

УДК 618.146—006.6

Լ. Ա. ԿԱՄԱԼՅԱՆ, Զ. Ա. ՄՈՎՏԵՏՅԱՆ, Շ. Ս. ՇՄՄԱՐԻՏՅԱՆ, Ն. Ս. ՆԱԴՋԱՐՅԱՆ,
Յ. Ի. ԵՎՈՐԿՅԱՆ, Թ. Դ. ՄԱԽՄՐՅԱՆ, Մ. Ա. ՏԵԴԳԱՐՅԱՆ, Մ. Ս. ՄԵԼԿՈՄՈՎԱ

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА К ВИРУСУ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА У БОЛЬНЫХ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ

Изучался вопрос о возможной серологической связи между вирусом простого герпеса (ВПГ) и раком шейки матки (РШМ) в Арм. ССР. В РСК исследованы 55 сывороток больных РШМ, 69 сывороток здоровых женщин и 18 сывороток, взятых от больных раком молочной железы (РМЖ). Согласно результатам РСК, у больных РШМ антитела к серотипам 1 и 2 вируса герпеса выявлялись значительно чаще, чем у лиц контрольных групп (разница статистически достоверна). При этом согласно реакции нейтрализации (РН) у больных РШМ определялись антитела ко 2-, а у здоровых—к 1-му типу.

Среди вирусов группы герпеса особый интерес, с точки зрения ассоциации с опухолями человека, представляют вирусы Эпштейна-Барр и простого герпеса. Вирус простого герпеса вызывает как продуктивную инфекцию клеток области лица (преимущественно серотип 1) и гениталий (в основном серотип 2), так и латентную форму заболевания, при которой вирус длительно сохраняется в клетках нервных ганглий, реактивируясь под влиянием различных стрессов [4, 11]. Исследования последних лет показали, что вирус простого герпеса, как и вирус Эпштейна-Барр, может вызвать и 3-ю форму инфекции—непродуктивную, с инкорпорацией генома вируса в геном клетки [1, 3]. Эти исследования в сочетании с данными, свидетельствующими о способности ВПГ вызывать злокачественную трансформацию клеток животных и человека *in vitro* [8, 2], способствовали усилению интереса ученых к изучению онкогенных потенций вируса герпеса, что и привело к выявлению взаимосвязи между ВПГ, типом 2, и одной из форм злокачественных заболеваний у человека—раком шейки матки. В пользу существования такой связи говорит ряд серо-, эпидемиологических работ, указывающих на повышенную частоту обнаружения у больных этой формой рака антител к ВПГ, типу 2 [5, 6, 7, 10].

В свете этих данных нам представлялось интересным изучить сравнительную степень выявления антител к вирусу герпеса у больных РШМ и у женщин контрольных групп.

Материал и методы

Антитела к ВПГ в сыворотках обследуемых групп женщин выявляли с помощью РСК и РН на культуре ткани. Первоначально сыворотки были обследованы в РСК; реакция ставилась на холоду с применением 1,2 рабочей дозы комплемента в объеме 0,55 мл. В начале наших исследований мы располагали лишь отечественными серотипами ВПГ—Л₂ (тип 1) и К (тип 2), полученными из музея вирусов Института вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР в виде лиофилизированной суспензии мозга зараженных мышей и усиленными в нашей лаборатории путем серийных пассажей через мозг двухнедельных мышей. Титры вируса определялись в первичной культуре клеток почки новорожденного кролика (КПК). В РСК оба штамма—Л₂ и К—использовались в виде осветленной центрифугированием суспензии мозга мышей в дозе—10⁴ ТЦД₅₀. В дальнейших исследованиях мы применяли серотипы HSV-1 и HSV-2, предоставленные нам Институтом экспериментальной и клинической онкологии АМН СССР и полученные из США. Помимо американских типов, нами был использован и местный штамм вируса (ВГЕ-2), выделенный от больного, страдающего рецидивирующим герпесом гениталий, и идентифицированный в РН с помощью кроличьих типоспецифических сывороток, как ВПГ, серотип 2. Все три вируса выращивали в культуре эмбриональных клеток человека (ФЭЧ); в РСК использовали вирусы с титром—10⁵ ТЦД₅₀ для HSV-1, 10⁴ ТЦД₅₀ для HSV-2 и местного штамма—ВГЕ-2.

Всего в РСК было обследовано 55 сывороток больных РШМ в инвазивной форме (II и III стадии), взятых до начала лечения, 18 сывороток от женщин с раком молочной железы, взятых до хирургического вмешательства, и 69 сывороток от здоровых лиц. Возраст больных и здоровых женщин колебался в пределах 35—67 лет. Клинический диагноз больных раком был подтвержден гистологическим исследованием.

Положительные по результатам РСК сыворотки были типированы в реакции нейтрализации на культуре ткани по цитопатогенному эффекту, которая, как известно, является одним из оптимальных методов дифференциации антител к серотипам 1 и 2. Реакция нейтрализации ставилась на клетках культуры ФЭЧ с постоянной дозой вируса (100 ТЦД₅₀) и двукратными разведениями испытуемых сывороток. О наличии в сыворотках антител к отдельным серотипам судили по величине 11/1 индекса. Последний определялся как соотношение lg₁₀ титра антител к типу 2 к lg₁₀ титра антител к типу 1:

$$11/1 \text{ индекс} = \frac{\lg_{10} \text{ титра антител к HSV-2}}{\lg_{10} \text{ титра антител к HSV-1}} \times 100$$

Согласно данным литературы [9], при величине индекса ниже 85% сыворотка содержит антитела к типу 1 ВПГ, при значениях индекса 85% и выше—антитела к типу 2.

Результаты

С отечественными серотипами Л₂ и К в РСК было испытано 32 сыворотки больных РШМ и 44 сыворотки, взятые от здоровых женщин. Частота выявления противогерпетических антител при использовании этих вирусов представлена на рис. 1, А. Как видно из рис. 1, антитела к обоим типам у больных РШМ выявлялись почти в два раза чаще, чем у здоровых, однако ни у больных, ни у здоровых женщин не было выявлено разницы в частоте обнаружения антител к отдельным серотипам.

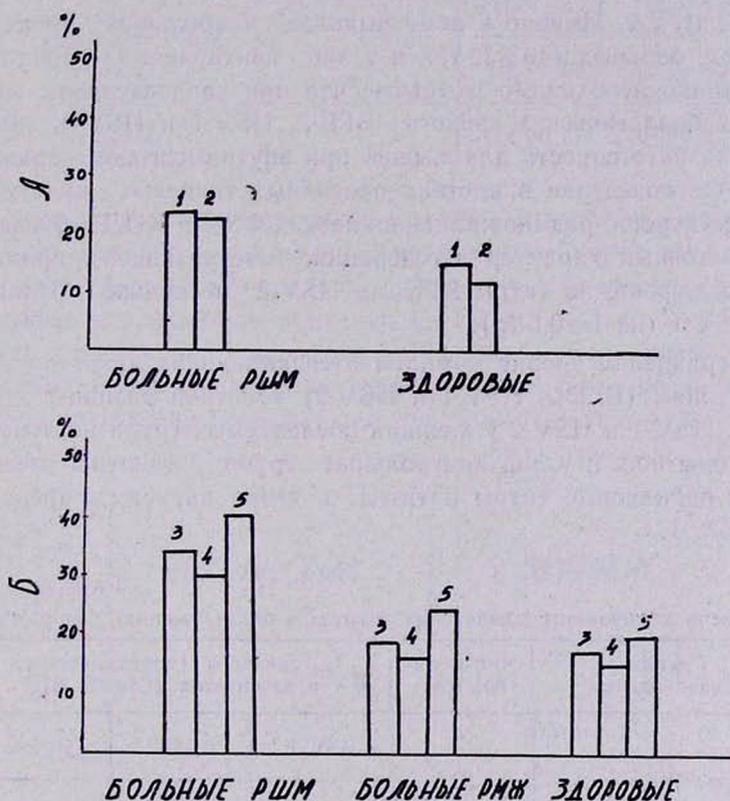


Рис. 1. Частота выявления комплементсвязывающих антител к вирусу простого герпеса в сыворотках обследованных женщин.

Условные обозначения серотипов вируса герпеса: 1—Л₂, 2—К, 3—HSV-1, 4—HSV-2, 5—ВГЕ-2.

С американскими штаммами и местным серотипом ВГЕ-2 было обследовано 23 сыворотки больных РШМ, 18 сывороток больных РМЖ и 25 сывороток здоровых женщин. Результаты представлены на

рис. 1, Б. Необходимо отметить, что при использовании HSV-1, HSV-2 и ВГЕ-2 антитела выявлялись у большего числа обследованных женщин опытной и контрольных групп, чем при применении Л₂ и К, что, возможно, связано с большим содержанием комплементсвязывающего антигена в вирусах, полученных на культуре ткани. У больных РШМ антитела к HSV-1, HSV-2 и ВГЕ-2 определялись также значительно чаще по сравнению с больными РМЖ и здоровыми, при этом разница между опытной и контрольными группами была статистически достоверной ($P < 0,05$). Однако и с американскими серотипами нам не удалось обнаружить различий в частоте выявления антигерпетических антител к отдельным типам вируса у женщин обследуемых групп.

Заслуживают внимания результаты, полученные в РСК с местным серотипом ВГЕ-2. Именно к нему выявлен наибольший процент антител как у больных (40%), так и у лиц контрольных групп (24 и 20%). Однако необходимо отметить, что при сравнительном изучении некоторых биологических свойств ВГЕ-2, HSV-1 и HSV-2 выявлены одинаковая патогенность для мышей при внутримозговом заражении и аналогичное поведение в клетках первичных тканевых культур. Все три вируса хорошо размножались в клетках ФЭЧ и КПД, обуславливая кругло-клеточный характер дегенерации, наступающей, примерно, в одинаковые сроки, но титры ВГЕ-2 и HSV-2 несколько отставали от титров HSV-1 (на 1—0,5 lg).

При сравнении уровня комплементсвязывающих антител к отдельным серотипам (ВГЕ-2, HSV-1 и HSV-2) заметной разницы в титрах антител к HSV-1 и HSV-2 у женщин обследуемых групп не отмечалось. И у лиц опытной, и у лиц контрольных групп выявлены невысокие, примерно одинаковые титры антител к этим вирусам, представленные в табл. 1.

Таблица 1

Уровень комплементсвязывающих антител в обследованных сыворотках

Группы обследованных	Число сывороток	lg ₂ среднего геометрического титра антител к типам ВПГ		
		HSV-1	HSV-2	ВГЕ-2
Больные РШМ	23	2,7±0,2	2,4±0,14	3,4±0,49
Здоровые	25	2,6±0,11	2,3±0	3,1±0,31

Несколько более высокие титры антител как у больных, так и у здоровых отмечались к местному серотипу—ВГЕ-2. Зависимости уровня антител от возраста обследуемых женщин не отмечено.

Отсутствие клинических признаков фациального или генитального герпеса у всех женщин в момент обследования указывает на анамнестический характер выявляемых антител.

Поскольку с помощью реакции связывания комплемента нам не удалось отдифференцировать антитела к HSV-1 и HSV-2, положительные в этой реакции сыворотки были обследованы в реакции нейтрализации на культуре ткани, результаты которой представлены в табл. 2.

Таблица 2
Уровень вируснейтрализующих антител в обследованных сыворотках

Группы обследованных	Число сывороток	Средние титры антител в lg_{10} разведений сывороток	
		HSV-1	HSV-2
Больные РШМ	12		
		$1,2 \pm 0,06$	$1,27 \pm 0,058$
Здоровые	9		
		$1,4 \pm 0,07$	$1,06 \pm 0,1$

Как видно из таблицы, средний уровень вируснейтрализующих антител был невысок и у женщин сравниваемых групп существенно не различался. Титры антител (в lg_{10} разведений сывороток) у больных и здоровых колебались в пределах 1—1,6 lg.

При типировании сывороток в РН было установлено, что у 9 из 12 больных РШМ женщин индексы 11/1 были выше 85%, тогда как у 8 из 9 здоровых они колебались в пределах 62—81% (рис. 2). В сред-

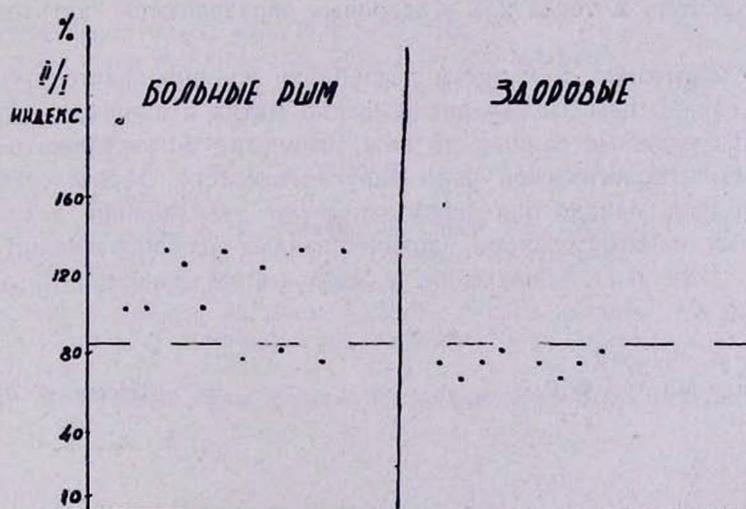


Рис. 2. Вируснейтрализующие антитела к серотипам 1 и 2 вируса герпеса в сыворотках больных раком шейки матки и здоровых женщин.

Точки ниже прерывистой линии—сыворотки с антителами к 1-му типу, точки выше—с антителами ко 2-му типу.

нем у больных РШМ индекс был равен $108 \pm 6,37$, тогда как у здоровых он составлял $77 \pm 3,7$. Следовательно, у большинства больных раком шейки матки обнаружены антитела ко 2-му типу ВПГ, а у здоровых—антитела к 1-му типу.

Обсуждение

Итак, для сравнительного изучения степени распространения антигерпетических антител в сыворотках больных раком и здоровых женщин были использованы две реакции (РСК и РН) и ряд антигенов (HSV-1, HSV-2, L_2 , К и ВГЕ-2).

У больных РШМ антитела ко всем использованным вирусам выявлялись достоверно чаще, чем у лиц контрольных групп. Наибольший процент положительных результатов наблюдался при применении местного штамма ВПГ: возможно, что ВГЕ-2 имеет определенные иммунологические отличия от американского серотипа 2, хотя по ряду биологических свойств он с ним сходен. В свете данных, полученных с ВГЕ-2, представляется целесообразным дальнейшее выделение и иммунологическое изучение местных штаммов ВПГ как генитального, так и фациального происхождения.

Таким образом, РСК может широко применяться для выявления герпетической инфекции, хотя она и непригодна для дифференциации антител к отдельным серотипам ВПГ.

При типировании положительных в РСК сывороток в реакции нейтрализации на культуре ткани с вычислением значения $11/1$ индекса показано, что у большинства больных РШМ выявляется герпетическая инфекция типа 2, тогда как у здоровых определяются антитела к типу 1.

Следовательно, и у нас в республике обнаруживается серологическая взаимосвязь между раком шейки матки и вирусом герпеса, типом 2. Полученные данные, на наш взгляд, не могут служить доказательством этиологической роли вируса простого герпеса при раке шейки матки, однако они свидетельствуют о возможной роли ВПГ в патогенезе некоторых форм злокачественных новообразований человека и об актуальности изучения в связи с этим онкогенных потенций этого вируса.

1. Ա. ՔԱՄԱԼՅԱՆ, Է. Ա. ՄՈՎՍԵՍՅԱՆ, Զ. Ս. ՃՇՄԱՐԻՏՅԱՆ,
 Ն. Հ. ՆԱԶԱՐՅԱՆ, Վ. Ի. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Թ. Դ. ՄԱԽՄՈՒՐՅԱՆ,
 Մ. Հ. ՍԵՂԳԱՐՅԱՆ, Մ. Ս. ՄԵԼՔՈՒՄՅԱՆ

ՀԱՍԱՐԱԿ ՀԵՐՊԵՍԻ ՎԻՐՈՒՄԻ ՍՊԵՑԻՖԻԿ ՀԱԿԱՄԱՐՄԻՆՆԵՐ
 ԱՐԳԱՆԴԻ ՔԱՂՅԿԵՂՈՎ ՀԻՎԱՆԴՆԵՐԻ ՄՈՏ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ելնելով արտասահմանյան որոշ հետազոտողների տվյալներից սովորական հերպեսի վիրուսի ուռուցքածին ունակության և մարդկանց մոտ քաղցկեղի որոշ ձևերի առաջացման պրոցեսում այդ վիրուսի հնարավոր դերի վերաբերյալ, հեղինակները ուսումնասիրել են արգանդի վզիկի քաղցկեղի և այդ վիրուսի սերոլոգիական կապի առկայությունը: Արգանդի վզիկի քաղցկեղով տառապող անհատների մոտ կոմպլեմենտ կապող հակահերպեսային հակամարմիններ հայտնաբերվել են ավելի հաճախ, քան սուզիչ խմբի կանանց մոտ (կրծքագեղձի քաղցկեղ, առողջներ):

Չեղոքացման ռեակցիայի օգնությամբ պարզվել է, որ արգանդի վզիկի քաղցկեղով տառապող կանանց մոտ հիմնականում հայտնաբերվում են 2-րդ սերոտիպին պատկանող հակամարմիններ, իսկ առողջ կանանց մոտ՝ 1-ին սերոտիպին պատկանող հակամարմիններ: Այսպիսով հետազոտությունները հաստատում են արգանդի վզիկի քաղցկեղի և հասարակ հերպեսի վիրուսի կապակցությունը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Aurelian Laure* Cancer Res., 1974, 34, 5, 1126.
2. *Daral G., Munk R.* Nature New Biol., 1973, 241, 113, 268.
3. *Goodheart Clyde R.* Cancer Res., 1974, 34, 5, 1136.
4. *Mckendal Robert R., Vogeltang Nicholas, Jackson George G.* Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1974, 146, 4, 1093.
5. *Nahmlas A. J., Josey W. E., Naib Z. M., Luce C. F., Duffy A.* Amer. J. Epidemiol., 1970, 91, 539.
6. *Nahmlas A. J., Naib Z. M., Josey W. E.* Cancer Res., 1974, 34, 5, 1111.
7. *Plummer G., Masterson J.* Amer. J. Obstet., 1971, 111, 1, 81.
8. *Rapp F., Duff R.* Cancer Res., 1973, 33, 6, 1527.
9. *Rawls W. E., Imamoto K., Adam E., Melnic J. L.* J. Immunol., 1970, 104, 3, 599.
10. *Vestergaard B. F., Hornsleth A., Pedersen S. N.* Ugeskr. laeger., 1973, 135, 27, 1425.
11. *Waltz M., Antoinette, Price Richard W., Notkins Abner Lous* Science, 1974, 184, 4142, 1185.