

УДК 618.1-022:578.827.1

РОЖКОВСЬКА Н.М., ГЛАДЧУК І.З., КАШТАЛЬЯН Н.М.

Одеський національний медичний університет,  
кафедра акушерства і гінекології №1, м. Одеса

## КОМПЛЕКСНЕ ЛІКУВАННЯ І ВТОРИННА ІМУНОПРОФІЛАКТИКА ЗАХВОРЮВАНЬ ШИЙКИ МАТКИ, АСОЦІЙОВАНИХ З ГЕНІТАЛЬНОЮ ПАПІЛОМАВІРУСНОЮ ІНФЕКЦІЄЮ

*Враховуючи той факт, що ВПЛ персистує в клітинах плоского епітелію шийки матки і є стійким до дії традиційних імуномодуляторів, а специфічної терапії поки що не існує, актуальним є пошук можливостей комплексного впливу на імунну систему і клітини, уражені ВПЛ.*

*Метою дослідження була оцінка ефективності комплексного лікування і вторинної профілактики захворювань шийки матки, спричинених папіломавірусною інфекцією, шляхом застосування метаболічної імунотерапії в комплексі з холодноплазмозовою коагуляцією.*

*Матеріали і методи. Обстежено 80 жінок з верифікованою ГПВІ, у віці 19-39 років. Імунологічний статус оцінювали за показниками гуморального імунітету (концентрація IgA, IgG, IgM та  $\alpha$ - і  $\gamma$ -інтерферону). Всі хворі отримали деструкційне лікування (холодноплазмозова коагуляція або кріодеструкція) з та без метаболічної терапії.*

*Результати та обговорення. Для хворих на ГПВІ є притаманною висока активність секреторного імуноглобуліну IgA при помірному зростанні активності імуноглобуліну IgM і нормальних рівнях активності IgG,  $\alpha$ -інтерферону і  $\gamma$ -інтерферону. Втім, до 61,4% хворих мають один чи декілька показників гуморального імунітету на рівні нижньої межі норми. При комплексного лікування була досягнута нормалізація вмісту імуноглобулінів та збільшилася секреція  $\alpha$ - і  $\gamma$ -інтерферону. Серед пролікованих пацієнток було 10% випадків рецидивів ЦІН, більшість із яких в групі кріодеструкції. При застосуванні комплексної терапії визначався відносний ризик рецидиву 0,37.*

*Висновки. Застосування «холодної» плазми та глутаміл-цистеїніл-гліцину динатрію при ГПВІ дозволяє значно знизити ризик виникнення рецидивів. Таким чином, комплексна терапія ГПВІ з застосуванням метаболічної терапії та холодноплазмозової коагуляції шийки матки є безпечною і високоефективною.*

*Ключові слова: генітальна папіломавірусна інфекція, дисплазія шийки матки, кріодеструкція, «холодна» плазма, імунокорекція.*

Вірус папіломи людини (ВПЛ) вважається основним екзогенним фактором ризику розвитку раку шийки матки. [1-4]. Кожна третя сексуально активна жінка має різноманітні форми клінічних проявів генітальної папіломавірусної інфекції (ГПВІ). Деякі штами ВПЛ (16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 62, 66 і 70) є високоонкогенними, інші (6, 11, 13, 42 і 44) викликають аногенітальні кондиломи [5]. Значна кількість хворих (15-20 %) мають безсимптомну форму ВПЛ-інфекції [6].

В останні роки набули популярності методи профілактики ГПВІ за допомогою вакцин [7]. Але первинна профілактика ГПВІ шляхом вакцинації є недостатньо поширеною, тому актуальним залишається застосування вторинної імунопрофілактики ВПЛ-асоційованих захворювань, в тому числі дисплазії шийки матки [8].

Враховуючи той факт, що ВПЛ персистує в клітинах плоского епітелію шийки матки і є стійким до дії традиційних імуномодуляторів,

а специфічної терапії поки що не існує, актуальним є пошук можливостей комплексного впливу на імунну систему і клітини, уражені ВПЛ.

Найбільш перспективним, на нашу думку, є комплексне лікування, що передбачає диференційоване застосування хірургічної деструкції ураженого ВПЛ епітелію шийки матки та застосування імуномодуляторів. З факторів, що використовуються для деструкції патологічно змінених тканин, особливе місце займає холодноплазмова коагуляція ураженого епітелію шийки матки, яка, на відміну від електроексцизії, лазерного та кріохірургічного впливу, має більш прецизійну та щадящу дію, а також бактеріцидний, противірусний та протипухлинний ефект [9, 10].

Фундаментально новою стратегією при лікуванні інфекційних захворювань є спроба модуляції природного захисту організму для посилення елімінації інфекційних агентів та зниження пошкоджень пов'язаних з цим ураженням тканин.

**Метою** дослідження була оцінка ефективності комплексного лікування і вторинної профілактики захворювань шийки матки, спричинених папіломавірусною інфекцією, шляхом застосування метаболічної імунотерапії в комплексі з холодноплазмозовою коагуляцією.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження виконане у 2014-2016 рр. на базі Багатопрофільного медичного центру Університетська клініка Одеського національного медичного університету. Обстежено 80 жінок з верифікованою ГПВІ, у віці 19-39 років. Вивчали клініко-анамнестичні характеристики, проводили цитоморфологічне дослідження, просту і розширену кольпоскопію; за необхідністю виконували УЗД органів малого таза.

Для верифікації ВПЛ використовували метод RealTime ПЛР з кількісним визначенням вискоонкогенних генотипів вірусу. Цитоморфологічне обстеження виконувалось з матеріалу, набраного з екто- й ендocerвіксу та, при необхідності, з найбільш зміненої ділянки шийки матки.

Імунологічний статус оцінювали за показниками гуморального імунітету. Концентрацію імуноглобулінів IgA, IgG та IgM

визначали методом ІФА з використанням стандартного набору моноспецифічних антисироваток до імуноглобулінів кожного класу («Гамалея», Росія). Рівень  $\alpha$ - і  $\gamma$ -інтерферонів у пацієнтів визначали методом ІФА (набір «ProCon IF2plus» «Протеїновий контур», Росія) на автоматичному рідері «Human» (Німеччина).

Лікування пацієнток з ВПЛ та дисплазією шийки матки I-II ступеня включало в основній групі холодноплазмозову коагуляцію з та без метаболічної терапії імуномодулятором глутаміл-цистеїніл-гліцин динатрію (глутоксим) (групи 1А та 1Б відповідно) та в групі порівняння кріодеструкцію з та без метаболічної терапії (групи 2А та 2Б відповідно). Холодноплазмозову коагуляцію враженої ділянки шийки матки виконувалося за допомогою пристрою Spring CPC 1500 потоком гелію в режимі біполярної коагуляції. Глутаміл-цистеїніл-гліцин динатрію призначали по 2 мл 3% розчину внутрішньом'язово, 5 ін'єкцій на курс (300 мг - курсова доза). Час катамнестичного спостереження склав два роки.

Статистичну обробку проводили з використанням методів дисперсійного аналізу з застосуванням програми Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США).

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як показали наші дослідження, більшість (62; 77,5%) пацієнток з ГПВІ починали раннє статеве життя, мали не менше двох статевих партнерів у житті, 22 (27,5%) пацієнтки ігнорували бар'єрні методи контрацепції. Ці фактори слід розглядати у якості детермінант підвищеного ризику інфікування ВПЛ.

У 57 (71,3%) обстежених жінок визначалася слабка дисплазія плоского епітелію шийки матки (цервікальна інтраепітеліальна неоплазія 1 ступеня, CIN1) у 23 (28,8%) – дисплазія II ступеня. (CIN2). У значної кількості пацієнток спостерігалися різноманітні запальні захворювання геніталій: вульвовагініт (21; 26,3%), бактеріальний вагіноз (34; 42,5%), цервіцит (11; 13,8%), кандидоз (15; 18,8%), хронічний ендометрит (18; 22,5%). В одному випадку діагностований поліп ендометрію. Трихомоніаз був діагностований у 8 (10,0%) обстежених жінок, хламідіоз – у 5 (6,3%), уреаплазмоз - у одної пацієнтки.

За даними нашого дослідження у 24 (30,0%) пацієнток визначалися високоонкогенні штами вірусу (ВПЛ 16, 18). У 12 (15,0%) пацієнток мало місце інфікування декількома штамами ВПЛ.

При дослідженні імунного статусу пацієнток, інфікованих ВПЛ 16, 18 типів (високоонкогенних) встановлено що при нормі 1,25-2,5 г/л середня концентрація IgA у них склала  $2,1 \pm 0,1$  г/л (у 32 (40,0%) обстежених відзначалося перевищення нормативних значень). Вміст IgM в основній групі склав  $1,23 \pm 0,06$  г/л при нормі 0,65-2,0 г/л, а IgG –  $8,4 \pm 0,6$  г/л, що відповідає нормативним значенням (7,5-18 г/л). Таким чином, для хворих на ГПВІ була притаманною висока активність секреторного імуноглобуліну IgA при помірному зростанні активності імуноглобуліну IgM і нормальній активності IgG.

Концентрація  $\alpha$ - і  $\gamma$ -інтерферону відповідала нормативним значенням ( $11,4 \pm 3,1$  пг/мл і  $8,2 \pm 0,6$  пг/мл, відповідно). Кореляція між показниками вмісту IgA та інтерферонів була відсутня:  $r=0,04$   $p>0,05$  для пари «IgA- $\gamma$ -інтерферон» і  $r=0,07$   $p>0,05$  для пари «IgA- $\alpha$ -інтерферон». Зважаючи на високі значення дисперсії імунологічних показників нами проведений аналіз варіаційних рядів з виділенням зон низьких ( $<Q1$  тобто 1-25-й процентиля), середніх ( $Q2-3$  тобто 26-50-й процентиля) і високих ( $>Q1$  тобто 76-100-й процентиля) значень. При цьому у 9 (11,3%) випадків мало місце сполучення низьких значень за п'ятьма показниками, у 10 (12,5%)

– за чотирма, у 17 (21,3%) – за трьома, і у 13 (16,3%) – за двома. При цьому абсолютні значення за відповідними показниками у пацієнток відповідали нижній межі середньої популяційної норми, тобто мала місце субклінічна загальна варіабельна недостатність гуморальної ланки імунітету.

При оцінці змін в імунній системі та інтерфероновому статусі у хворих на ГПВІ при традиційному і розробленому комплексному методах лікування, встановлено, що при застосуванні глутаміл-цистеїніл-гліцину динатрію була досягнута нормалізація вмісту імуноглобулінів та збільшилася секреція  $\alpha$ - і  $\gamma$ -інтерферону, що свідчить про очевидні переваги запропонованої схеми лікування.

В цілому серед пролікованих пацієнток було 8 (10%) випадків рецидивів ЦІН, 7 з яких в групі кріодеструкції. Відносний ризик рецидиву склав 0,25 (ДІ: 0,03-1,94;  $p=0,19$ ). Серед 29 пацієнток, яким була виконана холодноплазмова коагуляція, було лише один випадок персистенції дисплазії I-II на тлі ГПВІ. Цікаво, що ці пацієнтка не одержувала імунокоригуючої терапії. Відносний ризик рецидиву в цьому випадку склав 0,6 (ДІ: 0,03-13,66;  $p=0,75$ ). У групі кріодеструкції більшість випадків рецидиву ЦІН спостерігалася у жінок, що не отримували метаболічної терапії, відносний ризик рецидиву в цій групі склав 0,3 (ДІ: 0,07-1,54;  $p=0,16$ ). В цілому при застосуванні комплексної терапії визначався відносний ризик рецидиву 0,37 (ДІ: 0,08-1,72;  $p=0,21$ ) (таблиця).

Таблиця

## Результати лікування хворих з ЦІН у поєднанні з ГПВІ

Вид лікування	Всього	Рецидив	Без рецидиву
Холодноплазмова коагуляція	29	1 (3,4%)	28 (96,6%)
з метаболічною терапією (1А)	10	0 (0%)	10 (100%)
без метаболічної терапії (1Б)	19	1 (5,3%)	18 (94,7%)
Кріодеструкція	51	7 (13,7%)	44 (86,3%)
з метаболічною терапією (2А)	28	2 (7,1%)	26 (92,9%)
без метаболічної терапії (2Б)	23	5 (21,7%)	18 (78,3%)
<b>Всього</b>	<b>80</b>	<b>8 (10,0%)</b>	<b>72 (90,0%)</b>
1А+2А – комплексне лікування	38	2 (5,3%)	36 (94,7%)
1Б+2Б – без метаболічної терапії	42	6 (14,3%)	36 (85,7%)

Таким чином ризик рецидиву при використанні «холодної» плазми був в 4 рази нижчий, а ніж при кріодеструкції. Також в обох групах відзначалося суттєве зниження ризику рецидиву при використанні комплексної тера-

пії. Таким чином, застосування найбільш виправданим є застосування холодноплазмової коагуляції в комплексі із метаболічною терапією глутаміл-цистеїніл-гліцином динатрію.



## ВИСНОВКИ

Для хворих на ГПВІ є притаманною висока активність секреторного імуноглобуліну IgA при помірному зростанні активності імуноглобуліну IgM і нормальних рівнях активності IgG,  $\alpha$ -інтерферону і  $\gamma$ -інтерферону. Втім, до 52,5% хворих мають один чи декілька показників гуморального імунітету на рівні нижньої границі норми.

Традиційний метод лікування (без імунокорекції) не впливає на показники гуморального імунітету. Водночас, при застосуванні глутаміл-цистеїніл-гліцину динатрію була досягнута нормалізація вмісту імуноглобулінів та збільшилася секреція  $\alpha$ - і  $\gamma$ -інтерферону.

Застосування холодноплазмової коагуляції є не тільки найбільш щадячим деструкційним методом, але й значно знижує вигойдність рецидиву ЦІН у порівнянні з криодеструкцією.

Застосування холодноплазмової коагуляції шийки матки в комплексі із метаболічною терапією ЦІН на тлі ГПВІ дозволяє значно знизити ризик виникнення рецидивів.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Роговская С. И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки: Руководство для практикующего врача. / С. И. Роговская - М., 2008. - 192 с.
2. Шевчук О. В. Генітальна папіломавірусна інфекція у жінок / О. В. Шевчук, В. М. Запорожан, Н. М. Рожковська // ПАГ. - 2000. - №6. - С. 119-122
3. Hager W. D. Human papilloma virus infection and prevention in the adolescent population. / W. D. Hager // J Pediatr Adolesc Gynecol. - 2009 - Vol. 22(4) - P. 197-204
4. Human papilloma virus associated with genital infection. / S. Ljubojević, J. Lipozencić, D. L. Grgec [et al.] // Coll Antropol. - 2008 - Vol. 32(3) - P. 989-997
5. Papillomavirus humano e neoplasia cervical. / M. I. Rosa, L. R. Medeiros, D. D. Rosa [et al.] // Cad Saude Publica. - 2009 - Vol. 25(5) - P. 953-964
6. Oaknin A. Human papillomavirus vaccine and cervical cancer prevention. / A. Oaknin, M. P. Barretina // Clin Transl Oncol. - 2008 - Vol. 10(12) - P. 804-811
7. Szarewski A. HPV vaccine: Cervarix. / A. Szarewski // Expert Opin Biol Ther. - 2010 - Vol. 10(3) - P. 477-487
8. Interferon system in women with genital papillomavirus infection receiving immunomodulatory therapy. / S. I. Rogovskaya, A. V. Zhdanov, N. S. Loginova [et al.] // Bull Exp Biol Med - 2002 - Vol. 134 (5) - P. 463-466
9. Ahn HJ, Kim KI, Hoan NN, Kim CH, Moon E, Choi KS, et al. (2014). Targeting Cancer Cells with Reactive Oxygen and Nitrogen Species Generated by Atmospheric-Pressure Air Plasma. PLoS ONE 9(1): e86173.doi:10.1371/journal.pone.0086173.
10. Wei Li, K.N.Yu, Lingzhi Bao, Jie Shen, Cheng Cheng, Wei Han. Non-thermal plasma inhibits human cervical cancer HeLa cells invasiveness by suppressing the MAPK pathway and decreasing matrix metalloproteinase-9 expression. Scientific Reports 6, Article number: 19720 (2016).doi:10.1038/srep19720.

## РЕЗЮМЕ

**КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ И  
ВТОРИЧНАЯ ИММУНОПРОФИЛАКТИКА  
ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ,  
АССОЦИИРОВАННЫХ  
С ПАПИЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ  
РОЖКОВСКАЯ Н.Н., ГЛАДЧУК И.З.,  
КАШТАЛЬЯН Н.М.**

Принимая во внимание тот факт, что ВПЧ персистирует в клетках плоского эпителия шейки матки и является устойчивым к действию традиционных иммуномодуляторов, а специфической терапии пока что не существует, актуальным является поиск возможностей комплексного влияния на иммунную систему и клетки, пораженные ВПЧ.

**Целью** исследования была оценка эффективности комплексного лечения и вторичной профилактики заболеваний шейки матки, вызванных папилломавирусной инфекцией, путем использования метаболической терапии в комплексе с холодноплазменной коагуляцией.

**Материалы и методы.** Обследовано 80 женщин с подтвержденной ГПВИ, в возрасте 19-39 лет. Иммунологический статус оценивали по показателям гуморального иммунитета (концентрация IgA, IgG, IgM,  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферона). Все больные получали деструкционное лечение (холодноплазменная коагуляция или криодеструкция) с и без метаболической терапии.

**Результаты и обсуждение.** Для больных ГПВИ является характерной высокая активность секреторного иммуноглобулина IgA при умеренном возрастании активности иммуноглобулина IgM и нормальных уровнях активности IgG,  $\alpha$ -интерферона и  $\gamma$ -интерферона. Кроме того, у 61,4% больных один или не-

сколько показателей гуморального иммунитета находятся на нижней границе нормы. При комплексном лечении была достигнута нормализация содержания иммуноглобулинов и увеличилась секреция  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферона. Среди пролеченных пациенток было 10% случаев рецидива ЦИН, большинство из которых находились в группе криодеструкции. При использовании комплексной терапии определялся относительный риск рецидива 0,37.

**Выводы.** Использование «холодной» плазмы и глутамил-цистеинил-глицина динамически при ГПВИ позволяет значительно снизить риск возникновения рецидивов. Таким образом, комплексная терапия ГПВИ с использованием метаболической терапии и холодноплазменной коагуляции шейки матки является безопасной и высокоэффективной.

**Ключевые слова:** генитальная папилломавирусная инфекция, дисплазия шейки матки, криодеструкция, «холодная» плазма, иммунорекорекция.

## SUMMARY

### THE COMPLEX TREATMENT AND THE SECONDARY IMMUNOPREVENTION OF CERVICAL DISEASES CAUSED BY GENITAL HUMAN PAPILLOMAVIRAL INFECTION.

ROZHKOVSKA N.M., GLADCHUK I.Z.,  
KASHTALYAN N.M.

Taking into consideration the fact, that HPV persists in squamous cells of cervix, and is unresponsive to traditional immune modulators, and the absence of specific therapy, it is essential to search for new possibilities of complex influence on immune system and HPV-infected cells.

**The aim** of the study was to estimate effectiveness of complex treatment and secondary immune prophylaxis of cervical diseases caused by papillomaviral infection, by using methabolic therapy in the complex with cold plasma coagulation.

**Materials and methods.** 80 women aged 19-39 with verified genital HPV infection were investigated. Immune status was estimated by markers of humoral immunity (IgA, IgG, IgM and  $\alpha$ -,  $\gamma$ -interferone concentration). All patients underwent destructive treatment (cold plasma coagulation or cryotherapy) with and without methabolic therapy.

**Results and discussion.** The patients with HPV-infection have high activity of IgA whereas the activity of IgM was moderately increased and the levels of IgG,  $\alpha$ -interferon and  $\gamma$ -interferon were normal. However 61.4% of patients had one or more indices of humoral immunity at the level of the lower range of physiological norm. The traditional method of treatment (without immunocorrection) does not influence on the indices of humoral immunity significantly. However when complex treatment was administrated the serum levels of immunoglobulins were normalized and the secretion of  $\alpha$ - and  $\gamma$ -interferons was increased. There were 10% of CIN relapses, majority of which happened in the cryotherapy group. When complex therapy was used the relative risk of relapse was 0,37.

**Conclusions.** The use of cold plasma and methabolic therapy in patients with genital HPV infection allows to significantly decrease the risk of CIN relapse. Thus the complex therapy of the genital HPV infection with the use of metabolic therapy and cold plasma coagulation is safe and highly effective.

**Key words:** genital papillomaviral infection, cervical intraepithelial neoplasia, cryotherapy, cold plasma coagulation, immune correction.