

S. L. Sergejeva, A. I. Konop'ľa, A. L. Loktionov, N. A. Bystrova, A. A. Konop'ľa

## VIRAL INFECTIONS

### **Používanie polyoxidonia v komplexnej liečbe pacientov s papilomo-vírusovou infekciou**

Kurska štátna univerzita medicíny

Najčastejšie nepriaznivý priebeh a výsledok papilomo-vírusovej infekcie (PVI) maternicového krčku je možné pozorovať u žien v spojení s vírusovo-bakteriálnou a vírusovo-plesňovou infekciou spodnej časti genitálneho traktu (6, 8). Ako ukázali mnohé klinické a bakteriologické prieskumy, medzi ženami s komplikáciami PVI maternicového krčku, v spojení s kandidózou, sa najčastejšie registruje vleklý priebeh ochorenia s veľkým počtom recidív a premenou na neuropláziu (2, 5).

V súčasnosti existuje jednotný názor na rozvoj PVI maternicového krčku a jej komplikácií na pozadí zníženej imunity(10,11).

V spojitosti s horeuvedeným, cieľom našich výskumov bolo skúmanie klinicko-imunologickej efektívnosti používania preparátu Polyoxidonia v komplexnom liečení pacientov s PVI v spojení s kandidózou.

#### **Materiály a metódy výskumu**

Klinické pozorovania boli uskutočnené v Kurskom stredisku plánovania rodiny na 25 pacientkách s PVI v spojení s kandidózou vo veku od 18 do 35 rokov, pričom priemerný vek predstavoval 25 rokov. Všetky pacientky boli rozdelené do dvoch skupín:

1. Skupina - (12 pacientiek) dostávala tradičné liečenie, včítane preparátov - induktorov interferónu (12,5 % roztok cykloferónu po 2 ml i.m. každý druhý deň; kúra predstavovala 10 injekcií) a rektálne čípky Viferon (po 1 čípke s 12-hodinovým intervalom v priebehu 14 dní, protiplesňový preparát (flukonazol v dávke 150 mg perorálne jednorázovo) a vitamínovú terapiu (aevit po 1 kapsule 2-krát denne v priebehu 20 dní). Po tejto liečbe sa vykonala kriodeštrukcia maternicového krčku pomocou kriochirurgického systému TOITI pri teplote - 80°C, tlaku 54 kg/cm<sup>2</sup> a čase kriodeštrukcie - 3 minúty.
2. skupina - (13 pacientiek) okrem tradičnej terapie dostávala polyoxidonium v čípkach 6 mg, podľa schémy: prvé 3 dni každý deň, potom každý druhý deň, kúru = 10 čípkov). Kontrolná skupina predstavovala 15 zdravých donorov - dobrovoľníkov rovnakého veku.

Pri zohľadnení faktu, že PVI prebieha veľmi často bez symptómov, klinická diagnóza sa určovala na základe údajov kolposkopického obrazu, metódy polymeráznej reťazovej reakcie (PCR), histologického a cytologického vyšetrenia. Veľký význam sa

takisto prikladal anamnéznym údajom: veku začiatku pohlavného života, počtu pohlavných partnerov, rodinného stavu, charakteru menštruačnej funkcie, používaným metódam kontracepcie.

Skúmalo sa krvné sérum, lymfocyty periférnej krvi a vaginálne-cervikálne výplachy, ktoré sme získavali pri prvotnom vyšetrení a po 3 mesiacoch po liečení.

Separácia lymfocytov z krvi sa vykonávala na gradiente hustoty fikoll-verografínu, ich fenotyp sa určoval metódou imunitno-enzymovej analýzy pomocou monoklonálnych protilátok (Sorbent, s.r.o., Moskva) ku štruktúram CD3 (spoločné T - lymfocyty), CD22 (B - lymfocyty), CD4 (T - helpre), CD8 (cytotoxické bunky) a CD16 (NK- bunky), CD25 (skorý marker aktivácie), CD95 (induktorový faktor apoptózy), HLA - DR (neskorý marker aktivácie). Evidencia výsledkov sa uskutočňovala na luminiscentnom mikroskope LUMAM (firmy LOMO, Sankt-Peterburg).

Fagocytárna aktivita neutrofilov periférnej krvi sa hodnotila podľa percenta fagocytózy (PF), fagocytárneho čísla (FČ) a indexu aktivity fagocytózy (IAF) (4). Mechanizmy aktivity neutrofilov, závislé na kyslíku sa stanovovali podľa reakcie redukcie nitromodrého tetrazolu (NST- spontánny, NST - stimulovaný). Okrem toho sa ráatal index stimulácie neutrofilov (ISN) (9).

Obsah IgM, IgG, IgA, C3, C4- komponentov komplementu v krvi a vo vaginálno-cervikálnom výplachu sa stanovoval metódou radiálnej imunodifúzie, pri použití diagnostického kompletu NPC Medicínska imunológia, s.r.o. (Moskva).

Koncentrácia TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-8 a INF- $\gamma$  v krvnom sére a sekréte predstojnej žľazy sa určovala pomocou kompletu reagentov spoločnosti ProCon (Proteinový kontur, s.r.o., Sankt-Petergubrg) metódou imunitno-enzymovej analýzy.

Výraznosť POL sa hodnotila podľa obsahu v krvi a výplachoch acylhydroperoxidov (HP) (1) a malonového dialdehydu (MDA) (7). Okrem toho sa stanovovala aktivita katalázy (3).

Matematická analýza získaných údajov sa vykonávala pomocou programu Microsoft Excel-XP na Pentium-4. Úroveň spoľahlivosti bola 95 %.

## **Výsledky a diskusia.**

Pri kolposkopickom výskume u žien, trpiacich na PVI v spojení s kandidózou, boli zistené príznaky atypickej zóny transformácie v 75 % prípadov, jódonegatívne úseky v 64 %, a v 75 % bol octovo-biely epitel, približne u rovnakého počtu žien (37,5 % a 34,6 %) bola zistená mozaika a punktácia. Pri kolposkopickom výskume boli zistené príznaky sprevádzajúce PVI, z ktorých základné boli atypická zóna transformácie, mozaika, punktácia, „nemý“ jódonegatívny epitel.

Klinické prejavy u chorých PVI v spojení s kandidózou boli nasledovné: kondilómy v oblasti vonkajších pohlavných orgánov boli zistené u 5 % žien, exofitové formy kondilóm na maternicovom krčku a stenách pošvy u 77 %.

Základný cytologický príznak PVI - koilocytóza - bola zistená u 58,6 % prípadov, diskeratóza - u 34,6 %. Okrem toho hyperkreatóza bola zistená u 46,1 % pacientiek, proliferatívna aktivita epitelu - u 26%.

Cervikálna intraepiteliálna neoplazia I. stupňa (sin I) bola zistená u 18 % žien, sin II - u 5 %, a sin III - u 1,9 %. Histologická displázia ľahkého stupňa bola zistená u 6,7 % prípadov, mierna displázia - u 2,9 %.

Po vykonanom liečení celkový klinický efekt preparátu Polyoxidonia sa hodnotil následovne: značné klinické zlepšenie bolo zistené u 70 % pacientiek, zlepšený stav bol pozorovaný v 20 % prípadov, v 10 % viditeľný klinický efekt nebol pozorovaný. V porovnaní s tým, pri tradičnom liečení bolo značné klinické zlepšenie len u 55 %, zlepšenie symptomaticky - u 13,5 %, viditeľný efekt nebol zistený u 31,5 % pacientiek.

Po 3 mesiacoch po liečení pri kolposkopickom vyšetrení v skupine pacientiek, ktoré dostali Polyoxidonium jódonegatívne úseky boli zistené u dvoch žien, po tradičnom liečení - troch žien, a v jednom prípade bola atypická zóna transformácie. Pri cytologickom vyšetrení na pozadí použitia Polyoxidónia u troch žien bola zistená proliferácia cylindrického epitelu, u jednej ženy - leukoplakia. Po tradičnom liečení u dvoch pacientiek bola zistená koilocytóza, u dvoch - proliferácia cylindrického epitelu a u jednej ženy - leukoplakia. v každej skupine boli 3 pacientky, u ktorých PCR na VPC boli kladné.

Klinický efekt Polyoxidonia sa zhodoval so zmenami ukazovateľov imunitného a oxidantného stavu.

U pacientiek s PVI v spojení s kandidózou pri prvotnom vyšetrení v krvi, v porovnaní so zdravými donormi, sa pozorovalo signifikantné zvýšenie obsahu CD4, CD8, CD95 buniek, pri znížení CD3, CD25 a CD22 - lymfocytov, zníženie funkčnej aktivity neutrofilov (zníženie FP, FČ, IAF, spontánneho a stimulovaného zimozanom NST- testu, FRN).

V krvnom sére bolo zistené zvýšenie obsahu IL-4 a IL-8, INF- $\alpha$ , GP a MDA, pri zníženom obsahu C3, C4 - komponentov komplementu, imunoglobulínov (IgM, IgG, IgA) a aktivity katalázy.

Vo vaginálno-cervikálnom výplachu sa signifikatne znižovali FČ, IAF, NST-spontánny a NST- stimulovaný test, zvyšovala sa koncentrácia TNF-  $\alpha$ , IL-4, IL-8, zosilovali sa procesy POL (zvýšenie HP a MDA), zvyšoval sa obsah slgA, ale znižovala sa koncentrácia IgG, IgA a aktivita katalázy (tabuľka 1).

Vykonaná tradičná terapia zvyšuje, ale nie na úroveň zdravých donorov, obsah CD3 lymfocytov v krvi. Tradičná terapia nevyplýva na ukazovatele neutrofilného článku protiinfekčnej obrany s výnimkou FP.

V krvnom sére, zo všetkých preštudovaných ukazovateľov, tradičná terapia normalizuje obsah IgM, IgA a C3, C4 - komponentov komplementu, ostatné ukazovatele sa nelíšia od ukazovateľov chorých na PVI.

Na lokálnej úrovni po tradičnom liečení je signifikantne vyšší FP, test NST-spontánny a stimulovaný zimozanom, znižujú sa hladiny TNF- $\alpha$  a IL-8, nemenia sa koncentrácie imunoglobulínov a ukazovatele oxidantného stavu (tabuľka 2).

Teda na pozadí tradičnej terapie prebieha normalizácia iba niektorých preštudovaných ukazovateľov, čo vcelku svedčí o neprítomnosti plnohodnotného korigujúceho efektu zo strany tradičného liečenia, čo vyžaduje povinné používanie imunokorektorov.

Po zapojení Polyoxidonia v čípkach do tradičného liečenia chorých na PVI v spojení s kandidózou bolo zistené, že v krvi prebieha normalizácia CD4, CD8 a CD95 buniek, prakticky sa zvyšujú na úroveň zdravých donorov všetky preštudované ukazovatele funkčnej aktivity neutrofilov. V krvnom sére sa normalizuje obsah IgA, IL-4 a produktov POL. Vo vaginálno-cervikálnom výplachu ukazovatele funkčnej aktivity neutrofilov sa približujú k normálnej úrovni, značne sa zvyšuje koncentrácia IL-4,

približujú sa k hodnotám zdravých donorov koncentrácie IgA, hydroperoxidov, malonového dialdehydu a aktivita katalázy (tabuľka 2).

Na základe vykonaných sledovaní môžeme konštatovať tú skutočnosť, že Polyoxidonium pri liečení pacientiek s PVI v spojitosti s kandidózou preukázal kladný účinok na klinické a laboratórne ukazovatele.

Tab.1 Imunitný a oxidačný status pacientiek s PVI v spojení s kandidózou pred liečbou

Ukazovateľ	Zdraví donori	Chorí na PVI+kandidoza
Krv		
CD3, %	58,6 ± 5,9	32,1 ± 3,3*
CD4, %	49,8 ± 2,7	58,4 ± 3,7*
CD8, %	30,8 ± 2,7	42,4 ± 4,1*
CD16, %	12,8 ± 2,4	15,3 ± 1,1
CD25, %	10,6 ± 0,8	6,9 ± 0,4*
CD95, %	15,4 ± 1,4	21,7 ± 2,1*
CD22, %	27,7 ± 2,3	22,1 ± 2,0*
HLA-DR	29,1 ± 2,1	28,1 ± 4,1
PF,	65,8 ± 8,8	49,2 ± 5,7*
FČ, abs.	1,9 ± 0,04	1,2 ± 0,1*
IAF	1,3 ± 0,05	0,6 ± 0,02*
NST-sp., %	39,7 ± 4,9	33,58 ± 4,0
NST-st., %	73,7 ± 4,5	50,6 ± 4,7*
FRN	40,0 ± 5,9	16,8 ± 2,0*
ISN	2,2 ± 0,1	1,5 ± 0,12*
TNF-α pg/ml	26,8 ± 3,1	24,1 ± 3,9
IL-4 pg/ml	394 ± 38,2	532,1 ± 40,3*
IL-8 pg/ml	78,0 ± 5,8	406,9 ± 50,6*
INF-γ , pg/ml	203,1 ± 22,4	294,2 ± 18,1*
C3, mg/L	705,4 ± 31,1	571,7 ± 61,3*
C4, mg/L	62,3 ± 5,1	48,0 ± 7,8*
IgM ME/ml	343,3 ± 39,1	199,5 ± 28,4*
IgG ME/ml	205,0 ± 10,8	135,3 ± 17,7*
IgA ME/ml	93,0 ± 7,1	64,1 ± 6,0*
HP mg/dcl	0,073 ± 0,007	0,09 ± 0,009*
MDA mg/dcl	2,84 ± 0,21	4,1 ± 0,21*
Kat (doh.jed.)	10,6 ± 0,5	7,0 ± 0,4*
Vaginálno-cervikálny stier		

PF,	45,2 ± 5,6	46,5 ± 4,4
FČ, abs.	1,8 ± 0,14	1,0 ± 0,04*
IAF	0,81 ± 0,02	0,47 ± 0,04*
NST-sp., %	28,7 ± 2,7	11,7 ± 2,1*
NST-st., %	56,7 ± 4,8	35,8 ± 4,0*
FRN	28,0 ± 2,6	24,1 ± 2,1
ISN	2,0 ± 0,09	3,1 ± 0,14*
TNF-α pg/ml	23,1 ± 0,5	36,7 ± 4,2*
IL-4 pg/ml	226,5 ± 21,7	374,5 ± 24,5*
IL-8 pg/ml	165,5 ± 12,5	815,2 ± 81,4*
IgM ME/ml	61,8 ± 4,1	42,0 ± 6,4*
IgG ME/ml	70,0 ± 4,8	58,1 ± 5,1*
slgA ME/ml	573,3 ± 21,7	761,7 ± 27,1*
HP mg/dcl	0,063 ± 0,006	0,082 ± 0,012*
MDA mg/dcl	0,19 ± 0,02	0,39 ± 0,01*
Kat (doh.jed.)	0,71 ± 0,04	0,66 ± 0,05
Vaginálno-cervikalny stier		

Tab.2 Imunitný a oxidačný status pacientiek s PVI v spojení s kandidózou po pridani polyoxidonia ku komplexnej terapii

Ukazovateľ	1	2	3
	Pacientky s PVI+ kandidóza	Tradičná liečba	Tradičná liečba + polyoxidonium
Krv			
CD3, %	32,1 ± 3,3	42,3 ± 3,9*1	40,1 ± 3,2*1
CD4, %	58,4 ± 3,7	56,2 ± 3,0	48,5 ± 2,2*1,2
CD8, %	42,4 ± 4,1	39,1 ± 2,7	31,1 ± 3,0*1,2
CD16, %	15,3 ± 1,1	14,9 ± 1,0	13,4 ± 1,2
CD25, %	6,9 ± 0,4	7,4 ± 0,3	6,8 ± 0,3
CD95, %	21,7 ± 2,1	19,1 ± 1,3	14,2 ± 2,2*1,2
CD22, %	22,1 ± 2,0	21,3 ± 1,7	20,5 ± 2,1
HLA-DR	28,1 ± 4,1	30,0 ± 3,7	33,4 ± 4,0
PF,	49,2 ± 5,7	60,6 ± 3,7*1	58,9 ± 5,7*1
FČ, abs.	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,09	2,4 ± 0,1*1,2
IAF	0,6 ± 0,02	0,67 ± 0,03	1,4 ± 0,05*1,2
NST-sp., %	33,58 ± 4,0	31,6 ± 3,9	54,3 ± 9,1*1,2
NST-st., %	50,6 ± 4,7	47,8 ± 6,2	65,9 ± 9,8*1,2
FRN	16,8 ± 2,0	16,2 ± 1,9	11,6 ± 1,8*1,2
ISN	1,5 ± 0,12	1,5 ± 0,13	1,2 ± 0,1*1,2
TNF-α pg/ml	24,1 ± 3,9	23,0 ± 3,0	25,5 ± 4,1
IL-4 pg/ml	532,1 ± 40,3	486,0 ± 32,3	236,5 ± 39,7*1,2
IL-8 pg/ml	406,9 ± 50,6	565,0 ± 41,4	600,1 ± 61,7*1
INF-γ, pg/ml	294,2 ± 18,1	317,9 ± 42,3	295,3 ± 14,8
C3, mg/L	571,7 ± 61,3	660,4 ± 47,1*1	540,2 ± 40,1*2
C4, mg/L	48,8 ± 7,8	70,5 ± 5,9*1	54,0 ± 4,5*2
IgM ME/ml	199,5 ± 28,4	388,5 ± 42,0*1	187,5 ± 29,3*2
IgG ME/ml	135,3 ± 17,7	108,1 ± 21,5	132,5 ± 18,1
IgA ME/ml	64,1 ± 6,0	87,5 ± 8,8*1	85,5 ± 7,1*1
HP mg/dcl	0,09 ± 0,009	0,092 ± 0,01	0,07 ± 0,008*1,2
MDA mg/dcl	4,1 ± 0,21	3,74 ± 0,18	2,6 ± 0,2*1,2
Kat (doh.jed.)	7,0 ± 0,4	8,2 ± 0,31	4,0 ± 0,2*1,2

PF,	46,5 ± 4,4	68,7 ± 8,1*1	70,7 ± 5,8*1
FČ, abs.	1,0 ± 0,04	2,4 ± 0,09	1,5 ± 0,1*1,2
IAF	0,47 ± 0,04	1,65 ± 0,2	1,06 ± 0,02*1,2
NST-sp., %	11,7 ± 2,1	21,5 ± 4,9*1	16,6 ± 3,3*2
NST-st., %	35,8 ± 4,0	56,5 ± 4,6*1	55,1 ± 5,2*1
FRN	24,1 ± 2,1	35,0 ± 3,8	38,5 ± 3,9*1
ISN	3,1 ± 0,14	2,6 ± 0,2	3,32 ± 0,12*2
TNF-α pg/ml	36,7 ± 4,2	26,0 ± 2,7*1	31,5 ± 3,7
IL-4 pg/ml	374,5 ± 24,5	389,7 ± 40,2	731,2 ± 74,5*1,2
IL-8 pg/ml	815,2 ± 81,4	466,7 ± 51,2*1	467,5 ± 41,2*1
IgM ME/ml	42,0 ± 6,4	40,3 ± 5,1	41,2 ± 7,2
IgG ME/ml	58,1 ± 5,1	52,3 ± 4,7	68,1 ± 6,2*2
slgA ME/ml	761,7 ± 27,1	825,0 ± 32,4	752,5 ± 75,5
HP mg/dcl	0,082 ± 0,012	0,075 ± 0,013	0,068 ± 0,004*1,2
MDA mg/dcl	0,39 ± 0,01	0,41 ± 0,02	0,38 ± 0,03
Kat (doh.jed.)	0,66 ± 0,05	0,77 ± 0,1	0,82 ± 0,1*1
Vaginálno-cervikalny stier			

\* -p < 0,05; číslo za hviezdičkou znamená, ku ktorej skupine je signifikantný význam

## Literatúra

- 1., Gavrilov V.B., Mishkorudnaya M.I.  
Spektrofotometrické určenie obsahu hydroperoxid lipidov v plazme krvi.  
Laboratornoe delo. 1983, No.3, p.33-36
- 2., Kulakov V.I., Apolichina I.A., Prilepskaya V.N. a kol.  
Súčasný prístup k diagnostike papilomvírusovej infekcie genitálií u žien a jeho význam pre screening rakoviny maternice.  
Praktická gynekológia, 1999, T.1, No.2, p.4-7
- 3., Kushmanova O.D., Ivčenko G.M.  
Sprievodca k laboratornému cvičeniu v biologickej chémii.  
Moskva; Medicina, 1983, p.98-99
- 4., Medvedev A.N., Chalenko V.V.  
Spôsob sledovania pohlcujúcej fázy fagocytózy.  
Laboratornoe delo, 1991, No.2, p.19-20
- 5., Prilepskaya V.N.  
Vekové zvláštnosti maternice. Súčasné metódy diagnostiky patológie maternice.  
Pôrodnictvo a gynekológia, 1998, No.6, p.51-54
- 6., Rusakevich P.S.  
Fenomové a predrakovinové ochorenia maternice; symtomatika, diagnostika, liečba, profylaktika.  
Minsk: Vysoká škola, 1998, p.368
- 7., Stalnaya I.D., Garishvili T.G.  
Metóda stanovenia malonového dialdehyda pomocou tiobarbitárovej kyseliny.  
Súčasný metódy v biochémii, Moskva, Medicina, 1977, p.66-68
- 8., Suchich G.T., Matveeva N.K., Apolichina I.A. a kol.  
Ukazovatele imunity u pacientov s PVI genitálií.  
Pôrodnictvo a gynekológia, 2000, No.2, p.35-38
- 9., Shcherbakov V.I.

Použitie NST-testu pri hodnotení citlivosti neutrofilov k stimulátorom.

Laboratórne delo, 1989, No.1, p.30-33

10., Arany J., rady P., Tying S.K.

Alterations in cytokin/antioncogene axpression in skin lesions caused by “flow risk”  
types of human papillomaviruses.

Viral Immunol. 1993., Vol.6, No.4. P.255-265

11., Frazer J.H., Tindler R.W.

Cell mediated immunity to Papillomaviruses//Papillomavirus Rewiews: Current  
Research on Papillomaviruses/Ed.C.Lacey.-Lond; Leeds: University of Leeds, 1996.  
P.151-164