

Влияние препаратов для локального применения, содержащих глюкокортикоиды, на показатели местного иммунитета и активность вируса папилломы человека

Е.И.Боровкова^{✉1}, А.С.Федотова²

¹ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова»

Минздрава России. 117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1;

²Клиника «Чайка». 123317, Россия, Москва, Пресненская наб., д. 8, стр. 1

Целью исследования явилось изучение влияния местного применения препарата, содержащего глюкокортикоид, на репликативную активность вируса папилломы человека (ВПЧ) онкогенного типа. Проведено проспективное исследование 160 пациенток репродуктивного возраста. Обследование включило микробиологическое исследование, качественное и количественное обследование на ВПЧ онкогенной группы (полимеразная цепная реакция и ВПЧ Digene-тест), иммунологическое исследование секрета цервикального канала (иммуноглобулины – Ig – класса А, М, G и секреторный IgA). В результате работы показано, что микробиоценоз влагалища при неспецифическом вагините представлен широким спектром условно-патогенных микроорганизмов (стафилококки, стрептококки, пептострептококки, бактероиды, бациллы, актиномицеты, коринебактерии, превотеллы). Количество представителей индигенной микрофлоры снижено. Распространенность сочетанной вирусной инфекции составила около 29%, наиболее часто выявлялся ВПЧ 16, 31 и 18-го типов. После проведения местной терапии препаратом, содержащим глюкокортикоид, качественных и количественных изменений ВПЧ выявлено не было. Оценка показателей местного иммунитета проявила дисбаланс в продукции Ig с преобладанием IgA, секреторного IgA и IgG у всех женщин на фоне неспецифического вагинита вне зависимости от наличия ВПЧ.

Ключевые слова: неспецифический вагинит, вирус папилломы человека, местный иммунитет.

✉katyanikitina@mail.ru

Для цитирования: Боровкова Е.И., Федотова А.С. Влияние препаратов для локального применения, содержащих глюкокортикоиды, на показатели местного иммунитета и активность вируса папилломы человека. Гинекология. 2017; 19 (2): 66–68.

Effect of local preparations containing glucocorticoids on local immunity parameters and activity of human papillomavirus

E.I.Borovkova^{✉1}, A.S.Fedotova²

¹N.I.Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation. 117997, Russian Federation, Moscow, ul. Ostrovitianova, d. 1;

²Clinic "Chayka". 123317, Russian Federation, Moscow, Presnenskaia nab., d. 8, str. 1

The aim of the study was to investigate the effects of topical application of preparations containing glucocorticoids on the replicative activity of human papillomavirus oncogenic type. Prospective study included 160 patients of reproductive age. The examination included microbiological testing, qualitative and quantitative screening for human papilloma virus high-risk group (HPV-PCR and Digene-test), immunological study of cervical secret (immunoglobulins class A, M, G and secretory IgA). Was shown that the vaginal microbiocenosis in patients with nonspecific vaginitis presents a wide range of opportunistic microorganisms, such as *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Bacillus*, *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Prevotella*. A number of typical representatives of the indigenous microflora is significantly reduced, or absent. The prevalence of concomitant viral infection was approximately 29%, the most frequently detected viruses 16, 31 and 18. The use of local therapy drug containing a glucocorticoid qualitative and quantitative changes in HPV have been no identified. Evaluation of indicators of local immunity showed an imbalance in the production of immunoglobulins with a predominance of IgA, secretory IgA and IgG in patients on the background of nonspecific vaginitis.

Key words: nonspecific vaginitis, human papillomavirus, local immunity.

✉katyanikitina@mail.ru

For citation: Borovkova E.I., Fedotova A.S. Effect of local preparations containing glucocorticoids on local immunity parameters and activity of human papillomavirus. Gynecology. 2017; 19 (2): 66–68.

Серьезной проблемой клинической практики является широкое распространение устойчивых форм микроорганизмов, снижающее эффективность применения антибактериальных препаратов [1].

Устойчивость связана со способностью микробных сообществ формировать целостные структуры, регулирующие свои поведенческие реакции в зависимости от изменения условий обитания. Разнообразие, присутствующее в каждой популяции, может повышать выживаемость для всего сообщества. Кроме того, образование колоний микроорганизмов, с включением в них вирусов, влияет на показатели местного иммунитета, снижая эффективность колонизационной резистентности (КР) и препятствуя естественной элиминации возбудителей [1, 2].

Распространенность вируса папилломы человека (ВПЧ) онкогенного типа в популяции достаточно широка, но неоднозначна. Согласно данным скринингового обследования пациенток репродуктивного возраста она колеблется от 26 до 64% и представлена преимущественно 16 и 18-м типами вируса [3].

Длительная персистенция вируса в организме является значимым фактором риска развития дисплазии и рака шейки матки. Наличие сопутствующих половых инфекций или дисбактериоза оказывает кофакторное дей-

ствие, повышая вероятность развития патологии шейки матки [4, 5].

У пациенток с неспецифическим вагинитом частота выявления бактериально-вирусной ассоциации достигает 43% [5, 6]. Применение с лечебной целью поликомпонентных препаратов местного действия доказанно эффективно при вагините, однако нет информации об их влиянии на репликативную активность ВПЧ.

В связи с этим **целью данного исследования** явилось изучение влияния местного применения препаратов, содержащих глюкокортикоиды, на репликативную активность ВПЧ онкогенного типа.

В качестве лекарственного средства был использован препарат Тержинан, содержащий тернидазол 200 мг (более активный представитель нитроимидазолов, чувствительность микроорганизмов к нему достигает 97%), неомицина сульфат 100 мг (аминогликозид широкого спектра действия, активен в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, не обладает резорбтивным эффектом), нистатин 100 000 Ед (полиеновый противогрибковый антибиотик, подавляет рост грибов рода *Candida*) и преднизолон 3 мг (глюкокортикоид, обладает противовоспалительным, десенсибилизирующим действием,

купирует гиперемию, зуд, боль, не всасывается в местный кровоток).

Сочетание тернидазола и нистатина в данной ситуации предпочтительно, так как, во-первых, на фоне применения препаратов нитроимидазолов в 60% активируется кандидозная инфекция, а во-вторых, преобладание в структуре инфекционных заболеваний бактериально-грибковых ассоциаций в настоящее время превышает 50%.

Материалы и методы

Проведено проспективное исследование, включившее 160 пациенток репродуктивного возраста. Критериями отбора были возраст от 25 до 45 лет, наличие неспецифического вагинита, отсутствие инфекций, передаваемых половым путем, кроме ВПЧ онкогенного типа, отсутствие беременности и тяжелых соматических заболеваний (сахарный диабет, системные аутоиммунные заболевания, ожирение).

Комплексное обследование включало: сбор анамнеза, микробиологическое исследование, которое проводилось двухкратно (до и после проведенной терапии), обследование на ВПЧ онкогенной группы (качественное, методом полимеразной цепной реакции, и количественное, методом ВПЧ Digene-тест – метод «гибридного захвата»), иммунологическое исследование с определением концентраций в слизистом секрете цервикального канала иммуноглобулинов (Ig) класса А, М, G и секреторного IgA.

В ходе работы произведено 320 микробиологических исследований. Пробирки с транспортной средой и помещенным в них материалом в течение 2 ч доставлялись в лабораторию, где производился посев материала на селективные и дифференциально-диагностические питательные среды. Посевы инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 24–96 ч в аэробных или анаэробных условиях в зависимости от исследуемой группы микроорганизмов. С помощью стереоскопического микроскопа подсчитывали число разных видов колоний в каждом секторе и рассчитывали количество lg КОЕ/мл.

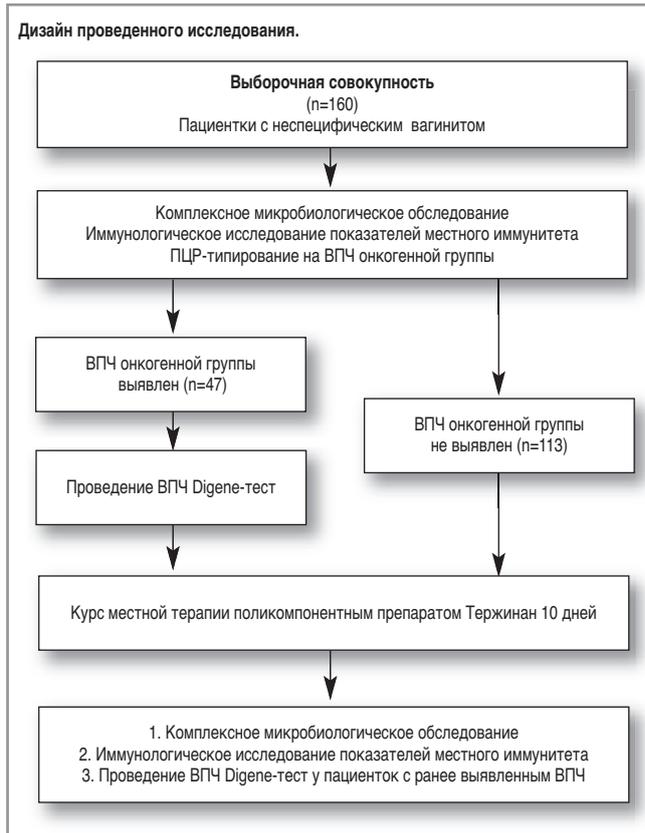
Имунологическое исследование включало в себя определение концентраций в слизистом секрете цервикального канала и влагалища IgA, M, G и секреторного IgA. Оценку показателей производили с помощью диагностических монорепеторных сывороток против Ig человека, используя набор для реакций радиальной иммунодиффузии по Манчини (производство ГУ «НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи», Москва).

ВПЧ Digene-тест представляет собой метод диагностики папилломавирусной инфекции, разработанный фирмой Digene Diagnostics (Murex). Метод основан на выявлении ДНК ВПЧ методом гибридного захвата, позволяющим определить клинически значимый уровень вирусной нагрузки. Технология исследования ВПЧ данным тестом основана на эффекте гибридизации и связывания ДНК ВПЧ со специальным РНК-зондом. Полученный комплекс захватывается моноклональными антителами. Эти антитела помечены специфическими ферментами и могут быть определены путем хемолуминисценции. Забор материала проводился дважды (до и после проведенной терапии), с использованием специального зонда, который позволяет получить большой соскоб эпителиальных клеток с поверхности шейки матки и цервикального канала. Адекватным материалом считался забор достаточного для исследования количества клеток человека, превышающего 104 копий ДНК в образце.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием методов вариационной статистики: с вычислением средней арифметической (M), среднего квадратического отклонения (δ), ошибки средней арифметической (m), выборочного стандартного отклонения (S). После оценки правильности распределения выборки параметрические варианты сопоставлялись по критерию Стьюдента (t) с вычислением вероятности ошибки (p).

Результаты и обсуждение

Средний возраст пациенток составил 34,2±3 года. Среди гинекологической патологии наиболее распространенными были хламидиоз (7,2%), эктопия шейки матки (42,5%), кандидозный кольпит (47,5%) и миома матки (5,3%).



Все пациентки обратились в клинику в связи с жалобами на обильные выделения из половых путей с неприятным запахом. В группу исследования были включены только те из них, у которых по данным обследования были исключены специфические причины воспаления (хламидиоз, генитальный герпес, мико/уреаплазменная инфекция, трихомониаз, гонококковый кольпит). Дизайн проведенного исследования представлен на рисунке.

Микробиологическое исследование показало, что микрофлора во влагалище и цервикальном канале у пациенток представлена преимущественно условно-патогенными микроорганизмами. Было выявлено значительное количество коринебактерий (до 6 lg КОЕ/мл), бацилл (до 6 lg КОЕ/мл), превотелл и актиномицет (до 7,5 lg КОЕ/мл), пропионибактерий (до 3,3 lg КОЕ/мл), энтерококков (до 5,5 lg КОЕ/мл), пептострептококков (до 5,8 lg КОЕ/мл), стафилококков (до 7,5 lg КОЕ/мл), клостридий (до 5,5 КОЕ/мл), псевдомонад (до 6 КОЕ/мл), стафилококков (50% и 3,9 КОЕ/мл), нейссерий (7% и 4 КОЕ/мл) и энтеробактерий (14% и 4,4 КОЕ/мл).

Результаты микробиологического исследования были проанализированы на основании состояния КР. Низкая КР определяется по присутствию на слизистой оболочке влагалища условно-патогенных бактерий и низким уровнем лактобактерий (до 10⁵ КОЕ/мл). Высокая КР характеризуется отсутствием на слизистой перечисленных бактерий, грибов, общим уровнем высевания условно-патогенной флоры ($\leq 10^3$ КОЕ/мл) и высоким уровнем лактофлоры ($\geq 10^5$ КОЕ/мл). 89% пациенток имели низкую КР слизистой влагалища. У данных пациенток высевалась более разнообразная микрофлора.

После применения местной терапии выявлено значительное изменение как качественного, так и количественного состава микробиоценоза влагалища. Были выявлены значительное снижение количества коринебактерий (до 3 lg КОЕ/мл), пептострептококков (до 2,5 lg КОЕ/мл), стафилококков (до 3 lg КОЕ/мл), отсутствие бацилл, превотелл и актиномицет, энтерококков, клостридий. Кроме того, отмечен рост лактобактерий (до 6,3 lg КОЕ/мл) и бифидобактерий (до 5,1 lg КОЕ/мл) у 86,8% пациенток.

Все пациентки были обследованы на наличие ВПЧ из группы онкогенного риска. Из 160 человек вирус был обнаружен у 47 (29,4%). После получения положительного

Таблица 1. Результаты качественного и количественного определения ВПЧ онкогенного типа

Тип ВПЧ	16	18	31	33	39	51	52	56
n=47	13	7	9	5	4	3	4	2
До терапии								
ВПЧ Digene-тест	5,5–8,5 ×10 ⁶	5,9–6,4 ×10 ⁶	6,7–7,7 ×10 ⁷	4,8–6,6 ×10 ⁷	3,8–6,5 ×10 ⁵	4,5–5,2 ×10 ⁶	6,1–6,5 ×10 ⁶	3,9–6,6 ×10 ⁶
После терапии								
ВПЧ Digene-тест	4–5,8 ×10 ⁵	5,1–7,1 ×10 ⁶	5,7–6,6 ×10 ⁶	0–5 ×10 ⁶	4,3–4,7 ×10 ⁴	4,3–5,5 ×10 ⁶	4,2–5,3 ×10 ⁴	3,3–5,1 ×10 ⁶

Таблица 2. Результаты иммунологического исследования смывов из цервикального канала до и после проведенного лечения

Ig (M; мг/мл)	IgG	IgM	IgA	Секреторный IgA
До терапии				
Цервикальный канал	0,06*	0,01	0,038*	0,039
После терапии				
Цервикальный канал	0,075*	0,011	0,021*	0,032

*p<0,05, разница результатов достоверна.

результата проведено дополнительное обследование методом ВПЧ Digene-тест с количественным определением вируса. Повторный забор материала производился через 7–10 дней после окончания местной терапии препаратом Тержинан.

В табл. 1 представлены результаты проведенного теста.

В структуре вирусов преобладали 16, 31 и 18-й типы. По результатам качественной оценки был выявлен достаточно большой разброс показателей вирусной нагрузки с колебаниями от 3,9×10⁴ до 8,5×10⁷ копий. Однако после проведенного курса местной терапии значительных качественных и количественных изменений выявлено не было. В 2 наблюдениях (у пациенток с ВПЧ 18 и 51-го типов) после терапии вирусы не обнаруживались ни при качественном, ни при количественном анализе. В остальных случаях отмечались колебания, преимущественно в сторону уменьшения вирусной нагрузки (от 7,7×10⁵ до 5,8×10⁵, n=36) или в сторону ее незначительного увеличения (от 3,8×10⁴ до 4,5×10⁴, n=4). В 5 наблюдениях уровень вирусной нагрузки не изменился после окончания терапии.

Перед назначением и после окончания терапии пациенткам сформированной совокупности было выполнено иммунологическое исследование. Местом наибольшей иммунологической активности женского репродуктивного тракта является шейка матки. В ее слизистой оболочке в виде отдельных скоплений располагается значительное число плазматических клеток, секретирующих главным образом IgA и IgG (гораздо меньше IgM). Методом радиальной иммунодиффузии по Манчини (набор монорецепторных антисывороток) были определены концентрации IgA, M, G и секреторного IgA в смывах со слизистых оболочек цервикального канала (табл. 2).

При сравнении показателей местного иммунитета было выявлено, что у пациенток до начала терапии в слизистой пробке цервикального канала преобладали IgA, секреторный IgA и IgG. После проведенного лечения отмечены увеличение количества IgG, снижение концентрации IgA и стабильные концентрации IgM и секреторного IgA.

Сопоставление результатов иммунологического исследования у женщин в зависимости от наличия или отсутствия ВПЧ онкогенного типа показало, что у пациенток без ВПЧ уровень Ig находился в пределах нормативных значений (IgG 0,062 и 0,069 мг/мл; IgA – 0,019 и 0,021 мг/мл; секреторный IgA – 0,03 и 0,026 мг/мл соответственно до и после проведенной терапии). У обследованных пациенток с неспецифическим вагинитом и ВПЧ-инфекцией отмечалось незначительное снижение показателей местного иммунитета, без достоверной разницы результатов до и после проведенного лечения (IgG 0,049 и 0,051 мг/мл; IgA – 0,025 и 0,02 мг/мл; секреторный IgA – 0,021 и 0,026 мг/мл соответственно до и после терапии).

Заключение

В результате нашей работы было показано, что микробиоценоз влагалища у пациенток с неспецифическим вагинитом представлен широким спектром условно-патогенных микроорганизмов, таких как стафилококки, стрептококки, пептострептококки, бактероиды, бациллы, актиномицеты, коринебактерии, превотеллы. Количество типичных представителей индигенной микрофлоры значительно снижено или они отсутствуют, что характеризует ослабление или полное отсутствие защитных возможностей КР.

Распространенность сочетанной вирусной инфекции составила около 29%, примерно у каждой 3-й пациентки был обнаружен ВПЧ из онкогенной группы. Наиболее часто выявлялись вирусы 16, 31 и 18-го типов.

После проведенного курса местной терапии поликомпонентным препаратом Тержинан, содержащим преднизолон, были достигнуты хорошие иммунологические показатели с эффективностью до 86,8%. Количественное определение титра вирусной нагрузки не выявило достоверных изменений, однако отмечено его умеренное снижение.

Оценка показателей местного иммунитета проявила дисбаланс в продукции Ig с преобладанием IgA, секреторного IgA и IgG у пациенток на фоне неспецифического вагинита. После окончания курса терапии отмечены тенденции к нормализации продукции Ig, вне зависимости от факта наличия или отсутствия ВПЧ.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о высокой эффективности препарата Тержинан в отношении терапии неспецифического воспаления. Продемонстрировано отсутствие достоверного влияния местного использования препарата Тержинан, содержащего 3 мг преднизолона (курсовая доза 30 мг), на показатели секреторного иммунитета и репликативную активность ВПЧ.

Литература/References

- Kolenbrander P, Andersen R, Blebert D. Communication among oral bacteria. *Microb Molecular Biology Rev* 2002; 66 (3): 486–505.
- Winer RL, Feng Q, Hughes JP et al. Risk of female human papillomavirus acquisition associated with first male sex partner. *J Infect Dis* 2008; 197: 279.
- Widdice LE, Brown DR, Bernstein DI et al. Prevalence of human papillomavirus infection in young women receiving the first quadrivalent vaccine dose. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2012; 166: 774.
- Markowitz LE, Sternberg M, Dunne EF et al. Seroprevalence of human papillomavirus types 6, 11, 16, and 18 in the United States: National Health and Nutrition Examination Survey 2003–2004. *J Infect Dis* 2009; 200: 1059.
- Liu G, Markowitz LE, Hariri S et al. Seroprevalence of 9 Human Papillomavirus Types in the United States, 2005–2006. *J Infect Dis* 2016; 213: 191.
- Sycuro LK, Xi LF, Hughes JP et al. Persistence of genital human papillomavirus infection in a long-term follow-up study of female university students. *J Infect Dis* 2008; 198: 971.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Боровкова Екатерина Игоревна – д-р мед. наук, проф. каф. акушерства и гинекологии лечебного фак-та ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И.Пирогова». E-mail: kатыnikitina@mail.ru
Федотова Анна Сергеевна – врач акушер-гинеколог клиники «Чайка»