

На правах рукописи

Наумчик Галина Александровна

**КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ  
ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ  
И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЕЕ ТЕРАПИИ**

14.01.10 – кожные и венерические болезни

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2012

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Владивостокский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук, профессор  
Юцковская Яна Александровна

**Официальные оппоненты:** доктор медицинских наук, профессор  
Малова Ирина Олеговна  
(Иркутский государственный медицинский университет,  
заведующий кафедрой дерматовенерологии ФПК и ППС)

доктор медицинских наук, профессор  
Сергеев Алексей Юрьевич  
(Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФППОВ)

**Ведущая организация:** Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Защита состоится « 14 » марта 2012 г. в 12.00 часов на заседании диссертационного совета ДМ208.062.06 при Новосибирском государственном медицинском университете (630091, Новосибирск, Красный проспект, 52; тел. (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Новосибирского государственного медицинского университета (630091, Новосибирск, Красный проспект, 52)

Автореферат разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2012 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

Т.Б. Решетникова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** В настоящее время отмечается общий рост инфицированности вирусом папилломы человека. Поскольку вирус передается, в том числе, половым путем, основной пик инфицирования приходится на женщин молодого, сексуально активного возраста. По данным различных исследований, частота инфицирования вирусом папилломы человека в возрастной группе 16-29 лет составляет 45 % – 81 % (Brown D. R. et al., 2005). Число инфицированных в мире за последнее десятилетие увеличилось в 10 – 12 раз (Молочков В. А. с соавт., 2004; Ушакова И. Г., 2009; Deng D. et al., 2005), а инфицированность вирусом папилломы человека среди женщин достигает 15 % – 18 % (Ушакова И. Г., 2009).

В России, где официально регистрируются лишь случаи аногенитальных (венерических) бородавок, интенсивный показатель заболеваемости ими в 2005 г. составил 32,1 случая на 100 тысяч населения, в 2007 году заболеваемость составляла 33,9 случаев заболевания на 100 тысяч населения. В Приморском крае, заболеваемость остроконечными кондиломами в первом полугодии 2007 года составила 9,9 случаев на 100 тысяч населения, в первом полугодии 2008 года – 10,7 на 100 тысяч населения. В то же время, даже с учетом 10-кратного роста регистрируемой за последние 10 лет папилломавирусной инфекции (Молочков А. В., 2009), эти цифры не отображают масштабов ее истинной распространенности. Во многом это связано со сложностью диагностики субклинических и латентных форм инфекции.

Вопрос о тактике ведения пациентов с заболеваниями, вызванными папилломавирусной инфекцией, остается дискуссионным. Некоторые авторы полагают, что тактика должна быть выжидательной с регулярным контролем. Другие исследователи предлагают применять местное лечение (электро-, крио-, лазеро-, химиокоагуляция образований), третьи – системное (химиопрепаратами, интерфероном и его индукторами, адаптогенами и т.д.), четвертые – обсуждают положительные результаты комплексной терапии папилломавирусной инфекции (Гурова Т. Ю., 2008; Ушакова И. Г., 2009; Кизей И. Н., 2010; Серeda Н. Б., 2010; Scott M. et al., 2001). Сформировавшиеся в последние годы тенденции в лечении недостаточно эффективны, порой

агрессивны, нередко приводят к отдаленным осложнениям.

Установлено, что одним из определяющих факторов риска инфицирования вирусом папилломы человека является сниженный иммунный ответ (Гурова Т. Ю., 2008, Ушакова И. Г., 2009). Только при условии изучения иммунопатологических изменений при данном заболевании возможно разработать эффективные методы лечения, способные повлиять на течение инфекции. Адекватная иммунотерапия будет способствовать подавлению активности вируса папилломы человека и его полной элиминации, что снизит частоту рецидивов.

**Цель исследования.** Оптимизация комплексной терапии папилломавирусной инфекции на основе мониторинга показателей иммунного и цитокинового статуса на фоне использования современных методов физической деструкции и иммунотропных препаратов.

#### **Задачи исследования**

1. Изучить клинические проявления папилломавирусной инфекции у женщин при различной локализации, количестве папиллом, факторы рецидивирования инфекции.

2. Исследовать показатели клеточного и гуморального звена иммунитета у пациенток с папилломавирусной инфекцией (В-лимфоцитов (CD20<sup>+</sup>), NK-клеток (CD16<sup>+</sup>), Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>) и их субпопуляций (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>), маркеров активации (CD25<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, HLA-DR), апоптоза иммунокомпетентных клеток (CD95<sup>+</sup>), иммуноглобулинов классов А, М, G и свободно циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в зависимости от особенностей клинического течения.

3. Исследовать уровень провоспалительных (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-17, INF- $\gamma$ ), их растворимых рецепторов (sTNF RII, IL-6 SR) и противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10, IL-13, TGF- $\beta$ 1) у пациенток с папилломавирусной инфекцией в зависимости от особенностей клинического течения. На основе цитокинового профиля определить тип иммунного ответа в зависимости от варианта клинического течения папилломавирусной инфекции.

4. Изучить влияние лазерной и радиоволновой деструкции вирусных папиллом на динамику клинических проявлений и показателей иммунного и цитокинового профиля у пациенток, имеющих единичные папилломы

различной локализации.

5. Исследовать клинико-иммунологическую эффективность комбинированных схем лечения: низкомолекулярным индуктором интерферона (тилорон) и препаратом человеческого рекомбинантного интерферона альфа-2b (реаферон-ЕС-липинт) на фоне лазерной и радиоволновой деструкции у пациенток с рецидивирующим течением папилломавирусной инфекции различной локализации, имеющих множественные вирусные папилломы.

**Научная новизна исследования.** Доказано, что для диагностики неблагоприятного течения папилломавирусной инфекции различной локализации наиболее информативными иммунными маркерами являются: повышение уровня ИЛ-6, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13, IFN- $\gamma$ , коэффициентов ИЛ-4+ИЛ-13/IFN- $\gamma$ , TNF $\alpha$ +ИЛ-6+ИЛ-17/ИЛ-10.

Комплексный анализ показателей иммунной системы и цитокинового профиля при папилломавирусной инфекции различной локализации выявил: клеточный (Th1) тип иммунного ответа – у пациенток молодого возраста, при единичных папилломах, их локализации на коже туловища и в аногенитальной области; гуморальный (Th2) тип иммунного ответа – у пациенток зрелого возраста, при множественном характере новообразований и смешанном их расположении.

Определен более высокий коэффициент относительного риска рецидива папилломавирусной инфекции при монотерапии, лечении методом лазерной деструкции в сочетании с иммунотерапией, использовании в схемах комбинированной терапии индуктора интерферона.

**Практическая значимость работы.** Разработаны схемы терапии пациенток с папилломавирусной инфекцией различной локализации в зависимости от возраста и распространенности процесса и определена их клиническая и иммунологическая эффективность.

Доказано приоритетное назначение препарата интерферона альфа-2b при комбинированной терапии папилломавирусной инфекции смешанной локализации.

Обоснована необходимость повторного назначения индуктора интерферона в лечении папилломавирусной инфекции различной локализации через 3–4 месяца после первичного курса с целью пролонгирования

иммуномодулирующего результата и профилактики рецидива папилломавирусной инфекции.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Особенности клинического течения папилломавирусной инфекции сопряжены с типом иммунного ответа. Выявлено превалирование Th2 типа иммунного ответа у пациенток зрелого возраста, с множественными вирусными папилломами, смешанной локализацией новообразований. Преобладание Th1 типа иммунного ответа отмечено в группе пациенток молодого возраста, с единичными вирусными папилломами, локализацией новообразований на коже туловища.

2. Использование в схеме комбинированной терапии папилломавирусной инфекции у пациенток зрелого возраста, при множественном характере новообразований, смешанной их локализации и расположении на коже и/или слизистых оболочках аногенитальной области препарата интерферона альфа-2b на фоне лазерной или радиоволновой деструкции позволяет получать более длительное (до 6 месяцев) выраженное нормализующее действие на основные показатели иммунного и цитокинового статуса, чем включение в схему препарата индуктора интерферона.

**Апробация работы.** Материалы диссертации представлены и доложены на научных форумах международного, российского и регионального уровней: VI Международном конгрессе эстетической медицины (Москва, 2006); X Международном конгрессе «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии» (Казань, 2009); Всероссийской научно-практической конференции «Рахмановские чтения» (Санкт-Петербург, 2007); Национальной конференции «Аллергология и клиническая иммунология: междисциплинарные вопросы» (Москва, 2008); Всероссийской научной конференции «Теоретические основы эпидемиологии. Современные эпидемиологические и профилактические аспекты инфекционных и массовых неинфекционных заболеваний» (Санкт-Петербург, 2008); XVII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2010); Региональной научно-практической конференции «Амурская весна» (Хабаровск, 2006); IX Тихоокеанской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием (Владивосток, 2008); VII Региональной

научно-практической конференции с всероссийским и международным участием «Дальневосточная осень» (Владивосток, 2008); дне специалиста дерматовенеролога (Владивосток, 2009, 2010); V Научно-практической конференции «Инфекционная патология в Приморском крае» (Владивосток, 2010).

**Внедрение результатов работы.** Основные результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедр дерматовенерологии и косметологии, патологической физиологии Владивостокского государственного медицинского университета, в работу Краевого кожно-венерологического диспансера (г. Хабаровск), Консультативно-диагностического центра «Вивея» (г. Хабаровск), ООО Медицинского центра «МедРоса» (г. Владивосток), ООО «Профессорская клиника Юцковских» (г. Владивосток).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 2 статьи – в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых для публикаций основных результатов исследования.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 182 страницах машинописного текста; состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка, включающего 246 источников (118 отечественных и 128 зарубежных авторов). Диссертация иллюстрирована 31 таблицей и 17 рисунками.

**Личный вклад автора в проведенное исследование.** Все материалы, представленные в диссертации, получены, обработаны и проанализированы лично автором.

Исследование одобрено локальным комитетом по этике Владивостокского государственного медицинского университета.

## **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В основу работы положены результаты комплексного клинико-лабораторного обследования и лечения 312 пациенток с папилломавирусной инфекцией, наблюдавшихся на клинической базе Владивостокского государственного медицинского университета с 2007 по 2010 год и 27 здоровых доноров. Диагноз папилломавирусной инфекции устанавливали на основе жалоб, анамнестических данных (анкетирование обследуемых женщин, анализ

амбулаторных карт), данных объективного осмотра, лабораторных и инструментальных методов обследования.

На втором (открытом сравнительном проспективном) этапе исследования, учитывая критерии включения/исключения, в основную группу исследования было включено 167 пациенток. В результате анализа клинических данных, пациентки основной группы были распределены на группы:

1 группа – пациентки с единичными папилломами ( $n = 71$ ): пациентки с единичными папилломами кожи ( $n = 26$ ); пациентки с единичными папилломами кожи и/или слизистых оболочек аногенитальной области ( $n = 23$ ); пациентки с единичными папилломами смешанной локализации (кожа туловища и кожа и/или слизистые оболочки аногенитальной области) ( $n = 22$ ).

2 группа – пациентки с множественными папилломами ( $n = 96$ ): пациентки с множественными папилломами кожи ( $n = 45$ ); пациентки с множественными папилломами кожи и/или слизистых оболочек аногенитальной области ( $n = 26$ ); пациентки с множественными папилломами смешанной локализации (кожа туловища и кожи и/или слизистых оболочках аногенитальной области) ( $n = 25$ ).

На третьем этапе в обеих группах пациентки были разделены на группы, в зависимости от количества папиллом. В первую вошли пациентки с единичными новообразованиями различной локализации. В зависимости от размера папиллом, пациентки распределялись на две подгруппы: пациентки с новообразованиями до 5 мм в диаметре, локализующиеся на коже туловища – эксцизия проводилась с помощью лазерной деструкции – 26 человек (на лазерной неабляционной хирургической установке «Яхрома-Мед» (ФИАН, г. Москва, Россия); длина волны 511 и 578 нм, максимальная мощность не менее 3 Вт); пациентки с новообразованиями в диаметре 6 мм и более, со смешанной локализацией новообразований или их расположением на коже и/или слизистых оболочках аногенитальной области – эксцизия проводилась с помощью радиоволновой деструкции – 45 человек (на портативном радиохирургическом приборе «Сургитрон™» фирмы «Ellman International», США; прибор работает на частоте 3,8 МГц).

Во вторую группу вошли пациентки с множественными новообразованиями различной локализации. В зависимости от распространенности процесса, пациентки распределены на две подгруппы:

получившие сочетанную терапию индуктором интерферона (тилорон – в первые 2 дня лечения по 125 мг/сутки, затем по 125 мг через 48 ч, курсовая доза – 1,25 г) и радиоволновую или лазерную эксцизию (46 человек); получившие сочетанную терапию рекомбинантным интерфероном альфа-2b (реаферон-ЕС-липидт – за 30 мин до еды в дозе по 500 тыс. МЕ 2 раза/сут в течение 10 дней, курсовая доза – 10 млн. МЕ) и радиоволновую или лазерную эксцизию (50 человек).

Терапевтическую эффективность оценивали по результатам клинической картины, наличию осложнений после проведенного лечения – твердые конечные точки. В качестве дополнительных (мягких суррогатных) точек эффективности терапии рассматривались данные иммунного статуса, в том числе цитокинов и острофазных белков в сыворотке крови пациенток.

Материалом для исследования показателей иммунитета статуса служила периферическая кровь пациенток. Иммунофенотипирование клеток проводили по А. А. Тотолян и соавт. (1999), определение параметров фагоцитарной реакции нейтрофилов крови – по А. В. Караулову (1999). Содержание основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови оценивали методом ИФА с использованием реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Определение уровня цитокинов осуществляли с помощью специфических для каждого реактивов фирмы «R&D Diagnostics Inc.» (США) методом ИФА, согласно прилагаемым инструкциям. Учет результатов производился с помощью иммуноферментного анализатора «Multiscan» (Финляндия).

Математическая обработка полученных показателей проводилась методами описательной, вариационной статистики. При оценке терапии использовали метод относительного риска (RR) – сравнение в двух группах вероятности (риска) развития рецидивирования заболевания. Объем выполненных исследований позволял оценить результаты с достоверностью 95 % – 99 % при использовании соответствующих статистических методов.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Вирусные папилломы более 0,5 см в диаметре выявлены в 54,7 % случаев (47 чел.) в группе 18 – 44 года и в 64,2 % (52 чел.) – в группе 45 – 59 лет. Количество элементов от 11 до 200 определено в 60,5 % (52 чел.) в группе 18 – 44 года и в 54,3 % (44 чел.) – в группе 45 – 59 лет. Такие пациентки были

отнесены в группу с множественными папилломами. До 5 локализаций одновременно имели 57,4 % пациенток (27 чел.) в группе 18 – 49 лет и 59,6 % (31 чел.) в группе 45 – 59 лет с множественными папилломами.

По локализации образований были получены следующие данные: в 41,8 % (36 чел.) в группе 18 – 44 года и 43,2 % (35 чел.) в группе 45 – 59 лет новообразования располагались на коже туловища, конечностей; в 29,1 % (25 чел.) в группе 18 – 44 года и 28,4 % (23 чел.) в группе 45 – 59 лет – на коже и/или слизистых оболочках аногенитальной области; в 29,1 % (25 чел.) в группе 18 – 44 года и 28,4 % (23 чел.) локализации папиллом была смешанная (кожные покровы туловища, конечностей, слизистая оболочка и/или кожа аногенитальной области).

Длительность персистенции папилломавирусной инфекции составила от 2 месяцев до 10 лет: в группе 18 – 44 года в среднем —  $3,8 \pm 0,51$  года, в группе 45 – 59 лет —  $4,7 \pm 0,42$  года. 18,6 % (16 чел.) в группе 18 – 44 года и 11,1 % (9 чел.) в группе 45 – 59 лет отмечали продолжительность персистенции в течение 1 года; 26,7 % (23 чел.) в группе 18 – 44 года и 13,6 % (11 чел.) в группе 45 – 59 лет — в течение 1–2 лет; 34,9 % (30 чел.) в группе 18 – 44 лет и 35,8 % (29 чел.) в группе 45 – 59 лет — в течение 2–5 лет; 19,8 % (17 чел.) в группе 18 – 44 года и 39,5 % (32 чел.) в группе 45 – 59 лет — в течение 5 – 10 лет. Рецидивы клинических проявлений папилломавирусной инфекции в анамнезе указывали 60,5 % (52 чел.) в группе 18 – 44 года и 82,7 % (67 чел.) в группе 45 – 59 лет.

Предшествующее лечение не проводилось в 61,6 % (53 чел.) в группе 18 – 44 года и в 50,6 % (41 чел.) в группе 45 – 59 лет; проводилось 1 раз — в 12,8 % (11 чел.) в группе 18 – 44 года и 16,0 % (13 чел.) в группе 45 – 59 лет; проводилось 2 – 5 раз — 25,6 % (22 чел.) в группе 18 – 44 года и 33,4 % (27 чел.) в группе 45 – 59 лет. При ранее проводившемся лечении в 72,7 % (24 чел.) в группе 18 – 44 года и в 65,0 % (26 чел.) в группе 45 – 59 лет удаление папиллом проводилось методами физической деструкции (радиоволновое, лазерное удаление), в 27,3 % (9 чел.) в группе 18 – 44 года и в 35,0 % (14 чел.) в группе 45 – 59 лет — удаление методом химической деструкции (использование растворов кислот).

Группой сравнения служили 27 человек практически здоровых

добровольцев. Средний возраст женщин в группе сравнения составил  $36,78 \pm 0,2$  лет.

Сравнительный анализ иммунограммы у пациенток исследуемых групп, распределенных в зависимости от возраста, количества и локализации новообразований, характеризует нарушение как клеточного, так и гуморального компонентов иммунной защиты во всех группах. По основным показателям иммунного статуса преобладали однонаправленные изменения. Так, во всех группах регистрировалось угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов, сопровождающееся нарушением их поглотительной способности (снижение ФИ и ФЧ). Наибольшие изменения данных показателей зарегистрированы в группе зрелого возраста и при смешанной локализации новообразований.

Оценивая показатели Т-клеточного иммунитета, отмечено снижение общего числа Т-лимфоцитов во всех подгруппах, в основном за счет уменьшения количества Т-хелперов, при относительно стабильном количестве  $CD8^+$ . При локализации новообразований на коже туловища выявлено существенное увеличение лимфоцитов с маркерами  $CD25^+$  и  $HLA-DR^+$ , по сравнению с подгруппой с локализацией новообразований в аногенитальной области, что может характеризовать активацию клеточного иммунного ответа пациенток с папилломами кожи. При этом показатели маркера негативной активации Т-лимфоцитов ( $CD95^+$ ) практически во всех подгруппах были выше, чем в группе контроля (в пределах референсных величин). Относительное увеличение клеток  $CD95^+$  отражает усиление индукционно-активационного апоптоза, приводящего к гибели клеток, в том числе наиболее чувствительных  $CD4^+$ .

При множественных новообразованиях и смешанной их локализации выявлялась тенденция к нарушению гуморального иммунитета, характеризующаяся в основном увеличением уровня IgM.

Изменения показателей про- и противовоспалительных цитокинов пациенток основной группы характеризовались статистически значимым повышением  $TNF\alpha$  –  $13,33$  пг/мл  $\pm 2,00$  пг/мл против  $4,20$  пг/мл  $\pm 1,20$  пг/мл ( $p < 0,01$ ), сочетающимся с отсутствием достоверных изменений его рецептора, IL-6 и IL-6SR, IFN- $\gamma$  на фоне достоверного повышения IL-13 и TGF- $\beta 1$ .

При исследовании цитокинового профиля был выявлен ряд

закономерностей в зависимости от возраста пациенток, распространенности и локализации папиллом. В различных возрастных группах при однонаправленной динамике изменений показателей, степень выраженности нарушений превалировала у женщин старшей возрастной группы. Это касалось растворимого рецептора к ИЛ-6 и уровня ИЛ-13 и TGF-β1. В подгруппе с единичными новообразованиями выявлено статистически значимое увеличение ИЛ-6 и его растворимого рецептора, сочетающееся с повышением ИЛ-10. При множественном характере папиллом отмечается значительное повышение ИЛ-13 и TGF-β1. Повышенный уровень данных маркеров может характеризовать тенденцию к более выраженному образованию фиброзной ткани на месте удаленных новообразований у пациенток данной подгруппы. При локализации папиллом на коже туловища по сравнению с группой контроля выявлено статистически значимое повышение значений большинства исследуемых цитокинов, сочетающееся достоверным повышением ИЛ-4, по сравнению с показателями в подгруппе с локализацией новообразований в аногенитальной области – 5,30 пг/мл ± 0,80 пг/мл против 1,03 пг/мл ± 0,01 пг/мл ( $p < 0,001$ ), и ИЛ-10, уровень которого превосходил значения в остальных подгруппах. При локализации папиллом на коже и/или слизистых оболочках аногенитальной области выявлены достоверно более высокие уровни растворимых рецепторов к ИЛ-6 и TNFα, по сравнению с показателями при других локализациях. При смешанном характере новообразований отмечалось максимальное статистически значимое увеличение ИЛ-13 и TGF-β1 по сравнению с локализацией папиллом на коже туловища и смешанном их расположении.

Полученные данные характеризуют дисбаланс цитокиновой регуляции у пациенток исследуемых групп. С целью выявления превалирующей реакции, были оценены показатели коэффициента соотношения про- и противовоспалительных цитокинов TNFα+ИЛ-6+ИЛ-17/ИЛ-10 (табл.1).

Полученные результаты характеризуют достоверное повышение индекса более чем в 3 раза, по сравнению с группой контроля и остальными группами ( $p < 0,001$ ), в подгруппе с локализацией папиллом на коже и/или слизистых оболочках аногенитальной области, что характеризует преобладание провоспалительных механизмов у пациенток данной подгруппы. Также статистически значимое повышение провоспалительных механизмов

отмечалось в подгруппе со смешанной локализацией новообразований по сравнению с их расположением на коже туловища и контрольной группой. В группах пациенток молодого возраста, при единичном характере папиллом и их локализации на коже туловища, значения индекса приобретали характер тенденции к снижению, по сравнению с группой контроля, что характеризует одновременную активацию про- и противовоспалительных механизмов с умеренным превалированием последних. В остальных группах значение индекса было близким уровню в контрольной группе.

Таблица 1

**Значение коэффициента  $TNF\alpha+IL-6+IL-17/IL-10$  у пациенток исследуемых групп**

Группы пациенток	Значение индекса
Группа контроля (p1)	1,70 ± 0,15
Основная группа (p2)	1,80 ± 0,21 p2-p8 < 0,001
Группа 18 – 44 лет (p3)	1,62 ± 0,12 p3-p8 < 0,001
Группа 44 – 59 лет (p4)	2,02 ± 0,17 p4-p8 < 0,001
Группа с единичными новообразованиями (p5)	1,65 ± 0,14 p5-p8 < 0,001
Группа с множественными новообразованиями (p6)	2,07 ± 0,23 p6-p8 < 0,001
Подгруппа с локализацией новообразований на коже тела (p7)	1,34 ± 0,17 p7-p8 < 0,001
Подгруппа с локализацией новообразований на коже и/или слизистых оболочках аногенитальной области (p8)	5,4 ± 0,31*** p8-p9 < 0,001
Подгруппа со смешанной локализацией новообразований (p9)	2,41 ± 0,15** p7-p9 < 0,001

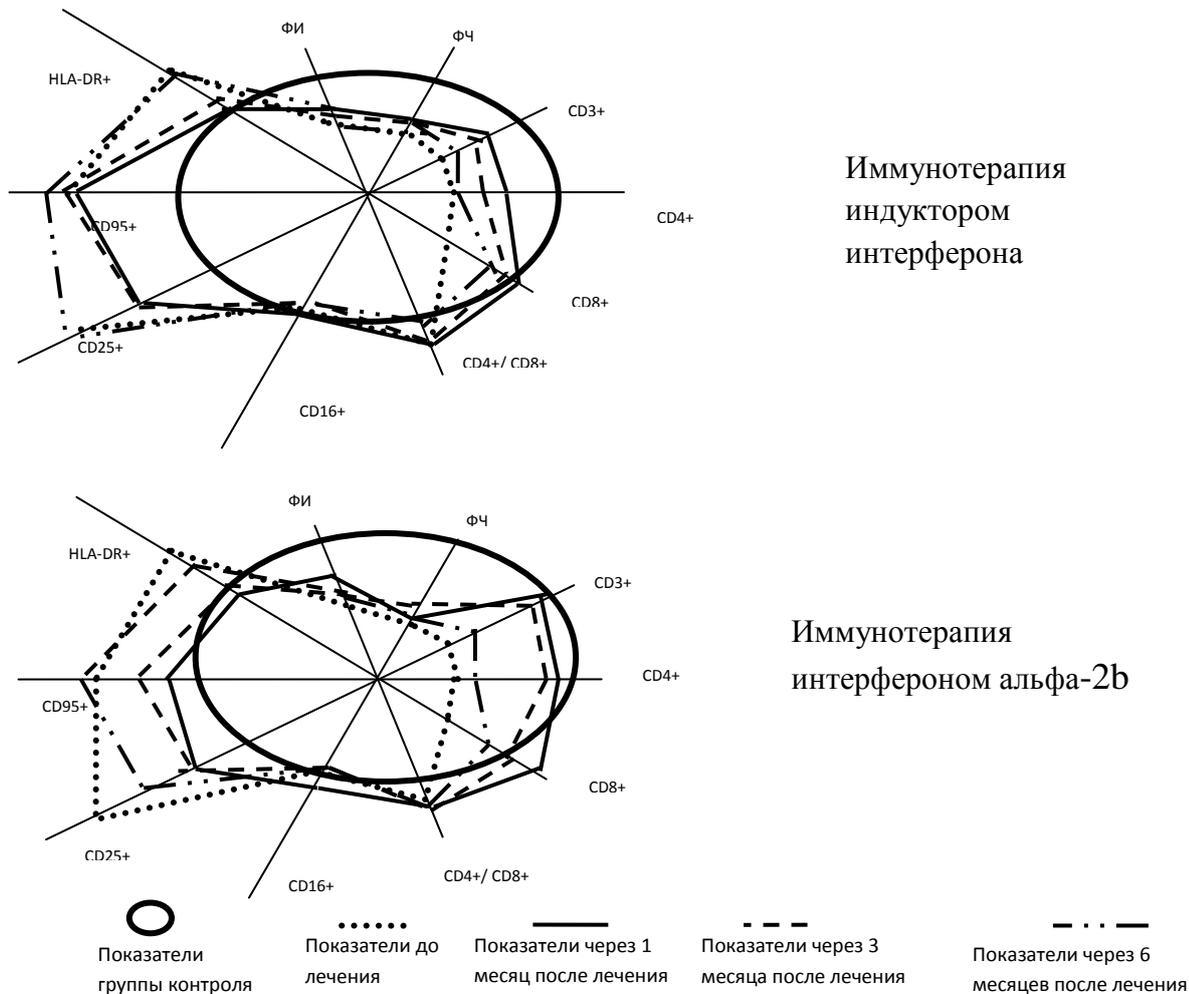
Примечание: статистическая достоверность различий показателей с группой контроля:

p < 0,05 – \*; p < 0,01 – \*\*; p < 0,001 – \*\*\*

Учитывая выявленный дисбаланс цитокиновой регуляции, был рассчитан коэффициент соотношения оппозитных цитокинов IL-4+IL-13/IFN- $\gamma$ , который позволяет определить преобладание Th2 или Th1 ответа у пациенток исследуемых групп. Установлено, что клеточный иммунный ответ в исследуемых группах не однороден: в группе молодого возраста, при локализации на коже туловища, аногенитальной области и единичном характере новообразований преобладает Th1-лимфоцитарный тип ответа. Данные изменения связаны с эффектами IFN- $\gamma$ , одной из функций которого является усиление представления антигенов, в том числе вирусных, Т-лимфоцитам, что способствует развитию адекватного противовирусного иммунитета. В группах пациенток зрелого возраста, при множественном характере и смешанной локализации папиллом, более выражен Th2 иммунный ответ. Наличие Th2 типа иммунного реагирования позволяет прогнозировать длительное рецидивирующее течение инфекционного процесса с вероятным развитием злокачественной трансформации тканей.

На следующем этапе исследования была проведена оценка динамики показателей иммунного и цитокинового статуса на фоне лечения у пациенток с единичными папилломами (методом лазерной или радиоволновой деструкции в схеме монотерапии), а также пациенток с множественными новообразованиями различной локализации (методом лазерной или радиоволновой деструкции в сочетании с применением препаратов индуктора интерферона или интерферона альфа-2b).

Оценивая динамику изменений основных показателей иммунограммы в зависимости от вида физической деструкции, варианта иммунотерапии и комбинации методов лечения, более выраженные положительные изменения зафиксированы при комплексной терапии с проведением радиоволновой деструкции. При анализе показателей через 3 месяца после лечения статистически значимые положительные изменения уровня Т-лимфоцитов регистрировались только в подгруппах женщин, получивших заместительную терапию препаратом интерферона альфа-2b. Спустя 6 месяцев после лечения практически во всех подгруппах уровни всех исследуемых маркеров вернулись к показателям до лечения (рис. 1.).



**Рис. 1.** Динамика показателей иммунного статуса женщин с ПВИ кожи до и после лечения методом лазерной деструкции в сочетании с индуктором интерферона или интерфероном альфа-2b (комбинированная терапия)

Анализируя динамику изменений основных показателей цитокинового профиля, более выраженные положительные изменения также выявлены при комплексной терапии с проведением радиоволновой деструкции. Однако при смешанной локализации папиллом и их расположении в аногенитальной области изменения содержания цитокинов в сыворотке крови после лечения носят минимальный характер.

Через 3 месяца после лечения наличие статистически значимых положительных изменений уровня цитокинов регистрировалось только у пациенток, получивших заместительную терапию препаратом интерферона альфа-2b. Спустя 6 месяцев после лечения практически во всех подгруппах уровни всех исследуемых маркеров вернулись к показателям до лечения.

Учитывая тот факт, что до лечения у пациенток подгруппы со смешанными новообразованиями выявлен Th2 иммунный ответ, был рассчитан коэффициент соотношения оппозитных цитокинов IL-4+IL-13/IFN- $\gamma$  у пациенток данной подгруппы в зависимости от вида иммунотерапии и времени наблюдения (табл.2).

Таблица 2

**Коэффициент соотношения оппозитных цитокинов IL-4+IL-13/IFN- $\gamma$  у пациенток подгруппы со смешанной локализацией папиллом в зависимости от вида иммунотерапии и времени наблюдения**

Группы пациенток		Значение индекса	Тип иммунного ответа
Группа контроля		3,60 ± 0,20	Th1/Th2
До лечения (p1)		5,94 ± 0,27***	Th2
Иммунотерапия индуктором интерферона	Через 1 месяц (p2)	4,06 ± 0,34 p1-p2 < 0,01	Th1/Th2
	Через 3 месяца (p3)	4,97 ± 0,27*** p1-p3 < 0,05	Th2
	Через 6 месяцев (p4)	4,88 ± 0,31** p1-p4 < 0,05	Th2
Иммунотерапия интерфероном альфа-2b	Через 1 месяц (p5)	2,87 ± 0,25*** p1-p5 < 0,001	Th1
	Через 3 месяца (p6)	3,99 ± 0,26 p1-p6 < 0,001	Th1/Th2
	Через 6 месяцев (p7)	3,95 ± 0,25 p1-p7 < 0,001	Th1/Th2

Примечание: статистическая достоверность различий показателей с группой контроля: p < 0,05 – \*; p < 0,01 – \*\*; p < 0,001 – \*\*\*

В подгруппе женщин, получивших терапию индуктором интерферона, в 1-й месяц после лечения наблюдается снижение уровня коэффициента по сравнению с показателями до лечения (p < 0,01), не достигшее показателей контрольной группы. Данные изменения характеризуют снижение напряженности и формирование смешанного Th1/Th2 варианта иммунного ответа. При наблюдении через 3 и 6 месяцев выявленные изменения коэффициента характеризуют возврат варианта иммунного реагирования к Th2-типу.

В подгруппе женщин со смешанным характером новообразований, получавших терапию препаратом интерферона альфа-2b, в 1-й месяц исследования отмечено снижение уровня коэффициента, что свидетельствует о

переходе Th2 иммунного ответа в Th1. При дальнейшем наблюдении в 3-й и 6-й месяцы значение индекса было близким к уровню контрольной группы ( $p > 0,05$ ), но достоверно ниже, чем до лечения ( $p < 0,001$ ), что характеризует у данных пациенток формирование смешанного Th1/Th2 типа иммунного ответа.

Принимая во внимание динамику развития рецидивов в исследуемых подгруппах, был оценен коэффициент относительного риска (RR), характеризующий риск развития рецидива папилломавирусной инфекции (табл. 3).

Таблица 3

**Значение коэффициента относительного риска (RR)  
в исследуемых группах**

Исследуемые подгруппы	Коэффициент относительного риска (RR)
Монотерапия лазерная деструкция /монотерапия радиоволновая деструкция	1,30
Монотерапия лазерная деструкция /комбинированная лазерная деструкция + индуктор интерферона	2,06
Монотерапия лазерная деструкция /комбинированная лазерная деструкция + интерферон альфа-2b	4,22
Монотерапия радиоволновая деструкция / комбинированная радиоволновая деструкция + индуктор интерферона	1,13
Монотерапия радиоволновая деструкция / комбинированная радиоволновая деструкция + интерферон альфа-2b	2,08
Комбинированная радиоволновая деструкция + индуктор интерферона / комбинированная радиоволновая деструкция + интерферон альфа-2b	1,85
Комбинированная лазерная деструкция + индуктор интерферона / комбинированная лазерная деструкция + интерферон альфа-2b	2,20
Комбинированная радиоволновая деструкция + индуктор интерферона (новообразования кожи туловища) / комбинированная радиоволновая деструкция + интерферон альфа-2b (новообразования кожи туловища)	2,41
Комбинированная радиоволновая деструкция + индуктор интерферона (новообразования аногенитальной области) / комбинированная радиоволновая деструкция + интерферон альфа-2b (новообразования аногенитальной области)	1,79
Комбинированная радиоволновая деструкция + индуктор интерферона (новообразования смешанной локализации) /комбинированная радиоволновая деструкция + интерферон альфа-2b (новообразования смешанной локализации)	1,47

Полученные результаты сравнения групп констатируют более высокую вероятность развития рецидива заболевания у женщин, получивших лечение

методом монотерапии, по сравнению с комбинированным методом; при лечении методом лазерной деструкции в сочетании с иммунотерапией, по сравнению с радиоволновой; при использовании в схемах комбинированной терапии индуктора интерферона, по сравнению с препаратом интерферона альфа-2b.

Выявленные изменения параметров иммунного и цитокинового статуса в динамике объясняют полученную клиническую оценку эффективности терапии: на 3-м месяце наблюдения случаи рецидивирования отмечены только в подгруппах, проходивших лечение методом монотерапии (2,99%, 5 случаев). Увеличение количества рецидивов вирусного процесса было зарегистрировано к 6-му месяцу наблюдения (7,78 %, 13 случаев), преимущественно у пациенток, получивших комбинированную терапию с препаратом индуктора интерферона (тилорон). К 12-му месяцу после проведенного лечения случаи рецидивов отмечены в равной степени во всех основных сравниваемых группах, что не исключает вероятность реинфицирования папилломавирусной инфекции.

На основе проведенного анализа полученных данных были предложены алгоритмы ведения пациентов с различным характером и локализацией новообразований, связанных с папилломавирусной инфекцией.

## **ВЫВОДЫ**

1. Папилломавирусная инфекция у пациенток старше 45 лет по сравнению с женщинами молодого возраста в 2 раза чаще длится более 5 лет, характеризуется крупными папилломатозными элементами и рецидивирует в 1,4 раза чаще.

2. Во всех подгруппах выявлено снижение общего числа Т-лимфоцитов, в основном за счет уменьшения количества Т-хелперов, при относительно стабильном количестве цитотоксических лимфоцитов. При локализации новообразований на коже туловища выявлена активация клеточного иммунного ответа. Практически во всех подгруппах отмечено усиление индукционно-активационного апоптоза. При множественных новообразованиях и смешанной их локализации выявлен дисбаланс гуморальной иммунной защиты, характеризующийся увеличением уровня IgM.

3. Изменения показателей про- и противовоспалительных цитокинов у пациенток молодого возраста с папилломавирусной инфекцией

характеризовались усилением противовирусного иммунитета и противоопухолевой защиты организма, у пациенток зрелого возраста, при множественных папилломах – усилением образования фиброзной ткани на месте удаленных новообразований. Клеточный (Th1) тип иммунного ответа определен у пациенток молодого возраста, при единичных папилломах, их локализации на коже туловища и аногенитальной области, гуморальный (Th2) – у пациенток зрелого возраста, при множественном характере новообразований и смешанном их расположении.

4. Более высокая (в 2,4 раза) вероятность развития рецидива заболевания наблюдается у женщин, получивших лечение методом монотерапии, по сравнению с комбинированным методом; в 1,3 раза – при лечении методом лазерной деструкции в сочетании с иммунотерапией, по сравнению с радиоволновой; в 1,94 раза – при использовании в схемах комбинированной терапии индуктора интерферона, по сравнению с препаратом интерферона альфа-2b.

5. Применение в комбинированной терапии у женщин с папилломавирусной инфекцией индуктора интерферона (тилорон) обеспечило переход Th2 на смешанный Th1/Th2 тип иммунного ответа в 1-й месяц после терапии с возвратом к Th2-типу на 3-й месяц исследования и приводило к отсутствию рецидивирования в 78,3 % случаев.

6. Применение в комбинированной терапии женщин с папилломавирусной инфекцией рекомбинантного интерферона альфа-2b (реаферон-ЕС-липид) способствовало переходу типа иммунного ответа с Th2 на Th1 в 1-й месяц после проведенной терапии, который в последующем, к 3-му и 6-му месяцу наблюдения трансформировался в смешанный Th1/Th2 тип иммунного ответа и к отсутствию рецидивирования в 88 % случаев.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При локализации папиллом на коже туловища, их единичном количестве и размерах до 5 мм рекомендуется лазерная деструкция с использованием лазерной установки «Яхрома-Мед» в неабляционном режиме. При множественном характере и размерах папиллом более 6 мм целесообразна радиоволновая деструкция с применением радиохирургического прибора «Сургитрон™» или в сочетании с иммунными препаратами (индуктор

интерферона (тилорон) – в первые 2 дня лечения по 125 мг/сутки, затем по 125 мг через 48 ч, курсовая доза – 1,25 г или препарат интерферона альфа-2b (реаферон-ЕС-липинт) – за 30 мин до еды в дозе по 500 тыс. МЕ 2 раза/сут в течение 10 дней, курсовая доза – 10 млн. МЕ).

2. При расположении папиллом в аногенитальной области и их единичном количестве рекомендуется радиоволновая деструкция в сочетании с препаратом индуктора интерферона – тилорон (в первые 2 дня лечения по 125 мг/сутки, затем по 125 мг через 48 ч, курсовая доза – 1,25 г) с проведением повторного курса иммунотерапии через 3 месяца. При множественном характере новообразований, связанных с папилломавирусной инфекцией, рекомендуется назначение радиоволновой деструкции в сочетании с препаратом интерферона альфа-2b – реаферон-ЕС-липинт (за 30 мин до еды в дозе по 500 тыс. МЕ 2 раза/сут. в течение 10 дней, курсовая доза – 10 млн. МЕ).

3. При смешанном характере новообразований при различном количестве папиллом рекомендуем назначение радиоволновой деструкции в сочетании с препаратом человеческого рекомбинантного интерферона альфа-2b с повторным курсом через 6 месяцев для пролонгирования иммуномодулирующего результата.

4. Изменения параметров иммунного статуса и динамики клинической картины через 6 месяцев после лечения позволяют рекомендовать применение индуктора интерферона повторно через 3–4 месяца с целью пролонгирования иммуномодулирующего результата и профилактики рецидивирования, а препарата интерферона альфа-2b – не позднее, чем через 6 месяцев.

#### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Кизей И. Н., Наумчик Г. А., Серeda Н. Б. Современные представления об этиопатогенезе папилломавирусной инфекции // **Тихоокеанский медицинский журнал**. 2010. № 3. С. 10-15, автора – 0,25 п.л.

2. Маркелова Е. В., Юцковская Я. А., Кизей И. Н., Наумчик Г. А., Серeda Н. Б. Состояние цитокинового статуса при папилломавирусной инфекции кожи и патогенетическое обоснование методов лечения // **Экспериментальная и клиническая дерматокосметология**. 2010. №5 С. 7-12, автора – 0,15 п.л.

3. Юцковская Я. А., Кизей И. Н., Наумчик Г. А., Спорыхина Т. Д.

Уровень ИЛ-10 при папилломавирусной инфекции кожи // Российский иммунологический журнал. 2008. Том 2 (11). № 2-3. С. 249, автора – 0,03 п.л.

4. Маркелова Е. В., Юцковская Я. А., Кизей И. Н., **Наумчик Г. А.** К проблеме лечения вирусных папиллом кожи // Сибирский журнал дерматологии и венерологии. 2008. № 9. С. 26-31, автора – 0,20 п.л.

5. Маркелова Е. В., Юцковская Я. А., Кизей И. Н., **Наумчик Г. А.**, Середа Н. Б. Папилломавирусная инфекция кожи – современные взгляды на этиопатогенез и роль иммунных нарушений // Дальневосточный вестник дерматовенерологии, косметологии и пластической хирургии. 2010. № 1 (7). С. 18-21, автора – 0,08 п.л.

6. Юцковская Я. А., Маркелова Е. В., Кизей И. Н., **Наумчик Г. А.** Современные подходы к лечению вирусных папиллом кожи // Аллергология и клиническая иммунология – междисциплинарные вопросы : труды национальной конференции // Российский аллергологический журнал. Приложение 1. 2008. № 1. С. 367-368, автора – 0,06 п.л.

7. Маркелова Е. В., Юцковская Я. А., Кизей И. Н., **Наумчик Г. А.** Особенности цитокинового статуса у пациентов с множественными вирусными папилломами кожи // Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии : сборник трудов X Международного конгресса, посвященного 100-летию со дня рождения академика А.Д. Адо, Казань-2009 // Российский аллергологический журнал. 2009. № 3. С. 468-469, автора – 0,06 п.л.

8. **Наумчик Г. А.** Структура обращаемости пациентов с вирусными заболеваниями кожи // Актуальные проблемы экспериментальной, профилактической и клинической медицины : тезисы докладов IX Тихоокеанской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. Владивосток, 2008. С. 285, автора – 0,13 п.л.

9. **Наумчик Г. А.**, Петрикеева Т.Ю. Анализ обращаемости пациентов с вирусом папилломы человека // Актуальные проблемы экспериментальной, профилактической и клинической медицины : тезисы докладов IX Тихоокеанской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. Владивосток, 2008. С. 286, автора – 0,06 п.л.

10. **Наумчик Г. А.**, Петрикеева Т. Ю. Состояние иммунного и цитокинового статуса у пациентов с вирусными папилломами кожи // Актуальные проблемы экспериментальной, профилактической и клинической медицины : тезисы докладов IX Тихоокеанской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. Владивосток, 2009. С. 58-59, автора – 0,13 п.л.

11. Юцковская Я. А., Маркелова Е. В., Кизей И. Н., **Наумчик Г. А.**, Кусая Н. В. Тактика лечения вирусных папиллом кожи в практике врача-дерматолога в условиях специализированной косметологической клиники // Актуальные вопросы врачебной косметологии : материалы научно-практической конференции. Иркутск, 2007. С. 170-177, автора – 0,20 п.л.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ПВИ	папилломавирусная инфекция
ФИ	фагоцитарный индекс
ФЧ	фагоцитарное число
ЦИК	циркулирующие иммунные комплексы
HLA-DR	маркер активации лимфоцитов
IFN	интерферон
Ig	иммуноглобулины
IL	интерлейкин
sR	растворимые рецепторы
sTNF RII	растворимый рецептор к фактору некроза опухоли
TGF	трансформирующий фактор роста
Th1	T-лимфоциты – хелперы 1 типа
Th2	T-лимфоциты – хелперы 2 типа
TNF	фактор некроза опухоли
T-reg	регуляторные T-лимфоциты