

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994

УДК 616.146-022:578.827.1]-092:612.017.1]-085

Б. В. Пинегин, Г. Н. Минкина, И. Б. Манухин,
О. А. Сапрыкина, В. Б. Сапрыкин, А. В. Кулаков,
А. В. Симонова, Т. Н. Андропова

ВЛИЯНИЕ ГЛЮКОЗАМИНИЛМУРАМИЛДИПЕПТИДА НА ИММУННЫЙ СТАТУС И КЛИНИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ БОЛЬНЫХ С ПОРАЖЕНИЕМ ШЕЙКИ МАТКИ ВИРУСОМ ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА*

Институт иммунологии Минздрава России, Москва; Московский медицинский стоматологический институт им. Н. А. Семашко

Лечение и профилактика поражений шейки матки, вызванных вирусом папилломы человека (ВПЧ), являются актуальными проблемами онкогинекологии, так как в 4—10 % случаев эти поражения ведут к развитию рака шейки матки [2, 5, 6]. Основным методом лечения данной патологии является лазерная вапоризация, заключающаяся в деструктивном воздействии на измененный эпителий. Однако применение этого метода не всегда ведет к полному восстановлению эпителия, нередко возникают рецидивы заболевания [7, 10]. В связи с этим в последние годы возрос интерес к методам иммунологического воздействия на патологический процесс, применению иммунокорректирующих препаратов и разработке на этой основе более эффективного комбинированного лечения [5, 6, 10].

Целью данной работы было изучение влияния глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП) на иммунный статус и клиническое состояние больных с поражением шейки матки ВПЧ.

Методика исследования. Иммунологическое обследование проводили до начала лечения и через 3 дня после окончания курса лечения ГМДП. В крови определяли с помощью краски Задорожного С. И. и Дозморова И. М. процент и абсолютное число лейкоцитов и лимфоцитов [4], с помощью моноклональных антител к дифференцировочным антигенам Т-лимфоцитов (любезно предоставленных А. В. Филатовым, Институт иммунологии Минздрава РФ) и проточного цитометра «EPICS PROFILE II» фирмы «COULTER» — Т-супрессоров/киллеров (CD8+) и Т-хелперов/индукторов (CD4+), общей популяции Т-лимфоцитов (CD3+) и натуральные киллеры (CD16+). Методом Манчини и соавт. [11] определяли концентрацию сывороточных IgG, IgA, IgM. Иммуноглобулины в слизи и слюне определяли с помощью неконкурентного 2-сайтового иммуноферментного анализа. Для этого полистироловые 96-луночные плоскодонные планшеты («Greiner») сенсibilизировали -аффинно очищенными антителами против соответствующих изоформ иммуноглобулинов («Calbiochem») в дозе 10 мкг/мл (2 мкг/мл для определения IgE) на лунку в течение 16 ч при 4 °С, затем вносили на 1 ч при 37 °С 100 мкл слизи или слюны в разведении 1:100 для определения IgA, IgM, IgG, sIgA; для определения IgD и IgE образцы вносили неразведенными. После этого в лунку вносили на 1 ч при 37 °С 100 мкл IgG против соответствующих изоформ иммуноглобулинов, конъюгированных с пероксидазой хрена («Sigma»). Реакцию проявляли с помощью ортофенилиндиамина, перекиси водорода, реакцию останавливали

* Работа выполнена при финансовой поддержке ГНТП «Создание новых лекарственных средств методами химического и биологического синтеза». Направление 01.

10 % раствором серной кислоты. Результат учитывали при длине волны 492 нм на спектрофотометре системы мультискан («Flow»), Концентрацию рассчитывали с помощью компьютерных программ, результаты представляли в микрограммах на миллилитр.

Полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Группу наблюдения составили 50 женщин в возрасте 20—30 лет (средний возраст 26,7 года) с папилломавирусным поражением шейки матки. ВПЧ-инфекция шейки матки диагностирована на основании расширенной кольпоскопии и подтверждена морфологически. Длительность заболевания составила от 1 до 3,5 года. В комплексное лечение 30 больных был включен ГМДП. 20 больных получали плацебо.

Контрольную группу составили соматически и гинекологически здоровые женщины в возрасте - от 20 до 30 лет (средний возраст 25,6 года).

ГМДП и плацебо (производство Института биоорганической химии им. М. М. Шемякина) назначали по 0,001 г 1 раз в день в течение 10 дней в виде таблеток внутрь.

В связи с различным содержанием иммуноглобулинов в слизи цервикального канала в зависимости от фазы менструального цикла лечение Начинали с 8—10-го дня от начала менструации.

После курса ГМДП на 4—5-й день менструального цикла производилось радикальное воздействие на измененный эпителий, заключающееся в деструкции с помощью CO₂-лазера («LIMMER») мощностью 10—15 Вт. Срок дальнейшего наблюдения за больными составил от 6 до 12 мес. Результаты лечения оценивали кольпоскопически и цитологически.

Результаты и обсуждение. Клинический статус. Полное клиническое выздоровление наблюдалось у 27 (90 %) больных женщин, получивших комплексное лечение — ГМДП и лазерную вапоризацию, и у 13 (65%) больных, получивших плацебо и лазерную вапоризацию. У 3 больных, получавших комплексное лечение, и 7 больных, получавших только радикальное лечение, отмечен рецидив кондилом шейки матки. Некоторые исследователи [1] показали, что, как правило, полное клиническое выздоровление после радикального лечения ВПЧ-поражения шейки матки без применения иммуностимуляторов составляет 60—65 %. Представленные результаты показывают высокую терапевтическую эффективность комплексного применения радикального лечения (лазерная вапоризация) и иммуностимулятора ГМДП у женщин с ВПЧ-поражением шейки матки по сравнению с одним радикальным лечением.

Местный иммунитет. У больных женщин наблюдается существенное •• понижение уровня IgA, sIgA и IgG в слизи цервикального канала по сравнению со здоровыми (табл. 1). После комплексного лечения с применением ГМДП происходит увеличение концентрации sIgA в слизи цервикального канала, как при положительном клиническом эффекте, так и без такового. Однако увеличение содержания sIgA после комплексного лечения у женщин с положительным клиническим эффектом было значительно выше — 19,40 мг% по сравнению с этим же показателем у женщин без клинического эффекта — 10,04 мг% ($p < 0,05$). Содержание IgA также увеличивалось после лечения, но это увеличение

было значительным только у женщин с положительным клиническим эффектом. Возможно, с повышением уровней как sIgA, так и IgA связан положительный эффект комплексного лечения с применением ГМДП. Так как у женщин, получавших плацебо и радикальное лечение, не наблюдалось повышения содержания ни sIgA, ни IgA, следует допустить, что выраженное повышение уровней иммуноглобулинов этих классов в слизи цервикального канала женщин с ВПЧ-поражением шейки матки связано с приемом ГМДП. Содержание IgG после лечения не увеличивалось. Интересными оказались данные об уровне иммуноглобулинов в слюне. Установлено, что содержание иммуноглобулинов всех классов в этой секреторной жидкости существенно повышено. В настоящий момент нам трудно дать объяснение этому наблюдению. Возможно, что те невысокие концентрации вирусного антигена, которые попадают в ткань слюнных желез, могут несколько стимулировать местный синтез иммуноглобулинов. Значимых изменений в уровне иммуноглобулинов в слюне после лечения не происходило.

Системный иммунитет. Уровни сывороточных иммуноглобулинов у женщин с ВПЧ-поражением шейки матки существенно не отличались от таковых у здоровых женщин, за исключением некоторого повышения уровня IgA. После комплексного лечения с применением ГМДП в крови повышался уровень IgM, причем примерно одинаково в группах с положительным клиническим эффектом и без такового. Мы допускаем, что это изменение непосредственно не связано с клиническим эффектом, а отражает улучшение функционирования иммунной системы организма в целом (см. табл. 1). Возможно, повышение уровня IgM связано со способностью ГМДП

стимулировать Т-лимфоциты и прежде всего хелперные клетки [1].

Из показателей системного иммунитета наибольший интерес вызывают уровни иммунокомпетентных клеток (табл. 2). Прежде всего у больных с ВПЧ-поражением шейки матки понижено число лейкоцитов относительно группы сравнения. В группе больных, получавших ГМДП с положительным клиническим эффектом, содержание лейкоцитов и лимфоцитов повысилось и достигло цифр контрольной группы. Важно отметить, что у больных с ВПЧ-поражением шейки матки число лейкоцитов и лимфоцитов осталось практически без изменения.

Как у больных с положительным клиническим эффектом, так и у больных с рецидивом заболевания наблюдается понижение абсолютного числа CD4⁺ и CD3⁺ Т-лимфоцитов (см. табл. 2). Интересно, что у больных с рецидивом заболевания было более выраженное исходное понижение содержания CD4⁺ (362,8±35,5) и CD3⁺ (643,1 ± ±50,2) Т-клеток по сравнению с больными, имеющими положительный клинический эффект (522,8±46,8 и 843,1 ± ±61,9 соответственно). Однако в силу малой величины выборки эта разница недостоверна. После комплексного лечения с применением ГМДП в группе больных с положительным эффектом происходит значительное увеличение как CD4⁺, так и CD3⁺ Т-лимфоцитов. Таких изменений не наблюдалось в группе больных с рецидивом заболевания, а также в группе больных, получавших плацебо. Интересно изучить причинно-следственные связи между положительным клиническим эффектом комплексного лечения с применением ГМДП и увеличением числа лимфоцитов, CD4⁺ и CD3⁺ Т-лимфоцитов после применения ГМДП, т. е. является ли положительный эффект результатом

Таблица 1

Концентрация иммуноглобулинов (в мкг) у женщин с ВПЧ-поражением шейки матки, леченных ГМДП

Группа обследованных	Срок исследования	Число обследованных	Сыворотка крови			Слизь цервикального канала	
			IgA	IgM	IgG	IgA	IgM "
Здоровые женщины		20	169,3± 11,0	112,7± 16,2	1375±4=88,8	6,08±0,85	0
Больные женщины, имеющие положительный эффект после лечения ГМДП	До лечения	27	216,0± 16,8*	123,8± 10,4	1424±48,1	3,15±0,98*	3,18±2,21
	После лечения	27	228,7±18,2	160,8± 11,2**	1258±4=51,1"	5,96±1,02*	1,8± 1,65
Больные с рецидивами заболевания после лечения ГМДП	До лечения	3	208,4± 13,1	118,5± 12,6	1474±43,8	3,02±0,97*	2,98±1,01
	После лечения	3	214,5± 13,2	148,6±10,1**	1364±40,2	4,69±0,86	2,73±0,95
Больные, получавшие плацебо	До лечения	20	211,0±15,3*	133,2± 12,1	1442±4=52,3	3,28±0,68*	3,25±1=2,01
	После лечения	20	217,0±20,0	129,8± 10,2	1386±44,7	3,08±4= 1,23	3,31 ±2,34

Продолжение

Группа обследованных	Срок исследования	Число обследованных	Слизь цервикального канала			Слюна			
			IgG	sIgA	IgD	IgA	IgM.	IgG ■	sIgA
Здоровые женщины		20	15,42± 1,32	7,19±0,62	0,260±0,11	3,07±0,62	0	6,07±0,79	12,4± 1,46
Больные женщины, имеющие положительный эффект после лечения ГМДП	До лечения	27	9,57±2,19*	3,80±0,84*	0,326±0,16	11,45±3,48*	3,17± 1,05	16,19±4,01 *	26,53±5,23*
	После лечения	27	12,01 ±3,01	19,40±3,1 !*	0,315±0,17	13,16±2,98	1,65±1,1	15,05±4,88	25,46±4,96
Больные с рецидивами заболевания после лечения ГМДП	До лечения	3	8,57±1,64*	3,10±0,68*	0,344±0,14	9,75±2,63*	3,47±0,87	14,19±2,91 •	21,74±3,58*
	После лечения	3	11,22±2,10	10,04±2,32**	0,331 ±0,17	1 1,61 ±3,68	2,56±0,83	14,86±3,68	21,46±3,75
Больные, получавшие плацебо	До лечения	20	10,01 ±2,30*	4,01 ±0,76*	0,341 ±0,19	10,89±3,91 *	2,89± 1,49	15,45±4,30*	24,3±5,11*
	После лечения	20	8,40±3,05	3,75±0,81	0,290±0,21	10,1 ±3,71	3,07±2,01	13,02±4,13	27,05±6,12

* p<0,01 — сравнение группы контроля с группой больных до лечения.

** p<0,01 — сравнение группы больных до лечения и после лечения.

Таблица 2

Содержание лейкоцитов, лимфоцитов и их субпопуляций в периферической крови у больных с папилломавирусной инфекцией шейки матки, леченных ГМДП

Группа обследованных	Срок исследования	Число обследованных	Лейкоциты		Лимфоциты		СЭЗ+-клетки	
			абс.	%	абс.	%	абс.	
Здоровые женщины		20	5615±200	35,4±2,86	1988± 161	60,4±3,4	1201,0±67,6	
Больные с положительным эффектом лечения ГМДП	До лечения	27	4432±310*	34,11 ±3,16	1511±140*	55,8±4,1	843,1 ±61,9*	
	После лечения	27	5723±304**	35,77±2,68	2046±153**	59,12±3,6	1210,0±73,7**	
Больные с рецидивами заболевания после лечения ГМДП	До лечения	3	4134±243* '	33,11±2,18	1321 ±96*	52,8±3,3	643,1 ±50,2*	
	После лечения	3	4086±164	33,07±1,88	1266±87	57,12±2,5	753,0±43,1	
Больные, получавшие плацебо	До лечения	20	4513±270*	35,01 ±2,73	1579±123*	54,9±3,81 .	886,8±60,2*	
	После лечения	20	4374±265	34,80±2,8	1521±122	55,1 ±3,71	837,9±56,4	

Продолжение

Группа обследованных	Срок исследования	Число обследованных	СО4+-клетки			СО8+-клетки			В-клетки		CD 16+-клетки				
			%	1	абс.	%	1	абс.	•%	1	абс.	▼	%	1	абс.
Здоровые женщины		20	40,3±3,2	801,2±63,6	21,8±4,1	433,4±81,6	5,14± 1,05	102,6±20,8	12,4±2,2 ■	246,5±43,4					
Больные с положительным эффектом лечения ГМДП	До лечения	27	34,6±3,1	522,8±46,8*	24,2±2,87	365,7±43,4	5,3±0,8	80,1 ±12,1	80,1±12,1	246,3±31,7					
	После лечения	27	41,8±3,7	855,2±75,7**	20,3±3,17	415,3±64,9	5,08±1,07'	103,8±21,7	13,1±2,3	268,1 ±47; 1					
Больные с рецидивами заболевания после лечения ГМДП	До лечения	3	30,1 ±2,3*	362,8±38,5*	23,1 ±1,78	285,6±39,6	5,5±0,76	68,3±13,2	15,4±1,7	186,3±32,2					
	После лечения	3	32,6±1,7 '	455,2±34,6	25,5± 1,57	345,7±33,9	5,3±0,67	83,1±11,7	14,2± 1,6	208,3±29,4					
Больные, получавшие плацебо	До лечения	20	33,7±3,17	532,1 ±50,1*	25,1 ±3,08	402,8±49,4	5,28±0,96	82,26± 15,0	15,6±3,1	246,3±48,9					
	После лечения	20	32,0±2,97	486,6±45,2	23,8±3,2	361,9±48,7	5,4±1,1	82,12±16,7	16,1 ±2,87	244,8±43,6					

* p<0,01 — сравнение группы контроля с группой больных до лечения.

♦* p<0,01 — сравнение группы больных до лечения и после лечения.

увеличения числа клеток, относящихся к этим субпопуляциям. Интересен также вопрос о связи положительного эффекта лечения с исходным уровнем CD4⁺ и CD3⁺ Т-лимфоцитов, т. е. о возможной связи положительного эффекта ГМДП с уровнем Т-лимфоцитов. Для решения этих вопросов требуются дальнейшие наблюдения. В целом можно сделать вывод, что ГМДП существенно повышает содержание СО4⁺-лимфоцитов у больных с ВПЧ-поражением шейки матки. Повышение числа СЭ4⁺-лимфоцитов может быть одной из причин выявления у наших больных увеличения концентрации сывороточного IgM. Однако данное предположение высказывается в порядке обсуждения полученных результатов и требует дальнейшего исследования.

Таким образом, наши исследования показали, что иммунная система при ВПЧ-поражениях шейки матки значительно отличается от состояния иммунной системы здоровых женщин. Это прежде всего касается местного иммунитета (slgA и IgA) и уровня Т-лимфоцитов в крови. Как уже отмечалось, применение ГМДП в комплексном лечении ВПЧ-поражения шейки матки дает хоро-

ший клинический эффект. На основании этих результатов мы рекомендуем включать иммуностимулятор ГМДП в комплексное лечение больных с этой патологией.

Результатом применения ГМДП у больных с ВПЧ-поражением шейки матки было увеличение содержания в слизи цервикального канала slgA и IgA. Возникает вопрос о механизме этого повышения. Ранее было показано существенное повышение уровня slgA в слизи, полученной при бронхоскопии у больных хроническими неспецифическими заболеваниями легких, леченных перорально препаратом солкотриховак, состоящим из убитых лактобацилл [8]. Согласно теории J. Bienenstock [9] об общем иммунитете слизистых оболочек пейеровы бляшки тонкого кишечника являются главным источником предшественников IgA-образующих клеток, откуда они расселяются по всем слизистым оболочкам. Можно допустить, что после приема иммуностимулятора внутрь в пейеровых бляшках увеличивается количество предшественников slgA и они расселяются по всем слизистым оболочкам. Следствием этого и становится увеличение количе-

ства IgA и IgG в секретах практически всех слизистых оболочек, в том числе и в слизи цервикального канала, после пероральной иммуностимуляции. Мы считаем, что наши результаты, показавшие повышение уровня IgA в слизи цервикального канала после приема иммуностимулятора ГМДП внутрь, являются серьезным подтверждением существования в организме человека общего иммунитета слизистых оболочек.

Выводы.

1. Комплексное лечение больных с ВПЧ-поражением шейки матки лазерной вапоризацией и применением иммуностимулятора ГМДП приводит к полному клиническому выздоровлению в 90 % случаев, тогда как лазерная вапоризация и плацебо обуславливают полное клиническое выздоровление лишь в 65 % случаев.

2. Иммунный статус больных с ВПЧ-поражением шейки матки характеризуется нарушениями как в системном (понижение числа CD4⁺ и CD3⁺ Т-лимфоцитов), так и в местном (понижение уровня IgA, IgG в слизи цервикального канала) иммунитете.

3. После лечения ГМДП у больных с положительным клиническим эффектом нормализуются показатели как системного, так и местного иммунитета: увеличивается число CD4⁺ и CD3⁺ Т-лимфоцитов и повышается уровень IgA и IgG в слизи цервикального канала.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин Ю. Я., Хлебни К. И. // Вести, дерматол.— 1987.— № 12.— С. 23—30.
2. Бодяжина В. И., Сметник В. П., Тумилович Л. Г. // Неоперативная гинекология.— М., 1990.— С. 299—312.
3. Бохман Я. В., Арсенова Л. В., Таджибаева Ю. // Первично-множественные злокачественные опухоли.— Л., 1986.— С. 81—90.
4. Задорожный С. Н. Оценка функциональной активности лимфоцитов в тесте инактивации ксеногенных стволовых клеток: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— М., 1988.
5. Мальцева Н. М., Кузнецов В. П., Иванова Л. И. и др. // Актуальные проблемы иммунологии: Иммунодефициты и иммунокоррекция.— Владивосток, 1987.— С. 146.
6. Снитковский Д. Д., Нестерова И. В., Збровская И. Б. и др. // Докл. АН СССР,—1989,—Т. 306,—С. 1476—1478.
7. Чарквиани Т. Л. // Иммунологические аспекты профилактики ранней диагностики и лечения рака шейки матки.— Тбилиси, 1982.— С. 80—91.
8. Шульженко А. Е., Борисова А. М., Еремичева О. Ф. и др. // Иммунология.— 1991.— № 6.— С. 63—65.
9. Bienenstock J. // Immunology.— 1980.— Vol. 41, N 2.— P. 249—270.
10. Boden E., Eriksson A., Rylander E., Shoultz B. // Acta obstet. gynec. scand.— 1988.— Vol. 67, N 2.— P. 147—151.
11. Mancini G., Nash D. R., Heremans J. F. // Immunochimistry.— 1970.— Vol. 7.— P. 261—264.

Поступила 04.02.93

© Н. М. СТАРОСТИНА, В. С. ШИРИНСКИЙ, 1994

УДК 616-092:612.017.1.064]-021.5-057-07

Н. М. Старостина, В. С. Ширинский

ВТОРИЧНЫЕ ИММУНОДЕФИЦИТЫ и ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ КОРРЕКЦИИ НА КРУПНЫХ ПРОМЫШЛЕННЫХ ПРЕДПРИЯТИЯХ

Институт клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск

До 40 % всех трудовых потерь, обусловленных временной нетрудоспособностью в промышленных городах, приходится на долю часто и длительно болеющих (ЧДБ). Одной из причин хронизации воспалительных заболеваний, частых рецидивов и резистентности к терапии являются нарушения системы иммунитета с формированием вторичного иммунодефицита (ВИД).

Цель данной работы состояла в изучении распространенности ВИД среди ЧДБ и возможности их коррекции на крупных промышленных предприятиях.

Методика исследования. Больных отбирали врачи поликлиники на основании анамнеза и итогов амбулаторного наблюдения. Среди ЧДБ большую часть составили больные хроническими воспалительными заболеваниями ЛОР-органов, органов дыхания, женщины с гинекологической патологией.

Диагноз структурного ВИД ставили на основании затяжного или хронического воспалительного процесса с частыми рецидивами, резистентности к антибактериальной терапии, а также, по изменению содержания или функции Т-, В-лимфоцитов и моноцитов/макрофагов [5].

Для оценки иммунного статуса применяли определение ЕА-фагоцитоза и НСТ-редукции обогащенной суспензии моноцитов [4], содержания различных субпопуляций Е-РОК, расчет показателя функции тимуса (ПФТ) [3], эффекторных функций Т-лимфоцитов [2]; содержание иммуноглобулинов основных классов определяли с помощью иммунохимической системы.

Результаты обработаны методом вариационной статистики с вычислением коэффициента *t* по Стьюденту [1].

Результаты и обсуждение. Обследовано 250 ЧДБ, страдающих частыми респираторными заболеваниями, хроническими воспалительными процессами ЛОР-органов, бронхолегочной системы и работающих на крупном промышленном предприятии Новосибирска.

Структурный ВИД, ассоциированный с часто рецидивирующим хроническим воспалением, установлен в 53,2% случаев. Среди обследованных

Таблица 1

Показатель	Иммунный статус ЧДБ, M±m		
	Доноры	ЧДБ	p
Тотальные Е-РОК «Восстановленные»	60,2±0,59	40,7±4,4	<0,01
Е-РОК	33,7±1,6	44,6±3,6	<0,05
«Ранние» Е-РОК	36,5±2,7	24,5±2,5	<0,01
pЕ-РОК/ВЕ-РОК	0,77±0,06	0,57±0,07	<0,05
ПФТ	0,85±0,09	0,62±0,09	>0,05
ЕА-фагоцитоз моноцитов	46,5±2,5	27,2±4,1	<0,001
НСТ-редукция моноцитов	16,9±1,1	9,9±1,6	<0,01

Примечание. Показатели содержания иммуноглобулинов основных классов и эффекторной функции лимфоцитов не приводятся, поскольку различий между больными и донорами по этим показателям не установлено.