

*Р. Р. Климова<sup>1</sup>, В. В. Малиновская<sup>2</sup>, О. В. Паршина<sup>2</sup>, Т. С. Гусева<sup>2</sup>, С. В. Новикова<sup>3</sup>,  
З. В. Торшина<sup>3</sup>, Н. В. Зароченцева<sup>3</sup>, А. А. Цибизов<sup>1</sup>, А. А. Куш<sup>1</sup>*

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

<sup>1</sup>ФГБУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского Минздрава России, Москва; <sup>2</sup>ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва; <sup>3</sup>ГБУЗ 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- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$ ) 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- $\gamma$  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- $\alpha$  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<sup>®</sup>. Установлено, что в результате лечения с Вифероном<sup>®</sup> концентрации ИФН- $\gamma$  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<sup>®</sup>

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

*R. R. Klimova<sup>1</sup>, V. V. Malinovskaya<sup>2</sup>, O. V. Parshina<sup>2</sup>, T. S. Guseva<sup>2</sup>, S. V. Novikova<sup>3</sup>, Z. V. Torshina<sup>3</sup>,  
N. V. Zarochentseva<sup>3</sup>, A. A. Tsibisov<sup>1</sup>, A. A. Kushch<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russia; <sup>2</sup> Gamaleya Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russia; <sup>3</sup> 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 $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-4, IL-6, IL-8, and TNF $\alpha$  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 $\gamma$  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 $\alpha$  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<sup>®</sup>. In infected women, Viferon<sup>®</sup> caused a 2-3-fold decrease in the concentrations of IFN $\gamma$  and IL-8 in blood plasma, thus bringing them near those of uninfected women with OC. The analysis of the state of newborns

*Контактная информация:*

Климова Регина Рафаиловна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.; e-mail: regi.k@mail.ru

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- $\alpha$ 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 1,2-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- $\alpha$ , ИФН $\gamma$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- $\alpha$  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- $\alpha$ 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  $\chi^2$ . 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- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$ ) 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- $\gamma$  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- $\gamma$  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- $\alpha$  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- $\alpha$  как в плазме, так и в в/с выше по сравнению с группой 3. У беременных этой подгруппы в в/с концентрация ИФН- $\gamma$  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- $\alpha$  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- $\gamma$  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- $\alpha$  в плазме крови у беременных с бессимптомной вирусной инфекцией; увеличение уровней ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  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  $\chi^2$ .

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- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ ), 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- $\alpha$  (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- $\alpha$  у беременных с бессимптомной ПВИ по сравнению с неинфицированными беременными. О негативной роли ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$  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- $\alpha$  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- $\alpha$  в комбинации с ИФН- $\gamma$  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- $\gamma$ , ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$  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<sup>®</sup>, который Минздравсоцразвития России разрешил к применению у беременных начиная со II триместра. Ранее нами было показано [2], что в результате иммунотерапии Вифероном<sup>®</sup> у беременных с ОАГА маркеры ГВИ исчезали в 65,6% наблюдений. Было установлено, что на фоне терапии с использованием Виферона<sup>®</sup> в виде ректальных свечей и топической формы препарата (Виферон<sup>®</sup>, 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<sup>®</sup>. Снижение уровней ИФН- $\gamma$  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- $\alpha$  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- $\gamma$  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- $\alpha$  в плазме крови при моно-ВПЧ и в сочетании его с ГВ у беременных с бессимптомной ПВИ; увеличение уровней ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  в вагинальных смывах при сочетанной вирусной инфекции.

4. В результате комплексного лечения с применением Виферона® концентрации ИФН- $\gamma$  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 1 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- $\alpha$  in combination with interferon- $\gamma$  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