

*Р. Р. Климова¹, В. В. Малиновская², О. В. Паршина², Т. С. Гусева², С. В. Новикова³,
З. В. Торшина³, Н. В. Зарочентева³, А. А. Цибизов¹, А. А. Куш¹*

Влияние вирусных инфекций на цитокиновый профиль у беременных женщин с отягощенным акушерским анамнезом и иммунокорригирующая терапия интерфероном альфа2b человека

¹ФГБУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского Минздрава России, Москва; ²ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва; ³ГБУЗ МО Московский областной НИИ акушерства и гинекологии

Цель работы состояла в оценке влияния инфекций, вызванных вирусом простого герпеса (ВПГ), цитомегаловирусом (ЦМВ) и вирусом папилломы человека (ВПЧ), на цитокиновый профиль беременных женщин с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом (ОАГА) и эффективности иммунотерапии рекомбинантным интерфероном $\alpha 2b$ человека. Анализ прямых маркеров трех исследуемых вирусов был проведен с помощью ПЦР и быстрого культурального метода (БКМ) у 85 беременных женщин с ОАГА, которые были разделены на 3 группы: группа 1 ($n = 21$) — беременные, у которых при визуальном осмотре были обнаружены клинические проявления, ассоциированные с ВПЧ; группа 2 ($n = 48$) — беременные, у которых были выявлены маркеры вирусных инфекций, но отсутствовали клинические признаки данных инфекций. Беременные с ОАГА, у которых отсутствовали как маркеры, так и клинические проявления вирусных инфекций, составили группу сравнения (группа 3, $n = 16$). Показано, что ДНК ВПЧ у обследованных беременных встречается значительно чаще (37,6%), чем маркеры ВПГ и/или ЦМВ (11,8%). У беременных группы 1 сочетанные инфекции (ВПЧ + ГВ) выявлены в 2,3 раза чаще, чем в группе 2. При количественном анализе уровней цитокинов (ИФН- α , ИФН- γ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- α) в плазме крови и вагинальных смывах у беременных с ОАГА выявлены статистически значимые изменения цитокинового профиля у женщин в группах 1 и 2 по сравнению с женщинами группы 3: повышение концентрации ИФН- γ в плазме крови при клинически выраженной папилломавирусной инфекции (ПВИ); повышение концентрации ИЛ-8 у беременных с ВПЧ при клинически выраженной ПВИ и при сочетанной вирусной инфекции (ВПЧ + ГВ) без клиники ПВИ; повышение концентрации ФНО- α в плазме крови при обнаружении ВПЧ у беременных с бессимптомной ПВИ; увеличение уровня ИЛ-6 в вагинальных смывах при сочетанной вирусной инфекции в группе 1. Для оценки эффекта ИФН- $\alpha 2b$ анализировали уровни цитокинов у беременных, получавших базовую терапию или базовую терапию с применением Виферона[®]. Установлено, что в результате лечения с Вифероном[®] концентрации ИФН- γ и ИЛ-8 в сыворотках крови инфицированных беременных снижаются в 2-3 раза, приближаясь к уровню у неинфицированных беременных женщин с ОАГА. Анализ состояния новорожденных детей показал, что у беременных женщин с ОАГА риск рождения детей в тяжелом состоянии в 4,9 раза выше при обнаружении ЦМВ в III триместре.

Ключевые слова: беременные с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом, вирус простого герпеса, цитомегаловирус человека, вирус папилломы человека, герпесвирусная инфекция, папилломавирусная инфекция, Виферон[®]

The Effect of Viral Infections on the Cytokine Profile in Pregnant Women with Obstetric Complications and Immunotherapy with Human Alpha2b Interferon

*R. R. Klimova¹, V. V. Malinovskaya², O. V. Parshina², T. S. Guseva², S. V. Novikova³, Z. V. Torshina³,
N. V. Zarochentseva³, A. A. Tsibisov¹, A. A. Kushch¹*

¹ Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russia; ² Gamaleya Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russia; ³ Moscow Regional Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Moscow, Russia

The goal of this work was to examine the effects of infections caused by HSV1/2, CMV, and HPV on the cytokine profile in pregnant women with obstetric complications (OC) and to evaluate the efficacy of the therapy with recombinant human $\alpha 2b$ interferon. Direct markers of the viruses were identified using PCR and rapid culture method in 85 pregnant women divided into 3 groups: group 1 ($n = 21$), women with visual HPV-related clinical manifestations; group 2 ($n = 48$), with detectable markers of viral infections and no clinical manifestations, and group 3 consisting of pregnant women with OC without markers and clinical manifestations of viral infections ($n = 16$). The rate of HPV DNA detection in pregnant women was higher than that of herpesviruses (HV) CMV and/or HSV: 37.6% vs. 11.8%. The frequency of mixed HV/HPV infection in group 1 was 2.3-fold higher than in group 2. The cytokine levels of IFN α , IFN γ , IL-4, IL-6, IL-8, and TNF α in blood plasma and vaginal washings were studied. Statistically significant differences in infected women (groups 1 and 2) in comparison with uninfected women (group 3) were detected: a) blood plasma concentration of IFN γ increased in clinically manifested HPV infection; b) blood plasma IL-8 concentration increased in clinically manifested HPV and in mixed HV+HPV infections without clinical symptoms of HPV infection; c) blood plasma concentration of TNF α increased in women with asymptomatic HPV-infection; d) IL-6 concentration in vaginal washings increased in mixed infection in group 1. The effect of IFN- $\alpha 2b$ was assessed by analyzing cytokine levels in women on basic therapy with and without Viferon[®]. In infected women, Viferon[®] caused a 2-3-fold decrease in the concentrations of IFN γ and IL-8 in blood plasma, thus bringing them near those of uninfected women with OC. The analysis of the state of newborns

health has shown that for women with OC the risk of giving birth to a child in critical condition is 4.3-fold higher when CMV is detected in the third trimester of pregnancy.

Key words: pregnant women with obstetric complications, herpes simplex virus, human cytomegalovirus, human papilloma virus, herpesviral infection, Viferon

Введение

Инфекции, передающиеся половым путем (ИППП), представляют опасность для беременной женщины, развивающегося плода и новорожденного ребенка. К наиболее распространенным возбудителям ИППП вирусной этиологии относятся герпесвирусы (ГВ) и вирус папилломы человека (ВПЧ). ГВ вызывают до 30% спонтанных аборт в ранние сроки беременности, свыше 50% поздних выкидышей [5]. В 60—80% случаев дети с неонатальным герпесом рождаются от матерей с атипичными или бессимптомными формами инфекции, вызванной вирусом простого герпеса (ВПГ) [6]. Первичная цитомегаловирусная (ЦМВ) инфекция ассоциируется с 40—50% риском внутриутробного заражения плода и в 15% случаев приводит к его гибели [1]. ВПЧ, помимо онкогенного потенциала, может негативно влиять на течение беременности и стать причиной спонтанных абортов [18].

Физиологическое течение беременности происходит на фоне супрессорной перестройки иммунной системы, направленной на формирование и поддержание иммунологической толерантности к аллоантигенам плода. Важным условием нормального развития беременности является переключение иммунного ответа с Th1 на Th2 тип [9]. Нарушение Th1/Th2-переключения может приводить к различной патологии беременности вплоть до самопроизвольного прерывания [15]. Центральную роль в определении баланса Th1/Th2 выполняет система цитокинов. Вирусные инфекции вызывают развитие воспалительных процессов, влияют на межклеточные взаимодействия и как следствие приводят к изменениям синтеза регуляторных белков клетками иммунной системы [11, 13]. Беременные женщины с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом (ОАГА) представляют группу риска по развитию гестационных осложнений и по вертикальной передаче инфекционных агентов. В то же время сведений о системе цитокинов у беременных женщин с ОАГА, особенно при бессимптомных формах вирусных инфекций, недостаточно. Такие сведения важны, так как могут служить предикторами исхода беременности и состояния здоровья детей, родившихся у инфицированных матерей. Они необходимы также при принятии решения о своевременной иммунокоррекции.

Цель настоящей работы состояла в оценке влияния инфекций, вызванных ВПГ, ЦМВ и ВПЧ, на цитокиновый профиль беременных женщин с ОАГА и эффективности иммунотерапии рекомбинантным интерфероном альфа2b (ИФН- α 2b) человека.

Материалы и методы

Пациенты. В период с 4 марта 2010 г. по 15 июня 2011 г. проведено обследование 85 беременных женщин с ОАГА, проходивших лечение в Московском областном НИИ акушерства и гинекологии. Возраст пациенток составил 20—45 лет (в среднем $32,81 \pm 5,7$ года). Все беременные первично были обследованы во II триместре беременности (12—16 нед гестации).

Клиническое обследование проводили путем визуального осмотра. Обнаружение множественных или единичных остроконечных кондилом наружных половых органов и промежности расценивали как клинические проявления, ассоциированные с ВПЧ.

Клинический материал. Маркеры герпесвирусов (ДНК и/или инфекционная активность) ВПГ 1,2 и ЦМВ выявляли в урогенитальных (у/г) соскобах, моче и периферической крови. ДНК ВПЧ выявляли в у/г соскобах.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). ДНК ВПГ 1-го и 2-го типа, ЦМВ и ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР) типов 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 70 определяли с помощью наборов Центрального НИИ эпидемиологии "АмплиСенс® HSV 1,II-EPh", "АмплиСенс® CMV-EPh" и "АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-EPh" согласно рекомендациям производителя.

Быстрый культуральный метод. Для определения инфекционной активности ВПГ в клиническом материале использовали быстрый культуральный метод (БКМ) в соответствии с методическими рекомендациями, утвержденными Роспотребнадзором [4]. Детекцию ВПГ проводили с помощью моноклональных антител методом непрямой иммунофлюоресценции, как описано ранее [3].

Цитокиновый профиль. Для количественного анализа циркулирующих ИФН- α , ИФН γ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α в плазме крови и вагинальных смывах (в/с) беременных женщин с ОАГА использовали тест-системы фирмы ЗАО "Вектор-Бест" (Новосибирск).

Лечение. Все беременные получали комплексную базовую терапию, как описано ранее [2]. Часть обследованных пациенток ($n = 62$) дополнительно в рамках комплексной терапии получали иммуномодулирующий противовирусный препарат Виферон® по 1 свече (500 000 МЕ) ректально 2 раза в день с интервалом 12 ч в течение 10 дней, далее по 1 свече 2 раза в день 2 раза в неделю (всего 5 лечебных дней). В состав препарата Виферон®, производимого ООО "Ферон" (Москва), помимо рекомбинантного ИФН- α 2b человека, входят антиоксиданты. При наличии клинических проявлений папилломавирусной инфекции (ПВИ) Виферон® назначали в виде ректальных свечей, в дополнение к которым применяли форму препарата для наружного и местного применения Виферон®, гель. Гель дважды в день наносили на область вульвы, где локализовались кондиломы.

Статистическая обработка. Для статистической обработки результатов использовали пакет прикладных компьютерных программ Statistica 6.0 и BIOSTAT. Применение критерия Шапиро—Уилкса показало отсутствие нормального распределения признаков при количественной оценке уровней цитокинов. Для сравнения несвязанных групп по количественным и порядковым признакам использовали критерий Манна—Уитни. Для сравнения связанных групп по количественным и порядковым признакам использовали критерий Вилкоксона. С целью сравне-

ния несвязанных групп по качественным признакам применяли двусторонний точный критерий Фишера и критерий χ^2 . При проверке гипотез статистически значимыми считали результаты при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования был проведен анализ прямых маркеров (ДНК и инфекционной активности ГВ и ДНК ВПЧ) трех исследуемых вирусов у 85 беременных женщин с ОАГА. Все беременные были разделены на 3 группы: в группу 1 вошла 21 (24,7%) из 85 беременных, у которых при визуальном осмотре были обнаружены клинические проявления, ассоциированные с ВПЧ. Группу 2 составили 48 (56,4%) из 85 беременных, у которых были выявлены маркеры вирусных инфекций (ВПЧ и/или ГВ), но отсутствовали клинические признаки данных инфекций. Из 85 16 (18,8%) беременных с ОАГА, у которых отсутствовали как маркеры, так и клинические проявления вирусных инфекций, а также бактериальные возбудители составили группу сравнения (группа 3). Частота выявления маркеров ВПЧ и ГВ представлена в табл. 1. Установлено, что среди обследованных беременных наблюдалась высокая инфицированность: у 68 (80%) из 85 были выявлены маркеры вирусных инфекций (ВПЧ и/или ГВ). Как видно из табл. 1, у беременных с клиническими проявлениями ПВИ (группа 1) маркеры смешанной инфекции (ВПЧ + ГВ) обнаружены у 61,9%, что в 2,2 раза чаще, чем в группе 2 (27,1%), $p = 0,014$. Суммарно во всех трех группах ДНК ВПЧ выявлена в 37,6% наблюдений, маркеры ГВ — в 3,2 раза реже (11,8%), $p = 0,0008$. У 17 (20%) из 85 беременных маркеры вирусных инфекций обнаружены не были.

На следующем этапе работы был проведен сравнительный количественный анализ уровней цитокинов (ИФН- α , ИФН- γ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- α) в плазме крови и в/с беременных с ОАГА. Для оценки влияния вирусных инфекций на цитокиновый профиль из исследования были исключены беременные женщины, у которых были обнаружены возбудители урогенитальных инфекций (УГИ) бактериальной и микотической природы ($n = 12$). Кроме того, в группе 1 у 3 из 21 женщины не были выявлены маркеры вирусных инфекций и они также были исключены из исследования. Беременные группы 1 были разделены на 2 подгруппы: 1А — женщины, у которых выявлена только ДНК ВПЧ; 1Б — женщины, у которых выявлены маркеры сочетанной вирусной инфекции (ВПЧ + ГВ). Беременные группы 2 были разделены на 3 под-

группы: 2А — женщины, у которых обнаружена только ДНК ВПЧ; 2Б — женщины, имеющие маркеры сочетанной инфекции (ВПЧ + ГВ); 2В — женщины, у которых обнаружены только маркеры ГВ.

Результаты анализа концентраций цитокинов у обследованных беременных, которые оказались статистически значимыми, представлены в табл. 2. Было установлено, что у беременных женщин подгруппы 1А (с маркерами ВПЧ) уровни ИФН- γ и ИЛ-8 в плазме крови выше, чем у женщин группы сравнения 3 (9 пг/мл против 0 пг/мл; $p = 0,049$ и 135 пг/мл против 10 пг/мл; $p = 0,023$ соответственно). В в/с женщин с маркерами сочетанной инфекции (подгруппа 1Б) концентрация ИФН- γ была выше, чем у беременных подгруппы 1А. Уровень ИЛ-6 в в/с у женщин подгруппы 1Б оказался выше, чем у женщин подгруппы 1А (60 пг/мл против 10 пг/мл; $p = 0,011$) и группы сравнения (60 пг/мл против 20 пг/мл; $p = 0,048$).

Анализ цитокинового профиля беременных группы 2 (с маркерами, но без клинических проявлений вирусных инфекций) показал, что у беременных подгруппы 2А (с маркерами ВПЧ) концентрации ИЛ-8 и ФНО- α в плазме крови (168 и 620 пг/мл соответственно) были значительно выше, чем в остальных изученных группах (кроме 2Б). У беременных подгруппы 2Б (с маркерами сочетанной инфекции) концентрация ИЛ-8 в плазме крови и ФНО- α как в плазме, так и в в/с выше по сравнению с группой 3. У беременных этой подгруппы в в/с концентрация ИФН- γ также оказалась выше, чем у беременных подгруппы 2В (6 пг/мл против 0 пг/мл; $p = 0,019$).

Сравнительный анализ цитокинов у беременных группы 1 по сравнению с группой 2 показал, что концентрация ИЛ-8 в плазме крови была повышена у беременных подгрупп 2А и 2Б по сравнению с подгруппой 1Б и группой 3. Концентрация ФНО- α в плазме крови у женщин с сочетанной инфекцией в подгруппах 2А и 2Б была выше, чем у остальных обследованных беременных (см. табл. 2).

Можно констатировать, что к наиболее выраженным статистически значимым изменениям в цитокиновом профиле беременных с ОАГА относятся повышение уровня ИФН- γ в плазме крови у беременных с клиническими проявлениями ПВИ; увеличение концентрации ИЛ-8 в плазме крови у беременных как с клиническими проявлениями ПВИ, так и при бессимптомной ВПЧ-инфекции; повышение концентрации ФНО- α в плазме крови у беременных с бессимптомной вирусной инфекцией; увеличение уровней ИЛ-6 и ФНО- α в в/с при сочетанных вирусных инфекци-

Таблица 1

Частота выявления маркеров вирусных инфекций у беременных женщин с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом, у которых присутствовали или отсутствовали клинические проявления папилломавирусной инфекции

Группа беременных женщин	Маркеры вирусных инфекций			
	ДНК ВПЧ, % (абс.)	ДНК и/или инфекционная активность ГВ, % (абс.)	маркеры сочетанной инфекции (ВПЧ + ГВ), % (абс.)	отсутствие маркеров ВПЧ и ГВ, % (абс.)
Группа 1, $n = 21$	28,6 (6/21)	4,8 (1/21)	61,9* (13/21)	4,8 (1/21)
Группа 2, $n = 48$	54,1 (26/48)	18,75 (9/48)	27,1* (13/48)	0 (0/48)
Группа 3, $n = 16$	0 (0/16)	0 (0/16)	0 (0/16)	100 (16/16)
Суммарно, $n = 85$	37,6** (32/85)	11,8** (10/85)	30,6 (26/85)	20 (17/85)

Примечание: *— $p = 0,014$, $OR = 3,4$, 95% ДИ [1,3—15], $RR = 2,2$, 95% ДИ [1,2—4]; **— $p = 0,0008$, $OR = 4,5$, 95% ДИ [1,9—10,9], $RR = 3,2$, 95% ДИ [1,6—6,6] критерий χ^2 .

Сравнительный анализ уровней цитокинов в плазме крови и вагинальных смывах у беременных женщин с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом

Цитокины	Обследованный материал	Беременные женщины с ОАГА (n = 73)						p по критерию Манна—Уитни
		группа 1 с клиникой ПВИ (n = 18)		группа 2 без клиники ПВИ (n = 39)			группа 3 без маркеров и клиники (n=16)	
		1А (n = 5) с моно-ВПЧ	1Б (n=13) с ВПЧ + ГВ	2А (n = 20) с моно-ВПЧ	2Б (n = 11) с ВПЧ + ГВ	2В (n = 8) с моно-ГВ		
ИФН-γ	Плазма крови	7* [1—15]	0 [0—0,6]	0 [0—3]	2 [0—5]	1 [0—2]	0 [0—3]	1А-3 p=0,049
	В/с	4 [0—8]	2 [0,6—6]	5 [0—2]	6 [9—10]	0 [0—0]	2 [0—14]	1Б-1А p=0,034 2Б-2В p=0,019
ИЛ-6	Плазма крови	4 [1—5,2]	2 [0—3]	2 [1—300]	1 [0—4]	2 [2—3]	1 [0—2]	p>0,05
	В/с	10 [7—43]	58 [25—83]	20 [10—47]	16 [77—36]	24 [11—30]	20 [3—39]	1Б-1А; 1Б-2Б; 1Б-2В; 1Б-3 p<0,05
ИЛ-8	Плазма крови	135 [10—1958]	22 [8—36]	168 [11—2075]	79 [10—257]	9 [5—80]	10 [5—63]	2Б-3 p=0,048
	В/с	3047 [748—5345]	1742 [822—3023]	2103 [940—2615]	1169 [469—2312]	657 [430—847]	1360 [411—2145]	p>0,05
ФНО-α	Плазма крови	0 [0—134]	0 [0—3]	620 [0,8—3399]	482 [0—1691]	0 [0—1]	0 [0—0]	2А-1А; 2А-1Б; 2А-2В; 2А-3 p<0,05 2Б-1А; 2Б-1Б; 2Б-2В; 2Б-3 p<0,05
	В/с	0 [0—2]	0 [0—3]	0 [0—3]	3,1 [0—8]	0 [0—1]	0 [0—3]	2Б-1А; 2Б-1Б; 2Б-2А; 2Б-2В; 2Б-3 p<0,05

Примечание. * — медиана [25—75-й квартиль], пг/мл.

ях у беременных с клиническими проявлениями ПВИ (ИЛ-6) и при бессимптомной форме инфекции (ФНО-α).

Для оценки эффекта ИФН-α2b анализировали уровни цитокинов у беременных, получавших комплексное лечение с применением Виферона® в группах 1 (n = 21) и 2 (n = 41), до и после лечения в целом без разделения на подгруппы. Количественный анализ показал, что в результате иммунотерапии наблюдалось статистически значимое снижение уровней ИФН-γ (с 6,5 до 0 пг/мл; p = 0,043) и ИЛ-8 (с 29 до 11 пг/мл; p = 0,012) в плазме крови беременных с клиническими проявлениями ПВИ (группа 1).

У 23 беременных женщин с ОАГА групп 2 (n = 7) и 3 (n = 16) проводили стандартную терапию без Виферона®. Статистический анализ результатов лечения не выявил значимые различия в уровнях исследуемых цитокинов до и после лечения.

Представляло интерес оценить состояние детей, родившихся у матерей с ОАГА. Установлено, что у 9 (12,7%) из 71 новорожденного состояние расценивалось как тяжелое (оценка по шкале Апгар при рождении составила 6—7 баллов, 2 новорожденных с ВУИ и 4 детей родились недоношенными) и у 7 (9,9%) из 71 отмечена средняя степень тяжести (по шкале Апгар 7—8 баллов). Состояние 55 (77,5%) из 71 новорожденного было удовлетворительным (по шкале Апгар 8—9 баллов).

Анализ зависимости тяжести состояния новорожденных от наличия маркеров ГВ у матерей показал, что у 25 инфицированных матерей 7 детей родились в тяжелом состоянии и 3 ребенка — в состоянии средней тяжести, суммарно — в 11 (44%) из 25 наблюдений. У неинфицированных матерей в 5 (11,3%) из 44 наблюдений дети родились в состоянии тяжелой и средней степени тяжести. В ходе статистического

анализа установлено, что риск рождения детей в тяжелом состоянии у инфицированных матерей был в 3,9 раза выше, чем у неинфицированных (44% против 11,3%; p = 0,006, OR = 6,1, 95% ДИ [1,6—25], RR = 3,9, 95% ДИ [1,4—11,7]).

Важно отметить, что у матерей с неблагоприятным исходом беременности (новорожденные в тяжелом состоянии или в состоянии средней тяжести) значимо чаще выявляли ЦМВ (у 5, 31,5%, из 16) по сравнению с женщинами, у которых дети родились в удовлетворительном состоянии (4, 7,2%, из 55; p = 0,04, OR = 5,8, 95% ДИ [1,1—31,9], RR = 4,3, 95% ДИ [1,1—17,4]). Для ВПГ такая закономерность не установлена (28,6% против 21,8% соответственно; p > 0,05).

Статистически влияние ВПЧ, выявленного у беременных с ОАГА, на тяжесть состояния новорожденных не установлено.

В настоящей работе представлены результаты анализа распространения среди беременных женщин с ОАГА ВПЧ и ГВ — возбудителей наиболее широко распространенных вирусных ИППП. Установлено, что ДНК ВПЧ в этой группе риска определялась значительно чаще, чем маркеры ГВ. Показано, что почти у каждой третьей беременной женщины были обнаружены сочетанные ПВИ и ГВИ, причем клинические проявления ГВИ ни у одной пациентки выявлены не были, а клинически выраженные формы ПВИ наблюдались у 24,7% обследованных женщин. Значение бессимптомных форм вирусных инфекций, а также влияние сочетанных вирусных инфекций на течение беременности и ее исход часто недооценивается, а имеющиеся данные противоречивы. По мнению ряда авторов, присутствие ДНК ВПЧ в урогенитальных материалах у беременных женщин ассоциируется с неблагоприятным исходом беременности и преждевременными родами [23], по данным других иссле-

дователей, не различается у женщин со спонтанными абортами и у родивших доношенных детей [18]. В опубликованных работах показано значительное снижение качества жизни пациентов с ИППП при сочетанных инфекциях, включая ПВИ + ГВИ, по сравнению с моноинфекциями, вызванными этими вирусами [16]. Согласно результатам одних исследователей, коинфекция ВПЧ и ГВ может стать причиной более агрессивного клинического течения инфекции и усиливать канцерогенный потенциал ВПЧ [8], по данным других, ГВ не оказывают влияние на онкогенез рака шейки матки [7]. Результаты настоящей работы показали, что при сочетанных инфекциях ВПЧ+ГВ клинические признаки ПВИ обнаруживаются в 2 раза чаще, чем при моноинфекции ВПЧ. Это позволяет предположить, что присутствие ГВ может способствовать переходу бессимптомной ПВИ в клинически выраженную форму. В пользу этого предположения свидетельствуют экспериментальные данные, указывающие на то, что ВПГ может участвовать в интеграции и амплификации ВПЧ-18 в клетках хозяина [10]. К такому же выводу пришли авторы, обнаружившие, что коинфекция с ГВ ассоциируется с интеграцией ДНК ВПЧ-16 в геном клетки хозяина и участием в развитии рака шейки матки [21].

Одной из актуальных задач теоретической биологии и практической медицины является поиск маркеров, предсказывающих неблагоприятное течение и исход беременности. Такими маркерами могут быть показатели врожденного иммунитета беременной женщины, среди которых важную роль играют цитокины. В настоящей работе изучены провоспалительные цитокины (ИФН- α , ИФН- γ , ИЛ-6, ФНО- α), противовоспалительный цитокин ИЛ-4 и хемокин ИЛ-8 в периферической крови и в в/с.

Анализ уровня ИЛ-6 в в/с показал, что при клинически выраженной форме ПВИ наблюдается повышение уровня этого цитокина до 58 пг/мл по сравнению с 20 пг/мл в группе сравнения. Примечательно, что в работе N. Vousden и соавт. установлено, что повышение концентрации ИЛ-6 в вагинальном секрете до более 56 пг/мл во II триместре беременности ассоциируется с преждевременными родами [22]. Статистически значимое увеличение концентрации ИЛ-6 в цервикальных образцах и крови у женщин с бессимптомной ПВИ было обнаружено также в работе исследователей, которые сделали вывод, что высокий уровень ИЛ-6 может быть маркером персистенции ПВИ [17]. По мнению ряда исследовательских групп, цервико-вагинальный уровень ИЛ-6 может служить предиктивным маркером спонтанных аборт и преждевременных родов.

При моно-ПВИ, а также сочетании ее с ГВИ у беременных женщин с ОАГА в циркуляции были обнаружены высокие концентрации ИЛ-8 и ФНО- α (см. табл. 2). Изучение ИЛ-8 показало, что у беременных женщин с клиническими проявлениями ПВИ и с бессимптомной ПВИ концентрация ИЛ-8 в плазме крови значительно превышает уровень этого хемокина у неинфицированных женщин группы сравнения. Еще большие различия выявлены при анализе ФНО- α у беременных с бессимптомной ПВИ по сравнению с неинфицированными беременными. О негативной роли ИЛ-8 и ФНО- α в высоких концентрациях позволяют судить данные о значительном превышении

уровней этих цитокинов у беременных при презклампсии по сравнению со здоровыми беременными [20]. Представляют интерес наши данные о том, что при бессимптомной ПВИ уровень ФНО- α в плазме крови значительно превосходит таковой у женщин с клиническими проявлениями ПВИ. Нельзя исключить, что повышенная экспрессия и циркуляция этого цитокина, способного ликвидировать не только клетки опухоли, но и клетки, пораженные вирусом, а также вызывающего накопление нейтрофилов и эндотелиальных клеток в очаге воспаления, задерживает или предотвращает развитие клинических проявлений ПВИ (кондилом, папиллом).

ФНО- α в комбинации с ИФН- γ негативно влияет на самые ранние стадии репродукции, подавляя пролиферацию и вызывая апоптоз клеток трофобласта, препятствуя инвазии и развитию беременности уже в I триместре [12]. Имеются также данные об опасности повышенной экспрессии ИЛ-8 не только для беременных женщин, но и для детей раннего возраста, поскольку этот показатель коррелирует с тяжестью респираторных заболеваний, часто наблюдаемых у новорожденных и детей раннего возраста [19]. Согласно данным ряда исследователей, продукция провоспалительных цитокинов ИФН- γ , ИЛ-8 и ФНО- α лимфоцитами женщин с плацентарной недостаточностью и внутриутробной задержкой роста плода значительно выше, чем у женщин с неосложненным течением беременности [14].

Данные настоящей работы и результаты исследований других авторов указывают на изменение цитокинового профиля у беременных женщин с неблагоприятным течением и исходами беременности в сторону повышения уровней ряда провоспалительных цитокинов. Одним из подходов к лечению инфекционных осложнений беременностей является иммунотерапия.

Лечение вирусных инфекций у беременных женщин специфическими химиопрепаратами, по протоколам ВОЗ, может проводиться с 34-й недели беременности. В III триместре беременности их включение в состав терапии дает положительные результаты, но для более ранних гестационных сроков официальное разрешение отсутствует. Препаратом выбора может служить Виферон[®], который Минздравсоцразвития России разрешил к применению у беременных начиная со II триместра. Ранее нами было показано [2], что в результате иммунотерапии Вифероном[®] у беременных с ОАГА маркеры ГВИ исчезали в 65,6% наблюдений. Было установлено, что на фоне терапии с использованием Виферона[®] в виде ректальных свечей и топической формы препарата (Виферон[®], гель) ДНК ВПЧ через 1 мес после лечения беременных женщин определялась в 2,6 раза реже, чем у женщин, проходивших только базовую терапию [2]. В настоящей работе получены данные, позволяющие объяснить эффект иммунотерапии Вифероном[®]. Снижение уровней ИФН- γ и ИЛ-8 у инфицированных беременных с ОАГА до уровней неинфицированных беременных с ОАГА свидетельствует о существенной коррекции дисбаланса в системе цитокинов, наблюдавшегося в сторону Th1 у инфицированных беременных с ОАГА до лечения. Проявление регуляторной функции ИФН- α способствует нормальному течению беременности. Предотвращение экспрессии генома ВПЧ, обнаруженное у беременных при лечении Виферо-

ном® [2], по-видимому, связано с проявлением других функций этого плейотропного цитокина: подавление пролиферации клеток, индукция апоптоза, активация приворопохолевых Т-клеток.

Выводы. 1. В урогенитальных материалах у беременных женщин с ОАГА выявлены маркеры ВПЧ и ГВ: ДНК ВПЧ обнаруживалась значительно чаще (37,6%), чем маркеры ВПГ и/или ЦМВ (11,8%).

2. При клинически выраженной ПВИ сочетанные инфекции, вызванные ВПЧ и ГВ, выявлялись в 2,3 раза чаще, чем при бессимптомной ПВИ. Это позволяет предположить участие герпесвирусов в индукции клинических проявлений ПВИ.

3. У инфицированных беременных с ОАГА обнаружены изменения цитокинового профиля по сравнению с неинфицированными женщинами с ОАГА: повышение концентрации ИФН- γ в плазме крови при клинически выраженной ПВИ; повышение концентрации ИЛ-8 в плазме крови у беременных с моно-ВПЧ при клинически выраженной и бессимптомной ПВИ, а также при сочетанной вирусной инфекции (ВПЧ + ГВ) у беременных с бессимптомной ПВИ; повышение концентрации ФНО- α в плазме крови при моно-ВПЧ и в сочетании его с ГВ у беременных с бессимптомной ПВИ; увеличение уровней ИЛ-6 и ФНО- α в вагинальных смывах при сочетанной вирусной инфекции.

4. В результате комплексного лечения с применением Виферона® концентрации ИФН- γ и ИЛ-8 в сыворотках крови инфицированных беременных с ОАГА снижаются в 2—3 раза, приближаясь к уровню неинфицированных беременных женщин.

5. У беременных женщин с ОАГА риск рождения детей в тяжелом состоянии в 4,3 раза выше при обнаружении у них ЦМВ в III триместре беременности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боровкова Е. И. Взаимодействие возбудителей инфекции с организмом беременной как фактор риска внутриутробного инфицирования плода. Российский вестник акушера-гинеколога. 2005; 4 (5): 14—18.
2. Климова Р. Р., Зароченцева Н. В., Новикова С. В. и др. Влияние иммунотерапии Вифероном® на частоту обнаружения маркеров вирусных инфекций у беременных с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2012; 1: 25—31.
3. Климова Р. Р., Масалова О. В., Семенова Т. Б. и др. Моноклональные антитела в диагностике герпесвирусных инфекций, вызываемых вирусом простого герпеса. II. Детекция антигена ВПГ I и 2 типа при помощи моноклональных антител в клинических образцах. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1999; 6: 76—80.
4. Куц А. А., Федорова Н. Е., Климова Р. Р. и др. Быстрый культуральный метод диагностики герпесвирусных инфекций: Методические рекомендации. 2008. № 02.030-80.
5. Anzivino E., Fioriti D., Mischitelli M. et al. Herpes simplex virus infection in pregnancy and in neonate: status of art of epidemiology, diagnosis, therapy and prevention. Virol. J. 2009; 6 (40): 1—11.
6. Bursrein D. N. Sexually transmitted treatment guidelines. Curr. Opin. Pediatr. 2003; 15: 391—397.
7. Chan P. K., Chan M. Y., Li W. W. et al. Association of human beta-herpesviruses with the development of cervical cancer: bystanders or cofactors. J. Clin. Pathol. 2001; 54 (1): 48—53.
8. Daxnerova Z., Berkova Z., Kaufman R. H. et al. Detection of human cytomegalovirus DNA in 986 women studied for human papillomavirus-associated cervical neoplasia. J. Low Genit. Tract. Dis. 2003; 7 (3): 187—193.
9. Halonen M., Lohman I. C., Stern D. A. et al. Th1/Th2 patterns and balance in cytokine production in the parents and infants of a large birth cohort. J. Immunol. 2009; 182 (5): 3285—3293.
10. Hara Y., Kimoto T., Okuno Y. et al. Effect of herpes simplex virus on the DNA of human papillomavirus 18. J. Med. Virol. 1997; 53 (1): 4—12.
11. Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. Altern. Med. Rev. 2003; 8 (3): 223—246.
12. Otun H. A., Lash G. E., Innes B. A. et al. Effect of tumour necrosis factor- α in combination with interferon- γ on first trimester extravillous trophoblast invasion. J. Reprod. Immunol. 2011; 88 (1): 1—11.
13. Pinto R. A., Arredondo S. M., Bono M. R. et al. T helper 1/T helper 2 cytokine imbalance in respiratory syncytial virus infection is associated with increased endogenous plasma cortisol. Pediatrics. 2006; 117 (5): 878—886.
14. Raghupathy R., Al-Azemi M., Azizieh F. Intrauterine growth restriction: cytokine profiles of trophoblast antigen-stimulated maternal lymphocytes. Clin. Dev. Immunol. 2012; 2012: 734—865.
15. Raghupathy P., Makhseed M., Azizieh F. et al. Cytokine production by maternal lymphocytes during normal human pregnancy and in unexplained recurrent spontaneous abortion. Hum. Reprod. 2000; 15: 713—718.
16. Raj R., Sreenivas V., Mehta M. et al. Health-related quality of life in Indian patients with three viral sexually transmitted infections: herpes simplex virus-2, genital human papilloma virus and HIV. Sex. Transm. Infect. 2011; 87 (3): 216—220.
17. Rosa M. I., Moraes M. V., Vuolo F. et al. Association of interleukin-6 in women with persistence of DNA-HPV: a nested case-control study. Arch. Gynecol. Obstet. 2012; 285 (1): 143—148.
18. Skoczynski M., Gozdzicka-Jozefiak A., Kwasniewska A. Prevalence of human papillomavirus in spontaneously aborted products of conception. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 2011; 90 (12): 1402—1405.
19. Smyth R. L., Mobbs K. J., O'Hea U. et al. Respiratory syncytial virus bronchiolitis: disease severity, interleukin-8, and virus genotype. Pediatr. Pulmonol. 2002; 33 (5): 339—346.
20. Szarka A., Rigó J. Jr., Lázár L. et al. Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. BMC Immunol. 2010; 11: 59.
21. Szostek S., Zawilinska B., Kopec J. et al. Herpesviruses as possible cofactors in HPV-16-related oncogenesis. Acta Biochim. Pol. 2009; 56 (2): 337—342.
22. Vousden N., Chandiramani M., Seed P. et al. Interleukin-6 bedside testing in women at high risk of preterm birth. J. Matern. Fetal Neonatal Med. 2011; 24 (10): 1301—1304.
23. Zuo Z., Goel S., Carter J. E. Association of cervical cytology and HPV DNA status during pregnancy with placental abnormalities and preterm birth. Am. J. Clin. Pathol. 2011; 136 (2): 260—265.

Поступила 25.04.12