Федеральное агентство по здравоохранению
и социальному развитию
Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Московский государственный медико-стоматологический университет
Росздрава»

04.200.7 16550

На правах рукописи

ЕВТЕЕВА
Юлия Александровна

ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЛЕКСА ЦИТОКИНОВ В ЛЕЧЕНИИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ ШЕЙКИ МАТКИ.

14.00.01 – «Акушерство и гинекология»

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидат медицинских наук

Научный руководитель
Заслуженный врач РФ,
д.м.н., профессор И.Б. Манухин.

Москва - 2006

Оглавление

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ Стр. 4

ВВЕДЕНИЕ Стр. 5

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ Стр. 10

1.1. Эпидемиология папилломавирусных поражений шейки матки. Роль папилломавирусной инфекции в развитии интраэпителиальных неоплазий шейки матки - 10

1.2. Иммунитет при внутриэпителиальных дисплазиях слизистой шейки матки - 20

1.3. Лечение папилломавирусных интраэпителиальных неоплазий шейки матки - 26

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Стр. 43

Глава 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОК С ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ШЕЙКИ МАТКИ. Стр.58

3.1.Клиническая характеристика пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальной поражением низкой степени. Стр.58

3.2. Клиническая характеристика пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальной поражением высокой степени. Стр.64

Глава 4. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОК. Стр.71

4.1.Результаты клинико-иммунологического обследования пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальной поражением низкой степени. Стр.71

4.2. Результаты клинико-иммунологического обследования пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальной поражением высокой степени.Стр79

Глава 5. КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОК С ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ШЕЙКИ МАТКИ. Стр.86

5.1. Клиническая эффективность лечения пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальной поражением низкой степени. Стр.86

5.2. Клиническая эффективность лечения пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальной поражением высокой степени. Стр.95

Глава 6. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ. Стр.103

ВЫВОДЫ. Стр.115

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ. Стр.116

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ Стр.117

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ПВИ – папилломавирусная инфекция

ВПЧ – вирус папилломы человека

ПИП – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение

НПИП - плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени

ВПИП - плоскоклеточное интраэпителиальное поражение высокой степени

ИЛ – интерлейкин

ИФН – интерферон

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЗППП – заболевания, передающиеся половым путем

ИППП – инфекции, передающиеся половым путем

БВ – бактериальный вагиноз

ИФА – иммуноферментный анализ

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ФНО – фактор некроза опухоли

МИФ – фактор, ингибирующий миграцию макрофагов

ТФР – трансформирующий фактор роста

ЦИН - цервикальная интраэпителиальная неоплазия

HPV – вирус папилломы человека

CIN – цервикальная интраэпителиальная неоплазия

Ig – иммуноглобулин

CD 3 – Т лимфоциты, несущие альфа, бета клеточный рецептор

CD 4 – хелперные Т лимфоциты

CD 8 – эффекторные цитолитические Т лимфоциты

CD 16 – натуральные киллеры

CD 19 – антителопродуцирующие В лимфоциты

HLA-DR – антигены главного комплекса гистосовместимости

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Во всем мире заболевания передающиеся половым путем являются серьезной медико-социальной проблемой, на одном из первых мест среди других ИППП находится папилломавирусная инфекция (ПВИ) генитального тракта, которая рассматривается как ведущий фактор цервикального канцерогенеза.

Возбудитель, ДНК содержащий вирус папилломы человека (ВПЧ) – онкогенный вирус, имеющий более 40 отчетливых антигенных типа, является облигатным эпителиотропом.

По данным многочисленных источников в настоящее время не наблюдается тенденции к снижению роста заболеваемости папилломавирусной инфекции, что связано с недостаточным клинико-диагностическим обследованием пациентов, сочетанием ПВИ с другими ИППП, наличием латентного носительства ПВИ.

Достаточно долгая персистенция вируса в промежуточном слое многослойного эпителия шейки матки, часто приводящая к рецидивированию процесса у пациенток с нарушением иммунного равновесия, определяет основные трудности в борьбе с данным заболеванием.

Отсутствие четкого понимания практическими врачами необходимости патогенетического подхода к комплексной терапии и проведению специализированной диагностики с целью идентификации вирусной патологии ведет к росту уровня заболеваемости папилломавирусной инфекции.

Следует отметить, что в США Национальным институтом по изучению рака с целью единого понимания предраковых состояний шейки матки цитологами и патоморфологами была рекомендована цитологическая классификация - система Бетесда (1989). Согласно этой классификации изменения шейки матки, связанные с дисплазией,

предлагается обозначать термином плоскоклеточные интраэпителиальные поражения низкой и высокой степени. Основанием для выделения плоскоклеточных интраэпителиальных поражений низкой и высокой степени послужили результаты клинико-морфологического и вирусологического изучения патологии шейки матки.

Плоскоклеточное интраэпителиальное поражение шейки матки вызванное ВПЧ наиболее часто встречается у женщин репродуктивного возраста, а, учитывая, что некоторые серотипы ВПЧ рассматриваются как этиологический фактор в генезе плоскоклеточного рака шейки матки, необходима разработка наиболее эффективных методов диагностики и лечения с целью восстановления репродуктивного здоровья женщин.

Предпринимаются попытки лечения ПВИ с помощью различных препаратов, однако ограниченные успехи и высокая частота рецидивирования заставляют искать новые средства, которые могли бы быть более эффективными, не нарушать микроэкологию, а, наоборот, восстанавливать ее, тем самым, помогая иммунной системе справиться с вирусной инфекцией без использования специфических противовирусных препаратов.

Цель исследования.

Повысить эффективность лечения плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки, вызванного вирусом папилломы человека, путем использования в комплексной терапии локального применения комплекса цитокинов – препарата «Суперлимф».

Задачи исследования.

1. Выявить сопутствующие заболевания нижнего отдела полового тракта при плоскоклеточном интраэпителиальном поражении шейки матки.

2. Определить особенности клинического течения в зависимости от различных степеней и площади поражения эктоцервикса при плоскоклеточном интраэпителиальном поражении шейки матки.

3. Оценка клеточного и гуморального звеньев иммунитета, интерферонового статуса, локального спектра цитокинов у больных с ПИП.

4. Определить влияние локальной иммунокоррегирующей терапии на клиническое течение плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки при моноиммунотерапии, комбинированном лечении (лазервапоризация + Суперлимф) и при общепринятом лечении (с ликопидом).

5. Разработать научно-обоснованный подход к дифференцированному лечению больных с различными формами плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки с проведением этиотропной терапии, коррекции дисбиотических нарушений (например, при хламидиозе вильпрафен и жлемик, при кандидозе орунгал и жлемик) и применением препарата Суперлимф.

Научная новизна.

Впервые определено влияние локального комплекса цитокинов на клиническое течение плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки. Определены особенности клинического течения в зависимости от различных степеней и площади поражения эктоцервикса при плоскоклеточном интраэпителиальном поражении шейки матки Проведено исследование состояния системы иммунитета, у данной категории больных, с определением влияния локальной иммунокоррегирующей терапии. На основании полученных данных разработана методика локальной терапии препаратом Суперлимф с целью повышения эффективности патогенетически обоснованного лечения

плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки, как монотерапия, так и комбинированное лечение (Суперлимф + лазервапоризация + Суперлимф).

Практическая значимость.

Полученные результаты помогли разработать наиболее оптимальную тактику ведения больных с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением шейки матки, раннюю диагностику заболевания, контроль за эффективностью проводимой терапии, патогенетически обоснованное лечение.

Внедрение результатов исследования в практику.

Результаты исследования внедрены в клиническую практику и учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета МГМСУ, используются в работе гинекологических отделений 36 ГКБ.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Иммуносупрессивное состояние организма является провоцирующим фактором в развитии ПИП шейки матки, вызванного ВПЧ.

2. Пациенткам с ПИП шейки матки необходимо включать в комплексное лечение иммуномодулятор локального действия препарат Суперлимф, независимо от степени поражения шейки матки.

3. Для улучшения эффективности лечения и получения стойких результатов необходимо проведение повторных курсов препаратом Суперлимф через 12 месяцев после лечения.

4. Применение препарата Суперлимф является патогенетически обоснованным за счет содержания природной комбинации цитокинов

и позволяет добиться полного излечения у пациенток с НПИП в 85% без применения деструктивных методик лечения и 94,2% у пациенток с ВПИП с применением лазервапоризации или конизации шейки матки.

Публикации.

По материалам диссертации опубликовано 6 работ, в том числе работа в журнале «Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии» рекомендованном ВАК России.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эпидемиология папилломавирусных поражений шейки матки. Роль папилломавирусной инфекции в развитии интраэпителиальных неоплазий шейки матки

В последние годы значительно расширился список болезней передаваемых половым путем. Среди них особое место занимают вирусные болезни. Одним из основных канцерогенных вирусов является вирус папилломы человека.

В англоязычной литературе папилловирусная инфекция известна под аббревиатурой HPV (human papillomavirus). В отечественной литературе эта инфекция называется либо папилломавирусной инфекцией (ПВИ), либо вирусом папилломы человека (ВПЧ). В данной работе мы будем использовать как русскую транскрипцию папилломавирусной инфекции (ПВИ и ПВЧ), так и английскую (HPV).

Многочисленные экспериментальные и клинические исследования показали, что существует несомненная связь между папилломавирусной инфекцией (ПВИ), дисплазиями слизистой оболочки и раком шейки матки. В настоящее время неопровержимо доказано, что папилломавирусные дисплазии являются предшественником рака шейки матки. (Т.Н.Бебнева и В.Н.Прилепская, 2001; И.М.Иванова, 1992; И.Б.Манухин с соавт., 1997,1999; Н.Ю.Мелехова, 1997; Г.Н.Минкина с соавт., 2001; Ю.И.Подистов, 2003; J.Cuzick с соавт.,1994; E.L.Franco с соавт.,2001; A.Giannoudi и C.S.Herrington, 2001;C.Lay с соавт., 1991; A.Levine с соавт.,1993; M.N.Schiffman с соавт., 1993; H.Tanaka., 2001; S.K.Tyring ,2000; H.zur Hausen, 2000.)

На связь папилломавирусной инфекции с канцерогенезом первыми обратили внимание в 1956 году L.G.Koss и J.R.Durfe. Авторы назвали изменения в клетке при внедрении HPV (human papillomavirus) «койлоцитарной атипией» или «койлоцитозом» (от греческого слова koilos

– пустой). Койлоциты характеризуются большим размером клеток с относительно небольшим гиперхромным ядром, окруженным прозрачной цитоплазмой, наличием перинуклеарной цитоплазматической вакуолизации. Койлоциты, выявленные на фоне дисплазии, как правило, не содержат вирусных антигенов (О.В.Сахарова с соавт., 1998; W.G.McCluggage с соавт., 1996).

До внедрения техники клонирования исследование ПВИ было затруднено, но уже к концу XX столетия было идентифицировано более 100 типов ВПЧ (Т.Н.Бебнева и В.Н.Прилепская, 2001; Г.Н.Минкина, И.Б.Манухин, Г.А.Франк, 2001; И.В.Нестерова, 1995; Ю.И.Подистов, 2003; О.В.Сахарова с соавт., 1998; J.Cuzick, соавт., 1995; R.H.Kaufman с соавт.,1997; L.Kieberg с соавт., 1998; J.L.Melnick с соавт., 1974; D.C.Wilbur с соавт., 1998). Они классифицированы по содержанию ДНК и пронумерованы соответственно порядка идентификации. HPV 1 был идентифицирован первым, HPV 16 – шестнадцатым и т.д. Среди них примерно 30 типов связаны с поражением генитального тракта у женщин и мужчин. В настоящее время установлено, что ВПЧ - один из этиологических факторов CIN, которая является предшественником рака шейки матки (Т.Н.Бебнева, В.Н.Прилепская, 2001).

Агенство по исследованию рака ВОЗ (International Agency for Research on Cancer (IARC) // Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans.- Lyon, 1995.- Vol.64) делит генитальные типы HPV на группы с высокой и низкой степенью риска. HPV 6,11,30,42,43,44. отнесены к типам с низкой степенью риска, поскольку они наиболее часто встречаются при неопухолевых поражениях, кондиломах и цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN). Типы 16 и 18 отнесены к явно канцерогенным. Они обнаруживаются в 50-80% случаев CIN 2 и CIN 3 и в 90-95 % при инвазивном раке (М.Лаасри с соавт.,1998; M.J.Arends с соавт., 1993; W.R.Brewster с соавт., 1999; J.Cuzick с соавт.,1994; O.Lungu с

соавт., 1995; N.Minoz и F.X.Bosch, 1996; M.N.Schiffman с соавт., 1993; W.M.Schoell с соавт., 1999; B.ter Harmsel с соавт., 1999). По данным C.Mougin с соавт.(2001) HPV встречается в 99% случаев инвазивного рака. К группе высокого риска относятся также типы 31,33,35,39,45,52,58.59,68 (И.В.Нестерова,1995; Ю.И.Подистов, 2003; S.K.Tyring ,2000; H.zur Hausen, 2000). Наиболее агрессивными являются типы HVP 16 и 18 (И.В.Нестерова,1995; R.D.Burk, 1999; K. Matsumoto с соавт.,2003; H. zur Hausen, 1991). K Matsumoto с соавт. (2003) показали, что в Японии наиболее частыми типами вирусами папилломы человека, ассоциируемые с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (CIN) являются типы ВПЧ 16, 52 и 58. В то время как ВПЧ 6 чаще всего присутствует в кондиломах. Исследования K.Matsumoto с соавт. показали, что ВПЧ вызывает образование антител к IgG и является главной причиной развития CIN в Японии. В контрольной группе исследовались ВПЧ антитела Ig сыворотки на L1 капсиды (capsids) ВПЧ 16, 52, 58 и 6. Исследования показали, что серопозитивность к ВПЧ 16, 52 и 58 L1 капсидов была заметно выше в группе с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями. Эти исследования, по мнению авторов, свидетельствуют о том, что антитела IgG на L1 капсиды ВПЧ 16, 52 и 58 свидетельствуют о риске возникновения CIN.

HPV-инфекция часто носит смешанный характер, наиболее распространенным является сочетание типов 16/11 и 16/18. Установлено, что смешанная инфекция чаще (61,8%) наблюдается при низких степенях дисплазии. По мере увеличения тяжести цервикальной дисплазии частота смешанной инфекции уменьшается до 41,5%. Еще ниже она встречается при инвазивном раке (21,3%) (D.Y.Chang с соавт., 1997; M.Kalantari с соавт.,1997).

Распространенность вируса обусловлена многими факторами: возрастом, местом жительства, социальной средой и пр. Вирус папилломы

чаще всего передается половым путем и соответственно этому поражаются преимущественно женщины молодого возраста, ведущие активную половую жизнь, имевшие большее число контактов (Б.В.Васильев, 1996; Н.Ю.Мелехова, 1997; Ю.И.Подистов, 2003; A.de Jong с соавт., 2002; M.A.Duggan с соавт., 2000; Ho G.Y. с соавт., 1998; D.A.Galloway, 1998; C.Mougin, 2001; A.Tanaka, 2001). Так, при сравнении двух групп женщин – моложе 44 лет и старше 45 лет оказалось, что риск возникновения цервикального интраэпителиального и инвазивного рака в присутствии HPV типа 16 был в 8 раз выше у более молодых женщин. В связи с этим, E.Diakomanolis с соавт (2001), A.Tanaka (2001) и другие исследователи считают необходимым проведение тестирования у всех молодых женщин с патологическими мазками. К 40-50 годам уровень HPV- инфекции снижается.

Учитывая, что в распространении инфицированности папилломавирусной инфекции ведущую роль играют немедицинские факторы, В.Г.Волков и Т.В. Захарова (2000) считают, что проблема рака шейки матки является не столько медицинской, сколько социальной.

M.A.Duggan с соавт. (2000) и другие исследователи отмечают, что в среднем 11% of CIN I поражений прогрессируют в более глубокие стадии дисплазии. Причем, как указывают авторы, оральные контрацептивы способствуют прогрессированию дисплазии. Вместе с тем, ряд исследователей свидетельствуют о том, что HPV- инфекция у молодых женщин может в течение короткого времени подвергаться обратному развитию (A.de Jong с соавт., 2002, T.V.Sedlacek, 1999).

Вместе со снижением частоты HPV-инфекции в старшей возрастной группе наблюдается снижение частоты дисплазии шейки матки (G.k.Chew и M.E.Cruickshank, 2001). В связи с этим, M.A.Duggan с соавт. (2000) и другие исследователи считают, что при сочетании дисплазии шейки матки с HPV-

инфекцией в репродуктивном возрасте рекомендовано более консервативное ведение пациентов.

F.X.Bosch с соавт. в 1995 году опубликовали интересное данные по результатам комплексного эпидемиологического обследования по изучению географической распространенности генитального человеческого папилломавируса и его роли в развитии рака шейки матки. В исследовательскую группу входили 32 госпиталя из 22 стран. Более 1000 биоптатов обследованных женщин из различных регионов земного шара было направлено в центральную лабораторию для квалифицированного изучения. Результаты исследований показали строгую зависимость HPV-инфекции и частоты цервикального рака во всех регионах. Среди множества различных типов папилломавируса было найдено более 20 типов ассоциированных с раком шейки матки. В результате массовых гинекологических обследований отмечено присутствие папилломавируса HPV DNA в 70-93% случаев цервикального рака с незначительными вариациями распространенности в различных странах. Преобладающими типами вируса были HPV 16, обнаруженный у 50% обследованных женщин, HPV 18 установлен у 15% больных. В случае сочетания типа 16 с близкими ему типами (31;33,35,52,58) их частота составила уже 67%, а типа 18 с близкими типами (39,45,59,68) – 27%. Оставшиеся типы составили всего 6%. HPV 16 доминировал во всех странах за исключением Индонезии, где более частым оказался HPV 18 (A.Giannoudi и C.S.Herrington, 2001; C.S.Herrington с соавт.,1995; K.Kim с соавт., 2000; S.Landham с соавт., 2001). Определенное число негативных результатов связано либо с погрешностями методики, либо с реальным несоответствием, которое чаще наблюдается у женщин старшего возраста. В подобных случаях отмечен неблагоприятный прогноз заболевания (D.H.Higgins с соавт., 1991; H.Ikenberg с соавт., 1994; G.Riou с соавт., 1990).

В настоящее время не вызывает сомнений, что ПВИ является ведущим фактором в цервикальном канцерогенезе. Предполагается, что папилломавирусная инфекция является необходимым компонентом создания предопухолевого и злокачественного фенотипа Ю.И.Подистов (2003). Показано, что более чем в 90% наблюдений инвазивного рака шейки матки обнаруживаются специфические типы ПВИ (J.Backe с соавт.,1997; W.R.Brewster с соавт. 1999).

Внедрение и персистенция ВПЧ в базальных клетках многослойного плоского эпителия шейки матки индуцирует реализацию программы воспроизведения вируса и в конечном счете приводит к пролиферативным и метапластическим процессам в эпителиальной ткани. ВПЧ является облигатным внутриклеточным паразитом, который обычно присутствует в эписомальной форме, то есть находится в цитоплазме клетки. Для репродукции он должен мигрировать в ядро. Внедрение вирусной ДНК в ядро клетки хозяина называется интеграцией. ВПЧ-ДНК берет под контроль генетический материал клетки хозяина для выработки ВПЧ кодированных протеинов. Процесс интеграции сопровождается частичной потерей генетического материала вируса, при этом вирусный геном теряет способность к полной репликации, и в клетках, содержащих интегрированный клеточный геном, отсутствует продукция вирусных частиц. Предполагают, что интеграция представляет собой активационный механизм прогрессии неоплазии от тяжелой степени дисплазии к раку. Только интегрированные формы ВПЧ способны вызывать злокачественную трансформацию. Таким образом, одним из наиболее характерных и важных свойств клеток, несущих генетический материал вирусов папиллом, является существование генома в двух формах – свободной (эписомальной) и интегрированной (в составе клеточного генома). Форма персистенции играет важную роль в прогрессии заболевания. Хотя этот вопрос еще окончательно не решен, наиболее приемлемой является точка зрения,

согласно которой на начальных стадиях опухолевого процесса вирусный геном персистирует в эписомальной форме, в то время как в развитых формах опухолевого процесса вирусная ДНК выявляется главным образом в составе клеточного ядра (Ф.Л.Киселев, 1997).

M.von Knebel Doeberitz (2001) считает, что экспрессия двух типов вирусных онкогенов Е6 и Е7 в эпителиальных стволовых клетках поддерживает клеточный карциногенез и стимулирует гиперпродукцию p16INK4a протеина. Поскольку нормальные клетки плоского эпителия не продуцируют данный протеин, скрининговое определение p16INK4a протеина является специфическим способом выявления диспластических поражений. Прогрессия интраэпителиальных изменений от пренеопластических дисплазий до инвазивного рака связана с рекомбинацией вирусного и клеточного геномов, которые могут регулироваться путем определения папилломавирусных онкогенов, получаемых из копий интегрированных геномов. Определение типа интегрированного онкогена может прогнозировать дальнейшее развитие процесса в направлении глубокой дисплазии или инвазивного рака, и, следовательно, является маркером для цервикальных поражений. Результаты этих исследований, по мнению автора, помогут улучшить существующие ограничения в скрининговых исследованиях, диагностике рака шейки матки и мониторинге в процессе лечения.

И.Б.Манухин с соавт. (1999) считают, что папилловирусная инфекция внедряясь в клетку нарушает ее структуру, ее органелл (в частности митохондрий) и их мембран. Наиболее часто в канцерогенез шейки матки вовлечены определенные участки хромосом 5,6,10,11,17. Интеграция вирусной ДНК индуцирует нестабильность клеточного генома и как следствие индукцию нарушений в различных хромосомах, тестируемых по потере гетерозиготности (О.В.Сахарова с соавт., 1998).

Термин «дисплазия» был предложен J.Reagan в 1953 году. Под этим названием подразумевались патологические изменения, которые развиваются в утолщенном или метапластическом эпителии влагалищной части шейки матки (Л.Н.Василевская с соавт.,1987;). Названия «эпителиальные дисплазии» и внутриэпителиальная карцинома (carcinoma in situ») были приняты на Международном конгрессе цитологов в 1961 году. В 1980 году этот термин внесен в Международную гистологическую классификацию болезней (Я.В.Бохман, 1989; Л.Н.Василевская с соавт.,1987; В.П.Козаченко, 1985; П.С.Русакевич, 1998).

Очаги дисплазии локализуются во влагалищной части шейки матки, в области стыка цилиндрического и многослойного плоского эпителия (эндоцервикса и эктоцервикса), а также могут находиться и в отдалении от наружного маточного зева в слизистой цервикального канала.

Цитоморфологически дисплазия характеризуется интенсивной пролиферацией атипических клеток с нарушением нормального расположения слоев эпителия шейки матки (Б.И.Железнов с соавт.,1991).

В 1968 году R.M.Richart для вируснопапиллярных дисплазий шейки матки предложил термин «цервикальная интраэпителиальная неоплазия» (CIN). При этом Richart выделил три степени CIN.

При слабо выраженной дисплазии (CIN I) полярность и комплексность эпителия сохранены, изменения ограничены нижней третью эпителиального пласта. Ядра увеличены, часто неправильной формы с большим содержанием хроматина. В единичных клетках митозы. В среднем и поверхностном слоях хорошо выражены процессы созревания и ороговения.

При умеренно выраженной дисплазии (CIN II) изменения занимают промежуточное положение между признаками слабо и резко выраженной атипией клеток увеличением и гиперхромией ядер. Полярность отсутствует. Наблюдаются митозы, иногда атипические. Атипические

клетки располагаются во всех третях эпителиального пласта, но поверхностные слои клеток сохраняют нормальное строение (Л.Н.Василевская, 1986; В.П.Козаченко, 1985; В.Н.Прилепская с соавт., 1997).

CIN III объединяет в одну группу тяжелые эпителиальные дисплазии и внутриэпителиальную карциному. Это объясняется определенным сходством их ультраструктурной и цитогенетической особенностей. Преинвазивный рак является промежуточной стадией между дисплазией и инвазивным раком (Н.А.Кузнецова, 2000).

К настоящему времени накоплено огромное количество эпидемиологических и молекулярно-биологических данных, свидетельствующих о том, что ВПЧ, передающийся половым путем, является основой возникновения дисплазии и рака шейки матки (Т.Н.Бебнева и В.Н.Прилепская, 2001).

В целях единого понимания дисплазий как предраковых процессов цитологами и клиницистами в Национальном институте по изучению рака (Бетесда, США) была в 1988 году разработана цитологическая классификация различных поражений шейки матки. Согласно этой классификации, изменения в шейке матки, связанные с дисплазией и преинвазивной карциномой, предлагается обозначать термином "плоскоклеточные интраэпителиальные поражения" низкой и высокой степени риска (SIL-squamous intraepithelial lesions low and high grade). При этом низкая SIL соответствует легкой дисплазии, а высокая SIL включает в себя умеренную и тяжелую дисплазии, а также преинвазивную карциному.

Таким образом, цервикальная интраэпителиальная дисплазия представляет собой спектр внутриэпителиальных изменений, которые начинаются как очень слабая дисплазия и заканчиваются инвазивным раком. CIN может пройти весь путь развития заболевания включая Ca in situ. А может регрессировать на любом из этих этапов, окончание этой

формы заболевания определяется при появлении клеток, проникающих через базальную мембрану в строму, когда формируется микрокарцинома (M.Scholz с соавт.,1987).

По данным A.B.Bos с соавт. (1997) среди всех женщин в возрасте 25-50 лет с доклиническими формами дисплазий прогрессирование наблюдалось в 24%, регрессия – в 39%, в 38% случаев картина оставалась стабильной. Авторы установили, что в 48% преклинические поражения на протяжении всей жизни не переходят в клинический рак. V.Kataja с соавт. (1989) проследили в динамике большую группу женщин с дисплазиями шейки матки. При этом установили спонтанную регрессию изменений у больных с HPV-CIN I, HPV-CIN II и HPV-CIN III поражений 31.1%, 34.2%, и 20.7%, соответственно. Согласно сводным данным, представленным С.И.Роговской с соавт. (2001) регрессия CIN I степени происходит в 55-57%, персистенция – 27-32% и прогрессия – в 11%; CIN II степени – в 43-54%, 16-35% и 16 –30%, соответственно.

По данным авторов инфицированность пациенток высокоонкогенными ВПЧ повышает вероятность дальнейшей прогрессии CIN I степени до 12,3%, CIN II степени до 20%, CIN III степени до 55,2%.

Наиболее характерным патоморфологическим признаком дисплазии является дискариоз. Ему свойственны увеличение и неравномерное отложение хроматина в ядре, неровность контуров ядер. Кроме того, могут наблюдаться многоядерность, укрупнение ядра и различные включения в цитоплазме. Иногда наблюдается пролиферация промежуточных клеток (Л.Н.Василевская,1986; Т.М.Вишневская с соавт., 1985; В.П.Козаченко, 1985; И.Н.Коротких, 1985; В.И.Новик, 1876;1985; А.С.Петрова с соавт., 1996; Ф.А.Чебану с соавт., 1977; И.А.Яковлева с соавт.,1981,1985).

Для Ca in situ морфологически в отличие от дисплазии характерны полное отсутствие признака дифференцировки, больший полиморфизм

клеток при выраженной атипией ядер, наличие митозов во всех слоях эпителиального пласта, наличие участков с нечеткой дифференциацией между эпителием и стромой. Процесс характеризуется полным замещением эпителиального пласта анаплазированными клетками, потерей комплексности всех слоев слизистой оболочки. Образуется так называемая неопластическая мембрана, однако, процесс протекает в пределах эпителия и не выходит за базальную мембрану (Я.В.Бохман, 1989; Н.А.Кузнецова, 2000;Е.Г.Новикова, 1990; В.Н.Прилепская с соавт.,1997; Н.И.Шуваева, 1985; И.А.Яковлева с соавт., 1981; E.Burghard, 1981; H.Kedsia,1987).

Различия между дисплазиями и преинвазивным раком могут объясняться тем, что сущность дисплазии – интенсивная пролиферация и полипоидизация клеток, тогда как Ca in situ – опухолевая трансформация клеток, что подтверждается ее потентностью к микроинвазии (В.И.Краснопольский, 1997; Н.А.Кузнецова, 2000; Е.Г.Новикова, 1991; В.Н.Прилепская с соавт.,1997).

1.2. Иммунитет при внутриэпителиальных дисплазиях слизистой шейки матки

В развитии папилломовирусной инфекции несомненную роль играет иммунитет. Значение иммунных механизмов в развитии новообразований убедительно доказано многими исследованиями. По мнению И.Б.Манухина с соавт. (1997), B.S.Wilkins с соавт. (1992) и других исследователей, взаимодействие вируса с клеткой, часто ведет к патологическому изменению пролиферативного ядерного антигена (PCNA) - белка, регулирующего клеточный цикл. Результаты исследований И.Б.Манухина с соавт. (1997) и других авторов показали, что наличие PCNA- иммунореактивности именно в пренеопластически измененных

клетках, возможно, позволит прогнозировать переход в неопластический процесс.

Существует мнение, что развитию предраковых процессов и рака шейки матки препятствует апоптоз, одной из функций которого является удаление клеток, претерпевших неопластическую трансформацию, либо имеющих генетические или иные нарушения, способные привести к развитию рака. K.Miwa с соавт. (1998) считают, что индуктором апоптоза является Fas ligand, который, по мнению авторов, индуцирует секрецию интерлейкина IL-1beta. Ингибирование или блокирование апоптоза при определенных патологических состояниях становится причиной бурной пролиферации анапластических клеток, не сдерживаемой конкурирующим процессом их программированной гибели (V.Giandomenico с соавт., 1998; V.Kataja с соавт., 1989; K.Miwa с соавт.,1998; Y.Shoji с с соавт., 1996). Характерным признаком апоптоза является расщепление ДНК на олигонуклеосомные фрагменты (С.И.Роговская с соавт., 2001; Y.P.Tsao с соавт., 1999).

Возможность регрессии заболевания или, напротив, прогрессирование поражений определяется клеточным окружением места патологических изменений, синтезом иммунокомпетентными клетками определенных цитокинов, характерных для местного иммунного ответа по Th1 или Th2 механизму. Фенотипическое и функциональное состояние лимфоцитов периферической крови женщин с поражением шейки матки ВПЧ может отражать иммунные перестройки в месте патологических изменений и служить дополнительным диагностическим показателем (Г.Т. Сухих с соавт, 2000).

Росту ПВИ и прогрессированию вызываемой ею дисплазии могут способствовать заболевания, сопровождающиеся снижением иммунитета, в частности HIV (AIDS), а также иммунодепрессивные препараты (T.V.Sedlacek, 1999). Следует отметить, что иммунологические аспекты заболеваний шейки матки мало изучены. Тем не менее доказана роль

иммунных механизмов в возникновении и развитии предраковых заболеваний шейки матки. Развитие патологии шейки матки происходит на фоне дисбаланса иммунного статуса, что в основном проявляется снижением функциональной активности Т-лимфоцитарной системы (Л.Йегер, 1990; И.Б.Манухин с соавт., 1991, 1994; В.И.Медведева и В.Ф.Долгушина, 1993; О.А.Сапрыкина, 1994).

У больных с папилломавирусными поражениями шейки матки наблюдается снижение системного (гуморального) и местного (клеточного) иммунитета, характеризующееся снижением показателей клеточного звена иммунитета. Как показали исследования О.Г.Харловой (1998) клеточный иммунитет у больных папилломавирусной инфекцией характеризуется снижением уровней всех популяций Т-лимфоцитов. Гуморальный иммунитет характеризуется количественным дефицитом В-клеток и функциональной недостаточностью, заключающейся в снижении основных классов иммуноглобулинов А, М, G, причем при увеличении очага поражения снижается антиинфекционный уровень иммунологической защиты.

У больных с генитальной ПВИ отмечено снижение содержания в крови лимфоцитов, уменьшение иммунорегуляторного индекса, подавление способности лейкоцитов продуцировать лейкоцитарный и иммунный интерфероны, изменения в гуморальных факторах местной защиты (С.И.Роговская с соавт., 1998; И.А.Аполихина, 1999; A.Frankowsky с соавт.,1997).

По мнению Г.Т. Сухих с соавт. (2000) увеличение количества CD8+-клеток и снижение соотношения CD4/CD8 могут свидетельствовать о повышенной активности супрессорных функций иммунитета у пациенток, инфицированных ВПЧ инфекцией. К показателям состояния иммунной системы у таких больных следует отнести и повышенное содержание сывороточных IgA, свойственное аутоиммунным состояниям.

У женщин, имеющих ВПЧ 16 и 18 типов, снижено число стимулированных Т-лимфоцитов, несущих рецепторы к ИЛ-2 (CD25). Это, как правило, отражает снижение пролиферативных свойств данного типа клеток и повышенное содержание клеток натуральных киллеров (CDl6+). У женщин, инфицированных высокоонкогенными вариантами ВПЧ, увеличено количество CD8+-клеток и содержание сывороточного IgA, повышен уровень CD16+-лимфоцитов (Т. Сухих с соавт.,2000).

Полученные результаты, по мнению авторов, могут служить основанием для поиска эффективных методов иммунокоррекции при лечении заболеваний гениталий, ассоциированных с ВПЧ.

При папилломатозе местный иммунитет характеризуется снижением Ig A, Ig G, увеличением Ig M, гаптоглобина, трансферрина. Наиболее важным является снижение секреторного иммуноглобулина А (О.А.Сапрыкина, 1994; В.В.Сапрыкин, 1994). По данным Н.Ю.Мелеховой (1997) у больных с ПВ поражениями шейки матки уровень Т-хелперов составляет 49%, Т-супрессоров - 9%, Ig A –1,08 г/л, уровень секреторного Ig A – 0,67 г/л.

D.Riethmuller и E. Seilles (2000) считают, что естественный генитальный папилломавирус является слабым иммуногеном, вследствие своей малой продуктивности и невоспалительным характером, а также вследствие существования других контрактивных механизмов. Секреторный IgA, являющийся достаточно сильным антиинфекционным иммуногеном слизистой слабо представлен в физиологическом вагинальном секрете. Дефект в механизме образования клеточной цитотоксичности вероятно способствует персистенции ВПЧ инфекции и, соответственно, его влиянию на канцерогенез.

Важным звеном противоопухолевой защиты является система интерлейкинов и интерферонов (М.Г.Гаспарян, 1990; S.Keay и N.Teng, 1988; A.R.Miller с соавт.,1994; E.V.Samoylova с соавт., 1995). Компонентами

этой системы являются лимфокины, γ-интерферон (ИФН) и интерлейкин-2 (ИЛ-2). Являясь медиаторами клеточных иммунных реакций интерфероны и интерлейкины осуществляют множество биологических реакций. В широкий спектр их биологических эффектов входит и противоопухолевая направленность, осуществляемая как опосредованно, путем воздействия на различные звенья клеточного иммунитета, так и непосредственно, путем регуляции клеточного деления. Установлено выраженное угнетение продукции гамма интерферона и интерлейкина-2 у больных с дисплазией и нарастание степени нарушений у больных раком шейки матки. Доказана также иммунокоррегирующая и клиническая эффективность интерлейкина-2 при лечении дисплазии шейки матки. Выявлено непосредственное антипролиферативное действие интерлейкина-2 и его усиление при рекомбинации с интерфероном и способность интерлейкина-2 синтезировать интерфероны. Обобщенно можно сказать, что система интерферонов и интерлейкинов являются клеточно-регуляторными звеньями противоопухолевой защиты организма (В.И.Вотяков, Н.В.Грибкова, 1988,1990; М.Г.Гаспарян, 1990).

Согласно данным литературы интерлейкин-2 подавляет пролиферацию клеток при миелолейкозе. Еще большим ингибирующим действием обладает интерферон.

По мнению О.Г.Харловой (1998), важное значение клеточного иммунитета подтверждается высокой частотой кондиломатоза у больных с иммунодефицитом, а также наблюдением, что спонтанная регрессия поражений связана с выраженной инфильтрацией патологического участка лимфоцитами и макрофагами. Способность организма к адекватному ответу клеточного иммунитета, и, как следствие, местного иммунитета слизистых оболочек на вирусное воздействие определяет возникновение, развитие и рецидивирование папилломавирусной инфекции шейки матки.

Рядом исследований изучена регуляция гена ВПЧ 16 типа воспалительными цитокинами. Показано, что фактор некроза опухоли и интерлейкин- 1 вовлечены в регуляцию гена ВПЧ 16 типа (S.Kyo с соавт., 1994; T.Minagava, 1992). Все эти функции цитокинов способствуют защите организма хозяина от ВПЧ инфекции.

Изучение роли некоторых факторов неспецифического иммунитета (цитокинов) показало, что цитокин интерлейкин-2 (IL-2) и интерферон γ (IFNγ) являются иммуностимуляторами и способны сдерживать опухолей рост, цитокины IL-4 и IL-10 являются ингибиторами иммунитета и соответственно могут стимулировать опухолевый рост. Анализ продукции цитокинов в периферической крови у женщин с дисплазией и локализованной (ограниченной шейкой матки) или распространенной (распространяющейся на другие области генитального тракта) HPV-инфекцией показал, что при распространенной инфекции продукция IL-2 снижена, а продукция IL-4 и IL-10 повышена (M.Clerci с соавт., 1997). Эти данные свидетельствуют о возможности использования анализа цитокинов в оценке прогноза заболевания и, возможно, проведения иммунотерапии. Интерфероны проявляют антивирусную, антипролиферативную и иммуномоделирующую функцию. Они подразделяются на 2 подтипа: первый образуется в инфицированных вирусом клетках. Он также продуцирует апоптоз инфицированных клеток и играет роль в ограничении распространения вируса и повышения антивирусного статуса неинфицированных клеток. Он также способствует уничтожению инфицированных клеток (N.Tanaka с соавт.,1998).

Ю.И.Подистов (2003) полагает, что теоретически можно было бы ожидать успеха от использования интерферонов при HPV-инфекции. Однако экспериментальные исследования на многочисленных клеточных линиях цервикального рака показали, что интерфероны не способны подавлять HPV-инфекцию универсально (K.Y.Kim с соавт., 2000). Тем не

менее, возможно, что дальнейшее изучение интерферонов на молекулярном уровне позволит уточнить пути взаимодействия между вирусными онкопротеинами и реакциями организма, контролирующими иммунитет. Таким образом, на современном этапе научные исследования в борьбе против папилломавирусной инфекции и вызываемых ею дисплазий направлены на стимулирование имеющихся в организме человека системных иммунных и местных клеточных механизмов. Следующим пока нереализованным этапом, очевидно, станет возможность иммунологического контроля путем создания вакцин.

Несмотря на значительное число работ, относительно присутствия HPV-инфекции в женских гениталиях диспластических состояниях, полученные данные пока не позволяют давать конкретные рекомендации относительно лечебной тактики при интраэпителиальных поражениях шейки матки (J.T.Cox, 1995; C.Mougin с соавт., 2001).

1.3. Лечение папилломавирусных интраэпителиальных неоплазий шейки матки

Если говорить об общих принципах лечения папилломавирусных поражений, то в онкогинекологии наметилась тенденция отказа от излишней радикальности при лечении преинвазивного и микроинвазивного рака шейки матки. У больных преинвазивным раком методом выбора считается конизация шейки матки - ножевая, электрохирургическая, лазерная (Е.Г.Новикова, 1992).

Для лечения папилломавирусных поражений шейки матки предложено большое число методов. Это местное применение химических веществ: подофилина, бихлоруксусной кислоты (В.Н.Беляковский,1995; Л.Н.Василевская,1986; М.Л..Винокур, 1985; Д.В.Введенский, 1997;

Л.И.Головина и Я.В.Бохман, 1994), противоопухолевых химиопрепаратов: блеомицина, тиотефа, 5-фторурацила (С.И.Кулинич и Я.Ю.Мелков, 1983; J.J.Jimenes и H.S.Huang, 1992), а также противовирусных средств: интерферона, ацикловира (Л.А.Новикова, 1979; S.Keay, 1988; A.Makane и A.Numata, 1992). Однако недостатком всех перечисленных методик является низкая эффективность и продолжительность лечения (Я.В.Бохман, 1989; Л.Н.Василевская с соавт.,1989; Е.В.Коханевич с соавт., 1990; В.Н.Прилепская с соавт., 1997). Тем не менее, по мнению В.П.Козаченко (1996), больные с легкой степенью дисплазии могут быть подвергнуты динамическому наблюдению с проведением консервативного лечения. При отсутствии регрессии патологических изменений в течение нескольких месяцев, по мнению автора, пациенткам показано вмешательство типа криодеструкции или лазерного выпаривания патологически измененных участков шейки матки.

В последние годы в лечении патологии шейки матки широкое распространение получили физические методы лечения: электрокоагуляция, электроконизация и криодеструкция.

Физические методы оказались эффективнее консервативных. Однако и они не лишены недостатков, к которым относятся: неконтролируемая глубина деструкции, длительный отек тканей, рубцовые деформации шейки матки, частые рецидивы вирусного поражения и недостаточная эффективность (О.М.Сапрыкина, 1994; H.M.Arof., 1984).

Среди методов физической деструкции наибольшее распространение получил метод электрокоагуляции (Л.Н.Василевская, 1986; В.В.Васильев, 1985; М.Л.Винокур, 1985; Е.Е.Вишневская, 1987). Достоинствами этого метода является простота аппаратуры, возможность лечения в амбулаторных условиях и сравнительно небольшая частота неудач.

С помощью электрокоагуляции излечиваются только патологические процессы, расположенные в самых поверхностных слоях многослойного

плоского эпителия, что повышает процент рецидивов при папилломатозе (Э.О.Ожигонова, 1979; H.M..Arof, 1984; P.D.Simmons и R.N.Thin,1981). При электрокоагуляции достигается только частичный эффект, в то время как патологические процессы, находящиеся в глубоких слоях оказываются не затронутыми. Кроме того, после отторжения струпа часто возникают массивные кровотечения. Кроме того, возникающие после электрокоагуляции рубцово-склеротические процессы отрицательно влияют на репродуктивную функцию женщин и на течение последующих родов. (М.Л.Винокур, 1985; С.А.Кетлинский и Н.М.Калинина, 1995; О.М.Сапрыкина, 1994). Невынашивание, по данным литературы, после электрокоагуляции отмечалось у 7% женщин. Ригидность шейки матки в родах наблюдалась у 8,6%.

Более радикальным методом является электроконизация (электроэксцизия). Достоинствами этого метода является большая глубина деструкции пораженного участка и возможность получения материала для гистологического исследования. К сожалению, частота осложнений при использовании этого метода ограничивает его широкое применение при вирусных поражениях шейки матки, особенно когда патологический процесс занимает более 1/2 эктоцервикса. При электроконизации шейка матки, как правило укорачивается, что ограничивает применение данного метода у нерожавших женщин.

Широко применяемая в настоящее время электроконизация шейки матки часто сопровождается возникновением рубцов и стриктуры цервикального канала. Более того, материал, посылаемый на гистологическое исследование, подвергается выраженному термическому повреждению, что в определенной степени затрудняет диагностику, в частности, оценку распространенности патологического процесса и не обеспечивает полной гарантии развития рецидива дисплазии (Е.Г.Новикова, 1997).

Не так давно получил широкое применение метод криодеструкции (Э.О.Ожигонова , 1979; H.M.Arof, 1984; P.D.Simons и R.N.Thin, 1981). С точки зрения эффективности метод криодеструкции обладает наиболее высокой эффективностью в лечении фоновых заболеваний шейки матки. Метод применяется в амбулаторных условиях, легко переносится пациентками, безболезнен и не сопровождается такими нежелательными последствиями как стеноз цервикального канала или кровотечение. Во время криодеструкции происходит замораживание жидкости в экстрацеллюлярных пространствах, повышение осмотического давления и разрушение клеточных мембран. Недостатком метода является то, что не всегда на наконечнике криозонда удается достигнуть температуры необходимой для уничтожения генома вируса, реплицированного в клетке. Недостатком криодеструкции является отсутствие материала для окончательного гистологического исследования, незначительная глубина воздействия, невозможность локального удаления патологического очага с минимальной травматизацией подлежащих тканей и относительно высокая частота рецидивов (до 20%), развитие посткоагуляционных изменений (синдром коагулированной шейки) (М.Н.Костава, 1997).

Как показывают исследования Н.Н.Глебовой с соавт. (1994); В.М.Зуева (1998); А.И.Миляновского (1985); Н.Ю.Мелеховой (1997); В.Н.Соколовой и Л.Д.Заплавновой (1989), одним из наиболее эффективных методов лечения папилломавирусных поражений шейки матки является CO_2 лазерная вапоризация с последующим применением эндогенных цитокинов, сокращающих сроки полной эпителизации и повышающих эффективность лечения. Местное применение комплекса цитокинов, по мнению автора, оказывает влияние на общий и местный иммунитет.

В настоящее время в лечении ВПЧ - поражений шейки матки все более широкое применение получает метод лазерной терапии. Исследования Т.П.Крапошиной (1997) показали, что излучение лазера на

парах меди является высокоэффективным средством воздействия на герпетическую инфекцию. По мнению автора, комбинация лазерной терапии, ацикловира и специфической иммунизации позволяет достичь стойкой ремиссии рецидивирующей вирусной генитальной инфекции.

Имеется достаточно предпосылок для успешного применения в гинекологической практике CO_2 - лазерного излучения.

Углекислый лазер создает пучок инфракрасного излучения длиной волны 10,6 мкм (О.К.Скобелкин, 1989). Энергия лазерного излучения распространяется со скоростью света, нагревает их до 100^0С и вызывая в них деструктивные изменения. Монохроматичность, строгая направленность, когерентность и свойство концентрировать большое количество энергии на малых площадях дают возможность избирательно коагулировать, испарять и резать биологические ткани бесконтактно, с хорошим гемостазом, стерильностью и абластичностью (О.К.Скобелкин, 1989).

При взаимодействии лазерного излучения с биологическими тканями наблюдается целый ряд эффектов: термический, обусловленный селективным поглощением квантов, возникновение волн сдавливания и упругого удара, действие мощных электромагнитных полей, сопровождающих в ряде случаев лазерное излучение, а также ряд других эффектов, обусловленных свойствами среды. Высокое содержание воды в биологических тканях в значительной степени объясняет тот факт, что именно термический эффект имеет существенное значение в характере их повреждения, особенно при действии излучения в красной и инфракрасной части спектра, так как поглощение при этом обусловлено практически полностью водой (В.И.Елисеенко с соавт., 1985; Ю.Г.Пархоменко. 1983; О.К.Скобелкин, 1989).

При небольших экспозициях деструкции подвергаются лишь поверхностные слои тканей. Перемещение луча в линейном направлении

ведет испарению тканей, что и названо лазерной вапоризацией (А.Д.Никольский с соавт., 1981). Под влиянием высокой температуры происходит быстрое испарение межтканевой и внутриклеточной жидкости, а затем сгорание сухого остатка.

Глубина и степень дистрофических изменений ткани при воздействии различных видов лазерного излучения зависит как от его спектральных характеристик, так и от суммарной энергии излучения, определяемой продолжительностью излучения. Вследствие высокой абсорбции и малой теплопроводности тканей шейки матки, а также малой проникающей способности луча CO_2 лазера глубина термического некроза обычно составляет не более 100 мкм, что обеспечивает минимальное развитие рубцовой ткани (А.В.Адамян и С.И.Киселев. 1991; Л.Д.Заплавнова с соавт., 1986,1990; В.Н.Запорожан,1976; В.Н.Прилепская с соавт..1997; М.П.Шахматова с соавт., 1989; W.Alis с соавт., 1986; Z.Bessau, 1996). При совмещении лазера и кольпоскопа луч лазера через систему зеркал точно ориентируется на патологически измененную ткань шейки матки, выпаривая межклеточную и внутриклеточную жидкость (В.Н.Галанкин и К.В.Боцманов, 1994; Л.Н.Рожкова с соавт.1994).

Лазеркоагуляция проводится женщинам в амбулаторных условиях, без анестезии, в первой половине менструального цикла, 3-7 день. Все манипуляции проводятся под контролем кольпоскопа, совмещенного с лазерным излучателем. В аппарат вмонтирован микроманипулятор, который обеспечивает перемещение луча в пределах операционного поля, что помогает осуществлять кольпоскопический контроль в течение всей операции. Наведение луча невидимого излучения CO2 лазера осуществляется по пятну, совмещенного с ним видимого гелий-неонового лазера (Г.К.Базякян и А.Г.Хангельдян, 1986; В.М.Зуев, 1998; Л.Л.Щербицкая с соавт., 1985; В.И.Кулаков, 1997; Е.Г.Новикова, 1989; T.Opava с соавт., 1994; S.Heinzl, 1986).

Морфологическим проявлением изменений, лежащих в основе биологического взаимодействия СО2 лазера с тканями, является коагуляционный термический некроз подвергнутых воздействию тканей с образованием по краю пленки из коагулированных тканей и клеточных элементов (В.Н.Галанкин и К.В.Боцманов, 1994; А.Д.Никольский с соавт.,1981; О.К.Скобелкин, 1989). Следствием трансформации световой энергии в термическую в слизистой оболочке является деформация и укорочение желез, сморщивание эпителиальных клеток с компактным расположением их ядер, образовавшиеся структуры напоминают частокол.

Морфология лазерной раны имеет характерные черты, резко отличающие ее от ран другого происхождения. Подвергшиеся термическому воздействию ткани представлены коагуляционным некрозом, формирующим лазерный термический струп, плотно прикрывающий поверхность раны. Граница подвергнувшихся некрозу тканей стабилизируется в основном через сутки. В этот период в узкой зоне сохранившихся тканей на границе с термическим некрозом обнаруживают отек и различной степени выраженности расстройства кровообращения, проявляющиеся гиперемией, стазами, периваскулярным диапедезными кровоизлияниями (В.Н.Галанкин и К.В.Боцманов, 1994; В.И.Елисеенко с соавт., 1985; Ю.Г.Пархоменко. 1983)

По данным В.И.Елисеенко (1985) для лазерных ран характерна активная ранняя пролиферация клеточных элементов макрофагального и фибропластического ряда, обусловливающая ход репаративного процесса по типу асептического продуктивного воспаления, начинающаяся с первых суток после воздействия лазерного излучения.

В формирующемся рубце после лазерной раны происходит быстрое диффузное накопление гликозаминогликанов основного вещества соединительной ткани, что свидетельствует о созревании соединительной ткани.

Высокий процент положительных результатов терапии CO_2 - лазером приводит J.Jordan (1995) по его данным выздоровление наступало у больных CIN I в 99%, при CIN II в 95%, при CIN III в 94%.

При папилломавирусной инфекции большое значение имеет состояние системы местной защиты. Слизистая оболочка является механическим и функциональным барьером для проникновения и развития инфекции. Кроме того, слизистая оболочка является иммунным фильтром, в котором имеют гуморальные (лизоцим, иммуноглобулин, интерлейкин, интерферон) и клеточные (Т и В лейкоциты, макрофаги) механизмы. Среди факторов гуморального звена ведущее значение имеют иммуноглобулины (Ig A, Ig G, Ig E), которые определяются в маточном, вагинальном и цервикальном секретах. Основную роль среди иммуноглобулинов играет Ig A.

Важную роль в местном иммунитете играет также клеточный фактор. Семейства лимфоцитов слизистой оболочки проявляют себя как супрессоры, естественные киллеры, Т-хелперы. Раковая клетка несет в себе чужеродные вирусные белки или собственные измененные белки, которые распознаются цитотоксическими Т-лимфоцитами (Т-киллерами) и при участии остальных механизмов иммунной системы уничтожается. Кроме цитотоксических Т-лимфоцитов раковые клетки распознаются и уничтожаются другими киллерными клетками: природными киллерами - NK (от англ. слова natural killer), Pit-клетками, В- киллерами, а также К-клетками, чья цитотоксическая активность зависит от антител. Продукция антител В-лимфоцитами регулируется цитокинами Т-клеток и макрофагов (Б.В.Баярт с соавт., 1983; М.М. Вядро, 1990). Благодаря такому широкому спектру клеток иммунной системы лимфоциты и макрофаги слизистой обеспечивают развитие самостоятельных иммунных реакций на локальное введение антигена. (В.Т.Долгих, 2000; M.Alexander с соавт., 1996; M.Nakagawa с соавт., 1997; W.Qu с соавт.,1997).

Новая эра в цитокинотерапии наступила с возможностью выделения эндогенных цитокинов, как лечебного комплекса. По данным К.И.Рублевой с соавт. (1994), комплекс эндогенных цитокинов оказывает влияние на кислородзависимую функцию фагоцитов. В опытах на крысах они подтвердили известные данные об успешном использовании комплекса эндогенных цитокинов, секретируемых лимфоцитами здоровых доноров для лечения экспериментальных ран и ожогов. Участвуя в регуляции активности фибробластов цитокины могут препятствовать развитию рубца. Судя по увеличению количества эпителия в мазках животных, которым был подведен комплекс эндогенных цитокинов, можно предположить, что они обладают эпителизирующим действием на слизистую влагалища. Об ускорении репаративных процессов в ране свидетельствовало также большое количество фибробластов. Таким образом, можно считать установленным, активизирующее действие комплекса эндогенных цитокинов на фагоциты, его бактерицидное и эпителизирующее действие.

Противоопухолевым действием обладают интерфероны и некоторые другие биологически активные соединения, образуемые иммунокомпетентными клетками. В частности, раковые клетки распознаются и разрушаются некоторыми цитокинами, в особенности такими как фактор некроза опухоли и лимфотоксин. Среди многочисленных цитокинов, обладающих контрольно-регуляторными функциями, особое место отводят интерферонам. По своей химической природе интерфероны являются гликопротеидами. Выделено три типа интерферонов: ИФН-α, ИФН-β, ИФН-G. Каждый из трех видов интерферона в свою очередь делится на подтипы. Противовирусное действие интерферонов проявляется в их способности подавлять внутриклеточное размножение вирусов широкого спектра (ДНК- и РНК-вирусов).

Антивирусное действие интерферонов лежит в повышении активности ряда ключевых ферментов клеточного обмена веществ. Под влиянием интерферона блокируется синтез вирусных макромолекул. Биологическая активность у разных интерферонов выражается в разной степени. Например, α и β интерфероны обладают более высокой противовирусной активностью. В то время как χ- интерферон обладает более заметной иммуномоделирующей активностью. В целом, конечный результат действия интерферона состоит в образовании барьера из неинфицированных клеток вокруг очага вирусной инфекции, чтобы ограничить его распространение. В основе такой широкой активности интерферонов лежит их способность включаться в различные метаболические процессы и регулировать их.

С.И.Роговская с соавт. (2001), L.Ottonello с соавт. (1999), K.Miwa с соавт. (1998) полагают, что одним из возможных механизмов регрессии ЦИН, по крайней мере, на ее начальных стадиях, является отторжение патологически измененного эпителия благодаря программированной гибели и элиминации клеток базального слоя. В этом процессе регуляторную и/или эффекторную роль, по-видимому, играют иммунокомпетентные клетки крови, составляющие стромальный инфильтрат, популяционный состав которого свидетельствует о наличии активного хронического воспаления, сопровождающегося активацией фибробластов и наличием гранулоцитов.

Учитывая, что папилломавирусная инфекция вызывает глубокую супрессию местного иммунитета Б.В.Пинегин с соавт.(1997) предложили для лечения ПВИ соединение, обладающее иммуномоделирующей активностью – ГМДП (гликопин). Предварительные исследования показали высокую эффективность лечения ГМДП в комплексе с лазеродеструкцией при лечении ВПЧ инфекции. (И.Б.Манухин с соавт.,1993; О.А.Сапрыкина, 1994). В дальнейшем была разработана новая схема моноиммунотерапии (без лазеродеструкции) с ожидаемым стойким клиническим и

иммунологическим эффектом. Проведенные исследования показали отчетливую эффективность ГМДП в лечении ВПЧ-инфекции. Положительный клинический эффект у больных, получавших ГМДП, сопровождался изменениями иммунного статуса – происходило достоверное увеличение уровня CD8-субпопуляции Т-лимфоцитов и уровней LgM и LgG в цервикальной слизи. В результате проведенного исследования предложены 2 схемы терапии ГМДП больных с разной степенью тяжести ВПЧ-инфекции.

Больные с площадью поражения до 25-30% и легким койлоцитозом: моноиммунотерапия гликопином – 3 цикла по 10 мг в день в течение 6 дней с 14 дневным интервалом.

Больные с площадью поражения более 30% с умеренным или выраженным койлоцитозом и дисплазией: в качестве I этапа – иммунотерапия по схеме, приведенной выше, затем через 6 мес – иммунотерапия в сочетании с лазеродеструкцией.

О.Г.Харловой (1998) была проведена оценка эффективности комплексного лечения локальных форм папилломавирусной инфекции шейки матки, включающего CO_2 –лазер деструкцию с последующей иммуномодулирующей терапией ликопидом (глюкозоаминилмурамилдипептид). Исследования показали, что отечественный препарат ликопид, созданный в Институте биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова, обладает способностью воздействовать практически на все популяции клеток иммунной системы (макрофаги, Т- и В- лимфоциты). У клеток моноцитарно-макрофагальной системы ликопид усиливает экспрессию HLA-DR-антигенов, поглощение микроорганизмов, повышает ферментативную активность, продукцию активных форм кислорода и, следовательно, микробицидную активность. Происходит также стимуляция секреторной активности макрофагов,

проявляющейся в усилении синтеза цитокинов - фактора некроза опухоли и интерлейкина-1.

Перспективным направлением развития онкоиммунологии является создание генно-инженерных способов промышленного производства интерферонов (В.Т.Долгих, 2000; С.А.Кетлинский и Н.М.Калинина, 1998; D.M.Byrneess с соавт., 1998; R.Chetty с соавт., 1997).

Состояние факторов местного иммунитета хорошо изучено при воспалительных заболеваниях шейки матки бактериальной этиологии. В то время как относительно роли местного иммунитета при папилломавирусной инфекции и при предраковых заболеваниях данные весьма разноречивы (В.И.Вотяков и Н.В.Грибкова, 1988; М.М.Вядро, 1990; В.В.Сапрыкин В.В., 1994; О.М.Сапрыкина, 1994; D.M Cooper с соавт.,1994; M.A.Duggan с соавт., 1994; F.D.Finkelman с соавт., 1993).

В цервикальном секрете содержится определенное количество иммуноцитокинов (интерлейкин-1, интерлейкин-2, интерлейкин-3. интерлейкин-4, интерлейкин-6, фактор некроза опухоли, интерферон) играющих определенную роль в противоопухолевом и противоинфекционном иммунитете (Л.В.Ванько и Г.Т.Сухих ,1995; И.В.Зимина и Ю.М.Лопухин, 1993; С.А.Кетлинский и Н.М.Калинина, 1995; М.А Пальцев, А.А. Иванов, 1995; Г.Т.Сухих с соавт, 2000; Н.И.Тапильская, 1993; C.Agarwal с соавт., 1994).

К основным нарушениям гуморального звена местного иммунитета репродуктивной системы женщины при предраковых и вирусных заболеваниях шейки матки относится дефицит иммуноглобулинов. При хроническом рецидивирующем течении заболеваний имеется тенденция к снижению иммуноглобулина А и G в фазу пролиферации и увеличению их уровня в фазу секреции. При остром течении заболевания концентрация всех иммуноглобулинов увеличивается.

Важным звеном местного иммунитета является также система комплимента, являющегося доминирующим гуморальным компонентом реакции воспаления, так как его продукты являются хемотоксинами и анафилатоксинами, оказывающими выраженное действие на фагоцитоз (Л.В.Ковальчук с соавт., 1995; М.А.Пальцев, А.А.Иванов, 1995; М.П.Потапнев, 1995; К.И.Рублева с соавт., 1994). Опухолевые клетки являются естественной мишенью для комплимента. Противовирусное действие комплимента обусловлено лизисом вируса, агрегаций вируса за счет иммунных конгенотипов, опсонизацией и фагоцитозом, блокадой вирусных лиганд для соответствующих рецепторов клеточной мембраны, а также блокадой пенетрации вируса в клетку (М.М.Вядро, 1989; М.П.Потапнев, 1995).

В заживлении раны после проведения лазерной вапоризации принимают участие не только клеточные элементы соединительной ткани, но и многочисленные факторы иммунной системы, включая цитокины (А.Г.Бабаева, 1985; Л.В.Ковальчук и Л.В.Ганковская, 1995). При сбалансированном соотношении регенерации и воспаления происходит оптимальное заживление раны. При иммуносупрессивном состоянии значительно нарушаются регенеративные процессы. Раны заживают с частыми осложнениями, образуются гипертрофические рубцы с активацией локальных клеточно-опосредованных реакций, повышается экспрессия HLA-DR молекул на фибробластах и кератиноцитах, рубцовая ткань инфильтрируется клетками с рецепторами интерлейкина-2, накапливаются CD1± клетки Лангерганса (А.Г.Бабаева, 1985; С.А.Кетлинский, 1993; Л.В.Ковальчук и Л.В.Ганковская, 1995).

Использование комплекса цитокинов заданной специфичности, а не отдельных пептидов дает возможность более разносторонне коррегировать спектр репаративных процессов. Теоретическим обоснованием метода локальной иммуноцитокинотерапии послужили данные последних лет о

цитокинах, как о единой системе регуляции функции клеток организма полипептидными молекулами. Известно, что классические иммунопептиды наряду с внутрисистемной регуляцией иммунных процессов контролируют рост, дифференцировку и функциональную активность клеток различной тканевой принадлежности, включая фибробласты, остеокласты, хондроциты, клетки эндотелия, нервной ткани (Б.В.Баярт с соавт.,1983; С.А.Кетлинский с соавт., 1992; 1995; К.П.Кашкин, 1998).

Действие цитокинов реализуется по сетевому принципу, то есть передаваемая информация содержится не в индивидуальном пептиде, а в наборе регуляторных цитокинов. При этом цитокины действуют в синергизме или антагонизме, каскадно, индуцируют выработку друг друга, трансмодулируют поверхностные рецепторы к другим медиаторам (С.А.Кетлинский с соавт., 1992; R.M.Bluthe с соавт., 1992; Y.Kalechman с соавт., 1995; S.Kent с соавт., 1992; B.K. Kramer., 1992; A. Nakane с соавт., 1993).

Контроль функции нелимфоидных клеток осуществляется сложной сетью как позитивных, так и негативных цитокиновых взаимодействий. Целый ряд факторов определяет эффективность цитокинов, включая тип клеток-мишеней и их функциональную активность, экспрессию поверхностных цитокиновых рецепторов локальной концентрации цитокина, присутствие других медиаторных молекул, с которыми клетка взаимодействует. Синергизм действия интерлейкина-1 и фактора некроза опухоли проявляется, в частности, при индукции синтеза коллагена (A.Diaz с соавт., 1993; C.D.Woodworth с соавт., 1995).

Существенным для цитокиновой регуляции является аутокринный механизм, когда одна и та же клетка секретирует цитокин и его рецептор (Т-хелперы, макрофаги, фибробласты, эндотелиальные клетки и другие)(С.А.Кетлинский и Н.М.Калинина, 1995; L.Airaghi с соавт.,1995;

R.M.Bluthe с соавт., 1992; A.D.Ho с соавт.,1994; Y.Kalechman с соавт., 1995; P.Klemm с соавт.,1995; Y.Kamikubo, 1993).

Важным противовирусным цитокином является интерферон. Первоначально интерфероны были описаны только как факторы противовирусной защиты клетки. Позднее было обнаружено, что ИФ оказывает влияние на пролиферацию и дифференцировку клеток. Семейство интерферона состоит из ИФ альфа, бета и гамма. Интерферон-альфа в основном синтезируется лимфоцитами и кератиноцитами. ИФ бета – фибробластами, кератиноцитами и эпителиальными клетками, а интерферон гамма – лимфоцитами. Интерфероны имеют общий рецептор, к многочисленным биологическим эффектам их относится контроль роста и дифференцировки клеток, активация моноцитов, лимфоцитов, эндогенных киллеров, модуляция продукции лимфокинов и экспрессия поверхностных клеточных рецепторов, регуляция гуморального и клеточного иммунного ответа. Большинство этих функций опосредуется всеми видами ИФ, но некоторые являются специфическими. Например, в отличие от ИФ альфа и ИФ бета, ИФ гамма играет более важную роль в модуляции иммунного ответа влияет на эпидермальные и эпителиальные клетки. Подавляет рост кератиноцитов (L.M.Sullivan с соавт..1994; C.D.Woodworth с соавт., 1995).

И.Б.Манухин с соавт. (1999) провели исследование по изучению терапевтической активности комплекса эндогенных цитокинов (препарат Суперлимф) в лечении герпетического цервицита. Исследования показали, что препарат Суперлимф обладает иммуномодулирующим, противовирусным действием за счет входящих в него интерлейкина-1, интерлейкина-2, интерлейкина-6, ФНО (фактора некроза опухоли), МИФ (фактора, ингибирующего миграцию макрофагов), ТФР (трансформирующего фактора роста). Исследования И.Б.Манухина показали, что естественный комплекс иммунопептидов Суперлимф является мощным стимулятором клеток фагоцитарной системы и

фибробластов. Действие эндогенных цитокинов происходит чаще местно, там, где формируется иммунный ответ или в месте проникновения патогена.

Таким образом, несмотря на большое число публикаций, касающихся лечения дисплазий шейки матки, выбор наиболее рационального метода с точки зрения эффективности, безвредности и отдаленных результатов лечения дисплазий шейки матки остается актуальной проблемой.

Все представленные в литературе данные, а также предварительный опыт, накопленный коллективом кафедры акушерства и гинекологии Московского государственного медико-стоматологического университета, руководимым профессором И.Б.Манухиным, свидетельствуют о том, что применение комплекса цитокинов непосредственно после лазерной деструкции ВПЧ-поражений шейки матки патогенетически обоснованно и нуждается в дальнейшей разработке наиболее эффективных способов иммунотерапии в клинической практике применительно к различным формам интраэпителиального поражения шейки матки.

Представляется перспективным дальнейшее изучение противовирусных свойств комплекса эндогенных цитокинов. Широкое применение ИЛ-2 при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях дает возможность ожидать положительный клинический эффект его применения при вирусных заболеваниях (В.И.Вотяков и Н.В.Грибкова, 1988,1990; S.M.Boorstein с соавт. 1994; T.E.Fleming с соавт., 1994; A.L.Kinter с соавт., 1995). Отмечена активность ИЛ-2 при воздействии на ДНК и РНК содержащие вирусы. Наибольшей противовирусной активностью обладает ИФ- гамма, эффективность его применения высока при ВПГ, ВПЧ, и других ДНК и РНК вирусных инфекциях (S.Kyo с соавт., 1994; E.A.Rorke и J.W.Jacobberger, 1995).

Следующим шагом в области иммуноонкологии вероятно будет создание профилактических и терапевтических вакцин против онкопротеинов вирусов папилломы человека.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На кафедре акушерства и гинекологии лечебного факультета Московского медико-стоматологического университета на базе 36 ГКБ в период с 2002 по 2005 годы были обследованы 110 женщин репродуктивного возраста. Контрольную группу составили 11 условно-здоровых женщин, не имевших в анамнезе признаков ПВИ и отрицательными вирусологическими реакциями.

В среднем возраст пациенток колебался от 18 до 36 лет, так как поражение шейки матки вирусом папилломы человека, по данным литературы, встречается чаще у молодых женщин.

ПИП, как правило, возникает при воздействии вируса папилломы человека на эпителий шейки матки, который приводит к различным изменениям вплоть до развития рака шейки матки.

Как правило, больные с ПИП практически не предъявляют какие-либо жалобы и течение заболевания является бессимптомным. Ряд пациенток предъявляют жалобы на бели, зуд, жжение в области наружных половых органов, которые плохо поддаются терапии и часто рецидивируют, часть пациенток предъявляли жалобы на невынашивание беременности, бесплодие и, как правило, жалобы были обусловлены сопутствующей патологией.

Диагноз плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки обусловленного ПВИ основывался на данных вирусологического исследования, простой и расширенной кольпоскопии, цитологического исследования и подтверждался данными гистологического исследования. По мере выполнения работы были проведены следующие исследования.

Всем пациенткам проводилось комплексное клиническое обследование, специальные исследования, включающие в себя вирусологическое, бактериологическое, иммунологическое,

цитологическое, гистологическое исследования, простая и расширенная кольпоскопия.

I. Комплексное общеклиническое обследование.

Проведен анализ и изучение анамнестических данных обследуемых пациенток: изучался возрастной диапазон заболеваемости, уровень жизни, профессиональные вредности и пагубные привычки (алкоголь, курение и др.), так как выявлено положительное влияние курения на персистенцию ВПЧ в цервикальном эпителии, изучалась наследственность и данные соматического анамнеза.

Особое внимание обращалось на менструальную и генеративную функции, способы контрацепции, наличие сопутствующих воспалительных заболеваний половых органов.

II. Специальные исследования.

1.Вирусологическое исследование.

В настоящее время, учитывая практически бессимптомное течение ПВИ основой в диагностике данной патологии являются вирусологические методы диагностики. Пациенткам всех исследуемых групп проводился вирусологический контроль до, и после лечения, с целью выявления и идентификации вирусной патологии, контроля за проводимой терапией, оценки эффективности лечения и стабильности достигнутого результата.

Материалом для исследования являлись венозная кровь и слизь цервикального канала. Для идентификации этиологического фактора применялись полимеразная цепная реакция (ПЦР) и ДНК гибридизация.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Диагностика ВПЧ была проведена на молекулярно-генетическом уровне методом ПЦР. В основе реакции лежит амплификация in vitro, где используются два олигонуклеотидных праймера, фланкирующие участок ДНК специфический для определенного возбудителя. Процесс амплификации заключается в повторяющихся циклах температурной

денатурации ДНК при температуре 90-95С, отжига праймеров с комплиментарными последовательностями при температуре около 50С и последующей достройки полинуклеотидных цепей этого участка ДНК с этих праймеров ДНК-полимеразы при температуре около 70 С. Продолжительность каждого периода от 1 до 3 минут. В результате происходит экспоненциальное увеличение количества специфического фрагмента по формуле 2n, где n это число прошедших циклов амплификации. Далее проводят электрофоретический анализ продуктов ПЦР в агарозном геле. Обязательно ставят положительный контроль с заведомо внесенной детектируемой нуклеиновой кислотой и отрицательный контроль. Окрашенную этидум бромидом ДНК в геле просматривают под УФО-излучением при длине волны 254 нм, по наличию специфического фрагмента амплификации судят о присутствии искомой нуклеиновой кислоты в исследуемом материале, т.е. выявляются единичные эквиваленты вирусов в клетках.

Метод ПЦР относится к высокочувствительной и быстрой диагностике ПВИ.

Метод ДНК – гибридизации.

Для лабораторной диагностики ПВИ использовали технологию ДНК – гибридизационной тест системы разработанные фирмой «Digene» (США), основанной на гибридизации в растворе вирусной ДНК с олигонуклеотидными РНК-зондами, имеющими специфику к различным типам ВПЧ. Образовавшиеся комплексы сорбируются на полистироловых микропланшетах с помощью антител, специфичных к ДНК-РНК гибридным молекулам. Сорбированные гибриды регистрируют с использованием коньюгата моноклональных антител к ДНК-РНК молекулам с щелочной фосфатазой и хемилюминесцентного субстрата. Наборы, основанные на такой технологии, высокочувствительны (до 1000 геномов ВПЧ в пробе). В наборе содержится множество разных олигонуклеотидных зондов,

гибридизирующихся в общей сложности почти с 8000 нуклеотидов вирусного генома, что позволяет связывать соответственно такое же количество коньюгата моноклональных антител к РНК-ДНК гибридному комплексу со щелочной фосфатазой. Большая стабильность комплексов РНК-ДНК, чем ДНК-ДНК, позволяет с высокой эффективностью связывать зонды. Чувствительность системы значительно повышается также путем коньюгирования антителк РНК-ДНК гибридам с несколькими молекулами фермента, а использование хемилюминисцентного субстрата позволяет проводить количественное измерение реакции. Путем комбинации зондов разработаны наборы, дифференцирующие типы ВПЧ с высоким и низким онкогенным риском.

В результате вирусологического обследования пациенток с использованием метода ДНК-гибридизации и ПЦР были идентифицированы типы вируса условно высокого онкогенного риска (16,18,31,33,45) в 21,8% (21 женщина); низкого онкогенного риска (6,11,42,43,44) в 32% (32 женщины); у 17,9% (18 женщин) сочетания различных типов; неклассифицируемые типы вируса у 16,1% (16 женщин); в 12,2% (12 женщин) ДНК ВПЧ обнаружить не удалось, несмотря на очевидные клинико-морфологические признаки инфекции. Таким образом, инфицированы высокоонкогенными типами вируса, включая сочетание с другими типами ВПЧ, оказались 39,7% (40 женщин), причем ведущим по частоте выявляемости является ВПЧ 16 типа. Отрицательный тест в 12,2% свидетельствует о необходимости дальнейшей разработки методов идентификации вируса и целесообразном двукратном обследовании некоторых женщин.

Все исследования проведены в лаборатории ГУ ЦНИИЭ МЗ РФ.

2.Бактериологическое исследование.

Всем пациенткам проводилось бактериологическое и бактериоскопическое исследования отделяемого из заднего свода

влагалища и цервикального канала шейки матки на наличие специфического возбудителя, определение влагалищной флоры и степени чистоты влагалищного содержимого.

Использовали традиционные методики для выявления условно-патогенной и патогенной микрофлоры (по Грамму, Романовскому – Гимзе и др.).

Для выявления уреаплазмы, микоплазмы, вируса простого герпеса (ВПГ) применялась полимеразная цепная реакция (ПЦР), исследование проводилось в лаборатории ГУ ЦНИИЭ МЗ РФ.

Для идентификации хламидий применяли метод иммунофлюоресцентной микроскопии с использованием моноклональных антител, маркированных флюоресцентом из диагностикума лаборатории «In Vitro».

3.Простая и расширенная кольпоскопия.

Кольпоскопия всем обследуемым проводилась кольпоскопом фирмы «Inami» (Япония) со сменными окулярами бинокля для 7,5; 15 и 30 кратного увеличения. При обзорной кольпоскопии определяли форму, величину шейки матки и наружного зева, цвет и рельеф слизистой, границу многослойного плоского и цилиндрического эпителия, особенности сосудистого рисунка. Расширенная кольпоскопия позволила визуально оценить реакцию нормальных и патологически измененных тканей при использовании различных эпителиальных и сосудистых тестов (3% раствор уксусной кислоты и 2% раствор Люголя, а также использование обычного и зеленого фильтров).

Кольпоскопическая картина описывалась в соответствии с классификацией предложенной Международной федерацией по патологии шейки матки и кольпоскопии (IFCPC) в 1990г.

I. Нормальные кольпоскопические признаки.

А. Оригинальный сквамозный эпителий.

Б. Цилиндрический эпителий.

В. Нормальная зона трансформации.

II. Аномальные кольпоскопические признаки.

А. В пределах зоны трансформации:

1. Уксусно –белый эпителий:

a. Плоский.

b. Микропапиллярный или микроизвилистый.

2. Пунктация.

3. Мозаика.

4. Лейкоплакия.

5. Йоднегативный эпителий.

6. Атипичные сосуды.

Б. Вне зоны трансформации (эктоцервикс, влагалище).

1. Уксусно-белый эпителий:

a. Плоский;

b. Микропапиллярный или микроизвилистый.

2. Пунктация.

3. Мозаика.

4. Лейкоплакия.

5. Йоднегативный эпителий.

6. Атипичные сосуды.

III. Подозрение на инвазивный рак при кольпоскопии.

IV. Неудовлетворительная кольпоскопия.

А. Граница многослойного плоского и цилиндрического эпителия не визуализируется.

Б. Выраженное восполение или атрофия.

В. Цервикс не визуализируется.

V. Смешанные признаки.

А. Уксусно- небелая микропапиллярная поверхность.

Б. Экзофитная кондилома.

В. Воспаление.

Г. Атрофия.

Д. Язва.

Е. Другие.

При кольпоскопическом исследовании выявлялись специфические признаки, сопровождающие ПВИ. Также кольпоскопическое исследование позволяет определить локализацию и распространение поражения и участки, которые необходимо подвергнуть прицельной биопсии.

4.Цитологическое исследование.

Материал для цитологического исследования забирался с помощью специальных эндобрашей из цервикального канала, специальных цервикобрашей с поверхности влагалищной части шейки матки, с участка переходной зоны многослойного плоского эпителия и слизистой оболочки цервикального канала. Также забор материала проводился с участков атипического эпителия, выявленного при расширенной кольпоскопии.

Информативность цитологического метода зависела от правильной техники взятия материала. Типичным цитологическим признаком ПВИ является койлоцитоз. Клетки – койлоциты обычно образуются из промежуточного или поверхностного слоев эпителия, они имеют большую, прозрачную, четко ограниченную перинуклеарную зону. Ядро таких клеток обычно темное, круглое, пикнотическое, часто встречаются дву- и многоядерные клетки. Также часто встречаются дискератоциты – клетки с увеличенным темным пикнотическим ядром. Чувствительность цитологического метода для выявлений поражения шейки матки на фоне ПВИ равна 50-80%, что может быть отчасти компенсировано повторением исследования через короткие промежутки времени (Краснопольский В.И. и др.1997г.).

5. Гистологическое исследование.

Всем больным проводилось гистологическое исследование прицельно взятого биоптата. Биоптат шейки матки брался в переходной зоне, где обычно находятся наиболее тяжелые поражения. В большинстве случаев переходная зона находится вблизи наружного зева шейки матки, в случае ее расположения на эктоцервиксе или когда нужно взять материал атипичных кровеносных сосудов биопсия может быть затруднена. В основе CIN I лежат процессы пролиферации и структурной перестройки эпителиальных клеток. Гиперплазированный базальный слой замещает до 1/3 эпителиального пласта, в средних слоях клетки с оптически пустой цитоплазмой, пикнотическими ядрами (койлоциты). При умеренной и тяжелой CIN атипию клеток выявляют в большей части эпителиального пласта. Малоизмененный эпителий сохраняется лишь в самом поверхностном слое.

Все исследования проводились в патологоанатомическом отделении ГКБ №36.

6.Иммунологическое исследование.

ПВИ, как правило, сопровождается изменением иммунологического статуса пациенток и развитием иммуносупрессивных состояний (Манухин И.Б., Минкина Г.Н., Франк Г.А., 2001; Роговская С.И., 2005). Из этого можно сделать вывод о необходимости исследования иммунного статуса, в том числе, клеточного и гуморального звена, интерферонового звена, формирующего неспецифическую резистентность к вирусным заболеваниям. Все исследования проведены в ГУ ЦНИИЭ МЗ РФ.

Исследование иммунного статуса.

Иммунологическое обследование включало в себя изучение показателей клеточного иммунитета: в клеточном звене определялись Т-лимфоциты, несущие альфа, бета клеточный рецептор (CD 3), хелперные Т-

лимфоциты (CD 4), эффекторные цитолитические Т-лимфоциты (CD 8), соотношение CD4/CD8 (иммунорегуляторный индекс), натуральные киллерные клетки (CD 16), антигены главного комплекса гистосовместимости (HLA-DR). Для исследования гуморального звена были определены антителопродуцирующие В-лимфоциты (CD 19: Ig A, Ig M, Ig G).

Для исследования проводился забор крови из локтевой вены в количестве 5 мл с гепарином. На 1 мл крови добавляли 0,4 мл 3% раствора желатина, после чего пробирки помещались в термостат для осаждения эритроцитов. Собирали надсадочную жидкость, содержащую лейкоциты и отмывали двукратно в растворе полной рабочей среды, центрифугируя при 1000 оборотов/мин. 10 минут. Осадок клеток разводили 0,5 мл полной рабочей среды и клеточную взвесь разливали по 50 мкл предварительно разведенных моноклональных антител. Инкубировали в холодильнике при 4 градусах по Цельсию 30 минут. Затем клетки дважды отмывались от моноклональных антител. Лизировали оставшиеся эритроциты с помощью лизирующего раствора с последующим двукратным промыванием. Для фиксации к осадку добавляли по 100 мкл 2% раствора параформальдегида. Количественное определение проведено методом проточной цитофлюориметрии (Beckton Dickinson, США).

Исследование интерферонового статуса.

Для определения интерферонового статуса были изучены: уровень продукции спонтанного интерферона, уровень продукции интерферона гамма, уровень продукции интерферона альфа.

Исследование проведено в соответствии с методическими рекомендациями МЗ РФ «Определение интерферонового статуса в цельной крови у людей при массовых обследованиях» (1996).

Для постановки реакций производили забор крови из вены, которую переносили в стерильную центрифужную пробирку, содержащую 10 – 20

ЕД гепарина. Определения интерферонового статуса ставятся микрометодом в стерильных 96-луночных круглодонных планшетах в трех повторах (9 лунок на каждую пробу). В каждую лунку, содержащую 160 мкл среды RPMI-1640 (с глютамином и антибиотиками), вносят в первые три - по 20 мкл ВБН, во вторые – по 20 мкл ФГА, а в третьи, по 20 мкл среды RPMI-1640, а во все 9 лунок по 20 мкл цельной крови. Содержимое каждой лунки хорошо перемешивают. Планшеты закрывают крышкой и инкубируют при температуре 37 С 24 часа в атмосфере 5% СО2.

Исследование интерферонового статуса пациентов позволяет обосновывать и контролировать эффективность специфической противовирусной иммунокоррегирующей терапии.

Определение локального спектра цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-8).

Для количественного определения интерлейкина (ИЛ-1), интерлейкина 8 (ИЛ-8) в исследуемой слизи цервикального канала использовали метод твердофазного иммуноферментного анализа. Для реализации «сэндвич» варианта твердофазного иммуноферментного анализа использованы два моноклональных антитела с различной этиотропной специфичностью. Одно из них иммобилизовано на твердой фазе (внутренняя поверхность лунок), второе коньюгировано с пероксидазой. На первой стадии анализа ИЛ-1 или ИЛ-8, содержащийся в калибровочных и исследуемых пробах, связывается с антителами, иммобилизированными на внутренней поверхности лунок. На второй стадии анализа иммобилизированный ИЛ-1 или ИЛ-8 взаимодействует с коньюгатом вторых антител – пероксидаза. Количество связавшегося коньюгата прямо пропорционально количеству ИЛ-1 или ИЛ-8 в исследуемом образце. Во время инкубации с субстратной смесью происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна количеству связавшихся меченых антител. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании

калибровочной кривой рассчитывается концентрация ИЛ-1 или ИЛ-8 в определяемых образцах.

Все обследуемые женщины в зависимости от патологического процесса и методов проводимой терапии были разделены на 3 группы.

1 группа: 47 женщин с НПИП, которым проводилась коррекция дисбиотических нарушений, противовирусная и иммуномодулирующая терапия суперлимфом двумя курсами по 10 дней до, и после менструации.

2 группа: 52 женщины с ВПИП, которым проведена коррекция дисбиотических нарушений, лазервапоризация или конизация шейки матки и иммуномодулирующая терапия суперлимфом.

3 группа: 11 условно-здоровых женщин без ИППП и каких либо изменений на шейке матки, сопоставимых по возрасту и соматической патологии с первыми двумя группами.

В работе лазерные операции на шейке матки проводились на лазерной установке «Ланцет» Россия. Лазервапоризация проводилась прицельно под контролем кольпоскопии.

С целью повышения эффективности патогенетически обоснованного лечения плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки нами разработан метод локальной терапии комплексом природных цитокинов.

Препарат Суперлимф был разработан центром иммунотерапии «Иммунохелп» при Российском Государственном Медицинском Университете. Препарат представляет собой лиофилизированный порошок в суппозиториях. Форма выпуска 10 суппозиториев по 25 мкг. Регистрационный номер 000516/01-2001. Лицензия №42/176/2002. Срок хранения препарата 2 года при температуре от 2 до 10С.

Комплекс природных цитокинов – препарат Суперлимф, представляет собой естественную композицию иммунопептидов с молекулярной массой

от 10 до 40 кD с активностью ряда цитокинов, включая: фактор, ингибирующий миграцию макрофагов – МИФ; интерлейкины 1,2,6; фактор некроза опухоли – ФНО; трансформирующий фактор роста – ТФР секретируемых лейкоцитами периферической крови свиньи. Препарат является стимулятором функциональной активности фагоцитов (моноцитов и нейтрофилов): активирует фагоцитоз, выработку цитокинов, (ИЛ-1, ФНО), индуцирует противоопухолевую цитотоксичность макрофагов, способствует гибели внутриклеточных паразитов, регулирует миграцию макрофагов и лейкоцитов. Механизм действия Суперлимфа на фагоциты связан с повышением внутриклеточной концентрации ионов Ca2+.

Препарат Суперлимф активирует фермент индуцибельную NO синтазу макрофагальных клеток. В следствии этого, увеличивается выработка клетками оксида азота, который в свою очередь активирует NK клетки, оказывая непосредственное цитотоксическое действие на вирус-инфицированные клетки и через ИЛ–12 активирует Т-киллеры и выработку интерферона гамма Т-хелперами (рис. 1). Таким образом, можно предположить, что препарат Суперлимф активируя различные цитолитические механизмы способствует элиминации вируса (Сакун Н.Ю. 2001).

В настоящее время доказано нарушение регуляции иммунного ответа, сопутствующее персистированию ВПЧ, в основе которого лежат повреждения системы цитокинов. Прежде всего нарушается способность инфицированных иммунокомпетентных клеток синтезировать интерлейкины, особенно ИЛ-2 или же меняется реакция клеток-мишеней на воздействие интерлейкинов (Ганковская Л.В., Ковальчук Л.В., Павлова К.С. 2000).

Так как вирус папилломы человека тропен к эпителию шейки матки, патогенетически обоснованной являлась локальная терапия в очаге репликации вируса.

Методологически лечение проводилось путем интравагинального введения препарата Суперлимф в виде свечей каждый день в течение 10 дней двумя курсами до, и после менструации в первой группе. Во второй группе до лазервапоризации или конизации и через 7 дней после 2 курсами по 10 дней.

Учитывая простоту применяемой методики пациенткам не требовалась помощь врача при данной процедуре.

С целью оценки лечебной эффективности препарата Суперлимф разработаны следующие критерии: - исчезновение субъективных жалоб;

- нормализация кольпоскопической картины;

-исчезновение койлоцитоза при цитологическом и гистологическом исследовании;

-отсутствие вирусной ДНК при вирусологическом контроле;

-нормализация показателей иммунной системы.

Предлагаемый способ интравагинального применения препарата позволяет оказать непосредственное иммуномодулирующее воздействие в области локализации и репликации вируса, сократить сроки терапии, повысить эффективность патогенетически обоснованного базисного лечения.

Эффект от проводимой терапии оценивался с помощью вирусологического, бактериологического, цитологического, кольпоскопического, иммунологического методов, при необходимости гистологического исследования через 2, 6 и 12 месяцев.

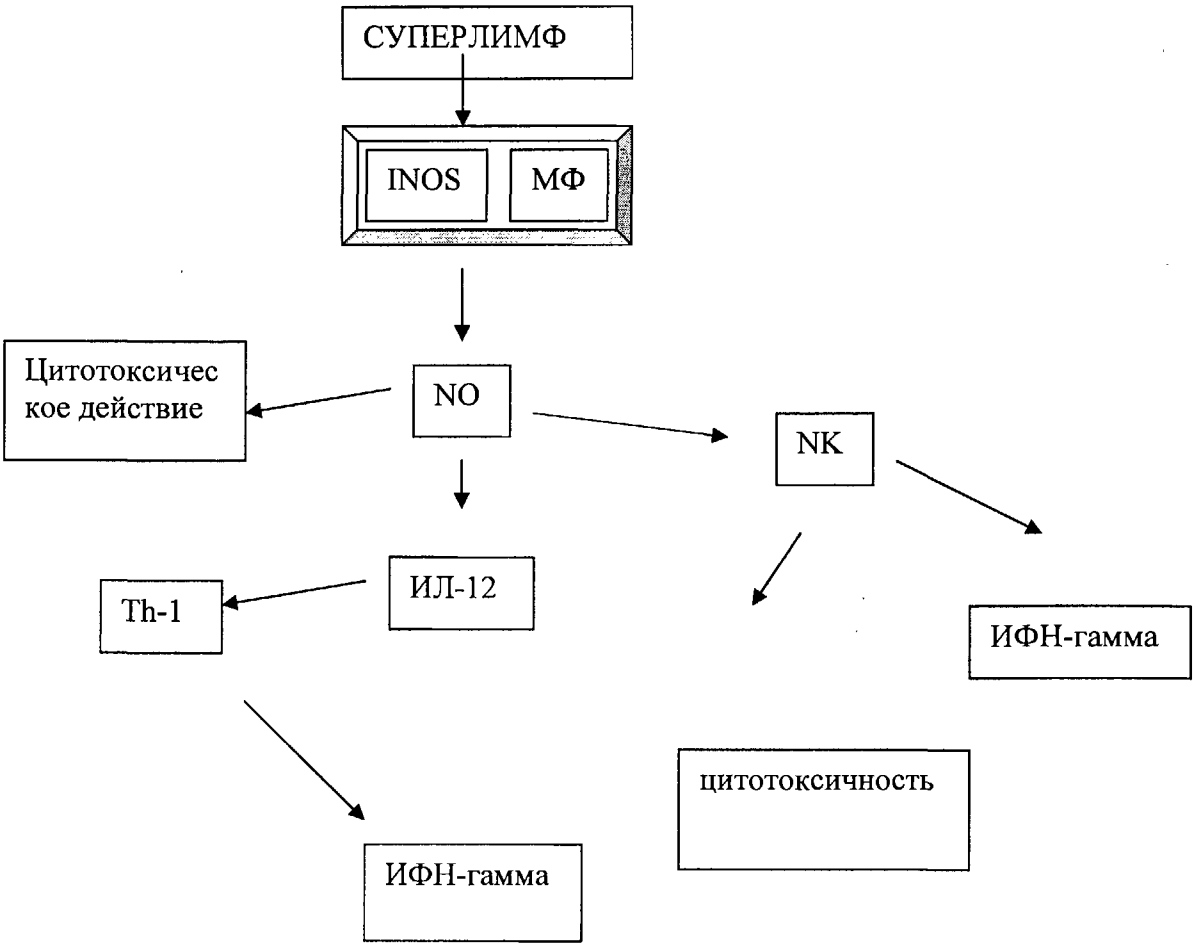

Рис. 1. Механизм действия препарата Суперлимф.

INOS-фермент индуцибельная NO-синтаза;

МФ-макрофаги;

NO-оксид азота;

NK-натуральные киллеры;

Th-T хелперы;

III.Статистический анализ.

Все полученные данные были подвергнуты тщательному анализу, обработаны с помощью компьютерной программы Epi Info, версия 6,0. Проверка достоверной значимости среднего значения разности пар была проведена по непараметрическим критериям Вилкоксона-Манна-Уитни для несвязанных совокупностей. Подсчет показателей производился по

принципу четырехпольных таблиц совокупностей и методами вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента и х2. Для показателей вычислялись среднее арифметическое (М) и стандартная ошибка среднего.

Глава 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОК С ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ШЕЙКИ МАТКИ

3.1. Клиническая характеристика пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением низкой степени.

Данную группу составили 47 пациенток, возраст которых колебался от 18 до 28 лет и в среднем, составил 23,2 ± 0,5 лет (табл. 1).

Таблица 1

Распределение женщин 1 клинической группы по возрасту

Возраст (годы)	18-20	21-24	25-28
Количество женщин	8	17	22
Процент	17,02	36,17	46,81

При изучении соматического анамнеза пациенток особое внимание уделялось перенесенным инфекционно-воспалительным заболеваниям и аллергическим реакциям, что косвенно отражает состояние иммунной системы у больных с ПВИ.

Во время обследования выявлено, что наследственность отягощена у 10,64% женщин (онкозаболевания: рак молочной железы, рак шейки матки и др.). Различные инфекционные заболевания детского возраста перенесли 74,47%, после 18 лет частые обострения инфекционно-воспалительных заболеваний ЛОР-органов (хр. тонзиллит, хр. фарингит) 29,79%, хронические заболевания верхних дыхательных путей (пневмонии, бронхиты и др.) 25,54%, заболевания органов пищеварения (хр. гастрит, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки, холецистит и др.) 40,43%, заболевания мочевыделительной системы (хр. цистит, хр. пиелонефрит) 17,54%, аллергические реакции на лекарственные препараты и продукты питания отмечают 6,39%, оперативные вмешательства (аппендектомия,

тонзилэктомия) перенесли 25,54% пациенток (табл. 4), что в совокупности может привести к возникновению иммуносупрессии и активации ВПЧ.

Таблица 2

Экстрагенитальные заболевания у пациенток 1 группы

Заболевания	Абс. число n= 47	% (процент)
Наследственность	5	10,64
Детские инфекции	35	74,47
Заболевания ЛОР-органов	14	29,79
Заболевания органов дыхания	12	25,54
Заболевания ЖКТ	19	40,43
Заболевания ССС	6	12,77
Заболевания мочевыделительной системы	8	17,03
Аллергические реакции	3	6,39
Оперативные вмешательства	12	25,54

Особое внимание в работе уделялось изучению менструальной и генеративной функции пациенток, так как любые повреждающие и стрессовые факторы, приводящие к нарушению иммунной системы и гормональным сбоям, могут спровоцировать изменения данных функций.

Своевременное наступление менархе отметили 85,11% женщин, что соответствовало возрастным рамкам 11 – 14 лет, позднее менархе старше 14 лет имели 10,64% женщин. Раньше 11 лет менархе наступило у 6,39% женщин. Регулярный менструальный цикл через 21 - 30 дней наблюдался у 89,37% обследуемых женщин. Наличие нерегулярного цикла было отмечено у 6,39% пациенток, а менструации более 7 дней отмечены у 12,77% пациенток. Альгоменоррея встречалась в 40,43% случаев.

Изучение репродуктивной функции пациенток дало следующие результаты (табл. 3): имели беременности 41 пациенток, что составило 87,24%. У 19 пациенток беременности закончились своевременными родами, у 5 преждевременными родами, причем беременности протекали с явлениями угрозы прерывания и использованием токолитической терапии. У 5 пациенток беременности прервались по типу самопроизвольных выкидышей в сроке гестации от 6 до 12 недель. У 21 женщин беременности закончились артифициальными абортами без осложнений.

Таблица 3

Генеративная функция у больных 1 группы

Генеративная функция	Абс. число n = 47	%
Количество беременностей	41	87,24
Своевременные роды	19	40,43
Преждевременные роды	5	12,77
Самопроизвольные выкидыши	5	12,77
Неразвивающаяся беременность	3	6,39
Артифициальный аборт	21	44,68
Разрывы шейки матки в родах	5	10,64
Послеродовые воспалительные заболевания	3	6,39
Первичное бесплодие	3	6,39
Вторичное бесплодие	8	17,03
Внематочная беременность	2	4,26

Учитывая половой путь передачи ПВИ, анализировалось сексуальное поведение женщин и методы выбираемой контрацепции (табл. 4). Средний возраст начала половой жизни составил 16 $\pm$ 5,2 лет, при этом наличие непостоянных половых партнеров отмечалось у 65,96% женщин. В устойчивом браке состояли только 21,28% женщин. Вопрос о выборе

метода контрацепции являлся немаловажным при сборе анамнеза в обследуемых группах, так отсутствие использования контрацептивов выявлено у 40,43%, барьерную контрацепцию использовали 29,79% женщин.

Таблица 4

Характеристика методов контрацепции у больных 1 группы

Метод контрацепции	Абс. число n = 47	%
Гормональная контрацепция	5	10,64
ВМК	3	6,39
Condom	14	29,79
Coitus interruptus	12	25,54
Отсутствие контрацепции	19	40,43

Таким образом, женщины молодого возраста, имеющие высокую половую активность, имеют высокий риск заражения ВПЧ.

Также небходимо отметить немаловажную проблему в настоящее время – курение, вызывающее путем воздействия на иммунную систему угнетение местных механизмов защиты слизистой шейки матки. У курящих женщин частота встречаемости ПВИ чаще, по данным литературы, чем у некурящих. В проведенном нами исследовании 78% женщин курили.

Были изучены гинекологические заболевания, перенесенные пациентками в анамнезе (табл. 5). Получены следующие результаты: наиболее часто пациентки получали лечение по поводу бактериально-кандидозного кольпита 42,56%, бактериального вагиноза 46,8%, хронического сальпингоофорита 25,54%, острого эндометрита 6,39%, урогенитального хламидиоза 10,64%. Следует сделать вывод о высокой частоте встречаемости инфекционно-воспалительных заболеваний у женщин с интраэпителиальным поражением шейки матки.

Таблица 5

Структура перенесенных гинекологических заболеваний у пациенток 1 группы

Заболевания	Абс. число n = 47	%
Бактериально-кандидозный кольпит	20	42,56
Бактериальный вагиноз	22	46,8
Хламидийный эндоцервицит	5	10,64
Острый эндометрит	3	6,39
Хронический сальпингоофорит	12	25,54
Генитальный герпес	3	6,39
Дисфункция яичников	8	17,03
Трихомонадный кольпит	3	6,39
Эктопия шейки матки	12	25,54
Микоплазмоз	9	19,15

По поводу большинства заболеваний пациентки находились под наблюдением врача гинеколога. Из этого можно сделать вывод, что длительное наличие какого-либо заболевания приводит к нарушению работы иммунной системы, что в свою очередь провоцирует проявления ПВИ.

Отсутствие характерных для ПВИ клинических проявлений затрудняет своевременную постановку диагноза и требует специализированных методов диагностики. Основными жалобами пациенток были ощущение дискомфорта в аногенитальной области (14,9%), бели разнообразного характера (32,7%), зуд, жжение в области вульвы (14,9%), эрозивные высыпания в области вульвы (6,39%), дискомфорт при половом контакте (10,64%), дизурические явления (6,39%). Почти половина

обследуемых женщин (46,8%) жалоб не предъявляла, некоторые обратились по поводу невынашивания беременности или по поводу бесплодия.

Особое внимание было уделено сочетанию различных возбудителей инфекций передаваемых половым путем с ПВИ (рис. 2). Так у наибольшего количества женщин встречалось сочетание ПВИ и бактериального вагиноза в 44,23% случаев, бактериально-кандидозного кольпита в 48,44% случаев, с хламидийной инфекцией ПВИ сочеталась в 19,15% случаев, с генитальным герпесом в 17,3% случаев, с микоплазмозом в 19,15%, с трихомониазом в 6,39%.

Таким образом, инфицируемость в большинстве случаев носила смешанный характер, что приводило к длительному течению и отсутствию терапевтического эффекта.

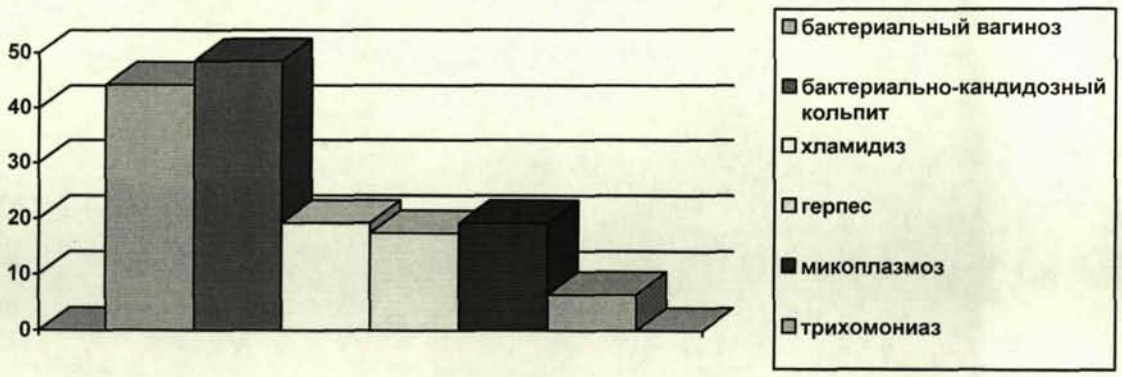

Рис. 2. Структура микстинфекции у пациенток 1 группы

Полученные данные свидетельствуют о необходимости тщательного бактериологического обследования больных с целью выявления микстинфекции полового тракта для грамотного подбора терапии у данной группы больных.

3.2. Клиническая характеристика пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением высокой степени

В ходе обследования была выделена вторая группа больных с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением высокой степени, не выходящим за пределы эктоцервикса. Так как данная патология вызывает онкологическую настороженность, то детальное изучение данной группы пациенток является необходимым для проведения ранней диагностики и лечения. Данную группу составили 52 больные.

Средний возраст пациенток данной группы колебался от 18 до 36 лет, среднее значение составило 27 ± 0,6 лет (табл. 6).

Таблица 6

Распределение женщин 2 группы по возрасту

Возраст (годы)	18 - 24	25 - 28	29 - 36
Количество женщин	6	17	29
Процент	11,54	32,69	55,77

Данные, приведенные выше свидетельствуют что возрастной диапазон совпадает с наиболее активным периодом женщины.

Уровень экстрагенитальной патологии у обследуемых пациенток приведен в таблице 7.

Анализ полученных данных свидетельствует о высокой частоте простудных заболеваний, заболеваний ЛОР-органов, органов дыхания, воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Возрастающие значения инфекционно-воспалительных заболеваний, особенно хронического течения, приводят к развитию вторичных иммуносупрессивных состояний.

Таблица 7

Экстрагенитальные заболевания пациенток 2 группы

Заболевания	Абс. число n = 52	%
Наследственность	9	17,31
Детские инфекции	37	71,16
Заболевания ЛОР-органов	26	50,00
Заболевания органов дыхания	17	32,70
Заболевания ССС	10	19,23
Заболевания ЖКТ	23	44,23
Забол. мочевыделительной системы	15	28,85
Аллергические реакции	12	23,08
Оперативные вмешательства	19	36,54
Инфекционные заболевания	12	23,08

Исследование гинекологического анамнеза своевременное менархе в возрасте от 11 до 14 лет наступило у 47 (90,39%) женщин, при этом регулярный менструальный цикл отмечают 40 (76,93%) женщин. Альгоменоррея встречалась у 16 (30,77%) женщин.

В этой группе следует отметить преимущественно раннее начало половой жизни, в среднем составившее 15,6 $\pm$ 0,53 лет.

Возрастной период от 14 до 16 лет составил 65,39% (34), от 17 до 19 лет 26,93% (14), от 20 и выше 7,68% (4).

Устойчивую пару имели 51,93% (27) пациенток, остальные отмечали наличие нескольких половых партнеров 23,08% (12) или частую смену полового партнера 26,93% (14).

Контрацепцию использовали 50% женщин, однако барьерная контрацепция использовалась в 13,47% случаев (табл. 8).

Таблица 8

Характеристика методов контрацепции у женщин 2 группы

Метод контрацепции	Абс. число n = 52	%
Гормональная контрацепция	9	17,31
ВМК	3	5,77
Condom	7	13,47
Coitus interruptus	7	13,47
Отсутствие контрацепции	26	50,00

При изучении репродуктивной функции количество женщин имевших беременности составило 47 (90,59%) (табл. 9).

Таблица 9

Характеристика репродуктивной функции женщин 2 группы

Генеративная функция	Абс. число n = 52	%
Первичное бесплодие	3	5,77
Вторичное бесплодие	2	3,85
Количество женщин имевших беременности	47	90,59
Своевременные роды	26	50,00
Преждевременные роды	7	13,47
Самопроизвольные выкидыши, неразвивающаяся беременность	12	23,08
Трубная беременность	5	9,62
Артифициальный аборт	40	76,93
Разрывы шейки матки в родах	12	23,08
Послеродовые воспалительные заболевания	15	28,85

Не имели беременности 5 женщины (9,62%), с первичным бесплодием 3 (5,77%). У 26 (50%) пациенток беременности закончились своевременными родами, у 7 (13,47%) преждевременными родами, у 7 (13,47%) беременности закончились самопроизвольными выкидышами в малых сроках беременности, у 5 (9,62%) пациенток была неразвивающаяся беременность. Отмечается высокое количество артифициальных абортов 76,93% (40 женщин). Разрывы шейки матки в родах отмечались у 12 (23,08%) пациенток, роды осложнились воспалительными заболеваниями у 15 (28,85%) пациенток.

Также как и во всех предыдущих группах отмечается высокий процент курящих женщин около 68% (35).

При гинекологическом обследовании больных выявлено преобладание хронических вялотекущих воспалительных заболеваний женских половых органов.

Так, у 32,7% женщин в анамнезе отмечались кольпиты бактериально-кандидозной этиологии, бактериальный вагиноз у 42,31% женщин, хронические сальпингоофориты в 36,54% случаев, реже встречались хламидийные цервициты 17,31% и трихомонадные кольпиты 9,62%. Эктопии шейки матки встречались у 35 женщин (67,31%) (табл. 10).

24 из них было проведено деструктивное лечение: 11 женщинам диатермокоагуляция, 10 криодеструкция и 3 лазервапоризация.

ПВИ была заподозрена у 7 пациенток, после чего 5 из них была проведена криодеструкция и 2 лазервапоризация, только одна пациентка дополнительно получала комплексную терапию.

Таблица 10

Структура перенесенных гинекологических заболеваний у пациенток 2 группы

Заболевания	Абс. число n = 52	%
Бактериально-кандидозный кольпит	17	32,7
Бактериальный вагиноз	22	42,31
Хламидийный эндоцервицит	9	17,31
Хронический эндометрит	15	28,85
Хронический сальпингоофорит	19	36,54
Генитальный герпес	9	17,31
Дисфункция яичников	12	23,08
Трихомонадный кольпит	5	9,62
Микоплазмоз	15	28,85
Эктопия шейки матки	35	67,31

Многие пациентки уже получали лечение по поводу своих заболеваний, но отметили рецидивирование процесса. Клиническая картина ПВИ, как правило, скрыта сопутствующей патологией и жалобы пациенток неспецифичны, следовательно, выявить ПВИ достаточно сложно, так как она маскируется клиническими проявлениями других заболеваний.

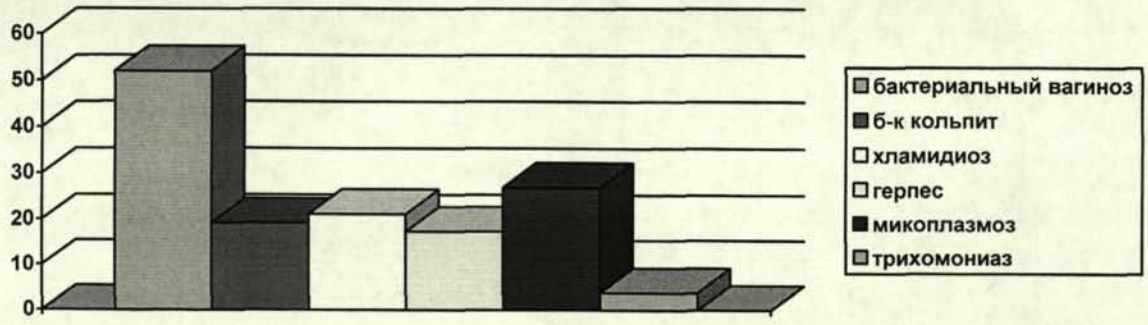

Рис. 3. Структура микстинфекции у больных 2 группы

Наиболее часто ПВИ сочетается с кольпитами бактериально-кандидозной этиологии 19,23%, БВ в 51,93%, с микоплазмозом 26,93%, с хламидийной инфекцией в 21,16% случаев, с генитальным герпесом в 17,31%, реже с трихомонозом в 3,85% случаев (рис.3). Эти данные подтверждают, что пациентки с этими заболеваниями должны быть обследованы и на ВПЧ, для наиболее правильного подбора терапии в дальнейшем.

Жалобы, предъявляемые пациентками, как правило, не отличались от жалоб пациенток 1 группы и наиболее часто соответствовали клинической картине сопутствующей патологии. Так жалобы на бели различного характера предъявляли почти 70% обследуемых женщин, жжение и зуд в аногенитальной области отметили 11,54% женщин, ощущение дискомфорта в области гениталий встречалось у 13,47 % женщин, эрозивные высыпания в области вульвы в 3,85%, дискомфорт при половом контакте отметили 9,62% женщин, дизурические явления встречались в 5,77% случаев. Анализируя полученные данные можно выделить некоторые признаки характерные для данной группы: средний возраст, при котором были диагностированы ВПИП выше, чем в предыдущих группах и составляет 27 ± 0,7 лет, выявленное большое количество хронических соматических заболеваний приводит к стойкой иммуносупрессии организма, что в свою очередь является провоцирующим фактором для развития тяжелых форм ПВИ. При оценке репродуктивной и генеративной функций можно отметить большее количество женщин страдающих нарушениями менструального цикла 13,47%, более раннее начало половой жизни 15,6 ± 0,53 лет. Обращает на себя внимание высокий процент абортов в данной группе 76,93%, низкий процент использования барьерных методов контрацепции 13,47%, высокий инфекционный индекс – количество хронических воспалительных заболеваний гениталий достигает 63,47%. В данной группе многим больным по поводу эктопии шейки матки было

проведено лечение, однако результат от проведенного лечения не являлся положительным, следовательно можно предположить длительную персистенцию ВПЧ в эпителии шейки матки, приведшее к развитию изучаемой патологии.

Результаты наших исследований показали, что ПВИ, не зависимо от площади поражения, протекает бессимптомно, если она не сочетается с какой либо инфекцией. Выявили наиболее часто встречающуюся микстинфекцию, при которой необходимо проведение комплексного обследования. Установили широкий спектр сопутствующих заболеваний не только гениталий, но и общесоматических, преимущественно хронического характера, приводящих к длительно существующей иммуносупрессии организма, что в свою очередь делает организм чувствительным к ПВИ. Таким образом, необходимо в лечении коррегировать нарушения иммунной системы и эллиминировать вирус из организма.

Глава 4. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОК

4.1. Результаты клинико-иммунологического обследования пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением низкой степени

У всех пациенток изучаемой в данном разделе группы, а именно у 47 больных, составивших 1 клиническую группу в период лабораторно-диагностического обследования достоверно подтверждено наличие ПВИ.

Так как симптоматика ПВИ не является патогномоничной, возрастает роль бессимптомной инфекции в эпидемиологической структуре инфекционной патологии человека.

Лабораторная диагностика ПВИ не представляет значительных трудностей, однако, учитывая преимущественно бессимптомное течение вирусной патологии, ВПЧ выявлялся при глубоком обследовании больных.

Бесспорна диагностическая ценность ПЦР и ДНК гибридизации, с помощью которых идентифицировали наличие ВПЧ. Так вирусы условно высокого онкогенного риска (16, 18, 31, 33, 45 и др.) выявлены в 8,2% случаев, условно низкого онкогенного риска (6, 11, 42, 43, 44 и др.) выявлены в 24,9% случаев, в 7% отмечено сочетание различных типов вирусов, в 7,4% тип вируса не был классифицирован и в 4,6% случаев при явной картине ПВИ вирус не был обнаружен. Данные представлены от общего числа обследуемых женщин.

Возраст женщин, входящих в обследуемую группу, распределился следующим образом: 23,2 $\pm$ 0,5 лет. Из заболеваний перенесенных в анамнезе большую роль играют хронические воспалительные заболевания, преимущественно органов дыхания и желудочно-кишечного тракта. Один из факторов риска - курение регистрировался в 78% случаев.

В первой группе женщин на момент обследования при бактериологическом и бактериоскопическом исследовании содержимого из заднего свода влагалища и цервикального канала, было выявлено наличие бактериально-кандидозного кольпита в 48,94% случаев, бактериального вагиноза в 44,23% случаев, хламидии обнаружены у 19,15% женщин, микоплазмоз выявлен также у 19,15% женщин. Достаточно высокая частота генитальных инфекций подтверждена данными и других авторов (Минкина Г.Н. 2001., Роговская С.И. 2005).

Всем больным была проведена простая и расширенная кольпоскопия. При кольпоскопическом обследовании до лечения обнаружены, различной степени выраженные, аномальные кольпоскопические признаки (табл. 11).

Таблица 11

Кольпоскопическая картина у больных 1 группы

Кольпоскопическая картина	Абс. число n = 47	%
Уксусно-белый эпителий (плоский)	35	74,5
Уксусно-белый эпителий (микропапиллярный)	2	4,2
Пунктуация	26	55,3
Мозаика	14	29,8
Лейкоплакия	6	12,7
Йоднегативный эпителий	7	14,8

Так были выявлены следующие изменения: уксусно-белый эпителий, пунктуация, мозаика, лейкоплакия, йоднегативный эпителий. Эти изменения располагались как в пределах (56,6%), так и вне зоны трансформации (43,4%). Так наиболее часто встречались такие изменения как уксусно-белый эпителий в 78,7% обследуемых женщин, пунктуация в 55,3% и мозаика в 29,8% случаев, часто встречалось сочетание признаков,

реже встречался йоднегативный эпителий в 14,8% и лейкоплакия в 12,7% случаев.

Также всем больным обследуемых групп было проведено цитологическое исследование мазков. У всех женщин данной группы присутствовал характерный признак – койлоцитоз.

После проведения расширенной кольпоскопии определялся участок для взятия биопсии и проведения гистологического исследования. Обнаружен эпителий, в котором гиперплазированный базальный слой замещает до 1/3 эпителиального пласта, в средних слоях клетки с оптически пустой цитоплазмой, пикнотическими ядрами (койлоциты).

Как правило, ПВИ возникает в организме при наличии иммуносупрессии или дисбалансе иммунной системы. Очевидно, что возникновение, клиническое течение и исход ПВИ определяется иммунным статусом организма.

Для более точного определения этих понятий нами проведено детальное изучение показателей иммунной системы в обследуемых группах.

При изучении клеточного звена определялись Т лимфоциты, несущие альфа, бета клеточный рецептор – CD 3, хелперные Т лимфоциты – CD 4, эффекторные цитолитические Т лимфоциты – CD 8, иммунорегуляторный индекс (отношение CD 4 к CD 8), натуральные киллерные клетки – CD 16. Для исследования гуморального звена были определены антителопродуцирующие В лимфоциты – CD 19.

Показатели иммунной системы здоровых женщин и пациенток в ПВИ практически не отличаются от нормальных значений (табл. 12), только значения CD 16 в группе женщин с ПВИ ниже нормальных значений и составляет 0,26 $\pm$ 0,021 и показатели гуморального звена CD 19 ниже нормальных значений, и составляют 0,095 $\pm$ 0,0760 соответственно.

Таблица 12

Показатели клеточного и гуморального иммунитета у 1 группы женщин

Показатели	Контроль (11 женщин)	ПВИ (47 женщин)
CD 3 (0,9 - 2,2)	1,36 ± 0,058	0,98 ± 0,023
CD 4 (0,6 – 1,9)	0,68 ± 0,072	0,59 ± 0,041
CD 8 (0,3 - 0,8)	0,51 ± 0,023	0,32 ± 0,032
CD4 / CD8 (1,2 – 2,5)	1,74 ± 0,097	1,40 ± 0,050
CD 16 (0,3 – 0,6)	0,42 ± 0,075	0,26 ± 0,021**
HLA-DR (0,15 – 0,5)	0,16 ± 0,031	0,17 ± 0,064
CD 19 (0,12 – 0,45)	0, 34 ± 0,024	0,095 ± 0,0760**

** отмечены достоверные значения при $p<0,05$.

При определении количества антителопродуцирующих В лимфоцитов были изучены основные классы иммуноглобулинов – Ig A, Ig M, Ig G, нормальные концентрации иммуноглобулинов сохранялась, при сниженном общем показателе.

Иммуноглобулин А основной иммуноглобулин, обеспечивающий местный иммунитет был несколько выше у женщин с НПИП, чем в группе здоровых женщин, но отличия недостоверны.

Далее мы решили сравнить показатели клеточного и гуморального иммунитета между контрольной группой и группой женщин с НПИП.

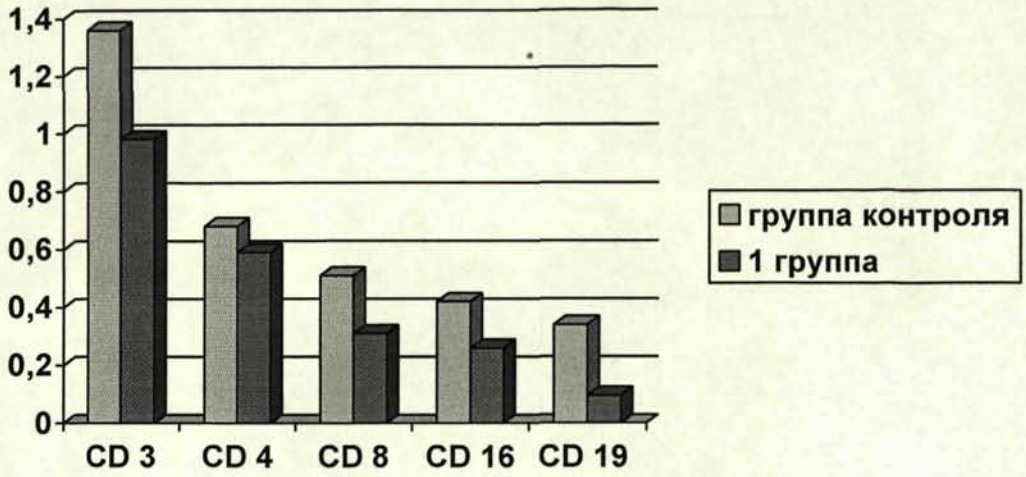

Рисунок 4. Сравнение показателей клеточного и гуморального иммунитета до лечения между группами сравнения.

Следуя из приведенных выше данных можно сделать вывод, что имеется снижение показателей по сравнению с контрольной группой. Так количество CD 3 лимфоцитов составляет в контрольной группе 1,36 ± 0,380, а в исследуемой группе 0,98 ± 0,023 соответственно, количество CD 4 составляет 0,68 ± 0,072 в контрольной и 0,59 ± 0,041 в группе женщин с НПИП, показатели CD 8 составили 0,51 ± 0,023 у здоровых женщин и 0,32 ± 0,032 в исследуемой группе. При изучении данных полученных при исследовании количества антигенов главного комплекса гистосовместимости II класса - HLA-DR нельзя выявить достоверных отличий в показателях, так результат в контрольной группе составил 0,16 ± 0,031 и соответственно в исследуемой группе 0,17 ± 0,064, что не отличается от нормальных показателей и практически не различается между собой.

Также мы проанализировали иммунорегуляторный индекс, т. е. соотношение CD 4 / CD 8. Он был несколько ниже у пациенток с НПИП и составлял 1,40 ± 0,050, а в контрольной группе он составил 1,74 ± 0,097, но находился в пределах нормальных значений.

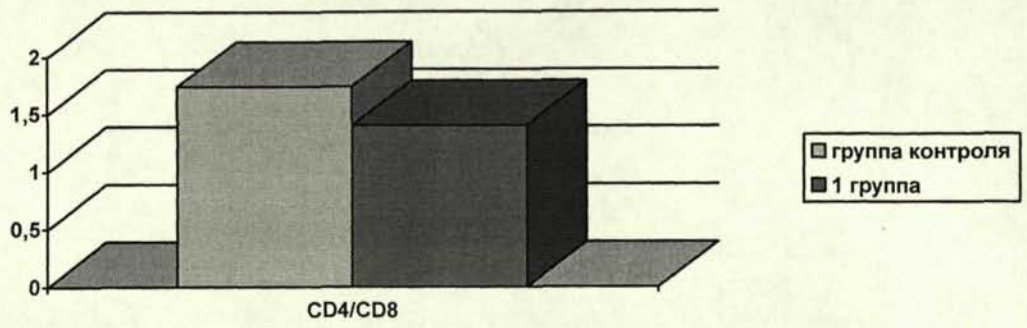

Рисунок 5. Сравнение иммунорегуляторного индекса в обследуемых группах.

Таким образом, содержание основных популяций лимфоцитов у больных с НПИП шейки матки в среднем ниже, чем в группе здоровых женщин.

Далее проведено изучение показателей интерферонового статуса и выявлен дисбаланс системы в исследуемой группе (табл. 13).

Таблица 13

Показатели изменений системы ИФН в обследуемых группах

Показатели (нормы)	Контроль	1 группа
Сывороточный интерферон (2	4,2 ± 0,23	11,16 ± 0,540**
Интерферон альфа (128 – 640)	280 ± 32	69 ± 23**
Интерферон гамма (32 – 256)	56 ± 13	15, 5 ± 6,70**
Спонтанная продукция интерферона лейкоцитами (0 – 2)	1,8 ± 0,33	1,82 ± 0,040

** отмечены достоверные значения при $p<0,05$

Выявлены нарушения в интерферон-синтезирующей функции лимфоцитов в виде изменения показателей: уровень сывороточного

интерферона в обследуемой группе с НПИП достоверно выше: в первой группе показатель составляет 11,16 ± 0,540, по сравнению с контролем 4,2 ± 0,23. Уровень продукции интерферона альфа ниже в первой группе 69 ± 23, чем в группе здоровых женщин 280 ± 32. Такие же изменения мы видим и по отношению к интерферону гамма: первая группа 15,5 ± 6,70, что значительно ниже показателей в группе здоровых женщин 56 ± 13, хотя и здесь показатели держатся ниже нормативных рамок. Спонтанная продукция интерферона лейкоцитами во всех группах не различалась и находилась в пределах нормы.

Так как важное значение в противостоянии организма ВПЧ имеет уровень локальной продукции цитокинов, регулирующих активность клеток в тканях шейки матки, находящихся в прямом контакте с вирусом, поэтому, на наш взгляд, было правомерным ожидать определенных изменений в синтезе цитокинов на локальном уровне. Определение локального спектра цитокинов (ИЛ 1, ИЛ 8) методом ИФА показало, что содержание ИЛ 1 в контрольной группе и группе с ПВИ достоверно не различалось и составило 74 ± 3,7 пкг/мл и 78 ± 2,9 пкг/мл соответственно. Незначительные изменения этого цитокина, по-видимому, обусловлены высокой концентрацией в цервикальной слизи ИЛ 1Ra, который конкурентно взаимодействует с рецепторами для ИЛ 1 на клетках мишенях, что приводит к блокировке его биологической активности.

При изучении содержания ИЛ 8 были выявлены следующие интересные изменения. Достоверно видно, что в обследуемых группах содержание ИЛ 8 колебалось от высоких значений до низких, в результате чего нам пришлось разделить пациенток по уровню показателя на две группы. Первую группу 42% составили пациентки с исходно высоким уровнем содержания ИЛ 8 в цервикальной слизи 2456 ± 430 пкг/мл. Вторую группу 58% составили пациентки с исходно сниженным уровнем содержания ИЛ 8 в слизи цервикального канала 1421 ± 23 пкг/мл. В группе

здоровых женщин такого разброса показателя не было и уровень содержания ИЛ 8 в слизи цервикального канала держался в пределах нормальных значений. Учитывая такой разброс данных, при разработке тактики лечения по данному показателю можно будет определить иммуномодулирующее действие препарата Суперлимф.

Таким образом, полученные данные говорят о необходимости применения в лечении препаратов, обладающих иммунокоррегирующим действием.

4.2. Результаты клинико-иммунологического обследования пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением высокой степени.

В настоящее время актуально исследование клинических данных и иммунологического звена у пациенток с обширным поражением шейки матки, вызванным ВПЧ, так как у данной группы пациенток существует онкологическая настороженность и необходима ранняя диагностика и лечение, направленное на предотвращение рецидивирования заболевания.

В данную группу мы выделили больных с ВПИП, как с сопутствующей урогенитальной инфекцией, так и без нее, учитывая одинаковые изменения шейки матки, имеющиеся у пациенток.

Группу составили пациентки из 2 группы больных, возрастная характеристика сопоставима и средний возраст составил 27 $\pm$ 0,6 лет, состоящей из 52 женщин.

Отсутствие патогноманичных признаков ПВИ, как правило обуславливает несвоевременную диагностику данного заболевания у большинства пациенток.

Также в данной группе отмечен высокий процент перенесенных хронических заболеваний, при рассмотрении сопутствующих заболеваний гениталий выявлено, что в анамнезе женщины имели хронический сальпингоофорит в 36,54%. У пациенток, составляющих вторую группу на момент исследования бактериально-кандидозный кольпит выявлен в 32,7% случаев, хламидиоз в 17,31%, микоплазмоз в 26,93%, бактериальный вагиноз в 42,31%, генитальный герпес в 17,31%, трихомоноз в 9,62% случаев.

С целью диагностики ВПЧ применялись ПЦР и ДНК гибридизация. Анализ полученных данных выявил наличие вируса условно высокого онкогенного риска в 13,6%, вируса условно низкого онкогенного риска в 7,1%, неклассифицируемые вирусы выявлены в 8,7% случаев, сочетание

различных типов вирусов в 10,9% и в 7,6% случаев вирус не был обнаружен. В случаях, когда вирус не был обнаружен имелись все остальные признаки ПВИ, это говорит о необходимости поиска новых методов диагностики.

Всем больным проведено кольпоскопическое обследование, включающее простую и расширенную кольпоскопию. У всех больных имелись различные виды атипического эпителия, как правило, встречалось сочетание различных вариантов (уксусно-белый эпителий плоский или микропапиллярный, мозаика, пунктуация, йоднегативный эпителий). При кольпоскопии у таких женщин можно было увидеть отсутствие многослойного плоского эпителия в области эктоцервикса, визуализировались сосочки, извилины, борозды. При обработке раствором 3% уксусной кислоты, как правило встречалось сочетание различных видов атипического эпителия, при обработке раствором Люголя йоднегативная зона имела четкие границы, в виде неправильных, извилистых языков.

При цитологическом исследовании встречались маркерные клетки цитопатического действия ВПЧ – койлоциты в 95% случаев. Отсутствие койлоцитоза в 5% говорит о выраженной воспалительной реакции.

С наиболее выраженных участков атипического эпителия произведена биопсия – гистологическое исследование. Выявлено, что атипию клеток выявляют в большей части эпителиального пласта. Малоизмененный эпителий сохраняется лишь в самом поверхностном слое.

Данной группе пациенток было проведено комплексное обследование системы иммунитета с целью выявления влияния ПВИ на иммунную систему макроорганизма и насколько обосновано применение иммунокоррегирующих препаратов.

Проведен анализ показателей клеточного и гуморального звена иммунной системы. Выявлена иммуносупрессия гуморального звена и снижение естественных киллеров (табл. 14).

Таблица 14

Показатели клеточного и гуморального иммунитета у 2 группы женщин

Показатели	Контроль (11 женщин)	ПВИ (52 щин)
CD 3 (0,9 - 2,2)	1,36 ± 0,058	0,94 ± 0,017
CD 4 (0,6 – 1,9)	0,68 ± 0,072	0,61 ± 0,054
CD 8 (0,3 - 0,8)	0,51 ± 0,023	0,31 ± 0,046
CD4 / CD8 (1,2 – 2,5)	1,74 ± 0,097	1,2 ± 0,16
CD 16 (0,3 – 0,6)	0,42 ± 0,075	0,23 ± 0,014**
HLA-DR (0,15 – 0,5)	0,16 ± 0,031	0,15 ± 0,052
CD 19 (0,12 – 0,45)	0, 345 ± 0,024	0,083 ± 0,0590**

** отмечены достоверные значения при $p<0,05$

Из полученных данных следует, что CD 3, CD 4, CD 8 как в группе контроля, так и в исследуемой группе не отличались от нормальных значений. Составили: CD 3 1,36 ± 0,058 в контрольной группе и 0,94 ± 0,017 в группе женщин с ВПИП; CD 4 в группе здоровых женщин 0,68 ± 0,072 и в группе обследуемых женщин 0,61 ± 0,054 – нижняя граница нормы; CD 8 в группе контроля 0,51 ± 0,023 и 0,31 ± 0,046 – нижняя граница нормы в группе женщин с ВПИП соответственно. Отмечается снижение CD 16 в обследуемой группе до 0,23 ± 0,014, по сравнению с нормальными показателями и группой контроля, где этот показатель составил 0,42 ± 0,075. Количество антителопродуцирующих В лимфоцитов было снижено у женщин с ВПИП и составило 0,083 ± 0,0590. При изучении количественного соотношения между Ig A, Ig M, Ig G отмечено

недостоверное снижение показателя Ig G и некоторое увеличение показателя Ig A.

Далее отображены данные сравнения вышеописанных показателей между контрольной группой и группой женщин с ВПИП (рис. 6).

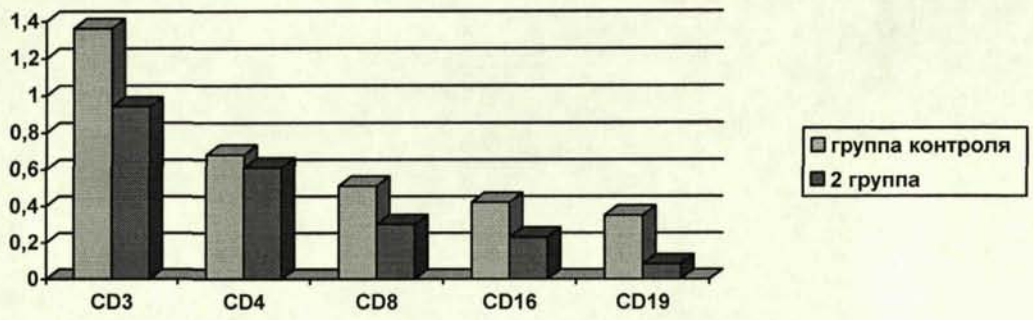

Рисунок 6. Сравнение показателей клеточного и гуморального иммунитета до лечения между группами сравнения.

При изучении данных полученных при исследовании количества антигенов главного комплекса гистосовместимости II класса - HLA-DR нельзя выявить достоверных отличий от нормальных значений, так результат в контрольной группе составил 0,16 $\pm$ 0,031 и соответственно в исследуемой группе 0,15 $\pm$ 0,052. Имеется некоторое снижение показателя в группе женщин с ВПИП, но оно не является достоверным.

При исследовании соотношения CD 4 / CD 8 иммунорегуляторного индекса выявлено соотношение 1,2 $\pm$ 0,16 в исследуемой группе по отношению к группе контроля 1,74 $\pm$ 0,097 (рис.7).

Как видно из этих показателей иммунорегуляторный индекс в группе женщин с ВПИП значительно ниже, чем у здоровых женщин, отличие недостоверно.

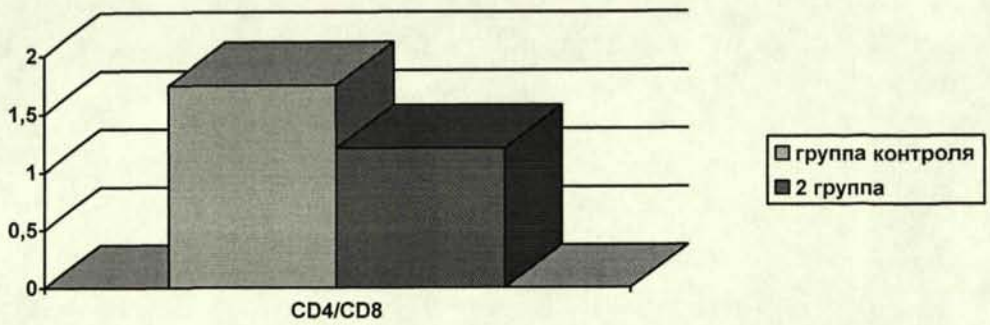

Рисунок 7. Сравнение иммунорегуляторного индекса в обследуемых группах.

Из полученных данных можно сделать вывод об имеющихся нарушениях системы иммунитета, выражающееся в иммуносупрессии. В целом 40% параметров клеточного иммунитета у каждой пациентки с ВПИП отличается от нормы.

Далее в ходе обследования был изучен интерфероновый статус. Уровень сывороточного интерферона в обследуемой группе с ВПИП достоверно выше: во второй группе показатель составляет 12,74 $\pm$ 0,370, по сравнению с контролем 4,20 $\pm$ 0,230. Уровень продукции интерферона альфа ниже во второй группе 64 $\pm$ 16, чем в группе здоровых женщин 280 $\pm$ 32. Такие же изменения мы видим и по отношению к интерферону гамма: вторая группа 12 $\pm$ 7,8, что значительно ниже показателей в группе здоровых женщин 56 $\pm$ 13 и ниже нормальных значений. Спонтанная продукция интерферона лейкоцитами во всех группах не различалась и находилась в пределах нормы (табл. 15).

Таким образом, учитывая вышеизложенное, необходимо отметить решающее влияние взаимосвязи клеточного иммунитета и системы интерфероновой защиты, определяющие характер течения, частоту и проявления ПВИ.

Таблица 15

Показатели изменений системы ИФН в обследуемых группах

Показатели (нормы)	Контроль	2 группа
Сывороточный интерферон (2 –8)	4,2 ± 0,23	12,74 ± 0,370**
Интерферон альфа (128 – 640)	280 ± 32	64 ± 16**
Интерферон гамма (32 – 256)	56 ± 13	12 ± 7,8**
Спонтанная продукция интерферона лейкоцитами (0 – 2)	1,8 ± 0,33	1,7 ± 0,12

** отмечены достоверные значения при $p<0,05$

Также как и в предыдущей группе, мы изучили локальный спектр цитокинов в слизи цервикального канала методом ИФА и получили следующие данные. Колебания содержания ИЛ 1 между контрольной группой и группой женщин с ПВИ не было отмечено и составило в группе здоровых женщин 72 + 3,8 пкг/мл, а в исследуемой группе 74 + 5,3 пкг/мл, что связано с высокой концентрацией ИЛ 1Ra, как было сказано выше. А содержание ИЛ 8 колебалось от высоких до низких значений, что позволило нам разделить пациенток. В группу с исходно высоким содержанием ИЛ 8 вошли 48% пациенток, у которых показатели колебались 2345 + 623 пкг/мл, вторую группу составили 52% пациенток с исходно низким содержанием ИЛ 8 у них показатели колебались в пределах 1348 + 117 пкг/мл. Из этого можно сделать вывод, что у пациенток с ПВИ имеются нарушения в системе локальных цитокинов. Следует отметить, что ИЛ 8 относится к группе хемоаттрактивных пептидов, стимулирует функциональную активность лейкоцитов и макрофагов, вызывает активацию и хемотаксис нейтрофилов и эозинофилов в очаг инфекции.

У больных с более грубой патологией шейки матки мы наблюдаем более существенное снижение показателей системы иммунитета, по сравнению с пациентками 1 группы, следовательно, и терапия, проводимая

этим пациенткам должна включать в себя комплексный патогенетический подход.

Глава 5. КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОК С ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ШЕЙКИ МАТКИ

В данной главе рассмотрены результаты комплексного лечения 99 пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением. Все пациентки получали патогенетически обоснованный комплекс специфической терапии, учитывающий клинико-иммунологический профиль больной и степень поражения шейки матки.

С целью повышения эффективности лечения нами применялась локальная терапия ПВИ комплексом природных цитокинов препаратом Суперлимф – иммуномодулятором местного действия.

5.1. Клиническая эффективность лечения пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением низкой степени

Данную группу составили 47 пациенток с НПИП. Клинико-иммунологический анализ особенностей проявления ПВИ на современном этапе позволил выделить патогенетически обосноснованный подход к лечению плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки. Нами разработана схема лечения, включающая в себя локальное применение комплекса цитокинов – препарата Суперлимф, коррекцию дисбиотических нарушений и сопутствующей микст-инфекции полового тракта. К принципиально важным факторам отнесены такие свойства препарата Суперлимф, как стимуляция функциональной активности фагоцитов, активация фагоцитоза, выработка цитокинов (ИЛ1, ФНО), индукция противоопухолевой цитотоксичности макрофагов, способствует гибели внутриклеточных паразитов, регулирует миграцию макрофагов и лейкоцитов. Препарат обладает прямым противовирусным и противомикробным действием.

Препарат Суперлимф применялся двумя курсами по 10 суппозиториев, для интравагинального введения до и после менструации, 1 раз в сутки. Акцентируя внимание на превалировании микст-инфекции генитального тракта в структуре клинической характеристики обследуемых пациенток, следует подчеркнуть необходимость сопутствующего этиотропного лечения, способствующего клиническому выздоровлению больных. Всем больным с сопутствующей урогенитальной инфекцией была проведена специфическая терапия, учитывая антибактериальную чувствительность выявленных возбудителей до начала лечения препаратом Суперлимф. При хламидиозе мы использовали вильпрафен, и жлемик для коррекции дисбиотических нарушений, при кандидозе орунгал и жлемик. Предложенную схему мы считаем патогенетически обоснованной, учитывая перечисленные свойства препарата Суперлимф.

Эффективность лечения оценивали через 4 недели и через 8 недель (1 месяц, 2 месяца) после проведенного лечения путем сбора анамнеза, вирусологического исследования, проведения кольпоскопического, цитологического, бактериоскопического и иммунологического исследований. Такие сроки оценки лечения мы выделили в данной группе, так как здесь не применялись физические методики лечения.

В данной группе после комплексного лечения по вышеприведенной схеме (табл. 16) полное излечение через 4 недели достигнуто у 35 женщин (74,5%), положительная динамика, в виде уменьшения площади поражения, наблюдалась у 9 женщин (19,1%), отсутствие эффекта отмечено у 3 женщин (6,4%). Через 8 недель отмечен более высокий процент женщин с полным излечением составивший 85% (40 женщин), положительная динамика наблюдалась у 10,8% (5 женщин), отсутствие эффекта у 4,2% (2 женщин).

Таблица 16

Результаты лечения больных с НПИП

Клинический эффект	Кол-во больных через 4 недели	%	Кол-во больных через 8 недель	%
Полное выздоровление	35	74	40	85
Полож. динамика	9	19	5	10,8
Отсутствие эффекта	3	6,4	2	4,2

У пациенток через 8 недель нами было проведено вирусологическое исследование ВПЧ обнаружен у 2 женщин, у которых отсутствовал эффект от лечения, не произошло кольпоскопических и цитологических изменений, причем обнаружены условно высокоонкогенные типы вируса 16, 18. Этим женщинам в дальнейшем проведена лазервапоризация пораженного очага с повторным курсом иммунокоррекции. У пациенток с полным выздоровлением кольпоскопически шейку матки покрывает многослойный плоский эпителий, отсутствует атипический эпителий, цитологически койлоцитоза выявлено не было (через 8 недель после проведенного лечения). В группе с положительной динамикой кольпоскопически отмечено уменьшение площади поражения и выраженности признаков поражения, цитологически также у всех пациенток койлоцитоз отсутствовал.

Мы сравнили эффективность применения препарата Суперлимф и ликопида в курсовой дозировке 100 мг по данным Харловой О.Г. (1998) и отметили более высокую эффективность препарата Суперлимф. Так полное

выздоровление достигнуто у 85% больных применявших Суперлимф, в отличие от ликопида, где эффективность лечения составила 80%, хотя больным проводилась лазервапоризация шейки матки.

Таким образом, препарат Суперлимф может быть рекомендован женщинам с НПИП, как более эффективный и не требующий применения лазервапоризации при поражениях I степени.

За больными мы проводили наблюдение в течение 12 месяцев, контрольное обследование по всем параметрам проведено через 6 и через 12 месяцев – рецидивов не отмечено. Больным, с положительной динамикой через 6 месяцев проведено кольпоскопическое обследование, обнаружено полное выздоровление.

Нами проанализированы данные обследования иммунной системы до лечения, где видна взаимосвязь между клиническими проявлениями инфекции и показателями клеточного, гуморального звеньев иммунитета, интерферонового статуса и локального спектра цитокинов.

Так у больных с НПИП выявлены нарушения клеточного и гуморального звена, выражающиеся в иммуносупрессии натуральных киллеров CD 16 и антителообразующих В лимфоцитов.

Отмечена иммунологическая недостаточность в виде снижения основных клеточных популяций по сравнению со здоровыми женщинами.

В таблице 17 приведены данные исследования иммунного статуса до лечения, через 8 недель после лечения, а также контроль через 6 и 12 месяцев.

Таблица 17

Показатели клеточного и гуморального иммунитета у женщин с НПИП до и после лечения

Показатели	До лечения	Через 8 недель	Через 6 мес.	Через 12 мес.
CD 3 (0,9-2,2)	0,98 ± 0,023	1,64 ± 0,045	1,23 ± 0,030	1,14 ± 0,017
CD 4 (0,6-1,9)	0,59 ± 0,041	1,21 ± 0,340	0,89 ± 0,022	0,73 ± 0,056
CD 8 (0,3-0,8)	0,32 ± 0,032	0,68 ± 0,070	0,49 ± 0,057	0,40 ± 0,061
CD4 / CD8 (1,2-2,5)	1,4 ± 0,05	2,1 ± 0,06	1,8 ± 0,03	1,7 ± 0,09
CD 16 (0,3-0,6)	0,27 ± 0,021**	0,45 ± 0,074	0,41 ± 0,033	0,36 ± 0,061
HLA-DR (0,15-0,5)	0,17 ± 0,064	0,17 ± 0,053	0,16 ± 0,006	0,16 ± 0,047
CD 19 (0,12-0,45)	0,095 ± 0,0760**	0,380 ± 0,0720	0,201 ± 0,9701	0,19 ± 0,730

** отмечены достоверные значения при $p<0,05$.

Из приведенных данных обращает на себя внимание рост всех показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Наибольшие значения всех показателей отмечаются на 8 неделе после проведенного лечения.

CD 3 после проведенного лечения через 4 недели составляет 1,16 ± 0,012, через 8 недель 1,64 ± 0,045, через 6 месяцев отмечается некоторое снижение показателя до 1,23 ± 0,030 и через 12 месяцев 1,14 ± 0,017, по сравнению с данными до лечения 0,98 ± 0,023 . CD 4 составляет через 4 недели после лечения 0,68 ± 0,062, через 8 недель достигает пика и составляет 1,213 ± 0,34, через 6 месяцев отмечен некоторый спад 1,23 ± 0,030, и через 12 месяцев также некоторое снижение показателя 0,73 ± 0,056 по сравнению с показателями до лечения 0,59 ± 0,041. CD 8 после проведенного лечения через 4 недели составляет 0,451 ± 0,0470 , через 8 недель 0,683 ± 0,07, через 6 месяцев отмечается некоторое снижение показателя до 0,498 ± 0,057 и через 12 месяцев 0,401 ± 0,061, по сравнению с данными до лечения 0,316 ± 0,032. Иммунологический индекс претерпевает практически те же изменения, что и предыдущие показатели так до лечения он составил 1,4 ± 0,05, через 4 недели после лечения 1,6 ± 0,04, через 8 недель после лечения 2,08 ± 0,06, через 6 месяцев 1,8 ± 0,03, через 12 месяцев 1,68 ± 0,09, как мы видим максимальное значение достигается через 8 недель после лечения, а далее следует некоторый спад, хотя показатели остаются выше исходных значений. То же можно сказать и относительно естественных киллеров CD 16, здесь мы отмечаем подьем к 4 неделе после лечения 0,38 ± 0,053, пик к 8 неделе 0,45 ± 0,074, некоторый спад к 6 месяцу 0,41 ± 0,033 и 12 месяцу 0,36 ± 0,061, хотя эффект от терапии достаточно стойкий. По отношению к гуморальному звену мы отмечаем рост к 4 неделе 0,13 ± 0,085 и 8 неделе 0,38 ± 0,072 и некоторый спад к 6 месяцу 0,20 ± 0,970 и 12 месяцу 0,19 ± 0,730. По отношению к комплексу гистосовместимости мы отмечаем рост показателя к 8 неделе

0,17 ± 0,053 и уменьшение показателя к 6 месяцу 0,17 ± 0,006, а 12 месяцу он становится даже несколько ниже значений до лечения 0,16 ± 0,047.

Анализируя полученные данные можно сделать вывод об эффективности препарата Суперлимф в отношении клеточного и гуморального звеньев иммунитета и подтвердить его иммунокоррегирующее действие.

Далее рассмотрен интерфероновый статус больных до, и после лечения препаратом Суперлимф. Больные обследовались соответственно первоначальному разделению на группы. Интерфероновый статус был изучен через 8 недель после лечения (табл. 18), а также, так как пациентки находились по контролем в течении года, через 6 и 12 месяцев (табл. 19).

Таблица 18

Показатели изменений системы ИФН в обследуемых группах

Показатели (нормы)	1 группа до лечения	1 группа через 8 недель
Сывороточный интерферон (2 –8)	11,16 ± 0,540**	8,5 ± 0,42
Интерферон альфа (128 – 640)	69 ± 23**	126 ± 63
Интерферон гамма (32 – 256)	15, 5 ± 6,70**	38 ± 21
Спонтанная продукция интерферона лейкоцитами (0 – 2)	1,82 ± 0,040	1,85 ± 0,070

** отмечены достоверные значения при $p<0,05$

Через 8 недель после лечения мы, анализируя данные, видим, что сывороточный интерферон с исходно высоких величин в исследуемой группе понижается до нормальных значений и составляет 8,5 ± 0,42,

несколько выше нормального значения, однако значительно ниже по сравнению с результатом до лечения 11,16 ± 0,54. Показатели интерферонов альфа и гамма до лечения были достоверно снижены в первой группе интерферон альфа составлял 69 ± 23, интерферон гамма соответствовал 15,5 ± 6,7, через 8 недель после лечения отмечен рост показателей, так интерферон альфа составил 126 ± 63, интерферон гамма 38 ± 21. Что касается спонтанной продукции интерферона лейкоцитами, то здесь не отмечено каких-либо существенных изменений, показатели держались в пределах нормальных значений.

Таблица 19

Показатели изменений системы ИФН в обследуемых группах

Показатели (нормы)	1 группа через 6 месяцев	1 группа через 12 месяцев
Сывороточный интерферон (2 –8)	7,5 ± 0,32	7,9 ± 0,82
Интерферон альфа (128 – 640)	196 ± 28	160 ± 33
Интерферон гамма (32 – 256)	43 ± 7,6	39 ± 17
Спонтанная продукция интерферона лейкоцитами (0 – 2)	1,29 ± 0,270	1,81 ± 0,050

Из полученных данных следует, что в первой группе сывороточный интерферон максимально снижается к 6 месяцу после лечения 7,5± 0,32, а к 12 месяцу отмечается его незначительный рост 7,9 ± 0,82, данные лежат в пределах нормальных значений. В отношении интерферона альфа пик его значений приходится на 6 месяц после лечения и составляет в 1 группе 196 ± 28, через 12 месяцев отмечается стойкий эффект от лечения 160 ± 33, хотя

значения несколько снижаются по отношению к показателям через 6 месяцев после терапии.

Интерферон гамма ведет себя практически так же, как и альфа в первой группе через 6 месяцев отмечается максимальное значение показателей 43 ± 7,6, через 12 месяцев показатели незначительно снижаются 39 ± 17. Спонтанная продукция интерферона не страдает и остается в пределах нормальных значений.

Определение локального спектра цитокинов (ИЛ1, ИЛ8) в слизи цервикального канала методом ИФА выявило, что уровень ИЛ 1 практически не изменился и составил 74 + 5,2 пкг/мл, по сравнению с исходными данными 78 ± 2,9 пкг/мл. Мы связываем это с наличием в цервикальной слизи высокой концентрации ИЛ1Ra, который конкурентно взаимодействует с рецепторами для ИЛ 1 на клетках мишенях, что блокирует биологическую активность ИЛ 1. Достоверными являются изменения содержания ИЛ 8 в цервикальной слизи, при этом диапазон изменений достаточно широк. Как было выявлено, до проведения терапии препаратом Суперлимф больные разделились на 2 группы, с условно высоким содержанием ИЛ 8 - 42% показатель колебался в пределах 2456 ± 430 пкг/мл. Вторую группу 58% составили пациентки с исходно сниженным уровнем содержания ИЛ 8 в слизи цервикального канала 1421 ± 23 пкг/мл. После проведенной терапии в первой группе определялось достоверное снижение показателя до 906 ± 169 пкг/мл. В группе с исходно сниженным содержанием ИЛ 8 в цервикальной слизи отмечался рост показателя до 2148 ± 217 пкг/мл. Учитывая полученные данные можно сделать вывод о иммуномодулирующем действии препарата Суперлимф.

Таким образом, использование препарата Суперлимф является патогенетически обоснованным и позволяет добиться стойкой ремиссии в течении 12 месяцев у пациенток с НПИП, как с сопутствующей урогенитальной инфекцией так и без нее.

5.2. Клиническая эффективность лечения пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением высокой степени

В настоящее время особую актуальность представляют случаи, когда плоскоклеточное интраэпителиальное поражение шейки матки имеет длительное течение, маскирующееся длительно рецидивирующими инфекционно-воспалительными заболеваниями, риском перехода в злокачественное состояние у женщин молодого возраста, все эти факторы в совокупности имеют важное эпидемиологическое значение.

Успех лечения у таких пациенток находится в прямой зависимости от своевременно проведенных лабораторно-диагностических мероприятий, сочетающихся с рациональной, патогенетически обоснованной терапией, позволяющей повысить эффект от лечения и провести коррекцию сопутствующей инфекционно-воспалительной патологии гениталий.

Данную группу составили 52 пациентки с ВПИП как с сопутствующей урогенитальной инфекцией, так и без нее. Нами была разработана методика лечения, включающая применение препарата Суперлимф и проведение лазервапоризации или конизации шейки матки. Всем пациенткам с сопутствующей урогенитальной инфекцией проведено лечение, в зависимости от чувствительности возбудителя, так например, при хламидиозе применялись вильпрафен и жлемик, при кандидозе орунгал и жлемик и другие традиционные схемы. Лечение микстинфекции проведено до применения препарата Суперлимф. Терапия препаратом Суперлимф проводилась двумя курсами по 10 свечей (по 1 свече на ночь), до и через 7 дней после лазервапоризации или конизации шейки матки, которые проведены на 8 - 10 день цикла. Лазервапоризация шейки матки проведена 41 женщине без предварительной анестезии на лазерной установке «Ланцет» Россия. Шейка матки обнажалась в матовых зеркалах, проводилась расширенная кольпоскопия для уточнения границ поражения,

лазерным лучом захватывался йоднегативный участок с учетом здоровой ткани 2 – 3 мм. Лазервапоризация осуществлялась от цервикального канала концентрическими движениями к периферии. Осложнений после процедуры отмечено не было. 11 пациенткам проводилась конизация шейки матки, в состав вошли женщины с CIN III.

Эффективность лечения оценивали через 8 недель после проведенных процедур, это обусловлено периодом эпителизации после проведенного лечения. Контроль за лечением проведен путем повторного опроса жалоб, гинекологического осмотра, проведения расширенной кольпоскопии, цитологического, бактериоскопического, гистологического, иммунологического исследований.

В исследуемой группе через 8 недель полное излечение достигнуто в 94,2% случаев (49 женщин), положительная динамика отмечается у 5,8% пациенток (3 женщин), отсутствия от проведенного комплексного лечения не отмечено (табл.20).

Таблица 20

Результаты лечения больных с ВПИП

Клинический эффект	Количество больных через 8 недель	%
Полное выздоровление	49	94,2
Положительная динамика	3	5,8
Отсутствие эффекта	-	-

Таким образом, оценивая результаты лечения, под полным выздоровлением мы понимали отсутствие жалоб, при кольпоскопии шейка матки покрыта многослойным плоским эпителием, при цитологическом исследование отсутствуют койлоциты. У пациенток с положительной динамикой жалобы отсутствовали, при контрольном кольпоскопическом исследовании подтверждаются признаки эпидермизации, уменьшения

площади поражения, при цитологическом исследовании снижение степени выраженности койлоцитоза от выраженной до легкой. Пациентки находились под динамическим наблюдением в течении года. У женщин с полным выздоровлением рецидивирования не отмечено, в группе с положительной динамикой рецидивы отмечены у 2 пациенток (3,8%). При проведении анализа возникновения рецидива отмечен отягощенный анамнез в плане инфекционно-воспалительной патологии, наличие сопутствующей микст инфекции, боле тяжелое поражение шейки матки. Всем пациенткам с рецидивированием процесса проведено оперативное лечение – пангистерэктомия.

Оценка эффективности препарата Суперлимф проведена в сравнении с препаратом ликопид в курсовой дозировке 100 мг (Харлова О.Г. 1998), отмечена более высокая эффективность Суперлимфа 94,2%, ликопид 80%. При исследовании рецидивирования процесса нами отмечено, что при применении препарата Суперлимф рецидивы возникли в 3,8% женщин, тогда как при применении ликопида отмечено более высокая частота рецидивирования в 8,3% случаев.

Следовательно препарат Суперлимф является препаратом выбора при лечении плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки.

Дополнительным фактором эффективности специализированного лечения стало изменение показателей иммунной системы, изученное после лечения. До проведенного лечения в этой группе были более глубокие изменения показателей по сравнению с группой с НПИП.

Так показатели клеточного и гуморального звена после комплексного лечения изменились в сторону повышения показателей, исчезла относительная иммуносупрессия CD 3 лимфоцитов, так до лечения показатели составляли 0,94 $\pm$ 0,017, через 8 недель после лечения значения выросли до 1,52 $\pm$ 0,023, через 6 месяцев составили 1,12 $\pm$ 0,074, через 12 месяцев 1,07 $\pm$ 0,061 (табл. 21).

Таблица 21

Показатели клеточного и гуморального иммунитета у женщин с ВПИП до и после лечения

Показатели	До лечения	Через 8 недель	Через 6 мес.	Через 12 мес
CD 3 (0,9-2,2)	0,94 ± 0,017	1,52 ± 0,023	1,12 ± 0,074	1,07 ± 0,061
CD 4 (0,6-1,9)	0,61 ± 0,054	0,96 ± 0,018	0,78 ± 0,032	0,71 ± 0,052
CD 8 (0,3-0,8)	0,31 ± 0,046	0,62 ± 0,090	0,49 ± 0,049	0,48 ± 0,028
CD4 / CD8 (1,2-2,5)	1,2 ± 0,16	1,6 ± 0,08	1,5 ± 0,07	1,4 ± 0,05
CD 16 (0,3-0,6)	0,23 ± 0,014**	0,38 ± 0,072	0,36 ± 0,024	0,31 ± 0,045
HLA-DR (0,15-0,5)	0,16 ± 0,052	0,16 ± 0,023	0,17 ± 0,007	0,16 ± 0,037
CD 19 0,12-0,45)	0,083 0,0590**	0,24 ± 0,063	0,19 ± 0,850	0,16 ± 0,690

** отмечены достоверные значения при $p<0,05$.

Такие же изменения мы отметили и относительно CD 4 лимфоцитов: до лечения 0,61 ± 0,054, через 8 недель после лечения 0,96 ± 0,018, через 6 месяцев 0,78 ± 0,032, через 12 месяцев 0,71 ± 0,052. Отмечен рост CD 8 лимфоцитов после лечения на 8 неделе 0,62 ± 0,090, через 6 месяцев 0,45 ± 0,049, через 12 месяцев 0,48 ± 0,028, до лечения показатель составлял 0,31 ± 0,046. Что касается иммунорегуляторного индекса, т. е. отношения CD4 / CD8 отмечено максимальное значение через 8 недель после лечения 1,6 ±

0,08, и незначительное снижение через 6 месяцев 1,6 ± 0,07 и через 12 месяцев 1,5 ± 0,05, что остается выше исходных значений 1,2 ± 0,16.

Изученный комплекс гистосовместимости не претерпел существенных изменений, так до лечения его показатель составлял 0,16 ± 0,052, через 8 недель после лечения 0,16 ± 0,023, через 6 месяцев 0,17 ± 0,007, через 12 месяцев 0,16 ± 0,037, как мы видим, идет относительный рост показателя, но изменения не достоверны.

При изучении CD 16 отмечен рост до нормальных значений через 8 месяцев после лечения 0,38 ± 0,072, через 6 месяцев показатель составил 0,36 ± 0,024, через 12 месяцев 0,31 ± 0,045, до лечения наблюдалась выраженная иммуносупрессия естественных киллеров 0,23 ± 0,014.

По отношению к гуморальному звену – антителообразующим В лимфоцитам купировалось существующее снижение показателей до лечения 0,08 ± 0,059, что составило после лечения через 8 недель 0,24 ± 0,063, через 6 месяцев 0,19 ± 0,85, через 12 месяцев 0,16 ± 0,690. При таком динамическом исследовании можно провести анализ более поздних данных и провести их оценку.

Обнаружено, что все иммунологические показатели имеют максимальный пик значений на 8 неделе после лечения, далее идет незначительный спад показателей, но они остаются выше исходных показателей.

Из полученных данных можно сделать вывод о положительном действии препарата Суперлимф на клеточное и гуморальное звенья иммунитета.

Далее нами был изучен интерфероновый профиль обследуемой группы. Интерфероновый статус был изучен через 8 недель после лечения, а также, так как пациентки находились по контролем в течении года, через 6 и 12 месяцев.

Таблица 22

Показатели изменений системы ИФН в обследуемых группах

Показатели (нормы)	2 группа до лечения	2 группа через 8 недель
Сывороточный интерферон (2 –8)	12,74 ± 0,370**	8,2 ± 0,57
Интерферон альфа (128 – 640)	64 ± 16**	127 ± 53
Интерферон гамма (32 – 256)	12 ± 7,8**	34 ± 17
Спонтанная продукция интерферона лейкоцитами (0 – 2)	1,69 ± 0,12	1,73 ± 0,16

** отмечены достоверные значения при $p<0,05$

Из таблицы 22 видно, что через 8 недель после лечения сывороточный интерферон практически приблизился к нормальным значениям и во 2 группе 8,2 ± 0,57.

Интерфероны альфа и гамма после проведенного лечения, учитывая существовавшее подавление интерфероногенеза, выросли до нормальных значений и составили интерферон альфа 127 ± 53, до лечения 64 ± 16 соответственно.

В отношении интерферона гамма мы отметили такие же изменения, так во второй группе через 8 недель после лечения показатель составил 34 ± 17, до лечения показатели были 12 ± 7,8.

Спонтанная продукция интерферона оставалась в пределах нормальных значений.

Таблица 23

Показатели изменений системы ИФН в обследуемых группах

Показатели (нормы)	2 группа через 6 месяцев	2 группа через 12 месяцев
Сывороточный интерферон (2 – 8)	7,96 ± 0,430	7,98 ± 0,750
Интерферон альфа (128 – 640)	165 ± 57	149 ± 59
Интерферон гамма (32 – 256)	62 ± 13	55 ± 14
Спонтанная продукция интерферона лейкоцитами (0 – 2)	1,69 ± 0,350	1,68 ± 0,090

Из полученных данных следует (табл. 23), что во второй группе сывороточный интерферон максимально снижается к 6 месяцу после лечения 7,96 ± 0,430, а к 12 месяцу отмечается его незначительный рост 7,98 ± 0,750, данные лежат в пределах нормальных значений. В отношении интерферона альфа пик его значений приходится на 6 месяц после лечения и составляет 165 ± 57, через 12 месяцев отмечается стойкий эффект от лечения 149 ± 59, хотя значения несколько снижаются по отношению к показателям через 6 месяцев после терапии.

Интерферон гамма ведет себя практически так же, как и альфа через 6 месяцев отмечается максимальное значение показателей 62 ± 13, через 12 месяцев показатели незначительно снижаются 55 ± 14. Спонтанная продукция интерферона также не страдает и остается в пределах нормальных значений.

При изучении локальной продукции цитокинов – ИЛ 1, ИЛ 8 отмечено, что диапазон изменений ИЛ 1 незначителен и после лечения количество ИЛ 1 в цервикальной слизи составляет 78 ± 4,8 пкг/мл, до лечения 74 ± 5,3. Это связано с высокой концентрацией в цервикальной слизи ИЛ 1Ra. Диапазон изменений количества содержания ИЛ 8 достаточно широк, так у 48% пациенток с исходно высоким показателем 2345 ± 623 пкг/мл отмечено снижение содержания ИЛ 8 в слизи цервикального канала до 921 ± 125 пкг/мл. У 52% женщин с исходно сниженным содержанием ИЛ 8 в цервикальной слизи 1348 ± 117 отмечен рост до 2086 ± 204 пкг/мл. Таким образом, учитывая достоверные изменения средних значений ИЛ 8 в цервикальной слизи до и после лечения следует заключить, что Суперлимф обладает иммуномодулирующим действием.

Из всех вышеприведенных данных следует, что клинический эффект, выражающийся в быстрой ликвидации воспаления и активации репаративных процессов, обусловлен повышением активности факторов клеточного иммунитета, а именно стимуляцией фагоцитоза, активацией цитотоксичности, внутриклеточного киллинга микроорганизмов, в том числе вирусов, антиоксидантной активностью препарата.

С целью достижения стойкого терапевтического эффекта важно акцентировать внимание на необходимости параллельной диагностики и лечения половых партнеров и использовании барьерных методов контрацепции на период лечения. Пациенткам с возникшими рецидивами рекомендован курс повторной иммунотерапии.

Таким образом, проведение локальной иммунотерапии в комплексном лечении ПВИ является патогенетически обоснованным.

Глава 6. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ИСЛЕДОВАНИЙ

Во всем мире заболевания передающиеся половым путем являются серьезной медико-социальной проблемой, на одном из первых мест среди других ИППП находится папилломавирусная инфекция генитального тракта.

Возбудитель ДНК содержащий вирус папилломы человека (ВПЧ) – является облигатным эпителиотропом и одним из канцерогенных вирусов.

По данным многочисленных источников в настоящее время не наблюдается тенденции к снижению роста заболеваемости папилломавирусной инфекции, что связано с недостаточным клинико-диагностическим обследованием пациентов, сочетанием ПВИ с другими ИППП, наличием латентного носительства ПВИ.

Достаточно долгая персистенция вируса в промежуточном слое многослойного эпителия шейки матки, часто приводящая к рецидивированию процесса у пациенток с нарушением иммунного равновесия, определяет основные трудности в борьбе с данным заболеванием.

Отсутствие четкого понимания практическими врачами необходимости патогенетического подхода к комплексной терапии и проведению специализированной диагностики с целью идентификации вирусной патологии ведет к росту уровня заболеваемости папилломавирусной инфекцией.

В настоящее время неопровержимо доказано, что папилломавирусные дисплазии являются предшественником рака шейки матки [7, 56, 58, 60, 62, 123, 133, 137].

Следует отметить, что в США Национальным институтом по изучению рака с целью единого понимания предраковых состояний шейки

матки цитологами и патоморфологами была рекомендована цитологическая классификация – система Бетесда (1989). Согласно этой классификации изменения шейки матки, связанные с дисплазией, предлагается обозначать термином плоскоклеточные интраэпителиальные поражения низкой и высокой степени. Основанием для выделения послужили результаты клинико-морфологического и вирусологического изучения патологии шейки матки.

Распространенность вируса обусловлена многими факторами: возрастом, местом жительства, социальной средой и др. Вирус папилломы чаще всего передается половым путем и соответственно этому поражаются преимущественно женщины молодого возраста, ведущие активную половую жизнь, имевшие большее число контактов [14, 60, 74, 124, 144, 175, 204].

Несмотря на значительное число работ, относительно присутствия ПВИ в женских гениталиях при диспластических состояниях, полученные данные пока не позволяют давать конкретные рекомендации относительно лечебной тактики при интраэпителиальных поражениях шейки матки [122, 175].

Предпринимаются попытки лечения ПВИ с помощью различных препаратов, однако ограниченные успехи и высокая частота рецидивирования заставляют искать новые средства, которые могли бы быть более эффективными, не нарушать микроэкологию, а, наоборот, восстанавливать ее, тем самым, помогая иммунной системе справиться с вирусной инфекцией без использования специфических противовирусных препаратов.

Новая эра в цитокинотерапии наступила с возможностью выделения эндогенных цитокинов, как лечебного комплекса. По данным К.И. Рублевой с соавт. (1994), комплекс эндогенных цитокинов оказывает

активирующее действие на фагоциты, бактерицидное и эпителизирующее действие.

Использование комплекса цитокинов заданной специфичности, а не отдельных пептидов дает возможность более разносторонне коррегировать спектр репаративных процессов. Теоретическим обоснованием метода локальной иммуноцитокинотерапии послужили данные последних лет о цитокинах, как о единой системе регуляции функции клеток организма полипептидными молекулами [5, 37, 38, 40].

Комплекс природных цитокинов – препарат Суперлимф, представляет собой естественную композицию иммунопептидов с молекулярной массой от 10 до 40 кD с активностью ряда цитокинов, включая: фактор, ингибирующий миграцию макрофагов – МИФ; интерлейкины 1,2,6; фактор некроза опухоли – ФНО; трансформирующий фактор роста – ТФР секретируемых лейкоцитами периферической крови свиньи. Препарат является стимулятором функциональной активности фагоцитов (моноцитов и нейтрофилов): активирует фагоцитоз, выработку цитокинов, (ИЛ-1, ФНО), индуцирует противоопухолевую цитотоксичность макрофагов, способствует гибели внутриклеточных паразитов, регулирует миграцию макрофагов и лейкоцитов. Механизм действия Суперлимфа на фагоциты связан с повышением внутриклеточной концентрации ионов Ca2+. Основываясь на этих данных мы старались разработать наиболее эффективные схемы комплексного лечения различных форм поражения шейки матки ВПЧ с применение локального спектра цитокинов – препарата Суперлимф.

В соответствии с поставленными задачами, нами был проведен тщательный анализ данных общего и гинекологического анамнеза, клинико-лабораторного обследования 99 пациенток репродуктивного возраста с верифицированной ПВИ, подтвержденной вирусологическими

методами – ПЦР и ДНК гибридизацией, данными расширенной кольпоскопии, цитологического и гистологического исследований.

В ходе исследования при первичном обращении пациенток определялся характер поражения шейки матки, тип вируса, клинические характеристики протекающего заболевания. Для осуществления поставленных задач мы выделили женщин в группы сравнения: первую группу представили 47 женщин с НПИП, вторую группу 52 женщины с ВПИП. Группу сравнения составили 11 условно-здоровых женщин, не имеющих в анамнезе признаков ПВИ и отрицательными вирусологическими реакциями. Пациентки изучаемых клинических групп практически не различались по возрасту и перенесенным ранее соматическим заболеваниям. Возрастной пик заболеваемости приходился на наиболее активный сексуальный и репродуктивный период женщины. Так средний возраст в первой группе составил 23,2 $\pm$ 0,5 лет, во второй группе 27 $\pm$ 0,6 лет. Некоторое увеличение возрастных критериев у пациенток 2 группы свидетельствуют, по-видимому, о более длительной персистенции вируса, приводящей к развитию иммуносупрессии.

Как правило, клиническое течение ПВИ сопровождается неспецифическими жалобами, обусловленными сопутствующей урогенитальной инфекцией или протекает бессимптомно.

Бактериальные и вирусные инфекции гениталий, такие как хламидиоз, гонорея, генитальный герпес, трихомониаз и др., затрудняют клиническую диагностику ПВИ. Жалобы при этих инфекциях непатогномоничны, сходны для всех генитальных инфекций – это зуд, жжение, выделения из влагалища, дизурические явления [6]. Наиболее частой жалобой у пациенток всех групп были жалобы на бели различного характера, так в 1 группе жалобы на бели предъявляли 32,7%, во второй группе 70%. Как видно из представленных данных наиболее часто жалобы предъявляли женщины с сопутствующей инфекцией.

Основываясь на данных литературы и анализе результатов собственных исследований важно отметить высокий процент хронических экстрагенитальных заболеваний воспалительного характера в исследуемых группах, что в совокупности способствовало развитию иммунодефицита, создавая благоприятные условия для развития ПВИ [94]. Так инфекционно-воспалительная патология ЛОР-органов составила в первой группе 29,79%, во второй группе 50%. Хроническая воспалительная патология органов дыхания составила 25,54%, 32,7%. Заболевания ЖКТ 40,43%, 44,23%. Таким образом, у пациенток с ПВИ можно отметить высокий инфекционный индекс.

Росту ПВИ и прогрессированию вызываемой ею дисплазии могут способствовать заболевания, сопровождающиеся снижением иммунитета [196].

При изучении анамнеза гинекологических заболеваний были изучены перенесенные ранее и имеющиеся на момент обследования заболевания гениталий. На основании полученных нами данных подавляющее большинство пациенток в течении различных периодов времени находились на лечении по поводу какой-либо гинекологической патологии. Приведем данные наиболее часто встречающейся патологии. В анамнезе пациентки 1 и 2 групп отмечали бактериально-кандидозный кольпит в 42,56% и 32,7% случаев, бактериальный вагиноз 46,8% и 42,31%, микоплазмоз 14,5% и 28,85%, хламидиоз 10,64% и 17,31%.

Исследования проведенные Г.Н. Минкиной (2001) показали, что плоскоклеточное интраэпителиальное поражение шейки матки сопровождается существенными качественными и количественными изменениями вагинальной микрофлоры. Наряду с этим отмечались повышение частоты выделения и избыточный рост представителей условно-патогенной флоры. Выявленная микст-инфекция в исследуемых группах при проведении нашего исследования подтверждает эти данные.

Так бактериально-кандидозный кольпит встречался 48,94% и 19,23% соответственно, бактериальный вагиноз 44,23% и 51,93%, хламидиоз 19,15% и 21,16% в обеих группах, микоплазмоз 19,15% и 26,93%. Также высокие проценты составляет хронический сальпингоофорит. Наличие этих заболеваний приводит к дисбалансу защитных механизмов, отсутствию эффекта от лечения, возникновению рецидивов, снижению факторов специфической и неспецифической реактивности организма. Всем пациенткам с сопутствующей урогенитальной инфекцией проведена коррекция в зависимости от антибактериальной чувствительности выявленных микроорганизмов до применения препарата Суперлимф. Так при хламидиозе мы использовали вильпрафен и жлемик, при кандидозе клотримазол или орунгал, при герпесе ацикловир или фамцикловир, при бактериальном вагинозе гиналгин, клион Д, метронидазол. Для нормализации вагинальной микроэкологии применяли жлемик.

Репродуктивная функция пациенток изучаемых групп в большинстве случаев характеризовалась наличием отягощенного акушерского анамнеза. Роды в возрасте моложе 16 лет и многочисленные роды являются факторами риска по раку шейки матки. Возможным объяснением этого могут быть восприимчивость зоны трансформации шейки матки к ПВИ в конце беременности, травма во время родов, гормональные изменения в процессе беременности или незрелость иммунной системы [2]. Количество беременностей преобладало во 2 группе, что, по-видимому, связано с более старшим возрастом пациенток. Количество беременностей составило в 1 группе 87,24%, 2 группе 90,59%. Как мы видим количество беременностей достаточно велико во всех группах. Рассмотрим чем закончились беременности во всех исследуемых группах. Самопроизвольные роды произошли у 40,43% в первой группе, 50% во второй группе. Невынашивание беременности чаще было связано с самопроизвольными выкидышами на ранних сроках гестации: 12,77%, 23,08%, реже встречались

преждевременные роды 12,77%, 13,47%. Отмечается высокий процент абортов во 2 группе – 76,93%, по сравнению с 1 группой – 44,68%. Следует отметить высокий процент послеродовых инфекционно-воспалительных заболеваний (6,39%, 28,85%) и разрывов шейки матки (10,64%,23,08%), особенно во 2 группе.

При анализе контрацепции, применяемой пациентками установлено достаточное редкое применение барьерных методов: 29,79%, 13,47%, и отсутствие применения контрацептивов: 40,43% и 50%.

Сексуальная активность пациенток характеризуется ранним началом половой жизни (в среднем 16 – 17 лет) и частой сменой половых партнеров (65,96%, 50,1%), что расценивается как фактор риска развития ПВИ [2, 62, 109]. Как видно из приведенных данных более устойчивые связи отмечены во 2 группе, что связано с возрастной характеристикой данных групп.

С позиции современных знаний и на основании результатов исследования нельзя не отметить наиболее значимые диагностические методы – вирусологическое исследование, кольпоскопия, цитологическое и гистологические исследования. Всем больным проведено вирусологическое исследование до и после лечения методами ПЦР и ДНК-гибридизации. ВПЧ не обнаружен в 12,2% случаев, хотя все остальные обследования подтверждают признаки ПВИ, что соответствует данным Роговской С.И. (2003). При кольпоскопическом исследовании во всех группах выявлены различные виды атипического эпителия, характеризующие цервикальную интраэпителиальную неоплазию. При цитологическом исследовании койлоцитоз различной степени, Также диагноз был подтвержден гистологически.

На наш взгляд эффективность успеха этиопатогенетической терапии зависит от согласованности проводимых лабораторно-диагностических мероприятий и рационально подобранного лечения. С этой целью мы провели исследование иммунного статуса пациенток. Нами обследовано

клеточное и гуморальное звенья иммунитета, интерфероновый статус и спектр локальной продукции цитокинов. Обследования иммунного статуса до и после лечения покажет динамику происходящих изменений, так как ПВИ сопровождается иммуносупрессией [2, 62, 82]. В результате проведенных иммунологических исследований нами выявлены изменения иммунного звена, характерные для различных видов ПИП.

У первой группы пациенток отмечены изменения клеточного и гуморального звеньев иммунитета, выражающихся в достоверном снижении естественных киллеров CD16 и антителопродуцирующих В лимфоцитов CD 19. Показатели CD 3, CD 4, Cd 8, CD4/CD8 – иммунорегуляторный индекс находились в пределах нормальных значений, но были ниже, чем в группе здоровых женщин. По мнению Г.Т. Сухих с соавт. (2000) снижение соотношения CD4/CD8 может свидетельствовать о повышенной активности супрессорных функций иммунитета у пациенток с ПВИ. Во второй группе с более тяжелым поражением шейки матки отмечены более выраженные изменения этих показателей. Развитие патологии шейки матки происходит на фоне дисбаланса иммунного статуса, что в основном проявляется снижением функциональной активности Т-лимфоцитарной системы [36, 55, 59, 87]. Обобщая полученные данные мы пришли к выводу, что ПВИ сопровождается супрессивными изменениями в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета. С нарастанием клинических проявлений ПВИ шейки матки явления иммуносупрессии увеличиваются.

Нами, а также другими исследователями показано, что угнетение интерферон-синтезирующей функции лимфоцитов, по сравнению с нормативными показателями, а также группой контроля, выражалось в виде снижения интерферонов альфа и гамма в 2 – 4 раза, на фоне стабильных показателей спонтанной продукции интерферона, интерферон сывороточный увеличивался в 1 – 2 раза [2, 81, 134].

Важным звеном противоопухолевой защиты является система интерлейкинов, являясь медиаторами клеточных иммунных реакций [26, 155, 171, 193]. При изучении локальной продукции цитокинов в слизи цервикального канала методом ИФА - ИЛ 1, ИЛ 8 выявлены незначительные колебания ИЛ 1 по сравнению со здоровыми пациентками, что связано с высоким содержанием ИЛ 1Ra, который конкурентно связывается с рецепторами ИЛ 1 на клетках мишенях [85]. При проведении анализа содержания ИЛ 8 отмечены значительные колебания его показателей от условно высоких до условно низких, составивших в 1 группе 2456 $\pm$ 430 пкг/мл и 1421 $\pm$ 23 пкг/мл, во 2 группе 2345 $\pm$ 623 пкг/мл и 1348 $\pm$ 117 пкг/мл.

Выраженность иммунопатологических реакций при ПВИ, по-видимому, можно снизить путем воздействия на отдельные звенья иммунной системы. Клинико-иммунологический анализ особенностей различных форм ПВИ в исследуемых группах, углубивший наше представление о современном течении заболевания, позволил выработать комплекс мероприятий по лечению с локальной терапией в очаге поражения.

С целью повышения эффективности патогенетического лечения нами предложен способ локальной терапии ПВИ комплексом природных цитокинов препаратом Суперлимф, представленном в виде вагинальных суппозиториев. В первой группе Суперлимф применялся двумя курсами по 10 свечей до и после менструации, во второй группе проведено также два курса препаратом Суперлимф до и после лазервапоризации или конизации шейки матки.

Подтверждением эффективности лечения служит анализ клинико-иммунологических данных после проведенной терапии. Так полное выздоровление достигнуто у 85% женщин в 1 группе и у 94,2% во 2 группе. А при общепринятой методике лечения препаратом ликопид

(курсовая дозировка 100 мг) и проведением лазервапоризации эффективность лечения составляет 80% [94]. При использовании только лазервапоризации полное выздоровление при ПВИ наблюдается в 58,1% [2].

Оценка эффективности лечения проведена на основании исчезновения признаков атипической зоны трансформации шейки матки по данным расширенной кольпоскопии, исчезновении койлоцитоза по данным цитологического и гистологического исследований, отсутствии вирусной ДНК по данным ПЦР и ДНК гибридизации. Для подтверждения иммунокоррегирующего действия препарата Суперлимф нами проведены иммунологические исследования после лечения и контрольные исследования через 6 и 12 месяцев. Так в 1 группе через 8 недель наблюдалась нормализация показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Отмечено достоверное увеличение CD 3, CD 4, CD 8 лимфоцитов, возвращение к нормальным значениям CD 16 и CD 19 лимфоцитов. Значения комплекса гистосовместимости оставались практически на том же уровне. Иммунорегуляторный индекс имел тенденцию к росту. Через 6 и 12 месяцев отмечено незначительное снижение значений, однако показатели иммунитета оставались выше исходных значений, что говорит о стойком эффекте от проведенной терапии. Во 2 группе отмечаются те же изменения, хотя рост показателей более замедлен, это связано в более грубыми нарушениями иммунного звена до лечения и, по-видимому, с применением физических методик в лечении.

При проведении анализа интерферонового статуса отмечена нормализация измененных показателей, так через 8 недель интерфероны альфа и гамма выросли до нижних границ нормы, через 6 месяцев отмечен пик показателей, через 12 месяцев незначительный спад, при этом показатели интерферонов альфа и гамма оставались выше исходных

значений. Что касается сывороточного интерферона, то его исходно высокие значения снизились до нормальных через 8 недель после лечения и оставались достаточно стабильными через 6 и 12 месяцев после лечения. Спонтанная продукция интерферона оставалась в пределах нормальных значений.

При исследовании локального спектра цитокинов после лечения по отношению к ИЛ 1 не выявлено существенных изменений его содержания в слизи цервикального канала. А изменения ИЛ 8 после лечения подтверждают, что препарат Суперлимф является иммуномодулятором. Так у пациенток с исходно высоким содержание ИЛ 8 в слизи цервикального канала отмечено снижение до 906 $\pm$ 169 пкг/мл в 1 и 2 группах и 921 $\pm$ 125 пкг/мл в 3 и 4 группах. Среди пациенток с исходно низким содержанием ИЛ 8 отмечается его рост до 2148 $\pm$ 217 пкг/мл в 1 группе и до 2086 $\pm$ 204 пкг/мл во 2 группе.

Следует подчеркнуть, что проведение согласованных терапевтических мероприятий позволило повысить эффективность лечения, добиться минимального рецидивирования путем проведения локальной терапии препаратом Суперлимф.

Проведенное исследование больных с ПИП различной степени позволило охарактеризовать особенности жалоб, клинического течения, данных соматического и гинекологического анамнеза, иммунного статуса.

Полученные результаты исследования позволили доказать, что применение комплекса цитокинов в лечении ПВИ повышает эффективность лечения. В короткие сроки позволяет добиться нормализации показателей иммунной системы и стойкого эффекта по окончании лечения. Применение препарата Суперлимф является патогенетически обоснованным за счет содержания природной комбинации цитокинов.

Подводя итог вышесказанному, следует отметить, что современная медицина располагает новыми знаниями патогенеза ПВИ,

эпидемиологических аспектов распространения в популяции, доступными для практического здравоохранения методами диагностики ВПЧ и разработка методов патогенетического лечения помогает добиться стабильного терапевтического эффекта и повысить качество жизни больных.

Выводы

1. Установлено, что ПИП шейки матки развивается, как правило, при иммуносупрессии организма, а провоцирующим фактором для развития являются хронические воспалительные заболевания гениталий.
2. ПВИ шейки матки часто сопровождается микст инфекцией, такой как БВ в 48%, бактериально-кандидозный кольпит 33,8%, хламидиоз 20,3%.
3. ПИП шейки матки сопровождаются изменениями в клеточном, гуморальном звеньях иммунитета, интерферонового статуса, спектра локальной продукции цитокинов, проявляющемся в снижении популяций Т-лимфоцитов, дефицитом В клеток, выраженным снижением показателей интерферонов альфа и гамма, дисбалансом интерлейкина 8.
4. Проведение патогенетически обоснованного комплексного лечения путем применения в локальной интрацервикальной терапии природной комбинации цитокинов - препарата Суперлимф, позволяет повышать эффективность лечения и добиться стойких клинических результатов. Так полное выздоровление достигнуто у 89,6% женщин, положительная динамика у 8,3% женщин.
5. Через 12 месяцев после проведенной иммунокоррегирующей терапии отмечается снижение основных показателей иммунного статуса, что диктует необходимость повторного курса иммунотерапии по предложенной схеме.
6. Использование препарата Суперлимф в качестве иммуномодулятора в комплексном лечении ПИП шейки матки, вызванного ВПЧ максимально снижает риск рецидивирования данной патологии, за счет локального действия в очаге инфекции.

Практические рекомендации

1. Так как при ПИП шейки матки, вызванном ВПЧ, наблюдаются иммуносупрессивные изменения необходимо проводить обследование иммунного статуса пациенткам для подбора иммунокоррегирующей терапии.
2. Больные с ПИП шейки матки, вызванных высокоонкогенными типами ВПЧ, должны быть выделены в группу повышенного онкогенного риска с целью проведения своевременного комплексного лечения, включающего иммуномодулирующую терапию.
3. Пациенткам с НПИП рекомендуется помимо проведения этиотропного лечения, коррекции дисбиотических нарушений проводить иммуномодулирующее лечение комплексом природных цитокинов препаратом Суперлимф по схеме 10 свечей до менструации и 10 после менструации интравагинально
4. Пациенткам с ВПИП в качестве иммуномодулятора перед лазервапоризацией или конизацией шейки матки рекомендовано применять препарат Суперлимф двумя курсами по 10 свечей до и через 7 дней после деструктивного лечения.
5. Иммуномодулирующая терапия должна быть повторно проведена через 12 месяцев после лечения с целью профилактики рецидивирования процесса. Показанием к проведению иммунокоррегирующей терапии является снижение показателей иммунитета через 12 месяцев после лечения.
6. Для закрепления результатов лечения, с целью полного излечения и отсутствия рецидивов можно рекомендовать пациенткам с ПИП шейки матки проведение двух контрольных курсов иммуномодулирующей терапии через 6 и через 12 месяцев по 10 свечей после менструации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамян А.В., Киселев С.И. Использование $C0_2$ - лазера в оперативной гинекологии // Акуш. и гинек.- 1991.- № 6.- С. 62-70.

2. Аполихина И.А. Оптимизация диагностических и лечебных мероприятий у больных с папилломавирусной инфекцией гениталий. Автореф. дисс… канд. мед. наук, М. 1999. 22 с.

3. Бабаева А.Г. Регенерация и система иммуногенеза. 1985.- М.- С.124-131.

4. Базикян Г.К., Хангельдян А.Г. Применение лазерной установки "Ромашка-2" в онкологической практике // Тезисы докладов научной конференции, посвященной 40-летию ОНЦ им. В.А. Фанарджяна МЗ Арм. ССР. - Ереван, 1986.- С.23-25.

5. Баярт Б.В., Ковальчук Л.Б., Ганковская Л.В. Свойства рекомбинантных иммуноцитокининов// Бюлл. эксперимент биологии и медицины.- 1983.- № 8.- С. 213-215.

6. Башмаков М.А., Савичева А.М. Папилломавирусная инфекция. Москва, 2002.-С.11

7. Бебнева Т. Н., Прилепская В. Н. Папилломавирусная инфекция и патология шейки матки: (Обзор литературы)// Гинекология.- 2001.- № 3.- С.77-81.

8. Беляковский В.Н. Лечение больных дисплазией шейки матки химиотерапевтическим и хирургическим методами / Автореф. дисс … канд. мед. наук, Минск. 1995.- 21 С.

9. Богатырева И.И.Современные подходы к лечению папилломавирусной инфекции урогенитального тракта// Лечащий врач.- 2001.- № 4. С. 42-49.

10. Бохман Я.В. Руководство по онкогинекологии. Л.: Медицина, 1989. 520 с.

11. Ванько Л.В., Сухих Г.Т. Фактор некроза опухоли в иммунологии и репродукции// Акушерство и гинекология.- 1995.- № 4.- С. 9-11.

12. Василевская Л.Н., Винокур М.Л., Никитина Н.И. Предраковые заболевания и начальные формы рака шейки матки.- М.: Медицина, 1987. – 160 с..

13. Васильев Б.В. Лейкоцитарный интерферон при лечении рака и предрака шейки матки. Тезисы докладов. Всесоюзный симпозиум «Ранняя диагностика и лечение предопухолевых и опухолевых заболеваний и диспансеризация женского населения». Л. 1985.- С.42-43.

14. Васильев Б.В. Патогенетическое обоснование применения интерферона при комбинированном лечении рака шейки матки. Автореф. дисс…докт. мед. наук. СПб. 1996.- 51 с.

15. Введенский Д. В., Беляковский В. Н. Лечение проспидином дисплазии шейки матки у молодых нерожавших женщин. Здравоохр. Беларус.- 1997. N 1. С. 17-18.

16. Винокур М.Л. Обоснование сберегательных и щадящих операций при микроинвазивном раке шейки матки. Тезисы докладов. Всесоюзный симпозиум «Ранняя диагностика и лечение предопухолевых и опухолевых заболеваний и диспансеризация женского населения». 1985.- С.69-70.

17. Вишневская Е.Е. Рак шейки матки. Минск. 1987.- С.12-98.

18. Вишневская Т.М., Ситник А.С., Тугина М.А. Формализованный критерий злокачественности для скринингового цитологического исследования влагалищных мазков // Лабораторное дело.- 1985.- № 6.- С. 349-350.

19. Волков В. Г., Захарова Т. В. Факторы риска папилломовирусной инфекции шейки матки у молодых женщин.
Вестн. новых мед. технологий// 2000.- № 2.- С.106-108.

20. Вотяков В.И., Грибкова Н.В. Антивирусный фактор, выделенный из инфицированных культур клеток// Вопросы вирусологии.- 1988.- № 1.- С.717-718.

21. Вотяков В.И., Грибкова Р.В. Перспективы изучения противовирусных свойств цитокинов// Антибиотики и химиотерапия.- 1990.- № 10.- С.13-18.

22. Вядро М.М. Цитокины – полуфункциональные регуляторы защитных реакций в норме и при патологии// Антибиотики и химиотерапия.- 1989.- № 11.- С.863-869.

23. Вядро М.М. Цитокины и их роль в патогенезе и терапии инфекций// Антибиотики и химиотерапия.- 1990.- № 9.- С. 12-14.

24. Галанкин В.Н., Боцманов К.В. О путях заживления ран, нанесенных углекислым лазером// Архив патологии.- 1994.- № 9.- С. 48-56.

25. Ганковская Л.В., Ковальчук Л.В., Павлова К.С. Иммуномодулирующее действие естественного комплекса цитокинов на пролиферацию лимфоцитов и активность киллеров человека in vitro. // иммунология 2000 №2 с. 32-36

26. Гаспарян М.Г. Продукция гамма интерферона и интерлейкина-2 у больных дисплазией и раком шейки матки и коррекция выявленных нарушений// Автореф. дисс… канд мед. наук. 1990.- 22 с.

27. Глебова Н.Н., Вехновский В.О., Корниенко Т.Г. Патология шейки матки. //Здравоохранение Башкортостана. - 1994. - № 1. - С.81-91.

28. Головина Л.И., Бохман Я.В. Лечение предопухолевых изменений шейки матки, обусловленных вирусом папилломы человека. Материалы международной конференции "Актуальные вопросы лазерной медицины и операционной эндоскопии". 1994. М.- Видное.- С.180.

29. Долгих В.Т. Основы иммунопатологии.- М.: Медицинская книга, Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2000.- 204 с.

30. Заплавнова Л.Д. с соавт. Лечение предопухолевых заболеваний шейки матки излучением CO_2 - лазера непрерывного действия. Методические рекомендации. М., 1986.- 9 с.

31. Заплавнова Л.Д., Брюзгин В.В., Танкович Н.И. Использование лазеров в лечении заболеваний шейки матки и вульвы // Вопр. Онкологии.- 1990.- № 12.- С.1497-1499.

32. Зимина И.В., Лопухин Ю.М. Кожа как иммунный орган: клеточные элементы и цитокины// Иммунорлогия.- 1993.- № 9.- С. 8-12.

33. Зуев В.М. Лечение доброкачественных заболеваний шейки матки, влагалища и вульвы с помощью С02-лазера // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - М. 1998.- 22 с.

34. Иванова И.М. Изучение связи генитальной инфекции с вирусами простого герпеса и папилломы человека с предопухолевами и опухолевыми процессами шейки матки. Автореф. дисс… канд мед. наук. Киев.- 1992.- 18 с.

35. Исакова Л.М., Иванова И.П., Тетенева Е.А. Скрининговая система для формирования групп риска по выявлению вируса простого герпеса (ВПГ), как кофактора канцерогенеза в шейке матки // Тезисы докладов Всесоюзного симпозиума "Системный патогенетический подход к профилактике, ранней диагностике и лечению гормонозависимых опухолей у женщин". - Л., 1988.- С. 31.

36. Йегер Л. (ред). Клиническая иммунология и аллергология: Пер. с нем..- М.: Медицина. 1990.- Т.1.– С.528.

37. Кашкин К.П. Цитокины: основные свойства и иммунобиологическая активность. Клинич и лабораторная диагностика.- 1998.- № 11.- С. 21-32.

38. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы.- СПб 1992.- 265 с.

39. Кетлинский С.А. Перспективы клинического применения рекомбинантных цитокинов// Вестник РАМН. - 1993.- № 2.- С. .- С.11-18.

40. Кетлинский С.А., Калинина Н.М. Цитокины мононуклеарных фагоцитов в регуляции реакции воспаления и иммунитета// Иммунология.- 1995.- № 3.- С.730-743.

41. Кетлинский С.А, Калинина Н.М. Иммунология для врача. СПб: ТОО Издательство Гиппократ. (Научно-медицинская литература). 1998.-156 с.

42. Киселев Ф.В. Вирусы папиллом человека как этиологический фактор рака шейки матки: значение для практики здравоохранения// Вопросы вирусологии,- 1997.- № 6.- С.248-251.

43. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Соколова Е.В. Цитокины в регуляции противоопухолевой активности макрофагов, экспериментальное

обоснование адаптивной макрофаготерапии при злокачественном росте// Иммунология.- 1995.- № 3.- С.52-54.

44. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В. Природная композиция цитокинов (Суперлимф) в топической иммунокоррекции. // Аллергология, астма и клиническая иммунология. 2000 №7 с. 25-27

45. Ковальчук Л.В., Хорева М.В., Ганковская Л.В., Соколова Е.В. Фактор, ингибирующий миграцию макрофагов: цитокин, гормон, иммуномодулятор. // Иммунология 2000 №4 с. 4-8

46. Козаченко В.П. Эпителиальные дисплазии и преинвазивный рак шейки матки: биологические особенности и принципы ведения. // Тезисы докладов Всесоюзного симпозиума "Ранняя диагностика, лечение предопухолевых и опухолевых заболеваний шейки матки и диспансеризация женского населения". Л., 1985.- С.38.

47. Козаченко В.П., Краснопольский В.И., Козаченко М.А. и др. Папилломавирусная инфекция и патология шейки матки// Вестн. росс. ассоц. акушеров-гинекол.- 1996.- № 4.- С.29-31.

48. Коротких И.Н. Морфологическая характеристика фона предшествующего раку цервикального канала // Советская медицина.- 1985.- № 12.- С.102 -103.

49. Костава М.Н. Эффективность лечения фоновых заболеваний шейки матки у молодых нерожавших женщин солкогином и низкоинтенсивным лазером // Автореф. дис… канд. мед. наук. - М., 1994.

50. Краснопольский В.И., Радзинский В.Е., Буянова С.Н., Манухин И.Б., Кондриков Н.И. Патология влагалища и шейки матки. М.Медицина. 1997.- 271 с.

51. Кузнецова Н.А. Оптимизация методов лечения дисплазии шейки матки / Дисс… канд. мед. наук, Уфа. 2000. 24 с.

52. Кулаков В.И. Оперативная гинекология // Руководство для врачей.- Н. Новгород, 1997.- 465 с.

53. Лаасри М., Гулько Л.Б., Вейко В.П., Киселев Ф.Л. Клонирование трансформирующих генов вируса папиллом человека типа 18// Вопр. вирусологии.- 1998.- Т.43.- № 6.- С.261-265.

54. Манухин И.Б., Минкина Г.Н., Сапрыкина О.А., Багирова М.Ш.// Актуальные вопросы клинической медицины. М. 1993.- С.42-47.

55. Манухин И.Б., Минкина Г.Н. Иммунные и микробиологические аспекты заболеваний шейки матки // Вестник Росс. ассоц. акуш. гинек.- 1994.- №1.- С.38-42.

56. Манухин И.Б., Франк Г.А., Минкина Г.Н. и др. Определение пролиферативной активности эпителия шейки матки при папилломавирусной инфекции// Вестн. Рос. АМН.- 1997.- № 2.- С.20-24.

57. Манухин И.Б., Сакун Н.Ю., Захарова Т.П., Ганковская Л.В. Исследования терапевтической ативности эндогенных цитокинов (препарат Суперлимф) в лечении атипичных форм генитального герпеса. Пленум Российской ассоциации акушеров-гинекологов "Инфекции в акушерстве, гинекологии и перинатологии", Саратов, 23-24 июня 1999 г. V Поволжская научно-практическая конференция "Современные методы диагностики и лечения в акушерстве и гинекологии". Сб. науч. Тр. Саратов. 1999. С. 108-110.

58. Манухин И.Б., Петрович Ю.А., Минкина Г.Н., Назаренко З.Н. Значение Гамма-Глутамилтранспептидазы в диагностике папилломавирусной инфекции нижнего отдела генитального тракта. Пленум Российской ассоциации акушеров-гинекологов "Инфекции в акушерстве, гинекологии и перинатологии", Саратов, 23-24 июня 1999 г. V Поволжская научно-практическая конференция "Современные методы диагностики и лечения в акушерстве и гинекологии". Сб. науч. Тр. Саратов. 1999. С. 110-111.

59. Медведева В.И., Долгушина В.Ф. Местный противоинфекционный иммунитет половой системы женщин // Акуш. и гинекол.- 1993.- № 4.- С. 7-8.

60. Мелехова Н.Ю. Лазерная вапоризация и эндогенные цитотоксины в комплексном лечении поражений шейки матки вирусом папилломы человека. Автореф. дисс… канд. мед. наук. Смоленск. 1997.- 20 с.

61. Миляновский А.И. Лазерная терапия дисплазий и преинвазивного рака шейки матки // Тезисы докладов Всесоюзного симпозиума "Ранняя диагностика, лечение предопухолевых и опухолевых заболеваний шейки матки и диспансеризация женского населения".- Л., 1985.- С.22.

62. Минкина Г.Н., Манухин И.Б., Франк Г.А. Предрак шейки матки. М. Аэрограф-медиа. 2001. 118 с.

63. Нестерова И. В. Экспрессия онкогенов в опухолях шейки матки, содержащих и не содержащих геном вируса папилломы человека / Автореф. дисс... канд. биол. наук, М. 1995. 24 с.

64. Новик В.И. Актуальные вопросы ранней диагностики рака шейки матки // Тезисы докладов Всесоюзного симпозиума "Ранняя диагностика и лечение предопухолевых и опухолевых заболеваний шейки матки ". - Л., 1985. С.11-12.

65. Новикова Е.Г. Органосохраняющее лечение больных начальными формами рака шейки матки: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - М., 1989.- с. 152.

66. Новикова Е.Г. Щадящее лечение больных начальными формами рака шейки матки // Тезисы докладов Y Республиканского симпозиума "Карцинома матки". - Тбилиси, 1990.- С.21.

67. Новикова Е.Г. Эволюция методов лечения больных начальными формами рака шейки матки // Вопр. онкол. - 1991.- № 2. - С.37.

68. Новикова Е.Г., Чиссов В.И., Прозоров А.С. Причины врачебных ошибок в диагностике рака шейки матки// Здравоохранение Российской Фед. 1992.- № 3.- С.16-18.

69. Новикова Е.Г., Чулкова О.В. Роль гистероскопии в диагностике и мониторинге заболеваний раком эндометрия. Эндоскопия в диагностике и лечении патологии матки. Международный конгресс с курсом эндоскопии. М. 1997.- Ч.2.- С.114-115.

70. Ожигонова Э.О. Криотерапия предопухолевых заболеваний шейки матки. // Акуш. и гинекология.- 1979.- № 6.- С. 1-4.

71. Пальцев М.А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия. М.1995.- С. 43-77.

72. Петрова А.С., Агамова К.А., Ермолаева А.Г. Роль и место цитологической диагностики в клинической практике // Клин. лаборат. диагностика.-1996.- № 4.- С.4-7.

73. Пинегин Б.В., Минкина Г.Н., Агикова Л.А. и др. Использование нового иммуномодулятора ГМДП при лечении больных папилломавирусной инфекцией шейки матки // Иммунология.- 1997.- № 1.- С.49-51.

74. Подистов Ю.И. Роль вируса папилломы в развитии предрака и рака шейки матки. Клиническая лабораторная диагностика.- 2003.- № 5.- С.44-50.

75. Потапнев М.П. Цитокиновая сеть нейтрофилов при воспалении// Иммунология.- 1995.- № 4.- С.23-25.

76. Прилепская В.Н., Роговская С.И.Межеветинова Е.А. Кольпоскопия: Практическое руководство.- М. Гоэтар Медицина. 1997.- 108 с.

77. Прилепская В.Н., Роговская С.И., Костава М.Н. Заболевания шейки матки: (Клинические лекции).- М.,1997.- 90.- с. 49.

78. Рожкова Л.Н., Моисеева О.С., Мартино Е.А. Лазерное излучение в лечении гинекологических больных в условиях женской консультации. Материалы международной конференции "Актуальные вопросы лазерной медицины и операционной эндоскопии". 1994. М.- Видное.- С.213.

79. Роговская С.И., Логинова Р.С., Файзуллин Л.З. и др. Препараты интерферона и интерференогены в лечении заболеваний половых органов, вызванных папилломавирусной инфекцией// ЗПГП.- 1998.- № 5.- С. 27-30.

80. Роговская С.И., Сухих Г.Т., Жданов А.В., Колобова Е.А., Ежова Л.С. Апоптоз в ткани шейки матки женщин при патологиях, ассоциированных с вирусом папилломы человека// Бюл. эксперим. биологии и медицины.- 2001.- Т.131.- № 6.- С.683-689.

81. Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция нижних отделов гениталий: клиника, диагностика, лечение. Автореф. дисс…д-ра мед. наук.- Москва, 2003. – 15с.

82. Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки. – М. 2005. – 123с.

83. Рублева К.И., Мынбаева О.А., Сухих Т.Г. Влияние естественного комплекса цитокинов на кислородзависимую функцию фагоцитов крыс// 1994.- № 4.- С. 16-18.

84. Русакевич П.С. Фоновые и предраковые заболевания шейки матки: симптоматика, диагностика, лечение, профилактика - Минск: Высш. шк., 1998.- 368 с.

85. Сакун Н.Ю. Патогенетическое обоснование комплексного лечения рецидивирующих поражений шейки матки генитальным герпесом. Автореф. дисс… канд. мед. наук.-М.2001.-17с.

86. Сапрыкин В.Б. Оценка эффективности коррекции клеточного и гуморального иммунитета у больных с фоновыми и предраковыми заболеваниями шейки матки. Автореф. дисс… канд. мед. наук.- М.1994.- 23 с.

87. Сапрыкина О.А. Состояние системного и местного иммунитета и его коррекция у больных с фоновыми и предраковыми заболеваниями шейки матки в сочетании с папилломавирусной инфекцией. Автореф. дисс… канд. мед. наук. М. 1994., 22 с.

88. Сахарова О.В., Киселев Ф.Л., Нечушкин М.И. Роль вирусов папиллом человека в патогенезе рака шейки матки: Обзор. Вестн. Онкол. науч. центра им. Н.Н.Блохина.-1998.- № 4. С.20-29.

89. Скобелкин О.К. Лазеры в хирургии. М. 1989.- С. 74-87.

90. Сметник В.П., Тимулович Л.Г. Неоперативная гинекология: Рук-во для врачей. - СПб.: СОТИС, 1995. - Кн. 2. - 224 с.

91. Соколова В.Н., Заплавнова Л.Д. Действие лазерного луча на микрофлору влагалища при лечении патологии шейки матки // Мат. Междунар. симпозиума "Применение лазеров в хирургии и медицине". - М., 1989. - С. 394-396.

92. Сухих Г.Т., Матвеева Н.К., Аполихина И.А. и др. Показатели иммунитета у больных с папилломавирусной инфекцией гениталий// Акушерство и гинекология.- 2000.- № 2.- С. 35-38.

93. Тапильская Н.И. Роль цитокинов в патогенезе невынашивания беременности инфекционной этиологии. Автореф. дисс... канд. мед. наук. М. 1993.- 16 с.

94. Харлова О.Г. Клинико-иммунологические особенности локальных и распространенных форм папилломавирусной инфекции. Автореф. дисс... канд. мед. наук. Москва.1998.- 26 с.

95. Чебану Ф.А., Савинова В.Ф., Лукашева А.М. Клиническая оценка дисплазий и ранние формы рака шейки матки // Вопр. Онкологии, 1977.- Т.23.- №10.- С.100-102.

96. Шахматова М.П., Дмитриева Л.В., Герасимова А.Д., Кодрян А.А. Возможности применения CO_2 лазера в гинекологии// Акуш. гинекол.- 1989,- № 4.- С.43-45.

97. Щербицкая Л.Л., Тарасюк О.Г., Николайчук М.Н., и др. Метод лечения предрака и преинвазивного рака шейки матки сочетанной лазерной терапией // Тезисы докладов Всесоюзного симпозиума "Ранняя диагностика, лечение предопухолевых и опухолевых заболеваний шейки матки и диспансеризация женского населения".- Л., 1985.- С.26-27.

98. Яковлева И.А., Черный А.П. Гистогенез дисплазий, рака Ca in situ и инвазивного плоскоклеточного рака. Патогенез ранней стромальной инвазии // Тезисы докладов Всесоюзного симпозиума "Ранняя диагностика, лечение предопухолевых и опухолевых заболеваний шейки матки и диспансеризация женского населения".- Л., 1985.- С.29-30.

99. Agarwal C., Hembree J.R., Rorke R.A., Eckkert R.L. Transforming growth factor beta 1 regulation of metallproteinase production in cultured human cervical epithelial cells// Cancer Res.- 1994.- Vol. 54.- № 4.- P. 943-949.

100. Airaghi L. Lettino M., Manfredi M.g., et al. Endogenous cytokine antagonists during myocardial ischemia and thrombolytic therapy// Am Heart J.- 1995.- Vol 1340.- № 2.- P.204-211.

101. Alexander M., Salgaller M.L., Celis E. et al. Generation of tumorspecific cytolytic T lymphocytes from peripheral blood of cervical cancer patients by in vitro stimulation with a synthetic HPV type 16 E7 epitope.// Amer J Obst Gyn.- 1996.- Vol.175.- P.1586-1593.

102. Arends M.J., Donaldson Y.K., Duvall E., et al. Human papillomavirus type 18 associates with more advanced cervical neoplasia than human papillomavirus type 16// Hum Pathol.- 1993.- Vol.24.- № 4.- P.432-437.

103. Arof H.M. Cryosurgical treatment of cervical intraepithelial neoplasia// Am J Obst Gyn.- 1984.- Vol. 150.- № 7.- P.865-869.

104. Backe J., Roos T., Mulfinger L., Martius J. Prevalence of human papillomavirus DNA in cervical tissue. Retrospective analysis of 855 cervical biopsies // Arch. Gynecol Obstetr.- 1997.- Vol. 259.- № 2.- P. 69-77.

105. Becassy Z. Laser miniconisationprocedure // Inf J Gynecology.- Obstet.- 1996.- Vol. 55.- № 3.- P.237-246.

106. Bluthe R.M., Dantzer R., Kelley K.W. Effects of interleukin-1 receptor antagonist on the behavioral effects of lipopolysacharide in rat// Brain Res.- 1992.- Vol.573.- № 2.- P.318-320.

107. Boorstein S.M., Elner S.G., Meyer R.F., et al. Interleukin-10 inhibition of HLA-DR expression in human herpes stromal keratitis// Ophnhalmology.- 1994.- Vol.101.- № 9.- P.1529-1535.

108. Bos A.B., van Ballegooijen M., van Oortmarssen G.J., et al. Non-progression of cervical intraepithelial neoplasia estimated from population-screening data// Br J Cancer.- 1997.- Vol.75.- № 1.- P.124-130.

109. Bosch F.X., Manos M.M., Munoz N. et al. Human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study in cervical cancer (IBSCC) study group.// J National Cancer Institute.- 1995.- Vol.87.- P.796-802.

110. Bosch F.X., Manos M.M., Munoz N.,et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group// J National Cancer Inst.- 1995.- Vol.87.- № 11.- P.796-802.

111. Brewster W.R., Monk B.J., Burger R.A., et al. Does human papillomavirus have a role in cancers of the uterine corpus? // Gynecol Oncol.- 1999.- Vol.75.- № 1.- P.51-54.

112. Burghard E. Colposcopie. Stuttgart, N.Y., 1981.- 253 p.

113. Burk R.D. Human papillomavirus and the risk of cervical cancer// Hosp Pract (Off. Ed).- 1999.- Vol.34.- № 12.- P.103-111.

114. Byrnees D.M., Antoni M.H., Goodkin K. et al. Stressful events, pessimism, natural killers cells cytotoxicity, and cytotoxic/suppressor T cells in HIV+ black women at risk for cervical cancer.// Psychosom. Med.- 1998.- Vol.60.- № 6.- P.714-722.

115. Cartier R. // Practical Colposcopie. - Stuttgart; N.Y., 1984.- P.114-138.

116. Chang D.Y., Chen R.J., Lee S.C., Huang S.C. Prevalence of single and multiple infection with human papillomaviruses in various grades of cervical neoplasia// J Med Microbiol.- 1997.- Vol.46.- № 1.- P.54-60.

117. Chetty R., Bramdev A., Aquirre-Arteta A. et al. Relation between retinoblastoma and p53 proteins in HPV 16/18 positive and negative cancers of the uterine cervix.// J Clin Path.- 1997.- Vol.50.- P.413-416.

118. Chew G.K., Cruickshank M.E. Human papillomavirus as a form of risk assessment// Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.- 2001.- Vol.15.- № 5. P.759-768.

119. Clerici M., Merola M., Ferrario E., et al. Cytokine production patterns in cervical intraepithelial neoplasia: association with human papillomavirus infection// J National Cancer Inst.- 1997.- Vol.89.- № 3.- P.245-250.

120. Cooper D.M., Yu E.Z., Hennessey P., et al. Determination of endogenous cytokines in chronic wounds// Ann Surg.- 1994.- Vol. 219.- P. 688-691.

121. Cox J.T., Lorincz A.T., Schiffman M.H., et al. Human papillomavirus testing by hybrid capture appears to be useful in triaging women with a cytologic diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance// Am J Obstet Gynecol.- 1995.- Vol.172.- № 3.- P.946-354.

122. Cox J.T. Epidemiology of cervical intraepithelial neoplasia: the role of human papillomavirus// Baillieres Clin Obstet Gynaecol.- 1995.- Vol.9.- № 1.- P.1-37.

123. Cuzick J., Szarevsky A.,Terry G. HPV testing in primary cervical screening.// Lancet.- 1995.- Vol.345.- P.1533-1536.

124. De Jong A., van der Burg S.H., Kwappenberg K.M., Frequent detection of human papillomavirus 16 E2-specific T-helper immunity in healthy subjects// Cancer Res.- 2002.- Vol.62.- № 2.- P.472-479.

125. De Sanjose et al// in Munoz N., Bosch F.X., Scah K.V. (eds.): The Epidemiology of Human Papillomavirus and Cervical Cancer. - Lyon, IARC Scientific Publications. 1992.- P. 75-84.

126. Diakomanolis E., Elsheikh A., Voulgaris Z., et al. Cervical intraepithelial neoplasia in the young female. Diagnosis and anagement// Eur J Gynaecol Oncol.- 2001.- Vol.22.- № 3.- P.236-237.

127. Diaz A., Munoz E., Johnston R., et al. Regulation of human lung fibroblast alpha 1 procollagen gene expression by tumor necrosis factor alpha, interleukin-1 beta, and prostsglandin E2// J Biol Chem.- 1993.- Vol. 268.- № 14.- P. 10364-10371.

128. Dilner J. Seroepidemiology of HPV in high and low risk for anogenital cancers // Progr Abstr Int Congr. STD, 12th Meet ISSTDR 14th Reg Meet IUSTI.- Seville, Spain, 1997.- P.69.

129. Duggan M.A., Inoue M., McGregor S.E., et al. A paird comparison of dot blot hybridization and PCR amplification for HPV testing of cervical scrapes interpreted as CIN 1// Eur J Ginecol Oncol.- 1994.- Vol 15.- № 3.- P. 178-187.

130. Duggan M.A., McGregor S.E., Stuart G.C., et al. The natural history of CIN I lesions// Eur J Gynaecol Oncol.- 1998.- Vol.19.- № 4.- P.338-344.

131. Finkelman F.D., Madden K.B., Morris S.C., et al. Anti-cytokine antibodies as carrier proteins. Prolongation of in vivo effects of exogenous cytokines by injection of cytokine-anti-cytokine antibodidy complexes// J Immunol.- 1993.- Vol.151.- № 3.- P. 1235-1244.

132. Fleming T.E., Mirando W.S., Soohoo L.F. et al. An inflamatori eruption assotiated with recombinant human IL-6 // Br J Dermatol.- 1994.- Vol.130.- № 4.- P. 5234-536.

133. Franco E.L. Duarte-Franco E., Ferenczy A. Cervical cancer epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection // Can Med Assoc J.- 2001.- Vol.164. - № 7.- P. 1017-1025.

134. Frankowski A., Wilktorowicz K., Kedria W. et al. Lymphocyte subpopulations in the blood of women with HPV 16 positive and negative cervical cancer // Eur J Gynaecol Oncol.- 1997.- Vol.18.- №. 5.- P. 394-396.

135. Galloway D.A. Is vaccination against human papillomavirus a possibility? // Lancet.- 1998.- Vol.351.- Suppl.3.- P.22-24.

136. Giandomenico V, Vaccari G, Fiorucci G, et al. Apoptosis and growth inhibition of squamous carcinoma cells treated with interferon-alpha, IFN-beta and retinoic acid are associated with induction of the cyclin-dependent kinase inhibitor p21// Eur Cytokine Netw.- 1998.- Vol.9.- № 4.- P.619-631.

137. Giannoudis A., Herrington C.S. Human papillomavirus variants and squamous neoplasia of the cervix// J Pathol.- 2001.- Vol.193.- № 3.- P.295-302.

138. Gjooen K., Olsen A. O., Magnus P. et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical scarpes, as analyzed by PCR, in a population-based sample of women with and without cervical dysplasia // APMIS.- 1996.- Vol.104.- № 1.- P.68-74.

139. Heinzl S. Die Anwengung des Laseres bei Ercrankungen des untered Genita Itrokies // Gynacol Prax.- 1986.- Bd 10.- S.523-534.

140. Herrington C.S., Evans M.F., Hallam N.F., et al. Human papillomavirus status in the prediction of high-grade cervical intraepithelial neoplasia in patients with persistent low-grade cervical cytological abnormalities// Br J Cancer.- 1995 Vol.71.- № 1.- P.206-209.

141. Herrington C.S., Evans M.F., Gray W., McGee J.O. Morphological correlation of human papillomavirus infection of matched cervical smears and biopsies from patients with persistent mild cervical cytological abnormalities// Hum Pathol.- 1995.- Vol.26.- № 9.- P.951-955.

142. Higgins D.L., Galavotti C., O'Reilly K.R., et al. Evidence for the effects of HIV antibody counseling and testing on risk Behaviors// JAMA.- 1991.- Vol.266.- № 17.- P. 2419-2429.

143. Higgins G.D., Davy M., Roder D., et al. Increased age and mortality associated with cervical carcinomas negative for human papillomavirus RNA// Lancet.- 1991.- Vol.338.- № 8772.- P.910-913.

144. Ho G.Y., Bierman R., Beardsley L.,et al. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women// N Engl J Med.- 1998.- Vol.338.- № 7.- P.423-428.

145. Ho A.D., Maruyama M., Maghazachi A., et al. Soluble CD4, soluble CD8, soluble CD25, lymphopoietic recovery, and endogenous cytokines after high-dose chemotherapy and blud stem cell transplantaition// Blood.- 1994.- Vol.84.- № 10.- P. 3550-3557.

146. Ikenberg H.,Sauerbrei W., Schottmuller U., et al. Human papillomavirus DNA in cervical carcinoma--correlation with clinical data and influence on prognosis// Int J Cancer.- 1994.- Vol.59.- № 3.- P.322-326.

147. International Agency for Research on Cancer (IARC) // Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans.- Lyon, 1995.- Vol. 64.

148. Jimenez J.J., Huang H.S., Hindahl M., et al. Protection from chemotherapy- induced neitropenia by Imuvert // Am J Med Sc.- 1992.- Vol. 3003.- № 2.- P. 83-85.

149. Jordan J. International standards for training in colposcopy// Clin Obstet Gynecol.- 1995.- Vol.38.- № 3.- P.662-665.

150. Kalantari M, Karlsen F, Johansson B, et al. Human papillomavirus findings in relation to cervical intraepithelial neoplasia grade: a study on 476 Stockholm women, using PCR for detection and typing of HPV// Hum Pathol.- 1997.- Vol.28.- № 8.- P.899-904.

151. Kalechman Y., Zuloff A., Albeck M., et al. Role of endogenous cytokines secretion in radoprotection conferred by the immunomodulator ammonium trichloro (dioxyethylene-0-0') teurate// Blood.- 1995.- Vol. 85.- № 6.- P. 1555-1561.

152. Kamikubo Y. Cardiac dysfunction and and endogenouse cytokines in global ischemia and reperfusion injury // Hokkaido Igaku Zasshi.- 1993.- Vol. 68.- № 6.- P.813-836.

153. Kataja V., Syrjanen K., Mantyjarvi R.,Prospective follow-up of cervical HPV infections: life table analysis of histopathological, cytological and colposcopic data// Eur J Epidemiol.- 1989.- Vol.5.- № 1.- P.1-7.

154. Kaufman R.H., Adam E., Icenogle J. et al. Relevance of HPV screening in managing of cervical intraepithelial neoplasia.// Amer J Obst and Gyn.-1997.- Vol.176.- P.87-92.

155. Keay S, Teng N. Topical Interferon for treating condlloma acuminata in women// J Infect dis.–1988.- Vol.158.- № 5.- P.934-939.

156. Kedsia H. Retrospectyva hystologiezna analiza wewnatrznabtoncovey каяeino generi s zyiki macicy a zakaztnie lundzkim wirusem papilloma // Ginecol Pol.- 1987..- Vol.58.- № 2. - P.87-93.

157. Kent S., Kelley K.W., Dantzer R., Effects of lypopolysacharide on food-motivated behavior in the rat are not blocked by an interleukin-1 receptor antagonist// Neuriosci Lett.- 1992.- Vol.- 145.- № 1.- P. 83-86.

158. Kim K.Y., Blatt L., Taylor M.W. The effects of interferon on the expression of human papillomavirus oncogenes// J Gen Virol.- 2000.- Vol.81.- (Pt 3).- P.695-700.

159. Kinter A.L., Poli G., Fox L., et al. HIV replication in IL-2- stimulated peripheral blood mononuclear cells is driven in an autocrine/paracrine manner by endogenous cytokines// J Immunol.- 1995.- Vol.154.- № 5.- P.2448-2459.

160. Klemm P., Warner T.D., Hohlfeld T., et al. Endothelin 1 madiates ex vivo coronary vasoconstriction caused by exogenous cytokines// Proc Natl Acad Sci USA.- 1995.- Vol.92.- № 7.- P.2691-2695.

161. Koss L.G., Durfee G.R. Unusual patterns of squamous epithelium of the uterine cervix: cytologic and pathologic study of koilocytotic atypia// Ann N Y Acad Sci.- 1956.- Vol. 63.- № 6.- P.1245-1261.

162. Kramer B.K., Nishida M., Kelley R.A., Smith T.W. Endothelias Myocardial actions of new class of cytokines // Circulation.- 1992.- Vol. 85.- № 1.- P. 350-356.

163. Kucera E., Sliutz G., Czerwenka K., et al. Is high-risk human papillomavirus infection associated with cervical intraepithelial neoplasia eliminated after conization by large-loop excision of the transformation zone? Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.- 2001.- Vol.100.- № 1.- P.72-76.

164. Kyo S., Inoue M., Hayasaka N., et al. Regulation of early gene expression of human papillomavirus type 16 by inflammatory cytokines// Virology.- 1994.- Vol. 200.- № 1.- P.130-139.

165. Levine A.J., Harper J., Hilborne L., et A.L. HPV DNA and the risk of squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix in young women// Am J Clin Pathol.- 1993.- Vol.100.- № 1.- C.6-11.

166. Ley C., Bauer H.M., Reingold A., et al. Determinants of genital human papillomavirus infection in young women// J Natl Cancer Inst.- 1991.- Vol.83.- № 14.- P.997-1003.

167. Lorincz A.T., Richart R.M. Human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cytology in cervical screening programs// Arch Pathol Lab Med.- 2003.- Vol.127.- № 8.- P.959-968.

168. Lungu O., Sun X.W., Wright T.C., et al. A polymerase chain reaction-enzyme-linked immunosorbent assay method for detecting human papillomavirus in cervical carcinomas and high-grade cervical cancer precursors// Obstet Gynecol.- 1995.- Vol.85.- № 3.- P.337-342.

169. Matsumoto K., Yoshikawa H., Yasugi T., et al. IgG antibodies to human papillomavirus 16, 52, 58, and 6 L1 capsids: case-control study of cervical intraepithelial neoplasia in Japan// J Med Virol.- 2003.- Vol.69.- № 3.- P.441-446.

170. McCluggage W.G., Bharucha H., Caughley L.M., et al. Interobserver variation in the reporting of cervical colposcopic biopsy specimens: comparison of grading systems// J Clin Pathol.- 1996.- Vol.49.- № 10.- P.833-835.

171. Miller A.R., McBride W.H., Hunt K., Economou J.S. Cytokine-mediated gene therapy for cancer. Ann Surg Oncol.- 1994.- Vol. 1.- № 5. P. 436-450.

172. Minagawa T. The role of endogenous cytokines in pathophisiology in various human diseases// Hokkaido Igaku Zasshi.- 1992.- Vol. 67.- № 4.- P.446-455.

173. Miwa K., Asano M., Horai R., et al. Caspase 1-independent IL-1beta release and inflammation induced by the apoptosis inducer Fas ligand// Nat Med.- 1998.- Vol.4.- № 11.- P.1287-1292.

174. Moscicki A.B., Sciboski S., Broering J. et al. The natural history of human papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women // J Pediatr.- 1998.- Vol.132.- No. 2.- P. 277-284.

175. Mougin C., Dalstein V., Pretet J.L., et al. Epidemiology of cervical papillomavirus infections. Recent knowledge// Presse Med.- 2001.- Vol.30.-№ 20.- P.1017-1023.

176. Munoz N., Bosch.F.X. // Papillomavirus Reviews: Current Research on Papillomaviruses / Ed. C. Lacey.- Leeds, 1996. – P.227-237.

177. Nakagawa M., Stites D.P., Farhat S. et al. Cytotoxic T lymphocyte responses to E6 and E7 proteins of HPV type 16: relationship to cervical intraepithelial neoplasia // J Inf Dis.- 1997.- Vol.927.- P.927-931.

178. Nakane A., Numata A., Minagawa T. Endogenous tumor necrosis factor, interleukin-6, and gamma interferon levels during Listeria monocytogenes infection in mice// Infect Immun.- 1992.- Vol.60.- № 2.- P.523-528.

179. Nakane A. Significans of endogenous cytokines in host defense against Listeria monocitogenes infection//: Nippon Saikingaku Zsshi.- 1992.- Vol.47.- № 6.- P.747-746.

180. Nakane A., Okamoto M. Asano M., et al. An anti-CD3 monoclonal antibody protects mice against a lethal infection with Listeria monocytogenes through induction of endogenous cytokines// Infect Immun.- 1993.- Vol.61.- № 7.- P.2786-2792.

181. Opava T., Wozniak J., Pisarska-Krawcyk-M., et al. C02 laser in treatment of uterine cervix dysplasies in woman within fertility // Ginecol Pol.- 1994.- Vol. 65.- № 12.- P. 690-694.

182. Ottonello L., Tortolina G., Amelotti M., Dallegri F. Soluble Fas ligand is chemotactic for human neutrophilic polymorphonuclear leukocytes// J Immunol.- 1999.- Vol.162.- № 6.- P.3601-3606.

183. Perrons C.,Kleter B., Jelley R., et al. Detection and genotyping of human papillomavirus DNA by SPF10 and MY09/11 primers in cervical cells taken from women attending a colposcopy clinic// J Med Virol.- 2002.- Vol.67.- № 2.- P.246-252.

184. Ponten J, Adami HO, Bergstrom R, et al. Strategies for global control of cervical cancer// Int J Cancer.- 1995.- Vol.60.- № 1.- P.1-26.

185. Qu W., Jiang G., Cruz Y., et al. PCR detection of human papillomavirus: comparison between MY09/MY11 and GP5□ primer systems// J Clin Microbiol.- 1997.-Vol.35.- № 6.- P.1304-1310.

186. Richart R.M. A theory of cervical carcinogenesis// Obstet Gynecol Surv.- 1969.- Vol.24.- № 7.- Pt 2.- P.874-879.

187. Richart R.M., Cervical intraepithelial neoplasia// Pathol Annu.- 1973.- Vol.8.- P.301-28.

188. Richart R.M. A modified terminology for cervical intraepithelial neoplasia// Obstet Gynecol.- 1990.- Vol.75.- № 1.- P.131-133.

189. Richart R.M., Nuovo G.J. Human papillomavirus DNA in situ hybridization may be used for the quality control of genital tract biopsies// Obstet Gynecol.- 1990 .- Vol.75.- № 2.- P.223-226.

190. Riethmuller D, Seilles E. Immunity of the female genital tract mucosa and mechanisms of papillomavirus evasion// Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris).- 2000.- Vol.29.- № 8.- P.729-740.

191. Riou G., Favre M., Jeannel D., et al. Association between poor prognosis in early-stage invasive cervical carcinomas and non-detection of HPV DNA// Lancet.- 1990.- Vol.335.- № 8699.- 1171-1174.

192. Rorke E.A., Jacobberger J.W. Transforming growth factor-beta 1 (TGF beta 1) enhances apoptosis in human papillomavirus typ 16-immortalized human ectocervical epithelial cells// Exp Cell Res.- 1995.- Vol. 216.- № 1.- P.65-72.

193. Samoylova E.V., Shaichaiev G.O., Petrov S.V.,Kisseljova N.P. HPV infection in cervical-cancer cases in Russia// Int J Cancer.- 1995.- Vol.61.- № 3.- P. 337-341.

194. Sasaki N. The use of treating condiloma acuminata// Nippon Snaka Fujinka Gakkai Zasshi.- 1991.- Vol. 43.- № 2.- P. 179-185.

195. Sato S., Okagaki T., Clark B.A., Sensitivity of koilocytosis, immunocytochemistry, and electron microscopy as compared to DNA hybridization in detecting human papillomavirus in cervical and vaginal condyloma and intraepithelial neoplasia// Int J Gynecol Pathol.- 1986.- Vol.5.- № 4.- 297-307.

196. Sedlacek T.V. Advances in the diagnosis and treatment of human papillomavirus infections// Clin Obstet Gynecol.- 1999.- Vol.42.- № 2.- P.206-220.

197. Schiffman M.H., Bauer H.M., Hoover R.N., et al. Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia// J Natl Cancer Inst.- 1993.- Vol.85.- № 12.- P.958-964.

198. Schiller J.T., Okun M.M.. Papillomavirus vaccines: current status and future prospects// Adv Dermatol.- 1996.- Vol.11.- P. 355-380.

199. Schoell W.M., Janicek M.F., Mirhashemi R. Epidemiology and biology of cervical cancer// Semin Surg Oncol.- 1999.- Vol.16.- № 3.- P.203-211.

200. Scholz M., Varadi J., Tullian F., et al. The cervical in situ canser's proparation to the uterine neck-glands and the membrana Basalis // Pathol. Res and Pract.- 1987.-Vol.182.- № 4.- P. 554.

201. Sherman M.E., Schiffman M.H., Lorincz A.T. et al. Towards objective quality assurance in cervical cytopathology: correlation of cytopathologic diagnoses with detection of high risk HPV types // Am J Clin Pathol.- 1994.- Vol.199.- P. 182-187.

202. Shoji Y., Saegusa M., Takano Y., et al. Correlation of apoptosis with tumour cell differentiation, progression, and HPV infection in cervical carcinoma// J Clin Pathol.- 1996.- Vol.49.- № 2.- P.134-138.

203. Sullivan L.M. Potential interaction of interleukin-4 with endogenous cytokines in vivo// Pathobiology.- 1994.- Vol.62.- № 2.- P. 59-72.

204. Tanaka H., Karube A., Tanaka T., Nakagomi O. Much higher risk of premalignant and malignant cervical diseases in younger women positive for HPV16 than in older women positive for HPV16// Microbiol Immunol.- 2001.- Vol.45.- № 4.- P.323-326.

205. Tanaka N., Sato M., Lamphier M.S., Type I interferons are essential mediators of apoptotic death in virally infected cells// Genes Cells.- 1998.- Vol.3.- № 1.- P.29-37.

206. ter Harmsel B., Smedts F., Kuijpers J., et al. Relationship between human papillomavirus type 16 in the cervix and intraepithelial neoplasia// Obstet Gynecol.- 1999.- Vol.93.- № 1.- P.46-50.

207. Tindle R.W., Frazer I.H. Immune response to human papillomaviruses and the prospects for human papillomavirus-specific immunization// Curr Top Microbiol Immunol.- 1994.- Vol.186.- P.217-253.

208. Tsao Y.P., Huang S.J., Chang J.L., et al. Adenovirus-mediated p21((WAF1/SDII/CIP1)) gene transfer induces apoptosis of human cervical cancer cell lines// J Virol.- 1999.- Vol.73.- № 6.- P.4983-4990.

209. Tyring S.K. Human papillomavirus infections: epidemiology, pathogenesis, and host immune response// J Am Acad Dermatol.- 2000.- Vol.43.- № 1.-Pt 2.- S18-26.

210. Van den Brule A., Snijders P., Meyer C/, et al. // Papillomavirus reprt.- 1993.- Vol.- 4.- № 4.- P. 95-99.

211. Velasco J, Fernandez Blanco C, Lopez Carrascosa I Disappearance of DNA HPV in sequential specimens of occult cervical infection in a normal population// Eur J Gynaecol Oncol.- 1996.- Vol.17.- № 5.- P.372-377.

212. von Knebel Doeberitz M. New molecular tools for efficient screening of cervical cancer// Dis Markers.- 2001.- Vol.17.- № 3.- P.123-128.

213. WHO IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Riscs to Humans// Int Agency Res Cancer.- 1995.- Vol. 64.- P. 378.

214. Wilbur D.C., Prey M.U., Miller W.M. et al. The AutoPap system for screening in cendcal cytology //Acta Cytologica.- 1998.- Vol.42.- P.214-220.

215. Wilkins B.S., Harris S., Waseem N.H., et al. A study of cell proliferation in formalin-fixed, wax-embedded bone marrow trephine biopsies using the monoclonal antibody PC10, reactive with proliferating cell nuclear antigen (PCNA)// J Pathol.- 1992.- Vol.166.- № 1.- P.45-52.

216. Woodworth C.D., McMullin E., Iglessias M., Plowman C.D. Interleukin 1 alpha and tumor necrosis factor alpha stimulate autocrine amphiregulin expression and proliferation of human papillomavirus – immortalized and carcinoma-derived cervical epithelial cells// Proc Natl Acad Sci USA.- 1995.- Vol.92.- № 7.- P.2840-2844.

217. Yun K., Sherwood M.J. In situ hybridization at light and electron microscopic levels: identification of human papillomavirus nucleic acids// Pathology.- 1992.- Vol.24.- № 2.- P.91-98.

218. zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis// J Natl Cancer Inst.- 2000.- Vol. 92.- № 9.- P.690-698.

219. zur Hausen H. Human papillomaviruses in the pathogenesis of anogenital cancer// Virology.- 1991.- Vol.184.- № 1.- P.9-13.