

## Современные подходы к иммунотерапии заболеваний, вызванных онкогенными типами вируса папилломы человека

Л.Г. Хачатрян

Центр медицинской генетики НАН РА

375010, Ереван, ул. Закияна, 5/1

**Ключевые слова:** вирус папилломы человека, иммунотерапия, ликопид, полиоксидоний, виферон, инфекции, передаваемые половым путем (ИППП), полимеразная цепная реакция, ПАП-мазок, кольпоскопия

Своевременная диагностика, лечение и профилактика заболеваний, вызванных вирусом папилломы человека (ВПЧ), несмотря на значительные успехи медицины в этой области, продолжают оставаться чрезвычайно сложной задачей для практических врачей [6, 10, 12, 13]. Важную роль в развитии генитальных вирусных заболеваний играет дисбаланс иммунной системы. В свою очередь, вирусная инфекция усугубляет это состояние, что приводит к длительному персистированию вируса в организме и рецидивам заболевания. Папилломавирусная инфекция (ПВИ), как правило, сопровождается угнетением иммунитета [2, 5, 6]. Все вышесказанное диктует необходимость применения иммуномодулирующих препаратов в лечении ПВИ, тем самым помогая иммунной системе справиться с вирусной инфекцией без использования специфических противовирусных препаратов, которых, как известно, против ВПЧ пока не создано [5]. В настоящее время одной из групп иммуномодулирующих препаратов являются муромилдипептиды [3]. Из этой группы препаратов мы остановились на разработанном российскими исследователями препарате ликопид, который обладает выраженной противоопухолевой, адъювантной и противоинойфекционной активностью. Как показали исследования, препарат довольно эффективен при острых и хронических инфекциях, особенно при вирусных инфекциях гениталий. В частности, показана высокая эффективность ликопида при лечении патологии шейки матки, вызванной ВПЧ [3].

В последнее время в клинической практике широко используется препарат полиоксидоний, обладающий модулирующим действием на различные звенья иммунной системы. Наряду с иммуностимулирующим действием полиоксидоний обладает выраженным дезинтоксикационным, антиоксидантным и мембраностабилизирующим эффектом [4].

Целью настоящего исследования явились разработка и апробация оптимальной схемы комплексной иммунотерапии женщин репродуктивного возраста,

инфицированных ВПЧ, с различными результатами цитологического исследования мазков шейки матки.

### Материал и методы

В качестве материала при проведении молекулярно-генетического исследования, с целью детекции онкогенных типов ВПЧ и сопутствующих ИППП, были использованы мазки и соскобы из цервикального канала 111 женщин репродуктивного возраста.

Молекулярно-генетический анализ включал:

- метод экстракции геномной ДНК из первичного материала, который проводился с применением наборов фирмы "Gentra" (США);
- метод амплификации ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) [8].

Амплификация проводилась в смеси, состоящей из следующих компонентов: воды, 10х ПЦР буфера, праймеров, смеси dNTP, Tag-полимеразы, MgCl<sub>2</sub> и ДНК пациента.

Реакция амплификации проводилась в 30 мкл реакционной смеси по различным схемам, подобранным для каждой отдельной инфекции.

Эффективность амплификации оценивалась в 2% агарозном геле. Результаты визуализировались при помощи трансиллюминатора и фиксировались на пленке Kodak [9].

**Цитология.** Цитологическое исследование осуществлялось по методу Папаниколау (ПАП-мазки) наборами PAP-PAK Cytology kit (фирма "MPC"), которые обеспечивают взятие материала со всех поверхностей, включая зону стыка многослойного плоского и цилиндрического эпителиев. Оценка результатов ПАП-мазков проводилась согласно классификации, предложенной Национальным институтом по изучению рака (Bethesda, США) [11]:

- 1) цитограмма в пределах нормы (negative);
- 2) доброкачественные реактивные и репаративные



изменения;

3) неклассифицируемые атипичные клетки плоско-го эпителия (ASCUS);

4) изменения плоского эпителия низкой степени злокачественности (LSIL);

5) изменения плоского эпителия высокой степени злокачественности (HSIL).

**Кольпоскопия.** Для оценки кольпоскопической картины мы использовали рекомендации Н. Bauer [7], где обобщены атипичные и отклоняющиеся от нормы состояния по критерию подозрения на рак: мозаика, пунктация, уксусно-белый эпителий, лейкоплакия,

атипичные сосуды. Кольпоскопически выявлялись границы и масштабы поражения, выбирались участки для проведения прицельной биопсии шейки матки.

## Результаты и обсуждение

В результате молекулярно-генетического исследования были выявлены различные онкогенные типы ВПЧ. Исходя из результатов цитологического анализа обследованные женщины были распределены нами на 5 групп (табл. 1).

Таблица 1

*Распределение ВПЧ-инфицированных женщин по результатам цитологического исследования*

| Результаты цитологического исследования мазков с шейки матки | Количество ВПЧ-инфицированных женщин |
|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| Норма (negative) – I гр.                                     | 17                                   |
| Реактивные и репаративные изменения – II гр.                 | 31                                   |
| Неклассифицируемые атипичные клетки (ASCUS) – III гр.        | 11                                   |
| Изменения низкой степени злокачественности (LSIL) – IV гр.   | 36                                   |
| Изменения высокой степени злокачественности (HSIL) – V гр.   | 16                                   |
| Всего                                                        | 111                                  |

До апробирования представляемой схемы комбинированной иммунотерапии нами была проведена иммуномодуляция у 40 ВПЧ-инфицированных женщин препаратом ликолипид и у 39 ВПЧ-инфицированных женщин препаратом полиоксидоний. В контрольную группу вошли 30 ВПЧ-инфицированных женщин, не получавших иммунотерапию.

Во всех группах местно применялся виферон (человеческий рекомбинантный интерферон альфа-2b), который оказывает противовирусное, иммуномодулирующее и антипролиферативное действие [1]. Для корректности оценки результатов сравнивались клинические группы женщин репродуктивного возраста с одинаковыми цитологическими и кольпоскопическими изменениями.

Контроль эффективности лечения проводился на основании заключения молекулярно-генетического анализа на наличие онкогенных типов ВПЧ, а также цитологического и кольпоскопического исследований.

В контрольной группе, к концу первого года наблюдения, при повторных исследованиях ДНК ВПЧ не определялась только в 3% случаев.

Эффективность лечения в группах женщин, принимавших в одном случае только ликолипид, а в другом – полиоксидоний, была практически одинаковой, соот-

ветственно 40,5 и 37,4%. При этом к концу первого года наблюдения, в группе женщин, принимавших только ликолипид, в 25% случаев наблюдались рецидивы ПВИ, а в группе женщин, принимавших только полиоксидоний, рецидивы наблюдались в 28% случаев. Это послужило причиной для разработки новой комбинированной схемы лечения. Предлагаемая комплексная иммунотерапия включала оба препарата и была проведена по следующей схеме:

- ликолипид по 10 мг per os, за 20 мин до еды, 10 дней;
- полиоксидоний по 0,006 г, растворенный в 1,5 мл раствора NaCl изотонического, ex tempore, внутривенно, через день, на курс 10 инъекций.

Местно (интравагинально) использовался виферон в виде свечей, по 1 млн ед., 10 дней.

При сочетании ВПЧ с другими ИППП проводилась соответствующая специфическая терапия. Несомненно, одним из важных показателей местного иммунитета является состояние вагинального микробиоценоза, поэтому лечение сочеталось с восстановлением микрофлоры.

Результаты эффективности комбинированного лечения представлены в табл. 2. Как видно из табли-



цы. комплексное лечение оказалось высоко эффективным.

Отмеченные комбинированные курсы терапии проводились нами двукратно в I группе только у 1 женщины (5,9%), в III – у 4 (36,4%), в IV – у 8 (22,2%). Было показано, что у ВПЧ-инфицированных женщин эффективность терапии снижается с возрастанием степени поражения плоского эпителия шейки матки, что требует проведения повторных курсов лечения.

Если в первых трех группах консервативные методы лечения оказались достаточными, то в IV группе в

3 случаях (8,3%) проведена прицельная биопсия шейки матки с последующей электроконизацией, по причине сохраняющихся кольпоскопических критериев атипизации.

Всем женщинам с цитологическим заключением об изменении плоского эпителия высокой степени злокачественности (V группа) проведена прицельная биопсия. Лечение начинали только после гистологического подтверждения диагноза и определения границ патологического очага.

Таблица 2

Оценка эффективности лечения по группам

| Лечение                                 | Норма<br>(n=17) |      | Реактив.изм.<br>(n=31) |     | ASCUS<br>(n=11) |      | LSIL<br>(n=36) |      | HSIL<br>(n=16) |      |
|-----------------------------------------|-----------------|------|------------------------|-----|-----------------|------|----------------|------|----------------|------|
|                                         | п               | %    | п                      | %   | п               | %    | п              | %    | п              | %    |
| 1 курс лечения                          | 16              | 94,1 | 31                     | 100 | 7               | 63,6 | 25             | 69,5 | 1              | 6,3  |
| 2 курса лечения                         | 1               | 5,9  | –                      | –   | 4               | 36,4 | 8              | 22,2 | 2              | 12,5 |
| Лечение, сочетанное с электроконизацией | –               | –    | –                      | –   | –               | –    | 3              | 8,3  | 13             | 81,2 |

В одном случае гистологический диагноз свидетельствовал о наличии дисплазии легкой степени и больная получила вышеотмеченный курс лечения. Данные контрольных обследований подтвердили эффективность лечения. 13 женщинам лечение было проведено сочетанно с электроконизацией шейки матки.

Цитологическое исследование мазков с шейки матки и кольпоскопия проводились, после отрицательного заключения ПЦР анализа на наличие онкогенных типов ВПЧ, каждые три месяца и не выявили

патологических изменений плоского эпителия шейки матки в течение первого года наблюдения.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой эффективности вышеуказанной комплексной иммунотерапии женщин, инфицированных онкогенными типами ВПЧ, по сравнению с лечением, включающим только один из вышеупомянутых иммуномодуляторов.

Комплексная терапия, как показали наши результаты, обеспечивает у пациенток достижение стойкого клинического эффекта.

Поступила 27.01.05

## Մարդու պապիլոմավիրուսի ուռուցքաձին տիպերով հարուցված հիվանդությունների իմունաթերապիայի ժամանակակից մոդերնումները

Լ.Գ. Խաչատրյան

Պապիլոմավիրուսային վարակը (ՊՎՎ) ուղեկցվում է օրգանիզմի իմունիտետի ընկճմամբ, այդ պատճառով ՊՎՎ-ի բուժումը պետք է ուղղված լինի իմունային համակարգի ակտիվացմանը, նրան օգնելով պայքարել վիրուսային վարակի դեմ, քանի որ, ինչպես հայտնի է, ՊՎՎ-ի դեմ դեռևս ստեղծված չեն հատուկ դեղամիջոցներ:

ՊՎՎ-ով վարակված 111 կանանց մոտ անց է կացվել իմունոթերապիա հետևյալ դեղամիջոցներով՝

լիկոպիլ, պոլիօսիդոնիում, վիֆերոն (տեղային):

Բուժման արդյունավետությունը հսկվել է մոլեկուլազենետիկական (PCR), բջջաբանական (PAP-քսուր) և կոլպոսկոպիկ հետազոտություններով:

Հետազոտության արդյունքները ցույց են տալիս, որ հետազոտված կանանց մեծամասնության մոտ իմունաթերապիան ապահովում է կայուն դրական արդյունք:



## Modern approaches to the immunotherapy of diseases induced by oncogenic types of human papillomavirus

L.G. Khachatryan

Papillomaviral infection (PVI) is accompanied by the depression of immune system, therefore, the treatment of PVI should be directed towards the raising of the immune system helping the latter to overcome the infection until there is any specific medicine against PVI.

Human papillomavirus (HPV)-infected 111 women

underwent an immunotherapy using licopid, polyoxidonium and viferon locally. The efficiency of the treatment was controlled by a molecular-genetic and cytological analyses, and colposcopy.

Our results show that after the immunotherapy positive results have been achieved in most of the patients.

### Литература

1. Козлова В.И., Пухнер А.Ф. Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий. М., 1997.
2. Новиков А.И., Кононов А.В., Ваганова И.Г. Инфекции, передаваемые половым путем, и эктоцервикс. М., 2002.
3. Пинегин Б.В., Андронova Т.М., Карсонова М.И. Int.J. on Immunorehabilit. 1998, 10, с. 27.
4. Пинегин Б.В., Некрасов А.В., Хаитов Р.М. В сб.: Современ. пробл. аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии. 2001, т.1, с. 334.
5. Роговская С.И., Прилепская В.Н. Гинекология, 2002, т.4, 3.
6. Скрипкин Ю.К., Шарапова Г.Я., Селицкий Г.Д. Инфекции, передаваемые половым путем. М., 2001.
7. Bauer H. Кольпоскопия. М., 2002.
8. Clinical applications of PCR (Methods in Molecular Medicine, Vol.16). Edited by D.Lo. Humana Press., March 1998.
9. DNA Profiling Protocols (Methods in Molecular Biology, Vol.98.) Edited by P.J.Lincoln and J.Thomson. Humana Press., January 1998.
10. Gross G., Barasso R., Human Papillomavirus infection. Atlas, Berlin/Wiesbaden, Ulsein Mosby, 1997.
11. National Cancer Institute Workshop. J.A.M.A., 1989, 262:931.
12. Nindl I., Greinke C., Zahm D.M. et al. Int.J.Gynecol. Pathol., 1997, 16(3): 197.
13. Tabrisi S.N. et al. Br. Obst. Gyn., 1999, 106: 252.