



2004, №6, том 2, с.34-37.

Обоснование и опыт применения иммунотерапии при лечении рецидивирующих остроконечных кондилом.

Соловьев А. М., Перламутров Ю. Н., Атауллаханов Р. И.,
Пичугин А. В. Московский государственный медико-
стоматологический университет, ГНЦ-Институт Иммунологии

Введение

Проблема лечения генитальных вирусных инфекций является наиболее острой в настоящее время. Исходя из биологии вирусов, эти инфекции наиболее трудно поддаются эпидемиологическому контролю и лечению. Среди вирусных инфекций, поражающих аногенитальную область, наиболее распространены герпетическая и папилломавирусная инфекция. К проявлениям папилломавирусной инфекции человека (ВПЧ-инфекции) относят (по Handley J.[1]): клинические формы – аногенитальные бородавки (остроконечные кондиломы, вульгарные бородавки), симптоматические внутриэпителиальные неоплазии на ранних стадиях при отсутствии дисплазии (плоские кондиломы); субклинические формы - бессимптомные внутриэпителиальные неоплазии при отсутствии дисплазии; латентные формы (отсутствие морфологических или гистологических изменений при обнаружении ДНК ВПЧ).

Важнейшая причина клинической манифестации этой инфекции и ее рецидивирующего течения - наличие нарушений в иммунной системе.

Существует множество методов лечения остроконечных кондилом. Так как считается, что сам вирус папилломы человека (ВПЧ) устранить из организма невозможно, задачей терапии является устранение клинических проявлений ВПЧ-инфекции. Эффективность различных методов варьирует от 50 до 94%. Важнейшим показателем эффективности любого метода является частота рецидивов. Уровень рецидивирования составляет в среднем 30% в течение 3 месяцев после лечения и не зависит от выбора терапии. Для лечения остроконечных кондилом используют физические деструктивные методы (электрокоагуляция, лазеротерапия, криодеструкция), химические деструктивные методы (различные кислоты, солкодерм), цитотоксические препараты (подофиллин и его производные), иммунные препараты (интерферон и его индукторы). Проведенный нами анализ современной литературы показывает, что наиболее эффективным методом лечения остроконечных кондилом можно считать комбинированный метод, включающий деструкцию видимых поражений и иммунотерапию.

Целью работы являлось обоснование применения и определение клинической эффективности иммуномодулятора «Иммуномакс» в комбинированной терапии рецидивирующих остроконечных кондилом.

Материалы и методы.

Проведено лечение 47 больных (25 женщин и 22 мужчин) в возрасте от 18 до 53 лет (средний возраст 28,1 год).

Длительность заболевания варьировала от 2 месяцев до 4 лет (в среднем 13,2 месяцев). В течение этого времени у больных наблюдалось рецидивирование остроконечных кондилом, несмотря на их удаление. На момент исследования у всех 47 больных имелись остроконечные кондиломы. Длительность настоящего рецидива (время существования имеющихся у больных генитальных бородавок) – от 1 недели до 8 месяцев (в среднем более 1,5 месяцев).

Таким образом, обязательными критериями проведения исследуемого способа терапии служили наличие остроконечных кондилом и рецидивирование их после удаления различными способами.

Всем больным до лечения, сразу после окончания лечения и через 3 месяца проводили следующие исследования:

1. Опрос больного (жалобы, анамнез)
2. Осмотр пациента и физикальные исследования в зависимости от локализации инфекционного процесса (пальпация, диаскопия, влагалитное исследование в зеркалах, кольпо- или уретроскопия).
3. Исследование материала из очагов поражения с помощью полимеразной цепной реакции для выявления и типирования вируса папилломы человека.

4. Исследование материала из очагов поражения, окрашенного метиленовым синим по Граму, для оценки количества лейкоцитов и микробной флоры.
5. Исследование материала из очагов поражения с помощью реакции прямой иммунофлуоресценции для идентификации сопутствующей микробной флоры.
6. Исследование параметров общего анализа крови и мочи.
7. Исследование параметров биохимического анализа крови и мочи
8. Исследование параметров иммунного статуса.

При иммунологическом обследовании у больных определялись показатели общеклинического анализа крови: эритроциты, гемоглобин, гематокрит, ср.объем эритроцита, ср.содержание гемоглобина в эритроците, ср.концентрация гемоглобина в эритроците, тромбоциты, лейкоциты, палочкоядерные нейтрофилы, сегментоядерные нейтрофилы, эозинофилы, лимфоциты, моноциты, СОЭ, индекс СОЭ, С-реактивный белок, антистрептолизин-О; относительные и абсолютные показатели основных звеньев иммунной системы: Т-лимфоциты CD3+, Т-хелперы/индукторы CD3+4+, цитолитические Т-лимфоциты и Т-супрессоры CD3+8+, иммунорегуляторный коэффициент CD4+/CD8+, В-лимфоциты CD19+, NK-клетки CD3-16+ /56+, активированные NK-клетки (эспрессирующие HLA-DR-молекулы), NK-клетки с фенотипом CD3-16+56-, NK-клетки с фенотипом CD3-16+56+, NK-клетки с фенотипом CD3-16-56+, подкласс цитолитических Т-лимфоцитов CD3+(16/56)+, активированные Т-лимфоциты CD3+HLA-DR+, CD4+25+ Т-лимфоциты, эспрессирующие рецепторы к IL2, CD4+ Т-лимфоциты, эспрессирующие HLA-DR-молекулы, CD8+ Т-лимфоциты, эспрессирующие рецепторы к IL2, CD8+ Т-лимфоциты, эспрессирующие HLA-DR-молекулы, незрелые Т-лимфоциты CD3+4+8+, незрелые Т-лимфоциты CD3+4-8-, цитолитические CD8+ лимфоциты, содержащие перфорин, среднее содержание перфорина в ЦТЛ, NK-клетки, содержащие перфорин, среднее содержание перфорина в NK-клетке, CD4+ лимфоциты, содержащие перфорин, среднее содержание перфорина в клетке, CD4+CD45RA+RO- наивные Т-хелперы, CD4+CD45RA+RO+ CD4+ клетки памяти, CD4+CD45RA+RO+ активированные Т-хелперы, CD8+CD45RA+RO- наивные CD8+ лимфоциты, CD8+CD45RA+RO+ CD8+ клетки памяти, CD8+CD45RA+RO+ активированные CD8+ лимфоциты, спонтанная пролиферация лимфоцитов, пролиферация Т-лимфоцитов в ответ на активацию ФГА, пролиферация В-лимфоцитов в ответ на активацию ЛПС, хемилюминесценция спонтанная, хемилюминесценция, индуцированная зимозаном, хемилюминесценция, индуцированная ФМА, фагоцитирующая способность нейтрофилов, фагоцитарный индекс, иммуноглобулин G, иммуноглобулин А, иммуноглобулин М, иммуноглобулин Е, ЦИК (осаждение в 4% ПЭГ), ЦИК (осаждение в 3% ПЭГ), лизис эритроцитов, покрытых антителами, лизис интактных эритроцитов.

Всем больным до лечения проводили серологические исследования на сифилис и ВИЧ-инфекцию.

Методика лечения заключалась в комбинированном использовании Иммуномакса в сочетании с удалением кондилом различными методами (табл. 1).

Таблица 1. Методы лечения удаления кондилом

Метод	Кол-во больных
Электрокоагуляция	19
Лазерная деструкция	17
Солкодерм	11
	Всего: 47

Больным удаляли остроконечные кондиломы и одновременно назначали внутримышечные инъекции Иммуномакса по 200 ЕД на 1-й, 2-й, 3-й, 8-й, 9-й и 10-й дни лечения. Инъекции выполняли 1 раз в сутки, на курс 6 инъекций.

Активным компонентом препарата Иммуномакс является кислый пептидогликан с молекулярной массой 1000-40000 кДа. Препарат выделен из растений комплексом биохимических методов, включающих ультрафильтрацию и хроматографию. Стерильный препарат Иммуномакс - лиофилизированный порошок по 200 ЕД во флаконах для инъекций выпускается ООО «Иммафарма» (Россия).

Препарат относится к группе иммуномодуляторов, показан для коррекции ослабленного иммунитета, лечения и профилактики вирусных и бактериальных инфекций.

Результаты и обсуждение.

В своих проявлениях остроконечные кондиломы имели классическую клиническую картину. У всех 47 больных это были папилломатозные разрастания по типу «цветной капусты», расположенные на ножке, с экзофитным ростом, имеющие дольчатую структуру. Кондиломы имели различную локализацию (рис. 1, 2).

Рисунок 1. Локализация остроконечных кондилом у мужчин.



Рисунок 2. Локализация остроконечных кондилом у женщин.



У каждого больного насчитывалось от 1 до 30 кондилом (в среднем 10-11) размером от 1 до 30 мм.

Рецидив заболевания у большинства больных происходил в пределах 1 - 2 месяцев после удаления. Этот показатель, полученный в ходе данного клинического исследования, полностью подтверждает правильность выбранного нами периода наблюдения за больными – 3 месяца после удаления остроконечных кондилом и лечения Иммуномаксом.

У 9 (19,1%) больных наличие генитальных бородавок сопровождалось субъективной клинической симптоматикой - зудом, жжением, дискомфортом в области поражений.

Предшествующая терапия проводилась у всех 47 больных и включала использование различных деструктивных методов: лазерная деструкция у 18 (38,3%) больных, электрокоагуляция у 6 (12,8%), криотерапия у 5 (10,6%), подофиллотоксин у 3 (6,4%), химическая деструкция у 3 (6,4%). Два-три различных способа использовали для лечения у 12 (25,5%) больных. Эти данные полностью подтверждают данные литературы о том, что рецидивы остроконечных кондилом могут наблюдаться при любом методе лечения.

Результаты серологических тестов на сифилис и ВИЧ-инфекцию у всех больных были отрицательными.

При клиническом обследовании до лечения только у 2 (4,3%) пациенток выявили признаки эндоцервицита, у остальных больных клинических признаков воспаления урогенитального тракта не отмечено.

При вирусологическом обследовании на вирус папилломы человека (ВПЧ) у 30 больных (63,8%) выявили присутствие онкогенных типов вирусов высокого риска (16/18, 31/33), у 29 (61,7%) больных присутствие типов ВПЧ низкого риска (6, 11, 12). У 9 (19,1%) больных не удалось обнаружить выделение ВПЧ. Отрицательный результат исследования на ВПЧ может быть связан с неадекватным забором материала, недостаточной чувствительностью тестов, ингибированием проб, а также отсутствием в ряде случаев вирусывыделения.

Все больные хорошо переносили лечение, за исключением 3 больных, у которых наблюдали аллергические реакции в виде токсикодермии и крапивницы. Отмены терапии эти случаи не потребовали, так как больным продолжили иммунотерапию, назначив дополнительно антигистаминные препараты и десенсибилизирующее лечение. В клинических и биохимических анализах крови и мочи никаких патологических изменений после лечения не выявили.

В процессе комбинированного лечения для удаления остроконечных кондилом в более чем половине случаев требовалась лишь однократная обработка очагов каким-либо из перечисленных в табл. 1 деструктивных методов. Заживление очагов наблюдалось в течение 1 недели.

При обследовании больных после лечения отмечался выраженный клинический эффект. Отсутствие рецидивирования кондилом сразу по окончании лечения констатировали у 32 из 47 (68,1%) больных. 15 (31,9%) больным потребовались дополнительные сеансы деструкции (от 1 до 3). Отмечали уменьшение количества рецидивирующих кондилом. Если до лечения у большинства больных было от 5 до 30 кондилом, то при визитах после лечения наблюдали рецидивирование 1-2 кондилом. У 2 пациентов наблюдался рецидив внутриуретральных кондилом, обычно плохо поддающихся лечению. К концу 3-го месяца наблюдения только у 1 пациентки продолжали рецидивировать генитальные бородавки. Таким образом, к концу контрольного периода наблюдения у 46 из 47 больных наблюдали отсутствие рецидивирования заболевания и общая клиническая эффективность лечения составила 97,9%. Мы ожидаем, что в широкой клинической практике этот процент может незначительно снизиться, так как это характерно в целом для клинических исследований, но в любом случае достижение даже 50%-ного результата в такой сложной группе больных с рецидивирующей инфекцией можно считать успехом.

Поскольку ДНК-исследование на ВПЧ выполнялось полуколичественным методом, это позволило наблюдать в динамике процесс эрадикации ВПЧ из очагов поражения (таблица 2).

Таблица 2. Результаты тестирования на ВПЧ.

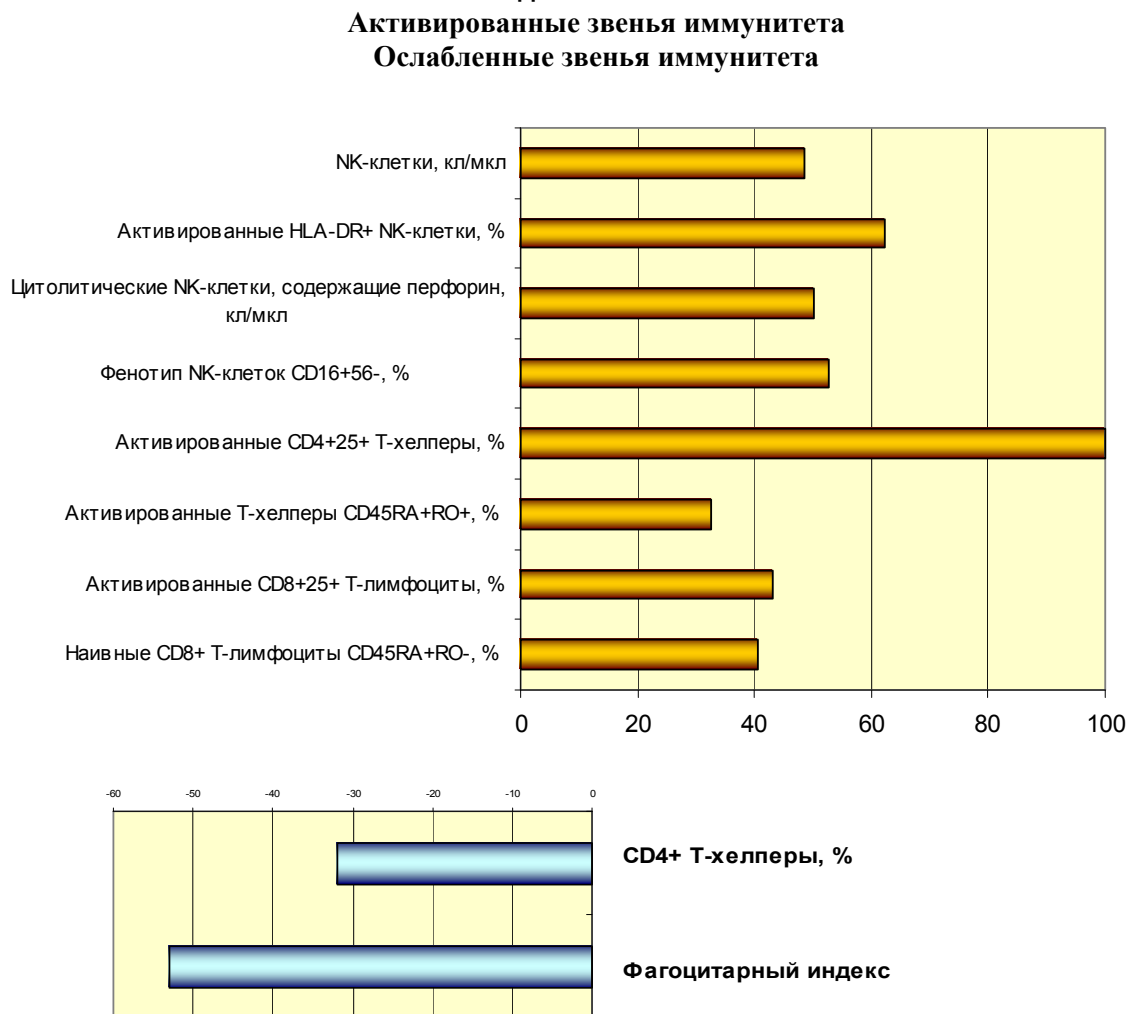
Риск онкогенности вируса	Результат полуколичественного теста	До лечения	После	Через 3 мес.
Высокий риск онкогенности	++++	23 (48,9%)	10 (21,3%)	0
	+++	0	0	0
	++	3 (6,4%)	4 (8,5%)	3 (6,4%)
	+	4 (8,5%)	3 (6,4%)	6 (12,8%)
	Не обнаружен	17 (36,2%)	30 (63,8%)	38 (80,9%)
Низкий риск онкогенности	++++	23 (48,9%)	16 (34%)	6 (12,8%)
	+++	0	1 (2,1%)	0
	++	6 (12,8%)	2 (4,3%)	6 (12,8%)
	+	0	1 (2,1%)	0
	Не обнаружен	18 (38,3%)	27 (57,4%)	35 (74,5%)

В данной таблице в «крестах» показана степень положительности результата ДНК-исследования, косвенно отражающая количество копий ДНК в материале и, следовательно, уровень вирусовыделительства. Из таблицы видно, что сразу после лечения в 1,5-2 раза сокращалось число больных с резко положительным результатом ДНК-исследования, как для вирусов высокого риска онкогенности (с 48,9% до 21,3%), так и для низкого риска (с 48,9% до 34%). Эта положительная динамика продолжилась в дальнейшем. К концу периода наблюдения вирусы высокого риска обнаруживали у 19,2% больных (только слабopоложительные результаты), до лечения – у 63,8%. Вирусы низкого риска удалось выделить у 25,6% (до лечения у 61,9%). Полученные результаты показывают выраженное влияние Иммуномакса на противовирусный иммунитет, которое приводит не только к прекращению рецидивов, но и исчезновению вирусов из очагов поражения. Это позволит, вероятно, использовать Иммуномакс не только при лечении остроконечных кондилом, но и при лечении других клинических проявлений ВПЧ-инфекции, например, вульгарных бородавок, а также в комплексной терапии ВПЧ-ассоциированных заболеваний – неоплазиях шейки матки у женщин. Последний аспект чрезвычайно важен ввиду онкологической опасности данных болезней.

Обосновать необходимость иммунотерапии при лечении рецидивирующих остроконечных кондилом, оценить полученные результаты, понять выявленную динамику исчезновения клинических проявлений и ДНК ВПЧ может помочь сопоставление этих данных с показателями иммунного статуса больных, полученных в ходе иммунологического обследования. Иммунный статус больных рецидивирующими остроконечными кондиломами характеризовался снижением процентного содержания CD4+ Т-хелперов у 32% больных, фагоцитарного индекса у 53% больных, повышением количества NK-клеток у 49% больных, процента активированных HLA DR+ NK-клеток у 62% больных, количества цитолитических NK-клеток, содержащих перфорин, у 50% больных, процента CD16+56- NK-клеток у 53% больных, активированных CD4+25+ и CD45RA+RO+ Т-хелперов у 100% и 32% больных соответственно, CD8+25+ Т-лимфоцитов у 43% больных, наивных CD8+ Т-лимфоцитов у 41% больных, количества моноцитов у 53%, спонтанной хемоллюминесценции у 42% больных, пролиферации Т-лимфоцитов у 64% больных, содержания IgG у 50% больных (рис. 3). Выявленные отклонения в

иммунном статусе показывают необходимость проведения иммуотропного лечения у больных рецидивирующими остроконечными кондиломами.

Рисунок 3. Особенности иммунного статуса у больных рецидивирующими остроконечными кондиломами.



При анализе иммунологических показателей удалось установить связь между состоянием иммунитета и эффективностью лечения, а также найти прогностические показатели, позволяющие предсказать возможное рецидивирование кондилом после комбинированного лечения.

Таблица 3. Показатели иммунного статуса, имеющие прогностическое значение в отношении динамики излечения.

Быстрое выздоровление после лечения Иммуномаксом (n=32)	Замедленное выздоровление после лечения Иммуномаксом (n=14)
1. Моноцитоз (p=0,07)	1. Снижение фагоцитарного индекса (p=0,07)
2. Умеренный нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом влево (p=0,05)	2. Увеличение числа CD56- НК-клеток (p=0,07)
3. Увеличение количества НК-клеток в основном за счет CD16+56+ (p=0,02)	3. Активация CD45RA+RO+ Т-хелперов (p=0,05)
4. Увеличение количества цитолитических НК-клеток с перфорином (p=0,04)	4. Активация CD8+25+ Т-клеток (p=0,09)

Иммунный статус 32 больных, у которых кондиломы перестали рецидивировать сразу после лечения Иммуномаксом (группа 1), характеризовался следующими статистически достоверными изменениями (таблица 3): повышением количества моноцитов (p=0,07), умеренным нейтрофильным

лейкоцитозом со сдвигом влево ($p=0,05$), увеличением количества НК-клеток в основном за счет CD16+56+ ($p=0,02$), увеличением количества цитолитических НК-клеток с перфорином ($p=0,04$). При анализе иммунного статуса 14 больных, у которых отмечалось замедленное выздоровление после лечения (группа 2), выявили статистически достоверное снижение фагоцитарного индекса ($p=0,07$), увеличение числа CD56- НК-клеток ($p=0,07$), активацию CD45RA+RO+ Т-хелперов ($p=0,05$), активацию CD8+25+ Т-клеток ($p=0,09$).

Данные наблюдения показывают важность состояния звена НК-клеток, соотношения различных субпопуляций лимфоцитов этого звена иммунной системы, их функциональной активности. Учитывая выявленные изменения можно предположить, что у больных 1-й группы Иммуномакс сразу устраняет дисфункцию иммунитета и прекращает рецидивирование кондилом. Пациентам 2-й группы требуется дополнительное время после иммунотерапии для восстановления функции иммунной системы. Хороший клинический результат, достигаемый у больных 2-й группы, несмотря на замедленное выздоровление, показывает, что в итоге с помощью Иммуномакса удается преодолеть эту дисфункцию иммунитета. На основе выявленных прогностических иммунологических признаков можно рассмотреть возможность увеличения количества инъекций Иммуномакса или проведения дополнительного курса иммунотерапии Иммуномаксом у больных с предполагаемым замедленным выздоровлением.

Клинические результаты и противовирусный эффект иммунотерапии Иммуномаксом может быть дополнен наблюдениями за влиянием проводимого лечения на другие урогенитальные инфекции.

У 25 пациентов в материале из урогенитального тракта выявили присутствие вируса простого герпеса (ВПГ). При контрольных исследованиях через 1-7 дней после окончания иммунотерапии у 12 больных наблюдали прекращение вирусовыделения – признаков присутствия ВПГ в урогенитальном материале не обнаружили. Данный опыт показывает широту противовирусного действия Иммуномакса.

В 23 случаях при обследовании до лечения выявили присутствие в урогенитальном материале бактерий рода микоплазм (*Mycoplasma spp.* и *Ureaplasma urealyticum*), а в 7 – *Chlamydia trachomatis*. В этих случаях больным дополнительно назначали 10-14 дневный курс антибактериальной терапии доксициклином или одним из антибиотиков группы макролидов. В урогенитальном материале всех больных по окончании лечения бактериальных инфекций не выявили. Так как инфекции, вызванные микоплазмами и хламидиями, очень часто рецидивируют при монотерапии антибиотиками, результаты, полученные в ходе нашего исследования, можно признать положительными. Иммунотерапия Иммуномаксом позволяет избежать рецидивов при лечении бактериальных урогенитальных инфекций.

Выводы

1. **Иммуномодулятор Иммуномакс** в комбинированной терапии рецидивирующих аногенитальных бородавок показал хорошую переносимость и выраженную клиническую эффективность, направленную на прекращение рецидивов заболевания и вирусовыделительство. Из 47 больных, у которых до лечения Иммуномаксом наблюдалось рецидивирование аногенитальных бородавок, прекращения рецидивов удалось добиться у 46 (97,9%) пациентов.

Кроме этого, в ходе исследования удалось установить активирующее влияние препарата на противовирусный иммунитет. Это действие сопровождалось уменьшением или полным прекращением выделения вирусов папилломы человека из очагов поражения, а также вирусов простого герпеса.

2. Иммунный статус больных рецидивирующими аногенитальными бородавками характеризуется снижением CD4+ Т-хелперов, фагоцитарного индекса, повышением НК-клеток, активированных HLA DR+ НК-клеток, цитолитических НК-клеток, содержащих перфорин, CD16+56- НК-клеток, активированных CD4+25+, CD45RA+RO+ Т-хелперов, CD8+25+ Т-лимфоцитов, наивных CD8+ Т-лимфоцитов, моноцитов, спонтанной хемоллюминесценции, пролиферации Т-лимфоцитов, IgG. Эти изменения показывают обоснованность включения иммунотерапии **Иммуномаксом** при лечении больных рецидивирующими остроконечными кондиломами.

3. Быстрое выздоровление при лечении **Иммуномаксом** ассоциировано с повышенным количеством моноцитов, цитолитических НК-клеток с перфорином. Замедленное выздоровление ассоциировано со снижением фагоцитарного индекса, увеличением числа CD56- НК-клеток. Благоприятный клинический результат, достигаемый у больных несмотря на замедленной выздоровление, показывает, что в итоге с помощью Иммуномакса удается преодолеть функциональные нарушения иммунитета.