

— КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

2 место конкурса молодых ученых на лучшую работу в области иммунологии

**ДЕФЕКТЫ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ
ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ НИЖНИХ ОТДЕЛОВ
ЖЕНСКОГО РЕПРОДУКТИВНОГО ТРАКТА И ВОЗМОЖНОСТИ
ИХ КОРРЕКЦИИ ликолипидом**

© 2007 МА- Аракелян, О.В. Галкина*, И.М. Нестеров, К.А. Сысоев*,
Э.К. Айламазян, А.А Тотолян*

*Кафедра акушерства и гинекологии Санкт-Петербургского
государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова;
ГОБУ УУ Научно-методический центр по молекулярной медицине
МЗ и СР РФ при Санкт-Петербургском
государственном медицинском университете им. акад. И.П. Павлова, СПб, Россия*

Впервые была изучена клинико-иммунологическая эффективность интравагинального применения ликолипида (вагинальные свечи, 10 мг по 1 свече ежедневно) в ходе монотерапии хронических инфекционно-воспалительных и дисбиотических заболеваний нижнего отдела женской репродуктивной сферы 30 пациенток репродуктивного возраста. Полное клиническое выздоровление было отмечено у 12 пациенток (40%), у 13 пациенток иммунотерапия выявила наличие ранее не диагностированных инфекционных заболеваний: хламидиоз, микоплазмоз, вирус простого герпеса. Препарат хорошо переносится, не обладает аллергическими или другими побочными эффектами. Локальная иммунотерапия ликолипидом приводила к нормализации вагинального микробиоценоза. Для оценки состояния местного иммунитета нижнего отдела женской половой сферы и влияния на него ликолипида был изучен иммуноглобулиновый и цитокиновый состав вагинального секрета. В ходе исследования было выявлено выраженное влияние препарата на показатели гуморального звена местной иммунной системы нижних отделов женского репродуктивного тракта. При изучении динамики цитокинов в вагинальном секрете были выявлены различия, связанные с характером течения патологического процесса: при нормализации вагинального микробиоценоза происходило повышение концентрации Иб-6, с параллельным снижением С-СББ ($p < 0.05$). У пациенток с отсутствием эффекта терапии (5 человек) отмечено достоверное повышение уровня Иб-6, С-СББ и ТЫБ-а ($p < 0.05$). В группе с обострением хронических инфекционных процессов местная терапия приводила к снижению концентрации Иб-6, С-СББ и ТЫБ-а. Ликолипид при местном введении не влиял на локальный уровень Иб-8 ни в одной из обследованных групп.

Таким образом, местная терапия ликолипидом является эффективным способом лечения хронических инфекционно-воспалительных и дисбиотических заболеваний нижнего отдела женской репродуктивной сферы.

Ключевые слова: ликолипид, местная иммунотерапия, вагинальные инфекции и дисбиозы

Проблема репродуктивно значимых инфекционно-воспалительных заболеваний женской половой сферы - одна из самых актуальных в современном акушерстве, гинекологии, перинатологии, ризиологии развития патологии беременности, голода и новорожденного, инфекционных воспалительных заболеваний урогенитальной сферы часто является изменение нормального микробиоценоза влагалища, нарушение функционирования местной иммунной системы. Иммунная мукозная система генитального тракта является первым барьером на пути инфекционных агентов. Все шире в комплексную терапию инфекционных заболеваний включаются препараты, обладающие иммуностимулирующими свойствами. Одним из препаратов, оказывающих выраженное воздействие на иммунную систему, является ликолипид — синтетический препарат, созданный на основе глюкозаминилму

рамилдипептида (ГМД) — вещества, входящего в состав клеточной стенки всех известных бактерий, в том числе нормальной микрофлоры человека. [1]. Естественное происхождение липоида обуславливает адекватного местного иммунного ответа [2]. Мурамилдипептиды, входящие в состав клеточной стенки бактерий, постоянно проникают через эпителиальный барьер, оказывая постоянное стимулирующее воздействие на местную иммунную систему. Они способствуют синтезу IL-1, TNF-а, IL-12 — цитокинов, способных стимулировать Т-лимфоциты или вызывать активацию макрофагов. Кроме того, препарат повышает экспрессию HLA-DR антигенов. Усиление синтеза IL-1 и экспрессии HLA-DR на моноцитах ведет к стимуляции гуморального и клеточного иммунитета [3]. Липоид через цитокиновую сеть стимулирует В-лимфоциты к усиленному синтезу иммуноглобулинов (в частности класса А), усиливая тем самым секреторный иммунитет [1]. При изучении эффективности липоида в терапии поражений шейки матки было показано что препарат способствует повышению концентрации иммуноглобулинов в цервикальной слизи, что указывает на повышение местного иммунитета [3]. Все эти факты свидетельствуют о том, что липоид активирует фагоцитоз, клеточный и гуморальный иммунитет, местный иммунитет слизистых оболочек отсутствие побочных эффектов, хорошую переносимость препарата пациентами, и даже новорожденными. Известно, что липоид в первую очередь воздействует на клетки миеломоноцитарного ряда, а именно на моноциты-макрофаги, играющие важную роль в патогенезе инфекций мочеполовой системы. Главным фармакологическим действием липоида является повышение функциональной активности макрофагов. Показано, что липоид стимулирует синтез макрофагами ряда цитокинов, среди которых можно отметить интерферон, IL-1, IL-6, TNF-а. Цитокины играют важную роль в развитии

В связи с этим **целью данного исследования** была оценка клинико-иммунологической эффективности интравагинального применения липоида (вагинальные свечи, 10 мг) в ходе монотерапии хронических инфекционно-воспалительных и дисбиотических заболеваний нижнего отдела женской репродуктивной сферы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 30 женщин репродуктивного возраста (средний возраст $28,4 \pm 1,1$ лет) с наличием хронических инфекционных заболеваний нижних отделов женского репродуктивного тракта: неспецифического бактериального вагинита, бактериального вагиноза и кандидозного вагинита. У 28 (95%) пациенток диагностирован хронический аднексит, у 2 (5%) — хронический эндометрит. Курс монотерапии составил 10 дней по 1 вагинальной свече. Клинико-микробиологические исследования с целью определения типа вагинального микробиоценоза, [4] проведенные по стандартным методикам, включали субъективное (жалобы пациенток) и объективное обследование (осмотр в зеркалах, вагинальный осмотр, УЗИ, анализ мазков на гонорею, скрытые инфекции: хламидии, микоплазму, уреоплазму). Клинико-микробиологическая эффективность курса терапии оценивалась по частоте нормализации вагинального биоценоза. Концентрацию иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG, sIgA, IgG1 — 4) в периферической крови и вагинальном секрете определяли иммуоферментным методом с помощью тест-систем фирмы "Полигност", проницаемость гисто-гематического барьера влагалища оценивали по уровню альбумина в периферической крови и вагинальном секрете. В образцах вагинального секрета определяли концентрацию IL-8, IL-6, TNF-а, G-GSF методом мультиплексного анализа на анализаторе Bioplex (Bio Rad, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Положительный клинический эффект применения липоида, выражающийся в верификации вагинального нормоценоза был отмечен у 12 пациенток (в 40% случаев) — группа 1. У пяти обследованных пациенток (17%) применяемая терапия оказалась неэффективной — группа 2. Наряду с этим, в 43% случаев (13 человек) констатировано обострение хронического воспалительного процесса. При повторном обследовании у 8 больных, входящих в эту группу, были выявлены ранее не диагностированные инфекционные заболевания: хламидиоз, микоплазмоз, вирус простого герпеса. У 50% пациенток этой группы после обострения отмечалось полное клиническое вызд-

Таблица. Концентрация иммуноглобулинов в вагинальном секрете пациенток с урогенитальной инфекцией. М.Д. Аракелян и др. начала иммунотерапии ликолипидом (мг/л)

Показатель	Норма	Группа 1 (положительный эффект терапии)	Группа 2 (без клинического эффекта)	Группа 3 (обострение воспаления)
IgA	199,5±13,9	77,7±34,7*	44,2±28,8**	179,8±43,2
IgM	16,3±3,3	2,9±0,9*	1,9±1,3"	17,7±6,3
IgG	252,9± 18,3	71,3±11,9***	97,1±12,3'*	237,5±53,1
sIgA	80,5±9,23	26,5±11,4**	9,7±3,9"	47,3±12,6
IgE	0,0015±0,0004	0,0033±0,0006**	0,004±0,0002*	0,002±0,0007
IgG1	155,9±18,2	48,5±11,3**	76,9±29,6"	189,3±34,4
IgG2	39,3±5,6	7,9±2,1"	15,8±4,1"	53,6±16,8
IgG3	13,3±2,46	2,5±1,6"	6,9±2,8*	10,7±3,1
IgG4	7,5±1,3	2,4±0,6"	3,1±1,3"	7,3±2,4

Примечания: *p < 0,05; **p < 0,01, ***p < 0,005

ровление, а у 15% — значительное улучшение состояния — группа 3.

При определении концентрации исследуемых показателей в периферической крови всех обследованных пациенток на протяжении всего курса терапии не было выявлено достоверных отличий от физиологической нормы. Анализ исходных показателей выявил достоверные отличия концентрации иммуноглобулинов в вагинальном секрете пациенток, входящих в различные группы. Эти результаты приведены в таблице. Концентрация практически всех исследованных классов и подклассов иммуноглобулинов в вагинальном секрете пациенток первой и второй групп (с положительным клиническим эффектом и без эффекта) была

в вагинальном секрете достоверно превышала нормальный уровень (p < 0,05). У пациенток, вошедших в группу 3, концентрация большинства исследованных показателей превышала их исходный уровень в других группах и практически не отличалась от физиологической нормы. Однако, в вагинальном секрете больных вошедших в эту группу, исходный уровень sIgA был достоверно ниже нормального (p < 0,05).

В группе 1 после окончания курса иммунотерапии отмечалась положительная динамика клинико-микробиологических показателей микробиоценоза влагалища, что коррелировало с положительной субъективной оценкой результатов терапии пациентами — исчезновение жалоб на зуд, жжение в области наружных половых органов, бели, диспаренурию. Положительный клинический эффект применения ликолида, характеризовался следующими иммунологическими изменениями: статистически значимым повышением в вагинальном секрете концентраций IgA и sIgA (рис. 1), а также IgM и IgG2 (p < 0,05). Уровень альбумина в вагинальном секрете больных данной группы к моменту окончания терапии снизился с 0,41 ± 0,03 до 0,29 ± 0,07 г/л. В данной группе иммунотерапия приводила к достоверному повышению концентрации IL-6,

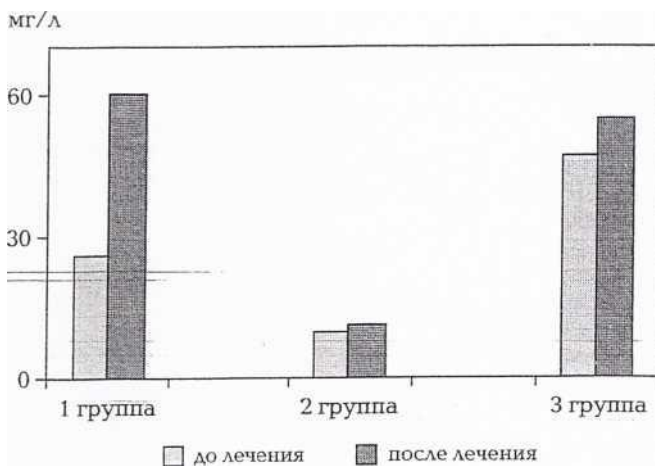


Рис. 1. Изменение концентрации sIgA в вагинальном секрете в ходе терапии ликолипидом

значительно ниже физиологической нормы. Причем, в группе 2 концентрация sIgA была достоверно ниже, чем у пациенток с положительным клиническим эффектом терапии. Вместе с тем, у пациенток обеих этих групп исходная концентрация IgE в ваги-

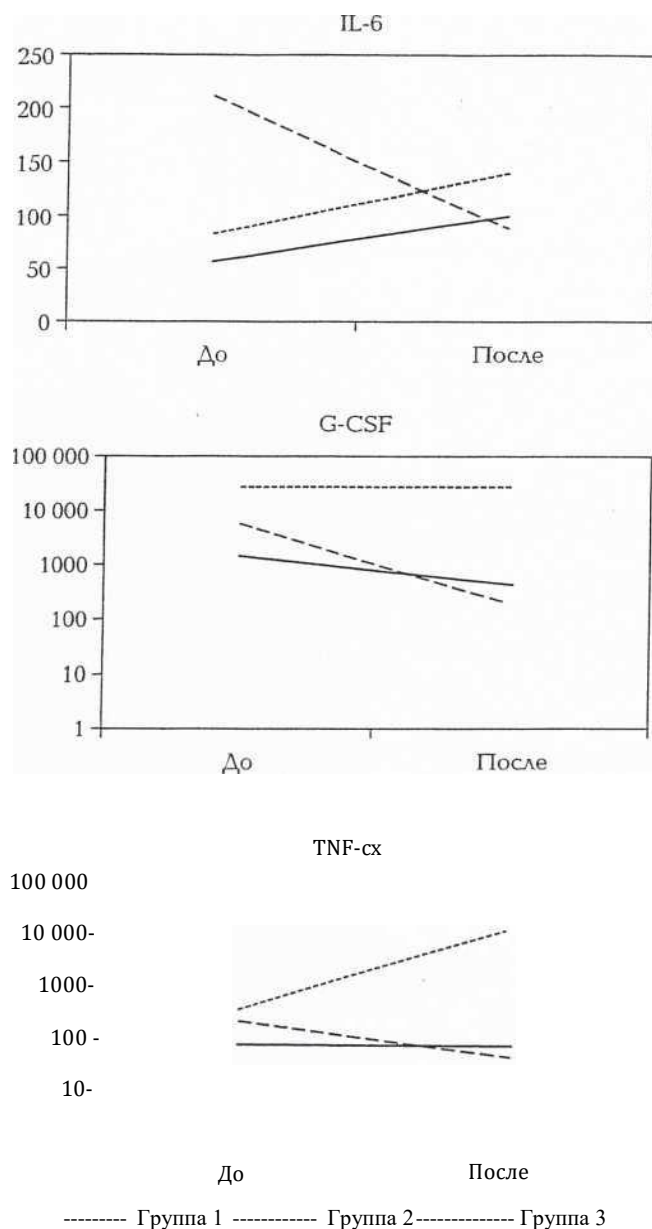


Рис. 2. Изменение цитокинового профиля у пациентов с инфекционными вагинитами до и после лечения ликописом в зависимости от эффекта терапии

снижению G-GSF ($p < 0,05$), что сочеталось с незначительными колебаниями концентрации IL-8 и TNF-а в вагинальном секрете (рис. 2).

После окончания курса проводимой терапии в вагинальном секрете пациенток группы 3 отмечалось статистически значимое повышение концентрации IgM и IgG1 ($p < 0,01$). Кроме того, в этой группе было выявлено более чем трехкратное локальное увеличение концентрации IgE ($p < 0,005$) — (рис. 3) при отсутствии достоверных изме-



Рис. 3. Динамика IgE в вагинальном секрете в ходе терапии ликописом

нений степени проницаемости вагинального гисто-гематического барьера (концентрация альбумина до начала терапии $1,50 \pm 0,53$ г/л; после окончания —

$1,32 \pm 0,56$ г/л) и изменений концентрации сывороточного IgE. В вагинальном секрете больных данной группы местная терапия приводила к снижению концентрации IL-6, G-GSF и TNF-α, и не влияла на уровень IL-8.

У пациенток из группы 2 к окончанию терапии отмечено достоверное повышение концентрации альбумина (от $0,24 \pm 0,04$ г/л, до $0,75 \pm 0,14$ г/л ($p < 0,05$)), IgM и IgG2 ($p < 0,005$). Кроме того, повышение уровня IL-6 сочеталось с повышением G-GSF и TNF-α ($p < 0,05$). Концентрация IL-8 практически не менялась (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

В последние годы все чаще для лечения различных воспалительных процессов клиницисты отходят от общепринятых схем с применением этиотропных антибактериальных и химиотерапевтических препаратов в связи с их неэффективностью или кратковременностью действия, особенно при лечении хронических рецидивирующих форм заболеваний. Это вызвано не только изменением чувствительности и возникновением резистентности возбудителей к применяемым препаратам, возникновением побочных эффектов проводимой терапии (аллергические реакции, дисбактериоз и др.), но и отсутствием воздействия на измененную тканевую реактивность и местный иммунитет. Очевидно, что в комп-

лексную противовоспалительную терапию целесообразно включать препараты, способствующие стимуляции факторов неспецифической защиты и местного иммунитета и наделенные иммунокорригирующими свойствами [5]. В предыдущих работах нами было убедительно доказано положительное воздействие локальной иммунотерапии на местную иммунную систему слизистых. При локальной иммунотерапии отмечается быстрое купирование признаков воспаления, ранняя эпителизация, длительная стойкая ремиссия, снижение частоты или отсутствие негативных побочных эффектов. Кроме того, данная терапия оказывает выраженное действие непосредственно в очаге поражения, практически не влияя на весь организм. При ряде заболеваний, протекающих на слизистых, на ранних этапах невозможно выявить изменения на системном уровне. Однако иммунологический анализ биологической жидкости непосредственно из очага поражения позволяет оценить состояние местного иммунитета на любых стадиях патологического процесса. При инфекционном поражении нижних отделов репродуктивного тракта такой биологической жидкостью является вагинальный секрет [6, 7]. Ранее было показано, что ликолипид является эффективным препаратом в терапии хронических инфекционно-воспалительных процессов как бактериальной природы, так и вирусного происхождения [8]. В данной работе нами впервые была показана эффективность местного применения ликолипида в монотерапии хронических инфекционно-воспалительных и дисбиотических заболеваний нижнего отдела женской репродуктивной сферы.

Возбудители инфекционно-воспалительных заболеваний обладают способностью влиять на иммунологические защитные механизмы, направленные на уничтожение и элиминацию этиологического агента. Нижние отделы женского репродуктивного тракта являются барьером на пути попадания бактерий в верхние отделы репродуктивного тракта благодаря своему анатомическому строению и наличию мукозного секрета. Наличие в секрете ферментов, а также синтезируемых местно и поступающих из системного кровотока иммуноглобулинов, делают его незаменимым компонентом антимикробной защиты. [9]. Снижение концентрации иммуноглобулинов в вагинальном секрете значительно уменьшают его защитные свойства. Введенный непосредственно в область пора-

жения, ликолипид способствует усилению местных защитных реакций. Увеличение концентрации sIgA и IgA в вагинальном секрете в ходе терапии указывает на нормализацию защитных механизмов слизистой влагалища к окончанию курса терапии и повышение защитных функций иммунной системы нижних отделов женской репродуктивной сферы. В группе с положительным эффектом терапии нормализация уровня иммуноглобулинов совпадала с исчезновением клинических признаков воспаления (гиперемия, отек слизистой). На наш взгляд, у части пациенток с хроническим течением урогенитальных инфекций и дисбиозов ликолипид стимулировал гиперактивацию локального иммунного ответа на персистирующий патоген, что клинически выразалось в усилении местных воспалительных реакций. Обострение ранее скрытых инфекционных заболеваний на фоне терапии ликолипидом может расцениваться как положительный эффект, связанный со стимулирующим воздействием препарата на местный иммунитет женского репродуктивного тракта. Практикующим врачам хорошо известно, как тяжело бороться со скрытой инфекцией. Лечение хронических заболеваний через обострение — часто применяемый в клинической практике прием. Воспаление — это ответная реакция макроорганизма на повреждение, заключающаяся в определенных изменениях альтерированной ткани и направленная на ликвидацию повреждающего агента.

Повышение концентрации IgE в вагинальном секрете при исследованной патологии и проводимой терапии может быть обусловлено иммунорегулирующими функциями поликлональных антител класса E. Показано, что продукция IgE является широко распространенным феноменом при инфекционных процессах любой этиологии. Иммуноглобулины данного класса способны играть роль, как триггера, так и регулятора воспалительных реакций при инфекциях различной этиологии [10]. Следовательно, выявленное локальное повышение уровня IgE может указывать на усиление локальных воспалительных реакций, повышение экспансии Th2. Однако до настоящего времени остается не выясненной роль IgE в протективном иммунитете при бактериальных и вирусных поражениях и это может служить целью будущих исследований.

Установлено, что при воспалительных процессах на слизистых в секретах опреде-

ляется повышенный уровень цитокинов. Увеличение секреции цитокинов во время воспаления — результат селективного поступления лейкоцитов в воспаленную ткань. Цитокины принимают активное участие в функционировании местной иммунной системы в норме и при патологии. Они запускают этапы пролиферации и дифференцировки активированных В-лимфоцитов в плазматические клетки. Эти цитокины продуцируются клетками, находящимися в мукозном окружении [11]. Согласно полученным результатам местная терапия ликолипидом вагинальных инфекций и дисбиозов не влияла на концентрацию IL-8 в вагинальном секрете. Наиболее выраженное действие при данном способе введения, ликолипид оказывал на концентрацию IL-6 и G-GSF. IL-6 принимает активное участие в функционировании местной иммунной системы слизистых, влияя на созревание В-лимфоцитов [12].

Изменения иммуноглобулинового состава секретов отражают изменения в функционировании местного иммунитета и зависят от патофизиологических механизмов, вызывающих эти изменения.

Следовательно, иммунологический анализ вагинального секрета является информативным методом исследования при патологии женского репродуктивного тракта. Критериями повышения эффективности терапии ликолипидом вагинальных инфекций могут служить иммунологические показатели вагинального секрета. Поиск таких критериев является задачей нашего будущего исследования.

Нормализация микробиоценоза вагинального барьера ликолипидом обусловлена, прежде всего, иммунокорректирующими свойствами препарата. Стимулируя защитные функции местной иммунной системы, препарат способствует повышению устойчивости организма к инфекции.

Таким образом, проведенное исследование указывает на то, что ликолипид является эффективным препаратом в лечении вагинальных дисбиозов и может быть рекомендован для включения в комплексную терапию данной патологии. Полученные результаты еще раз доказывают целесообразность использования местных показателей для определения показаний к местной иммунокорректирующей терапии и контроля ее эффективности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пинегин Б.В., Андропова Т.М. Некоторые теоретические и практические вопросы клинического применения иммуномодулятора ликолипида // Иммунология, 1998, 4, 60 — 63.
2. Азнабаева Л.Ф., Арефьева Н.А., Кильсенбаева Ф.А., Симбирцев А.С.; Активация местного иммунитета слизистой оболочки околоносовых пазух у больных хроническим гнойным риносинуситом при внутривенном применении беталейкина // Медицинская иммунология, 2000, т. 2, 1, 59-64.
3. Андропова Т.М., Пинегин Б.В. Ликолипид (ГМДП) — современный отечественный высокоэффективный иммуномодулятор // 2.изд., — Россия, 2005, 32 с.
4. Кира Е.Ф. Инфекции и репродуктивное здоровье (часть 1) // Журнал акушерства и женских болезней, 1999, 2, 71—78.
5. Юдина С.М., Снимщикова И.А. Клиническая эффективность локальной цитокинотерапии у больных хроническим тонзиллитом // Медицинская иммунология, 2000, 2, 4, 431—434.
6. Нестеров И.М., Галкина О.В., Айламазян Э.К., Алексеева Е.Ф., Алешина Л.А., Буравцова Н.А., Зуева Е.Е., Марфичева Н.А., Томлян А.А. Клинико-иммунологическая эффективность применения линимента циклоферона в ходе местной терапии вагинальных инфекций (результаты плацебоконтролируемого исследования) // Медицинская иммунология, 2001, 3, 1, 77 — 88.
7. Totolian A., Lavrenova G., Galkina O., Katinas E., Smirnov M., Buravtsova N., Aleshina L. Local Immunotherapy of Purulent Sinusitis by Recombinant Human Interleukin-2 // 5th World Congress on Trauma, Shock, Inflammation and Sepsis. Munich, (Germany), Febr. 29 — March 4, 2000. Proceedings, Ed. Eugen Faist, 2000, 307 — 311.
8. Пынзарь М.А., Агикова Л.А., Минкина Г.Н., Андропова Т.М., Пинегин Б.Б. Опыт клинического применения иммуномодулятора ликолипида у больных с бактериальным вагинозом // Иммунология, 5, 1998, 63 — 64.
9. Eggert-Kruse W., Botz I., Pohl S., Rohr G., Strowitzki T. Antimicrobial activity of human cervical mucus // Human Reproduction, 2000, 15, 4, 778-784.
10. Железникова Г.Ф. Иммуноглобулин Е: биологическая роль при инфекционных заболеваниях // Медицинская иммунология, 2002, т. 4, 4-5, 515 — 534.
- И. Mestecky J., Lue C., Russell M.W. Selective transport of IgA. Cellular and molecular aspects // Gastroenterol Clin. North Am., 1991, 20, 441—471.
12. Edwards R.P., Krasnow J., Kulhavy L, Wolfe K., Gooding B., Crowley-Norwick P.A. Immunoglobulin and interleukin-6 (IL-6) concentrations in cervical mucus are suppressed at ovulation // J. Soc. Gynec. Inv., 1995, 2, 238-244.