

Ефективність вторинної вакцинопрофілактики генітальної папіломавірусної інфекції: роль імунного статусу та перспективи вдосконалення методу

Н.М. Рожковська, О.І. Стрельник, О.В. Шевчук

Одеський державний медичний університет

Метою дослідження була оцінка ефективності вакцинопрофілактики генітальної папіломавірусної інфекції залежно від імунного статусу. Виявлено, що у жінок з ГПВІ у 70% випадків діагностують дисплазію шийки матки в стадії CINI–CINII, у 12,5% – запальні захворювання статевих органів, у 77,5% – ко-інфікування вірусом простого герпесу типів 1 і 2. У 25% пацієток, інфікованих вірусом папіломи людини (ВПЛ), визначали високоонкогенні штами вірусу, при цьому у 12,5% пацієток мало місце інфікування декількома штамами ВПЛ. Для хворих на ГПВІ характерною є висока активність секреторного імуноглобуліну – IgA при помірному зростанні активності імуноглобуліну – IgM і нормальних рівнях активності IgG, α -інтерферону і γ -інтерферону. Утім, до 52,5% хворих мають один чи декілька позначників гуморального імунітету на рівні нижньої межі норми. Застосування вакцини при ГПВІ без проведення імунокорекції дозволяє значно знизити ризик виникнення рецидивів (ЗВР=0,18; ДІ 95% – 0,08; 0,42). На тлі імунокорекції індукторами інтерферону ефективність вакцинопрофілактики значно збільшується (ЗВР=0,91 (0,04; 4,07).

Ключові слова: генітальна папіломавірусна інфекція, вакцинопрофілактика, імунітет, імунокорекція, індуктори інтерферону.

Генітальна папіломавірусна інфекція (ГПВІ) є однією з найбільш поширених і актуальних у людській популяції [1, 5, 6] через високу контагіозність і соціокультуральні особливості, притаманні сьогоденню (ранній сексуальний дебют, проміскуїтетна поведінка). Пік захворюваності на ГПВІ припадає на вікову групу 15–20 років, тобто на період становлення репродуктивної і статевої активності жінок [5]. Відповідно до сучасних даних кожна третя сексуально активна жінка має різноманітні форми клінічних проявів ГПВІ. Деякі штами вірусу папіломи людини (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) призводять до аногенітальних кондилом [5, 11]. Значна кількість (15–20%) жінок є носіями ВПЛ без клінічних проявів і морфологічних змін, що в свою чергу сприяє зростанню захворюваності на ГПВІ [5].

ВПЛ вважається ініціувальним фактором у генезі раку шийки матки (РШМ), який посідає 2-ге місце в структурі онкологічної захворюваності жінок і є можливою причиною дистрофічних і злоякісних захворювань вульви та вагіни [5, 12, 13]. Розвиток РШМ – багатостадійний процес, який триває від 2 до 10 років [5, 6]. У наш час вивчена структура ВПЛ, доведена роль його онкопротеїнів E6 і E7 в інгібіції функцій онкопротекторів p53 і гена ретинобластоми в клітинах епітелію [13].

Геном ВПЛ представлений циркулярною двоспіральною ДНК з молекулярною масою близько 8 тис. пар основ, які кодують усього 8 відкритих рамок зчитування. У процесі реплікативного циклу геном ВПЛ експресує від 8 до 10 білкових продуктів, і тільки для одного з них встановлена ферментативна функція. Ранній білок E1 має функції АТФ-ази та

хелікази. Хеліказа – це фермент, що розплітає ДНК і є відомою мішенню для лікарських препаратів. Найбільш важливими, з точки зору онкогенної потенції ВПЛ, є онкобілки E5, E6, і E7 [5, 7, 12, 13].

Одним з основних механізмів імунного захисту від хронічної ВПЛ-інфекції є вірусспецифічні CD4+ і CD8+, що продукують γ -інтерферон [7, 8]. На відміну від здорових донорів у пацієнтів з ГПВІ знижений рівень відповіді клітинної ланки імунітету на вплив специфічних ранніх білків ВПЛ (E2, E6 і E7), що призводить до низької активності γ -інтерферону та інтерлейкіну-5. Найнижчі рівні γ -інтерферону спостерігаються у пацієток з РШМ та важкими плоскоклітинними інтраепітеліальними ураженнями у вигляді вираженої дисплазії, койлоцитозу, дискератозу (CIN II – CIN III або CIS) [8].

Останнім часом набули популярності методи профілактики ГПВІ за допомогою вакцин [9, 10]. Україна була однією з першою країн СНД, яка зареєструвала та дозволила використання протипапіломавірусної вакцини. Утім вакцина призначається без урахування вихідного імунологічного статусу, чинні клінічні протоколи не передбачають проведення імунокорекції під час лікування.

Метою дослідження була оцінка ефективності вакцинопрофілактики ГПВІ залежно від імунного статусу.

Для досягнення поставленої мети були визначені такі наукові завдання:

- оцінити клінічний та інфектологічний статус хворих на ГПВІ;
- визначити імунний та інтерфероновий статус у хворих на ГПВІ;
- оцінити ефективність вакцинопрофілактики ГПВІ без проведення імунокорекції;
- оцінити ефективність вакцинопрофілактики ГПВІ на тлі імунокорекції індукторами інтерферону.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведено у 2007–2010 рр. на базі медичного центру НМА. Обстежено 40 жінок з верифікованою ГПВІ, у віці 19–25 років, які склали основну групу. Середній вік обстежених склав $21,4 \pm 0,2$ року.

Усі пацієнтки були комплексно обстежені відповідно до вимог наказів № 620 МОЗ України від 29.12.2003 р. та № 676 від 31.12.2004 р. «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги» [3, 4]. Вивчали клініко-анамнестичні характеристики, проводили цитоморфологічне дослідження, просту і розширену кольпоскопію; за необхідності виконували ультразвукове дослідження органів малого таза (трансабдомінально, трансвагінально), проводили консультацію пацієток суміжними спеціалістами за показаннями (терапевт, онкомаммолог та ін.). Для верифікації внутрішньолікарняної інфекції (ВЛІ) використовували метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), для виділення ДНК з

біопроб застосовували стандартні набори виробництва НВФ «Літех» (Росія).

Цитоморфологічне обстеження виконували з матеріалу, взятого з екто- й ендocerвіксу та за необхідності з найбільш зміненої ділянки шийки матки за допомогою спеціальної щітки; препарати фарбували за методиками Папаніколау та Паппенгейма. Під час оцінювання цитоморфологічних результатів урахували наявність цитологічних маркерів вірусного ураження ВПЛ (наявність койлоцитів, кератиноцитів, двоядерних клітин), ступінь виявлення змін з боку ядра, з боку ядерно-цитоплазматичного співвідношення, звертали увагу на наявність передпухлинних змін епітелію ендocerвіксу та/або циліндричного епітелію. Узагальнення та трактування результатів цитоморфологічного, гістологічного обстеження здійснювали за допомогою класифікації D. Richart (1967) [14].

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 α - і γ -інтерферонів у пацієнтів визначали методом ІФА (набір «ProCon IF2plus» «Протеїновий контур», Росія) на автоматичному ридері «Human» (Німеччина). Додатково проводили серологічне обстеження методом ІФА на вірус простого герпесу типів 1/2 з використанням комерційного діагностичного набору «Herpes simplex-virus type 1+2 (HSV 1+2) Ig, Ig Elisa» («Novum Diagnostica GmbH», Німеччина).

Лікування пацієнток проводили диференційовано, за показаннями призначали деструктивні, хірургічні або локальні методи у комбінації з етіотропними препаратами системної дії. Лазеродеструкція застосована у 1 пацієнтки (2,5%), хіміофіксація солковагіном – у 2 пацієнток (5,0%), криодеструкція – у 7 (17,5%). У 20 випадках (основна група) була застосована вакцина Церварікс (GlaxoSmithKline, Велика Британія), 1 доза якої (0,5 мл) містить протеїн ПВЛ тип 16L1 – 20 мкг, протеїн ПВЛ тип 18L1 – 20 мкг. Первинний курс щеплення складався з трьох доз: ініціальної, через 1 міс та через 6 міс після ініціальної. Вакцину вводили внутрішньом'язово у *m. deltoideus*. Бустерну дозу після проведення курсу вакцинації не використовували. Референтну групу складали жінки, яких лікували без застосування вакцини (n=20).

Основну групу розділили на дві підгрупи: I – жінки, що отримували вакцину без імунокорекції (n=10), II – пацієнтки, яким з метою імунокорекції призначали індуктор інтерферону дигідрохлорид 2,7-біс-[2-(діетиламіно) етоксі]-флуорен-9-он (аміксин) за такою схемою: перші 2 доби по 0,125 г, після цього – через 48 год по 0,125 г (2,5 г на курс). Час катamnестичного спостереження складав два роки.

Статистичне оброблення проводили методом дисперсійного аналізу з застосуванням програми MS Excel 2007 [2].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У 28 (70,0%) обстежених жінок визначали дисплазію плоского епітелію шийки матки у стадії CINI (57,5%) і CINI-II (12,5%). У значній кількості пацієнток спостерігали різноманітні запальні захворювання статевих органів: вульвовагініт (5,0%), бактеріальний вагіноз (27,5%), цервіцит (5,0%), кандидоз (2,5%), хронічний ендометрит (22,5%). В одному випадку виявлено поліп ендометрію, трихомоніаз діагностований у 4 (10,0%) обстежених жінок, хламідіоз – у 2 (5,0%), уреаплазмоз – у 1 пацієнтки.

За результатами дослідження, у 10 (25%) пацієнток визначали високоонкогенні штами вірусу. У 12,5% пацієнток мало місце інфікування декількома штамми ВПЛ. У значній кількості обстежених жінок з ГПВІ мала місце ко-інфекція HSV-1/2. Частота виявлення високих титрів анти-HSV-1/2

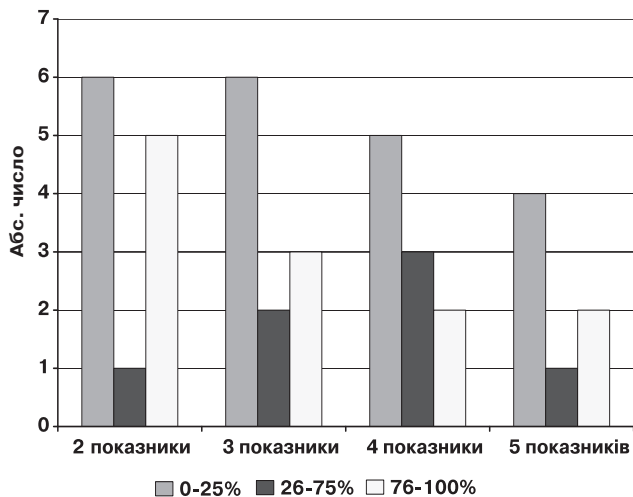
IgG, що свідчить про інфікування вірусом простого герпесу типів 1 і 2 складала 77,5% (31 випадок), при цьому у 6 (15,0%) пацієнток мала місце гостра стадія інфекційного процесу (високі титри анти-HSV-1/2 IgM).

Під час дослідження імунного статусу пацієнток встановлено що при нормі 1,25–2,5 г/л середня концентрація IgA у них складала 2,2±0,1 г/л (у 40% обстежених відзначали перевищення нормативних значень). Вміст IgM в основній групі склав 1,20±0,06 г/л при нормі 0,65–2,0 г/л, а IgG – 9,3±0,6 г/л, що відповідає нормативним значенням (7,5–18 г/л). Таким чином, для хворих на ГПВІ характерною була висока активність секреторного імуноглобуліну IgA у разі помірного зростання активності імуноглобуліну IgM і нормальної активності IgG. Ці зміни не залежали від онкогенності штаму ВПЛ, який спричинив захворювання ($r=-0,09$ $p>0,05$).

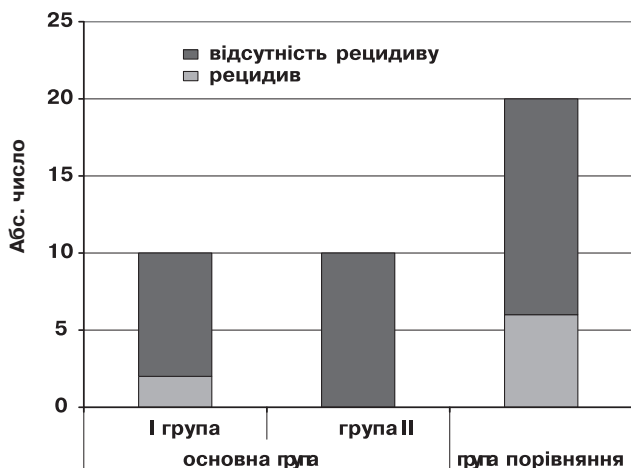
Вміст α - і γ -інтерферону відповідав нормативним значенням (11,2±3,5 пг/мл і 8,3±0,7 пг/мл відповідно). Кореляція між показниками вмісту IgA та інтерферонів була відсутня: $r=0,04$ $p>0,05$ для пари «IgA- γ -інтерферон» і $r=0,07$ $p>0,05$ для пари «IgA- α -інтерферон». Зважаючи на високі значення дисперсії 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. Як видно з наведеної нижче діаграми (мал. 1), у 4 (10,0%) випадках мало місце сполучення низьких значень за п'ятьма показниками, у 5 (12,5%) – за чотирма, у 6 (15%) – за трьома і у 6 (15%) – 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.

Після проведення курсу профілактичної вакцинації (основна група) та лікування асоційованих з ГПВІ станів (фонових процесів шийки матки, запальних процесів) пацієнтки підлягали спостереженню протягом двох років. Завдяки особливостям контингенту пацієнток медичного центру, на базі якого проводили дослідження (переважна більшість з них є студентками денної форми навчання) випадків виходу учасниць з програми катamnестичного спостереження не було.

Серед 20 пацієнток, що з профілактичною метою пройшли курс вакцинації було два випадки рецидиву дисплазії плоского епітелію шийки матки на тлі ГПВІ. Цікаво, що ці жінки не одержували імунокоригувальної терапії аміксином. Натомість, серед пацієнток II групи випадків рецидивування не було (мал. 2). Серед пацієнток групи порівняння, у яких вакцинацію не проводили, було шість випадків рецидиву, з яких у п'яти на



Мал. 1. Розподіл пацієнток за показниками імунологічного статусу



Мал. 2. Частота рецидивування ГПВІ після проведеного лікування

етапі лікування спостерігалися явища субклінічної загальної варіабельної недостатності гуморальної ланки імунітету вторинного генезу.

Таким чином, зниження відносного ризику рецидиву при використанні протипапіломавірусної вакцини без імунокорекції склало 0,18 при ДІ95% (0,08; 0,42). Водночас, застосування імунокорекції аміксином знижує відносний ризик до ЗВР=0,91 (0,04; 4,07). Таким чином, застосування у комплексній терапії індукторів інтерферону та протипапіломавірусної вакцини є виправданим.

ВИСНОВКИ

1. У жінок з ГПВІ у 70% випадків виявляється дисплазія плоского епітелію шийки матки в стадії CINI–CINII, у 12,5% – запальні захворювання статевих органів, у 77,5% – супутнє інфікування вірусом простого герпесу типів 1 і 2. У 25% пацієнток, інфікованих ВПЛ, визначали високоонкогенні штами вірусу, при цьому у 12,5% пацієнток мало місце інфікування декількома штамами ВПЛ.

2. Для хворих на ГПВІ є характерною висока активність секреторного імуноглобуліну – IgA при помірному зростанні активності імуноглобуліну – IgM і нормальних рівнях активності IgG, α -інтерферону і γ -інтерферону. Утім, до 52,5% хворих мають один чи декілька показників гуморального імунітету на рівні нижньої межі норми.

3. Застосування вакцини при ГПВІ без проведення імунокорекції дозволяє значно знизити ризик виникнення рецидивів (ЗВР=0,18; ДІ 95% – 0,08; 0,42). На тлі імунокорекції індукторами інтерферону ефективність вакцинопрофілактики значно збільшується (ЗВР=0,91 (0,04; 4,07).

Эффективность вторичной вакцинопрофилактики генитальной папилломавирусной инфекции: роль иммунного статуса и перспективы совершенствования метода

Н.Н. Рожковская, Е.И. Стрельник, А.В. Шевчук

Целью исследования была оценка эффективности вакцинопрофилактики генитальной папилломавирусной инфекции в зависимости от иммунного статуса. Установлено, что у женщин с ГПВИ в 70% случаев диагностируют дисплазию шейки матки в стадии CINI–CINII, в 12,5% – воспалительные заболевания половых органов, в 77,5% – ко-инфицирования вирусом простого герпеса типов 1 и 2. У 25% пациенток, инфицированных ВПЧ, определяли высокоонкогенные штаммы вируса, при этом у 12,5% пациенток имело место инфицирование несколькими штаммами ВПЧ. Для больных ГПВИ

характерна высокая активность секреторного иммуноглобулина – IgA при умеренном росте активности иммуноглобулина – IgM и нормальных уровнях активности IgG, α -интерферона и γ -интерферона. Впрочем, до 52,5% больных имеют один или несколько показателей гуморального иммунитета на уровне нижней границы нормы. Применение вакцины при ГПВИ без проведения иммунокоррекции позволяет значительно снизить риск возникновения рецидивов (ЗВР=0,18; ДИ 95% – 0,08; 0,42) На фоне иммунокоррекции индукторами интерферона эффективность вакцинопрофилактики значительно увеличивается (ЗВР=0,91 (0,04; 4,07).

Ключевые слова: генитальная папилломавирусная инфекция, вакцинопрофилактика, иммунитет, иммунокоррекция, индукторы интерферона.

Vaccine effectiveness against genital papillomavirus infection: the role of immune status and prespectives of improvement method

N.M. Rozhkovska, A.I. Strelnik, A.V. Shevchuk

The study was to evaluate the effectiveness of vaccine genital papillomavirus infection depending on immune status. Shown that women with HPVI in 70% cases of cervical dysplasia occurs under CINI–CINII, in 12,5% – inflammatory pelvic disease in 77,5% – co-infection with herpes simplex virus types 1 and 2. In 25% patients infected with HPV were determined vysokoонкогенни virus strains, while in 12,5% of patients took place in several strains of HPV infection. For patients HPVI is characterized by high activity of secretory IgA immunoglobulin in a moderate increase in IgM antibody activity and normal activity levels of IgG, α -interferon and γ -interferon. However, in 52,5% of patients have one or more indicators of humoral immunity at the bottom border of norm. Vaccines in HPVI without immunotherapy can significantly reduce the risk of relapse (safety explosives = 0,18 (CI 95% – 0,08, 0,42). Against Immune interferon inductors increases vaccine efficacy (safety explosives = 0.91 (0,04, 4,07). Key words: genital papillomavirus infection, vaccine, immunity, immune correction, interferon inductors.

ЛИТЕРАТУРА

- Дубиніна В.Г. Папіломавірусна інфекція: сучасний стан проблеми: огляд / В.Г. Дубиніна, Н.Г. Кузева // Одеський медичний журнал. – 2008. – № 5. – С. 70–75.
- Лапач С.Н. Статистика в науке и бизнесе / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич – К.: МОРИОН, 2002. – 640 с.
- Наказ від 29.12.2003 № 620 „Про організацію надання стаціонарної акушерсько-гінекологічної та неонатологічної допомоги в Україні” Електронний ресурс. Режим доступу: <http://www.moz.gov.ua/ua/main/docs/?docID=6201>.
- Наказ МОЗ від 31.12.2004 № 676 „Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги” Електронний ресурс. Режим доступу: <http://www.moz.gov.ua/ua/main/docs/?docID=15187>
- Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки: Руководство для практикующего врача / С.И. Роговская. – М., 2008. – 192 с.
- Шевчук О.В. Генітальна папіломавірусна інфекція у жінок / О.В. Шевчук, В.М. Запорожан, Н.М. Рожковська // ПАГ. – 2000. – № 6. – С. 119–122.
- 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.
- Human papillomavirus type 16-positive cervical cancer is associated with impaired CD4+T-cell immunity against early antigens E2 and E6. / A. de Jong, M.I. van Poelgeest, J.M. van der Hulst [et al.] // Cancer Res. – 2004. – Vol. 64 (15). – P. 5449–5555.
- Oaknin A. Human papillomavirus vaccine and cervical cancer prevention / A. Oaknin, M.P. Barretina // Clin Transl Oncol. – 2008. – Vol. 10 (12). – P. 804–811.
- Human papillomavirus vaccines and vaccine implementation. / S. de Sanjosé, L. Alemany, X. Castellsaguy, F.X. Bosch // Womens Health (Lond Engl). – 2008. – Vol. 4 (6). – P. 595–604.
- 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.
- Whiteside M.A. Human papillomavirus and molecular considerations for cancer risk /M.A. Whiteside, E.M. Siegel, E.R. Unger // Cancer. – 2008. – Vol. 113 (10 Suppl). – P. 2981–2994.
- Berumen-Campos J. Virus del papilloma humano y cancer del cuello uterino. / J. Berumen-Campos // Gac Med Mex. – 2006. – Vol. 142, Suppl 2. – P. 51–59.
- Richart R.M. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia / R.M. Richart // Clin. Obstet. Gynecol. – 1967. – Vol. 10. – P. 723–748.