЫМ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ

П.И. Ковчур¹, Е.В. Бахидзе², А.В. Ястребова¹

¹ФГБОУ ВПО Петрозаводский государственный университет, г. Петрозаводск, Россия

²ФГБУ НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Проведено сравнительное исследование фенотипа иммунокомпетентных клеток у пациентов с преинвазивным и микроинвазивным раком шейки матки, а также определено значение отдельных показателей иммунитета как фактора прогноза заболевания и эффективности проводимого хирургического лечения в сочетании с иммунотерапией (основная группа) в сравнении только с хирургическим лечением (контрольная группа). Обнаружена достоверная нормализация численности субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, включая уровень экспрессии основных молекулярных маркеров лимфоцитов-супрессоров (FOXP3 и TGF- β 1) и уровня экспрессии CD95-маркера в основной группе в сравнении с контрольной, а также достоверное снижение ВПЧ-позитивных пациенток (1,7%) и отсутствие онкобелка E7 в основной группе.

Ключевые слова: рак шейки матки, регуляторные клетки, вирус папилломы человека.

Развитие рака шейки матки (РШМ) сопровождается изменениями клеточного иммунитета и гомеостаза. Существенную роль в данном процессе играют специфические клеточные CD-антигены, часто выполняющие функцию рецепторов и участвующие в передаче сигнала от плазматической мембраны в ядро клетки [12]. РШМ уникальное заболевание, так как многие процессы индуцируются или ингибируются онкогенами вируса папилломы человека (ВПЧ) [10], а развитие и прогрессия РШМ этиологически обусловлено иммунным статусом пациентки [17]. При этом иммунный статус индивидуума служит основой, формирующей разрешающие условия для персистенции ВПЧ и индукции РШМ [1, 16], а также составления индивидуального прогноза и выбора эффективной терапевтической стратегии [2, 13, 19, 20].

Цель исследования заключалась в изучении показателей клеточного иммунитета (эк-

спрессия лимфоцитарных маркеров CD3, CD4, CD4⁺CD25⁺, CD8, CD16, CD95) у пациенток с преинвазивным и микроинвазивным РШМ при использовании различных вариантов лечения.

Материалы и методы

Комплексно обследовано 75 больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями 3 степени тяжести (ЦИН) (средний возраст 32,9 \pm 7,4), в том числе 32 — с дисплазией 3 степени, 43 — с преинвазивным раком (*Ca in situ*); и 81 — с плоскоклеточным РШМ, в том числе 45 — со стадией IA (средний возраст 31,3 \pm 6,0), 21 — стадией II (средний возраст 43,6 \pm 13,2), 15 — стадией III–IV (средний возраст 46,9 \pm 11,1). Контрольную группу составили 45 практически здоровых доноров без патологии шейки матки и ВПЧ (контрольная группа № 1). Повторный забор крови и исследование иммунологических показателей осуществляли после

Авторы:

Ковчур П.И., к.м.н., доцент кафедры лучевой диагностики, терапии, онкологии, фтизиатрии и урологии ФГБОУ Петрозаводского государственного университета, г. Петрозаводск, Россия;

Бахидзе Е.В., д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения онкогинекологии ФГБУ НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Ястребова А.В., ассистент кафедры лучевой диагностики, терапии, онкологии, фтизиатрии и урологии ФГБОУ Петрозаводского государственного университета, г. Петрозаводск, Россия.

Адрес для переписки:

Ковчур Павел Иванович
185910, Россия, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33.
Тел.: 8 921 464-50-48 (моб.).
E-mail: pkovchur@mail.ru

поступила в редакцию 29.04.2014
отправлена на доработку 29.04.2014
принята к печати 05.05.2014
© Ковчур П.И., Бахидзе Е.В.,
Ястребова А.В., 2014

операции диатермоконизации и лечения препаратом «Аллокин-альфа» [9] через 1 и 3 месяцев. Препарат вводился подкожно в дозе 1 мг 6 раз в течение двух недель. Контрольную группу № 2 составили пациентки с ЦИН 3 (n = 15) и РШМ (n = 15) стадии IA, получившие только хирургическое лечение. По анамнезу, данным вирусологического и гистологического исследований рассматриваемые группы не различались.

Критерием отбора больных являлся морфологически подтвержденный диагноз ЦИН 3 и РШМ. Стадирование эпителиальных дисплазий проводилось в соответствии с «Международной статической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем. 10 пересмотр (МКБ-X)» (ВОЗ, Женева, 1995 г.), Гистологической классификацией опухолей женского полового тракта (ВОЗ, 1995), РШМ — в соответствии с Международной классификацией по системе TNM, 6-е издание (TNM, 2003), и системой Международной федерации акушеров и гинекологов (FIGO, 1994 г.). Все пациентки были проинформированы об участии в исследовании и дали добровольное письменное согласие.

Имунофенотипирование проводили с помощью моноклональных антител и соответствующих изотипических контролей («МедБио-Спектр», Москва). Сбор данных производили на проточном цитометре MACSQuant («Miltenyi Biotec», Германия). Уровень экспрессии генов TGF- β 1 и FOXP3 определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени, совмещенной с обратной транскрипцией (Real-Time RT-PCR) [8]. Суммарную РНК лимфоцитов выделяли из цельной крови с использованием набора реагентов YellowSolve (Клоноген). Процедуру обратной транскрипции проводили с использованием случайных гексапраймеров и MMLV-обратной транскриптазы (Силекс). Амплификацию кДНК исследуемых генов, а также анализ продуктов амплификации в режиме реального времени проводили на приборе «iCycler Thermal Cycler» с использованием реак-

ционной смеси с интеркалирующим красителем SYBR Green I (Синтол) и программного обеспечения «iQ5 Optical System Software», версия 2.0 (Bio-Rad). Относительный уровень экспрессии генов TGF- β 1 и FOXP3 определяли по уровню мРНК референсного гена GAPDH. Достоверность различий оценивали на основании критерия Уилкоксона–Манна–Уитни с использованием программного обеспечения Biostat 2007.

Результаты

Всем пациенткам (n = 231) проведено определение типа ВПЧ, клинически значимой вирусной нагрузки и онкобелка E7 до и после лечения через 3 месяца. В основной группе ВПЧ-положительных больных было выявлено 90,7 и 95,6% случаев соответственно, в контрольной № 2 — 100% (табл. 1). Выявлена повышенная вирусная (> 5 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток), значимая (> 3 lg) и малозначимая (< 2 lg) нагрузка при ЦИН 3 соответственно у 48,5, 41,2 и 10,2% больных; при микроинвазивном РШМ — 53,5, 37,2 и 9,3%. Содержание онкобелка E7 у больных с ЦИН 3 и микроинвазивным РШМ составило 69,3 и 66,7% случаев. После комплексного лечения ВПЧ-положительных пациентов в основной группе выявлено 1,7% (2) случаев, при этом определялась незначительная вирусная нагрузка (< 2 lg 10⁵) и не было онкобелка E7 (p < 0,05). В контрольной группе в 26,7% (8) определялась значимая вирусная нагрузка и 13,3% (4) выявлен онкобелок E7.

Имунофенотипирование лимфоцитов периферической крови у больных с преинвазивным и микроинвазивным РШМ показало, что ее прогрессия сопровождается снижением численности CD3⁺ Т-лимфоцитов (r = -0,69; R² = 0,48; p < 0,01), CD4⁺ Т-хелперов (r = -0,85; R² = 0,73; p < 0,01) и CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов (r = -0,59; R² = 0,35; p < 0,01). Содержание циркулирующих CD16⁺ и CD20⁺ лимфоцитов незначительно увеличивалось при ЦИН 3 и РШМ IA стадии, а при II–IV стадии

ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТИПОВ ВПЧ В ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУППАХ ПАЦИЕНТОК ДО ЛЕЧЕНИЯ (абс., %)

Группа пациентов		Типы ВПЧ					
		ВПЧ 16	ВПЧ 16, 18, 31, 33	ВПЧ 18	ВПЧ 31	ВПЧ 33	ВПЧ 6, 11, 74
Контроль № 1 (здоровые) (n = 30)		1 (3,3)	–	–	1 (3,3)	1 (3,3)	5 (16,7)
Основная группа (n = 111)	ЦИН 3 (n = 68)	35 (51,5)*	24 (35,3)	9 (13,2)	–	–	–
	РШМ стадии IA1 (n = 43)	34 (79,1)*	–	5 (11,6)	3 (7,0)	1 (2,3)	–
Всего (n = 111) (конизация + аллокин)		69 (62,2)*	24 (21,6)	14 (12,6)	3 (2,7)	1 (0,9)	–
Контроль № 2 (только конизация) ЦИН 3 + РШМ IA1 (n = 30)		19 (63,3)*	4 (13,3)	3 (10,0)	2 (6,7)	2 (6,7)	–

Примечание. * p < 0,05 по отношению к контрольной группе.

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОГО СТАТУСА БОЛЬНЫХ ЦИН 3 И РШМ И ГРУППЫ КОНТРОЛЯ

		Контроль (n = 30)	ЦИН 3 (n = 53)	Ia1 стадия РШМ (n = 26)	Ib стадия РШМ (n = 4)	II стадия РШМ (n = 20)	III–IV стадия РШМ (n = 15)
CD3	%*	59,84±1,9	56,95±0,6	54,8±0,56	47,1±0,69	51,1±1,02	45,42±0,4
	абс. × 10 ⁹ /л	1,38±0,04	1,30±0,03	1,26±0,09	1,1±0,03	1,18±0,04	1,04±0,06
	p		0,003	< 0,0001	< 0,0001	< 0,001	
CD4	%*	41,84±2,7	33,52±0,35	30,86±0,5	29,4±0,38	29,29±0,3	25,6±0,65
	абс. × 10 ⁹ /л	0,96±0,02	0,76±0,06	0,68±0,05	0,64±0,04	0,62±0,03	0,60±0,05
	p			< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
CD4 ⁺ CD25 ⁺	%*	4,16±0,43	5,99±0,12	6,02±0,13	6,85±0,14	6,21±0,16	7,49±0,24
	абс. × 10 ⁹ /л	0,095±0,003	0,130±0,002	0,131±0,005	0,14±0,005	0,134±0,005	0,16±0,02
	p						
CD8	%*	29,66±1,62	23,75±0,28	22,34±0,4	22,43±0,3	22,1±0,18	24,26±0,5
	абс. × 10 ⁹ /л	0,72±0,03	0,60±0,04	0,55±0,05	0,51±0,05	0,54±0,09	0,60±0,04
	p			< 0,001	< 0,001		< 0,001
CD16	%*	12,85±0,81	17,65±0,29	20,03±0,5	19,78±0,8	13,28±0,5	7,55±0,23
	абс. × 10 ⁹ /л	0,30±0,03	0,41±0,02	0,47±0,03	0,46±0,02	0,32±0,06	0,16±0,03
	p					< 0,001	
CD20	%*	10,84±2,52	15,20±0,49	16,40±0,6	16,98±0,4	13,42±0,3	9,59±0,29
	абс. × 10 ⁹ /л	0,22±0,01	0,30±0,03	0,33±0,04	0,34±0,03	0,28±0,06	0,2±0,04
	p			0,199		< 0,001	0,001
CD95	%*	6,73±0,92	17,07±0,41	22,72±0,5	25,25±0,6	24,10±0,4	25,87±0,6
	абс. × 10 ⁹ /л	0,137±0,01	0,37±0,03	0,48±0,04	0,51±0,02	0,49±0,06	0,51±0,05
	p					0,058	0,008

Примечания. * доля CD-позитивных клеток от общего числа лимфоцитов; p — достоверность отличий от контрольной группы (тест Уилкоксона–Манна–Уитни).

отмечено достоверное снижение их численности (табл. 2). При ЦИН 3 и РШМ выявлено достоверное увеличение количества клеток, экспрессирующих на поверхности мембраны CD95-маркер ($r = 0,91$; $R^2 = 0,82$; $p < 0,01$), а также увеличение количества CD4⁺CD25⁺ Т-клеток ($r = 0,71$; $R^2 = 0,50$; $p < 0,01$). При этом показатель CD8⁺/CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов достоверно снижался ($p < 0,05$).

В последнее десятилетие особое место в иммунологических исследованиях занимает изучение регуляторных супрессорных Т-клеток (Treg) [18]. Сравнительно недавно было обнаружено, что в крови ВПЧ(+)-пациенток с ЦИН 3 или РШМ возрастает количество Treg-клеток с фенотипом CD4⁺CD25^{high}CTLA4⁺FoxP3⁺ [14]. Функциональная активность периферических Treg-клеток нами оценена у 14 больных с ЦИН 3 и у 12 женщин без патологии шейки матки и ВПЧ (контроль) по уровню экспрессии генов TGF-β1 и FOXP3 [6]. У пациенток с ЦИН 3 степени шейки матки отмечена повышенная функциональная активность Tregs. При этом уровень экспрессии TGF-β1 значительно выше у больных в сравнении со здоровыми лицами (1,30±0,13 и 1,00±0,08 соответственно, $p < 0,05$). Уровень экспрессии FOXP3 также был повышен (1,25±0,12 и 1,00±0,06, $p < 0,05$), что свидетельствовало о выражен-

ной активации регуляторных лимфоцитов-супрессоров с фенотипом CD4⁺FOXP3⁺ [18, 22]. Оценка показателей иммунной супрессии после проведенного лечения показала, что динамика уровня экспрессии TGF-β1 и FOXP3 зависела от подгруппы больных: подгруппа 1 (n = 7) — пациентки, где была проведена ликвидация очага ВПЧ и затем препарат «Аллокин-альфа»; 2 (n = 7) — проведено только иммуномодулирующее лечение без ликвидации очага ВПЧ шейки матки. В 1 подгруппе (рис. 1) можно видеть снижение уровня TGF-β1 и FOXP3 после терапии препаратом «Аллокин-альфа»: TGF-β1 1,62±0,21 до лечения и 1,17±0,22 после лечения, FOXP3 соответственно 1,50±0,17 и 1,28±0,12 ($p < 0,05$). Показатели 2 подгруппы (где не проводилось хирургическое лечение) представлены на рис. 2. При этом использование в монотерапии иммуномодулирующего препарата у больных с ЦИН 3 степени не приводит к изменению уровня экспрессии TGF-β1 и FOXP3.

Изучены показатели молекулярных маркеров и их изменения в постоперационном периоде у больных с ЦИН 3 и микроинвазивным РШМ при использовании только хирургического метода лечения и хирургического лечения + «Аллокин-альфа». В течение 3-х месяцев после лечения в крови пациенток обеих групп

(табл. 3, 4) отмечается увеличение численности CD4⁺ клеток и уменьшение числа CD4⁺CD25⁺ лимфоцитов. При этом в основной группе, где проведено комплексное лечение через 3 месяца происходит восстановление данных показателей до значений, определяемых в группе здоровых (контроль № 1). Достоверное изменение количества CD16⁺ и CD20⁺ лимфоцитов в периферической крови больных с ЦИН 3 и РШМ IA стадии наблюдалось на фоне иммуномодулирующей терапии, по сравнению с контрольной группой больных. У пациенток с ЦИН 3 и РШМ IA стадии, не получавших препарат, в течение 3-х месяцев экспрессия CD95-маркера практически не изменялась, в то время как прохождение курса иммуномодулирующей терапии сопряжено со значимым уменьшением количества CD95-позитивных лимфоцитов (P < 0,001).

Обсуждение

Иммунологические расстройства при преинвазивном и микроинвазивном раке шейки матки имеют сложный комбинированный характер, и указывают на глубокую вовлеченность иммунной системы в процессе развития РШМ, что согласуется с литературными данными [5, 11, 21]. При этом развитие и прогрессия РШМ сопровождается нарушением клеточного и гуморального иммунитета, проявляющемся снижением численности CD3⁺ Т-лимфоцитов, CD4⁺ Т-хелперов, и CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов уже на ранних стадиях, а НК- и В-клеток, начиная со II стадии, и предрасположенностью данных клеток к апоптозу при развитии и прогрессии РШМ. Подтверждением того, что выбранные нами для исследования

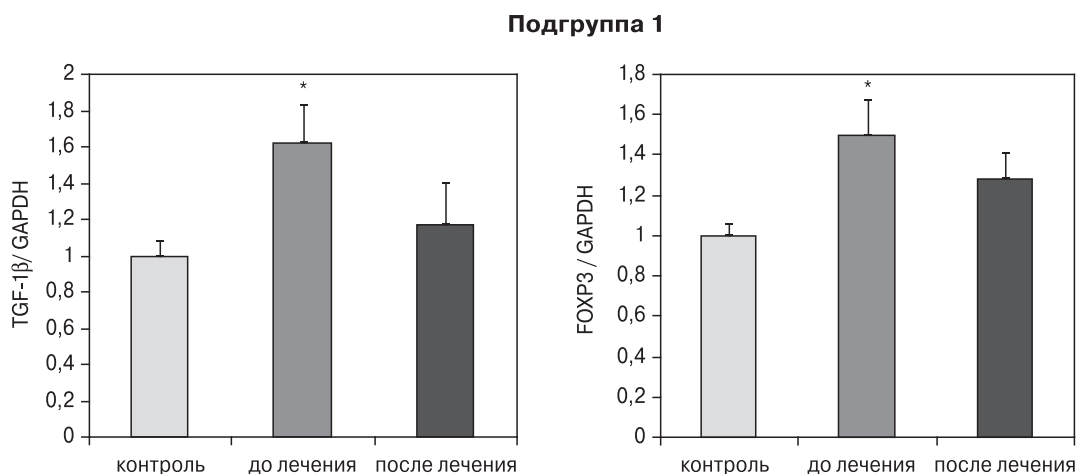


Рисунок 1. Уровень экспрессии генов TGF-β1 и FOXP3 в лимфоцитах периферической крови у пациентов с ВПЧ до и после лечения аллокином-альфа

Примечание. На рисунках результаты представлены в виде средних с учетом стандартной ошибки среднего (M±m). Подгруппа 1 — пациенты, у которых произведена диатермоконизация шейки матки + аллокин-альфа; * — различия достоверны по сравнению с контролем (p < 0,05).

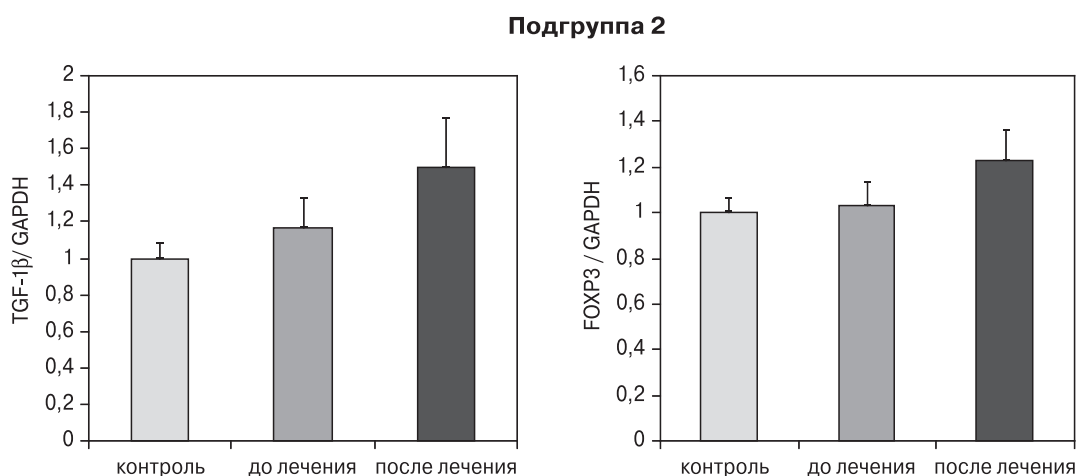


Рисунок 2. Уровень экспрессии генов TGF-β1 и FOXP3 в лимфоцитах периферической крови у пациентов с ВПЧ до и после лечения аллокином-альфа

Примечание. Группа 2 — пациенты без ликвидации очага ВПЧ.

ТАБЛИЦА 3. ЭКСПРЕССИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ МАРКЕРОВ МОНОНУКЛЕАРОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОК С ЦИН 3 ШЕЙКИ МАТКИ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ И КОМПЛЕКСНОМ ВАРИАНТАХ ЛЕЧЕНИЯ

		Контроль № 1 (здоровые)	ЦИН 3 (до лечения)	Контроль № 2 — ЦИН 3 (только д/конизация)		Основная группа — ЦИН 3 (д/конизация + Аллокин)	
				1 месяц	3 месяца	1 месяц	3 месяца
CD3	%	59,84±1,92	56,95±0,61	58,68±1,95	60,12±1,82	61,52±1,8	60,18±1,88
	абс. × 10 ⁹ /л	1,38±0,04	1,30±0,03	1,34±0,04	1,42±0,04	1,46±0,08	1,37±0,04
CD4	%	41,84±2,7	33,52±0,35	34,18±1,46	36,14±1,48	36,8±1,32	39,84±1,64**
	абс. × 10 ⁹ /л	0,96±0,08	0,76±0,06	0,79±0,07	0,83±0,08	0,89±0,06	0,96±0,07**
CD4 ⁺ CD25 ⁺	%	4,16±0,43	5,99±0,12	5,32±0,39	5,4±0,91	5,09±0,88	3,54±0,76**
	абс. × 10 ⁹ /л	0,095±0,003	0,13±0,002	0,122±0,003	0,119±0,009	0,116±0,008	0,08±0,007**
CD8	%	29,66±1,62	23,75±0,28	26,64±1,22	26,44±1,15	24,84±1,24	28,11±1,92
	абс. × 10 ⁹ /л	0,72±0,07	0,60±0,04	0,64±0,05	0,63±0,05	0,59±0,06	0,67±0,07
CD16	%	12,85±0,81	17,65±0,29	17,14±0,49	18,81±1,25	17,15±1,32	14,28±1,24**
	абс. × 10 ⁹ /л	0,30±0,03	0,41±0,02	0,40±0,03	0,41±0,06	0,37±0,06	0,31±0,06**
CD20	%	10,84±2,52	15,20±0,49	17,11±0,58	16,98±1,95	12,08±1,72*	11,40±1,82**
	абс. × 10 ⁹ /л	0,22±0,08	0,31±0,03	0,35±0,03	0,34±0,07	0,25±0,06*	0,23±0,07**
CD95	%	6,73±0,92	17,07±0,41	17,02±0,79	16,51±1,95	15,86±1,62	12,15±0,92**
	абс. × 10 ⁹ /л	0,14±0,01	0,36±0,03	0,37±0,03	0,36±0,07	0,35±0,06	0,31±0,04**

Примечания. * достоверность различий между группами ЦИН 3 (диатермоконизация, через 1 мес.) и ЦИН 3 (диатермоконизация + Аллокин-альфа, через 1 мес.), $p < 0,05$; ** достоверность различий между группами ЦИН 3 (диатермоконизация, через 3 мес.) и ЦИН 3 (диатермоконизация + Аллокин-альфа, через 3 мес.), $p < 0,05$; % — доля CD-позитивных клеток от общего числа лимфоцитов.

ТАБЛИЦА 4. ЭКСПРЕССИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ МАРКЕРОВ МОНОНУКЛЕАРОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОК С РШМ IA СТАДИИ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ И КОМПЛЕКСНОМ ВАРИАНТАХ ЛЕЧЕНИЯ

		Контроль № 1 (здоровые)	IA стадии (до лечения)	Контроль № 2 — IA1 стадии (только д/конизация)		Основная группа — IA стадии (д/конизация + Аллокин-альфа)	
				1 месяц	3 месяца	1 месяц	3 месяца
CD3	%	59,84±1,92	54,82±0,56	58,12±1,26	61,42±0,56	57,07±1,69	60,37±1,51
	абс. × 10 ⁹ /л	1,38±0,04	1,26±0,09	1,34±0,08	1,42±0,04	1,31±0,09	1,40±0,08
CD4	%	41,84±2,70	30,86±0,51	35,44±1,92	35,80±1,56	36,28±1,27	38,32±1,64
	абс. × 10 ⁹ /л	0,96±0,08	0,68±0,05	0,79±0,09	0,81±0,07	0,84±0,08	0,89±0,09
CD4 ⁺ CD25 ⁺	%	4,16±0,43	6,02±0,13	5,82±0,36	4,12±0,51	4,01±0,33*	3,57±0,13*
	абс. × 10 ⁹ /л	0,095±0,003	0,13±0,005	0,127±0,004	0,091±0,005	0,084±0,05*	0,08±0,003*
CD8	%	29,66±1,62	22,34±0,44	27,14±1,49	28,90±1,42	26,31±1,13	26,80±1,42
	абс. × 10 ⁹ /л	0,72±0,07	0,55±0,05	0,69±0,08	0,70±0,08	0,67±0,06	0,68±0,08
CD16	%	12,85±0,81	20,03±0,52	19,09±0,42	13,69±0,87	16,08±1,23*	15,27±0,67*
	абс. × 10 ⁹ /л	0,30±0,03	0,47±0,03	0,45±0,02	0,33±0,03	0,39±0,07*	0,37±0,04*
CD20	%	10,84±2,52	16,40±0,58	15,46±1,12	17,45±0,56	13,21±1,30*	11,67±1,50*
	абс. × 10 ⁹ /л	0,22±0,08	0,33±0,04	0,31±0,09	0,35±0,07	0,27±0,08*	0,20±0,08*
CD95	%	6,73±0,92	22,72±0,51	20,88±0,98	19,41±0,50	18,32±1,77	15,01±0,35*
	абс. × 10 ⁹ /л	0,14±0,01	0,48±0,04	0,43±0,05	0,40±0,05	0,37±0,09	0,31±0,04*

Примечания. * достоверность различий между группами РШМ ст. IA (диатермоконизация, через 1 мес.) и РШМ ст. IA (диатермоконизация + Аллокин-альфа, через 1 мес.), $p < 0,05$; % — доля CD-позитивных клеток от общего числа лимфоцитов.

поверхностные лимфоцитарные маркеры (CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD95) адекватно отражают нарушение иммунного статуса, ассоциированное с прогрессией ЦИН 3/РШМ IA стадии, служит наблюдаемое изменение экспрессии этих маркеров в сторону контрольных значений в результате проведения терапевтических мероприятий. Согласно полученным данным, только при хирургическом удалении очага неоплазии (ЦИН 3, РШМ IA), зафиксирована тенденция к постепенному восстановлению нормальных значений показателей клеточного иммунитета в течение 3 месяцев. Поэтому иммунные нарушения в определенной степени связаны именно с РШМ, и при удалении патологического участка происходит устранение факторов иммуносупрессии. В то же время нами показано, что при комплексной терапии — сочетании хирургического и иммуномодулирующего лечения — в течение 3-х месяцев происходит более эффективная нормализация численности НК-клеток, В-лимфоцитов, Tregs и снижение уровня экспрессии супрессорного цитокина TGF- β 1 и FOXP3, наблюдается тенденция к более быстрой нормализации популяции Т-хелперов, а также отмечено досто-

верное снижение ВПЧ-положительных пациенток в основной группе (1,7%) и отсутствие онкобелка E7, что согласуется с данными исследователей [5, 6, 7, 15, 18, 23]. При этом отсутствие экспрессии белка E7 при морфологическом подтверждении диагноза ЦИН дает возможность динамического наблюдения и использования консервативных методов лечения [3]. Таким образом, изменения иммунологических показателей у больных с преинвазивным и микроинвазивным РШМ носят системный, но обратимый характер и восстанавливаются через 3 месяца после комплексного лечения. Следует учитывать, что выбранный в качестве послеоперационного индуктора препарат «Аллокин-альфа» с действующим веществом Аллоферон-1 позитивно влияет на снижение вирусной нагрузки у больных с преинвазивным и микроинвазивным РШМ, что согласуется с данными Короленковой Л.И. (2012) [4]. Его действие направлено на усиление распознавания вирусных антигенов иммунокомпетентными клетками и уничтожение очагов вирусной инфекции, что является основополагающим в лечении РШМ, поскольку персистенция ВПЧ считается одной из причин рецидива заболевания.

Список литературы

1. Бахидзе Е.В., Лавринович О.Е., Чепик О.Ф., Киселев О.И. Роль вируса папилломы человека в лимфогенном метастазировании плоскоклеточного рака шейки матки // Вопросы онкологии. — 2011. — Т. 57, № 3. — С. 318–321.
2. Кадагидзе З.Г., Черткова А.И., Славина Е.Г., Заботина Е.Н., Борунова А.А., Короткова О.В. Фенотип иммунокомпетентных клеток и его значение в противоопухолевом иммунном ответе // Вестник РАМН. — 2011. — № 12. — С. 21–25.
3. Киселев В.И., Свешников П.Г., Барановский П.М., Липова Е.В., Глазко И.И., Ашрафян Л.А. Онкобелок E7 вируса папилломы человека — новый маркер ранних стадий канцерогенеза // Terra medica. — 2011. — № 1. — С. 35–39.
4. Короленкова Л.И. Снижение вирусной нагрузки, определенной методом гибридного захвата, у больных тяжелыми интраэпителиальными неоплазиями шейки матки, как результат эффективной предэксцизионной терапии аллокином-альфа // Акушерство и гинекология. — 2012. — № 4–2. — С. 78–82.
5. Орнер И.Ю., Абрамовских О.С., Батурина И.Л., Зотова М.А., Никушкина К.В., Телешева Л.Ф. Сравнительный анализ иммунологических показателей периферической крови у пациенток с тяжелой дисплазией и раком шейки матки, ассоциированных с вирусом папилломы человека // Российский аллергологический журнал. — 2010. — № 5 (1). — С. 212–213.

Ссылки 6–23 см. в References (с. 179–180). See References for numbers 6–23 at p. 179–180.

THE CHANGES OF OF CELLULAR IMMUNITY PARAMETERS IN PATIENTS WITH PREINVASIVE AND MICROINVASIVE CERVICAL CANCER BEFORE AND AFTER TREATMENT

Kovchur P.I.^a, Bahidze E.V.^b, Yastrebova A.V.^a

^aFederal state-financed educational institution of high professional education «Petrozavodsk State University», Petrozavodsk, Russian Federation

^bFederal state-financed institution «N.N. Petrov Research Institute of Oncology» of Russian Ministry of Health, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The comparative study of immunocompetent cells' phenotype was performed in patients with the preinvasive and microinvasive cervical cancer before and after the treatment. Besides, the study of importance of selected cellular immunity indices as a predictive factors of effective surgical treatment in a combination with immunotherapy (the study

group) in comparison with a surgical treatment only (the control group) have been conducted. The true numerical normalization of subpopulation composition of peripheral blood lymphocyte has been determined including the expression level of suppressor lymphocytes molecular markers (FOXP3 и TGF- β 1) and the expression level of CD95-marker in a study group in comparison with a control group. Moreover, true decrease of HPV (human papillomavirus) — positive patients (1.7%) and the absence of E7 oncoprotein in the study group have been discovered.

Key words: cervical cancer, regulatory cells, human papillomavirus.

Authors:

Kovchur P.I., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Radiation Diagnostics, Therapy, Oncology, Tuberculosis and Urology, Petrozavodsk State University;
185910, Russian Federation, Petrozavodsk, Lenina pr., 33.
Phone: +7 921 464-50-48 (mobile).
E-mail: pkovchur@mail.ru

Bahidze E.V., PhD, MD (Medicine), Leading Researcher, Department of Oncogynecology, Federal state-financed institution «N.N. Petrov Research Institute of Oncology» of Russian Ministry of Health, St. Petersburg, Russian Federation;

Yastrebova A.V., Assistant Professor, Department of Radiation Diagnostics, Therapy, Oncology, Tuberculosis and Urology, Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russian Federation.

References

- Bakhidze E.V., Lavrinovich O.E., Chepik O.F., Kiselev O.I. Rol' virusa papillomy cheloveka v limfogenom metastazirovanii ploskokletochnogo raka sheyki matki [The role of human papillomavirus in the lymphoid metastasis of squamous cell carcinoma of the cervix]. *Voprosy onkologii — Problems of Oncology*, 2011, vol. 57, no. 3, pp. 318–321.
- Kadagidze Z.G., Chertkova A.I., Slavina E.G., Zabolina E.N., Borunova A.A., Korotkova O.V. Fenotip immunokompetentnykh kletok i ego znachenie v protivopukhlevom immunnom otvete [The Phenotype of immune cells and its significance in the anti-tumor immune response]. *Vestnik RAMN — Herald of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2011, no. 12, pp. 20–25.
- Kiselev V.I., Sveshnikov P.G., Baranovskiy P.M., Lipova E.V., Glazko I.I., Ashrafyan L.A. Onkobelok E7 virusa papillomy cheloveka — novyy marker rannikh stadiy kantserogeneza [E7 oncoprotein of human papilloma virus — a new marker of early stages of carcinogenesis]. *Terra medica*, 2011, no. 1, pp. 35–39.
- Korolenkova L.I. Snizhenie virusnoy nagruzki, opredelennoy metodom gibridnogo zakhvata, u bol'nykh tyazhelymi intraepitelial'nymi neoplaziyami sheyki matki, kak rezul'tat effektivnoy predekstsizionnoy terapii allokinom-al'fa [The Reduction in viral load determined by hybrid capture in patients with severe cervical intraepithelial neoplasia, as a result of effective preexcisive therapy by Allokin alpha]. *Akusherstvo i ginekologiya — Obstetrics and Gynecology*, 2012, no. 4–2, pp. 78–82.
- Orner I.Yu., Abramovskikh O.S., Baturina I.L., Zotova M.A., Nikushkina K.V., Telesheva L.F. Sravnitel'nyy analiz immunologicheskikh pokazateley perifericheskoy krovi u patsientok s tyazhelyy displaziyey i rakom sheyki matki, assotsirovannykh s virusom papillomy cheloveka [Comparative analysis of immunological parameters in peripheral blood in patients with severe dysplasia and cervical cancer associated with human papillomavirus]. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal — Russian Journal of Allergy*, 2010, no. 5, vol. 1, pp. 212–213.
- Bolpetti A., Silva J.S., Villa L.L., Lepique A.P. Interleukin-10 production by tumor infiltrating macrophages plays a role in Human Papillomavirus 16 tumor growth. *BMC Immunol.*, 2010, vol. 11, p. 27.
- Buckner J.H. Mechanisms autoimmune diseases. *Nat. Rev. Immunol.*, 2010, vol. 10, pp. 849–859.
- Bustin S.A. Quantification of mRNA using real-time reverse transcription P.C.R (RT-PCR): trends and problems. *J. Mol. Endocrinol.*, 2002, vol. 29, pp. 23–39.
- Chernysh S.I., Kim S.I., Bekker G., Pleskach V.A., Filatova N.A., Anikin V.B., Platonov V.G., Bulet P. Antiviral and antitumor peptides from insects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, vol. 9, no. 20, pp. 12628–12632.
- Contreras D.N., Krammer, P.H., Potkul, R.K., Bu P., Rossi J.L., Kaufmann A.M., Gissmann L., Qiao L. Cervical cancer cells induce apoptosis of cytotoxic T lymphocytes. *J. Immunother.*, 2000, vol. 23, no. 1, pp. 67–74.
- Das S., Karim S., Datta R.C., Maiti A.K., Ghosh S.K., Chaudhury K. Peripheral blood lymphocyte subpopulations in patients with cervical cancer. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, 2007, vol. 98, no. 2, pp. 143–146.
- Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin. Sci.*, 2006, vol. 110, pp. 525–541.
- Ibeanu O.A. Molecular pathogenesis of cervical cancer. *Cancer Biol. Ther.*, 2011, vol. 11, no. 3, pp. 295–306.
- Kanodia S., Da Silva D.M., Kas, W.M. Recent advances in strategies for immunotherapy of human papillomavirus-induced lesions. *Int. J. Cancer*, 2008, vol. 122, pp. 247–259.
- Loddenkemper C., Hoffmann C., Stanke J., Nagorsen D., Baron U., Olek S., Huehn J., Ritz J.P., Stein H., Kaufmann A.M., Schneider A., Cichon G. Regulatory (FOXP3+) T cells as target for immune therapy of cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *Cancer Sci.*, 2009, vol. 100, no. 6, pp. 1112–1117.
- Moody C.A., Laimins L.A. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat. Rev. Cancer*, 2010, vol. 10, no. 8, pp. 550–560.
- Patel S., Chiplunkar S. Host immune responses to cervical cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol.*, 2009, vol. 21, no. 1, pp. 54–59.
- Sakaguchi S., Miyara M., Costantino C.M., Hafler D.A. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2010, vol. 10, pp. 490–500.
- Stanley M.A. Immune responses to human papilloma viruses. *Indian J. Med. Res.*, 2009, vol. 130, pp. 266–276.
- Trimble C.L., Peng S., Thoburn C., Kos F., Wu T.C. Naturally occurring systemic immune responses to H.P.V antigens do not predict regression of C.I.N2/3. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2010, no. 59, pp. 799–803.

21. Visser J., Nijman H.W., Hoogenboom B.N., Jager P., van Baarle D., Schuurin E., Abdulhad W., Miedema F., van der Zee A.G., Daemen T. Frequencies and role of regulatory T cells in patients with (pre)malignant cervical neoplasia. *Clin. Exp. Immunol.*, 2007, vol. 150, no. 2, pp. 199–209.
22. Yang Z.Z., Ansell S.M. The role of Treg cells in the cancer immunological response. *Am. J. Immunol.*, 2009, vol. 5, no. 1, pp. 17–28.
23. Jayshree R.S., Sreenivas A., Tessy M., Krishna S. Cell intrinsic and extrinsic factors in cervical carcinogenesis. *Indian J. Med. Res.*, 2009, vol. 130, no. 3, pp. 286–295.

Received 29.04.2014

Revision received 29.04.2014

Accepted 05.05.2014