

ДУ "Інститут урології НАМН України"

Відділ сексопатології та андрології



З В І Т на тему:

„Оцінка клінічної ефективності використання Протефлазіду в терапії
хронічних запальних захворювань геніталій, ускладнених
папіломавірусною інфекцією”

Виконавець доктор мед. наук

О.В.Ромашченко

Керівник відділу сексопатології
та андрології, професор

I.I.Горпинченко

КИЇВ-2010

Огляд літератури.

Ушкодження геніталій вірусом папіломи.

Історично склалось так, що перші повідомлення про папіломавірусну інфекцію було зроблено в Древній Греції лікарями при спробі інтерпретації стану, що супроводжував з'явлення на геніталіях канділом („статевих бородавок”).

В другій половині XIX сторіччя, з вдосконаленням методології діагностики і інтерпретації виявлення вірусної інфекції, з конділом було виділено віруси. В другій половині наступного ХХ століття встановлено своєрідне ушкодження епітеліальних клітин при папіломавірусній інфекції та вперше було описано перелік характерних змін саме на клітинному рівні з боку шийки матки при ушкодженні папіломавірусною інфекцією(1). Було встановлено, що у вогнищі цервікальної інтраепітеліальної неоплазії (CIN,ЦН) було виділено та типовано різні види віrusа папіломи. Саме це стало підставою для визначення причетності папіломавірусної інфекції до формування інтраепітеліальної неоплазії шийки матки (2). Накопичення клінічного та експериментального матеріалу, як підтвердження даної гіпотези, свідчить про значні ризики, що пов'язані з папіломавірусною інфекцією не лише стосовно здоров'я, але й життя людини (3).

Останнім часом відмічено зростання частоти ушкодження геніталій папіломавірусною інфекцією у жінок: від 5,0 до 85,7% (в залежності від регіону дослідження).

На особливу увагу заслуговує тенденція щодо зростання частоти виявлення папіломатоза геніталій серед жінок репродуктивного віку, а саме 18-28 років. ВПЛ-інфекція останнім часом активно поширюється серед підлітків, що передчасно розпочинають статеве життя (4,5).

Тому, ранній початок статевого життя з чисельними партнерами при недостатньому рівні статової культури, проміскуїтет – основні фактори ризику зростання частоти ушкодження геніталій ВПЛ-інфекцією, а вірус папіломи людини віднесено до трансмісивних інфекцій. Враховуючи

асоційований характер ушкодження урогенітального тракту одночасно з групою чинників (мікст-інфекція), саме вірусу папіломи притаманна синергічна дія стосовно інших збудників та суприсивний вплив на стан системного та локального імунного захисту (6).

ВПЛ-ікосаедеричний, що містить ДНК, відноситься до папіломавірусів з двохцепочкою ДНК. Геному ВПЛ притаманний функціональний розподіл на два фрагменти: ранній та пізній(7).

Ранній фрагмент, що забезпечує 70%, визначає:

- репродукцію віrusa;
- трансформацію клітин, ушкоджених ВПЛ.

Вірусний геном існує в двох формах:

- епісомальній;
- інтегрованій.

Слід зазначити, що при цервікальній інтраепітеліальній неоплазії встановлено вірус у епісомальній формі, а при пухлинному рості - в інтегрованій (8,9). ВПЛ не містить ліпідів, інактивується розчинниками жирів. ВПЛ притаманний високий тропізм до клітин, що вистилають анус, сечові та статеві шляхи(10).

ВПЛ-високоkontагіозний з інкубаційним періодом, в середньому, від 3 до 4 місяців (інколи можливо від 4 тижнів до років). На думку деяких авторів, вірус може знаходитись в організмі тривалий час без формування плоскоклітинних перетворень (11).

Можливо, активна передача віrusu з ушкодженням як слизових оболонок, так і шкіри, ВПЛ притаманне активне розмноження на поверхневих шарах шкіри: першопочатково потрапляє в більш поглиблени прошарки, ділиться, переміщаючись до поверхні, і врешті-решт, створюється зручний резервуар для реплікації віrusa(12,13).

ВПЛ в 10-12% випадків схильний до регресії на протязі 4-6 місяців, при цьому впливає значною мірою на стан системного та локального імунного захисту (14,15,16).

ВПЛ спроможний до персистенції в проміжному прошарку плоского епітелію шийки матки тривалий час, що пояснює чисельні рецидиви захворювання. Виділяючи вікові особливості щодо активності ВПЛ, слід зазначити, що серед жінок юного та молодого віку частота регресії вірусу найвища, водночас серед пацієнток в період менопаузи даний вірус роками може персистувати в організмі і, врешті-решт, спричиняти виникнення неопластичних процесів(17).

В умовах сьогодення виділено понад 100 типів вірусу папіломи людини, серед яких 70- з притаманною тропністю до епітелію людини.

На особливу увагу заслуговують типи ВПЛ, що спричиняють виникненню цервікальної інтраепітеліальної неоплазії (ЦН), а саме 16,18,31,33(18,19). Можливі різнопланові асоціації типів вірусу. Аногенітальний рак асоціюється з ВПЛ 6,16,18,11,31,33, а злоякісні переродження конділом - в пухлину Бушке-Левенштейна (ВПЛ 6 та 11 типів).

Всі типи ВПЛ розподілено на віруси високого, середнього, низького онкологічного ризику. Так, відомо, що ВПЛ 6 та 11 типів віднесено до низьких онкотипів, 42,48,45 – середніх онкотипів, 16,18,31,33- високо онкогенних.

Папіломавіруси інфікують незрілі клітини, що діляться і поширяються на базальному прошарку або на межі епітеліїв (зона трансформації багатошарового плоского та циліндричного епітелію) особливо активно за умови наявності мікротравм(20).

За клінічним перебігом при ПВЛ-інфекції виділяють клінічну, субклінічну та латентні форми. Клінічна форма інфекції ВПЛ супроводжується формуванням екзофітних та ендофітних конділом, що візуалізуються в типових для локалізації місцях (вульві, піхві, шийці матки) а також симптоматично внутрішньоепітеліальні неоплазії на ранніх стадіях, що підтверджуються гістологічно за наявності койлоцитозу, дискератозу(21).

Субклінічну форму діагностують за умови проведення розширеної колъпоскопії з використанням проби з 3% уксусною кислотою. Як правило за відсутності клінічних симптомів гістологічно виявляють койлоцитоз, дискератоз(22).

Латентна ПВІ характеризується відсутністю клінічних, морфологічних, цитологічних відхилень при виявленні ДНК ВПЛ при проведенні молекулярно-біологічної діагностики.

Кофакторами у розвитку захворювань, спричинених ВПЛ, що можуть в решті привести до церві кальних інтраепітеліальних неоплазій та рака шийки матки є порушення клітинного та гуморального імунітету. При ПВЛ є типовим зниження секреторного Ig A в слизу цервікального каналу (23).

Передбачають можливість генетичної схильності до відповідних клітинних імунних реакцій та ступеню експресії цитокінів при ВПЛ.

Первинна імунна реакція на інфікування ВПЛ проявляється першопочатково з боку клітин Лангенгарса, кераноцитів, інтраепітеліальних лімфоцитів. На особливу увагу заслуговують фактори неспецифічного імунного захисту (цитокіни): інтерлейкін-2 та гама-інтерферон як імуностимулятори, спроможні обмежувати пухлинний ріст, водночас, інтерлейкін 4 та інтерлейкін 10, обумовлюють стимуляцію пухлинного росту (24,25,26).

Основними противірусними цитокінами є інтерферони. Саме вони проявляють антипроліферативну та імуномодуючу функції. Інтерферони стимулюють апоптоз-запрограмовану загибель клітин, що забезпечує обмеження поширення віруса та підвищення антивірусного статусу інфікованих клітин. Об'єктивним відображенням функціонального стану ІФН є показники ІФН-статусу. В нормі ІФН-статус організму, як правило, характеризується низькими концентраціями ІФН в сироватці крові (4ОД/мл) їй вираженою спроможністю лейкоцитів що до синтезу ІФН-гама *in vitro* у відповідь на адекватну індукцію. Слід зазначити, що виявлення в крові циркулюючого ІФА свідчить про наявність в організмі саме в момент

спостереження гострого або ж загострення хронічного запального процесу (27).

Визначено, що у жінок з хронічними запальними захворюваннями геніталій ІФН-статус характеризується різким пригніченням, а в деяких випадках, і повною відсутністю гама-ІФН продукуючої здібності лейкоцитів, що характерно для гінекологічних хворих з хронічною рецидивуючою вірусною інфекцією, папіломавірусною інфекцією (28,29,30,31). Це зрозуміло саме з того приводу, що система ІФН є найбільш важливим компонентом природної противірусної резистентності організму людини.

Противірусна активність ІФН обумовлена здібністю, з одного боку, індукувати стан резистентності щодо вірусної реплікації в інфікованих клітинах, що мають рецептори до інтерферону, а з іншого-активувати імунні клітини(). Молекулярні механізми пригнічення ІФН реплікації різних вірусів достовірно не досліджено, однак відомо, що вони можуть змінюватись значною мірою(32,33,34,35,36).

Безпосередньо, противірусна дія ІФН при папіломавірусній інфекції може проявлятися опосередковано – через регуляцію функціональної активності імунних клітин та продукцію цитокінів. При цьому ІФН регулює розвиток CD4+-лімфоцитів та секрецію ними IL-2 та ІФН-гама, а також активує макрофаги та НК-клітини (37,38). НК-клітини є важливими клітинами імунної системи, що контролюють виникнення запальних процесів в організмі, спричинених вірусами. Вони спроможні руйнувати вірусінфіковані та пухлинні клітини, приймають участь у диференціюванні нормальніх клітин кісткового мозку та інше. Активність НК-клітин не має звичайної імунологічної специфічності, проявляється ще до приєднання факторів специфічного імунного захисту і знаходиться під контролем ІФН, IL-2 та бета-ендорфінів і, меншою мірою, вірусних продуктів та імунних комплексів (39). Доведено, що при папіломавірусній інфекції порушується здібність природних кілерів розпізнавати на інфікованих вірусом клітинах антигенні структури, що може бути обумовлено маскуванням, або ж втратою

останніх. Однак, можливі й інші механізми супресії, так як, наприклад, хірургічне видалення пухлин і вогнищ конділоматоза, індукованих ВПЛ, або ж їх спонтанна регресія супроводжуються нормалізацією активності НК клітин *in vitro* стосовно клітин, що містять вірусну ДНК. Не виключено, що пригнічення НК-клітин при ПВІ може бути наслідком безпосередньої інгібуючої дії ушкоджених ВПЛ клітин, як це властиво іншим вірусам (40), та або спричинено порушенням продукції тих факторів, що контролюють їх активність.

Оцінка рівня природної цитотоксичної активності є інформативною при прогнозуванні клінічного перебігу захворювання а також наслідків інфікування геніталій ВПЛ (41).

Доведено, що при ВПЛ-інфекції регуляторні та ефекторні популяції Т-лімфоцитів розпізнають антигени вірусів в комплексі з молекулами I та II класів головного комплексу гістосумісності (ГКГС), котрі представляються антигенпредставляючим клітинам (АПК) або експресуються на інфікованих клітинах-мішенях. Водночас, ВПЛ може порушувати етапність процесінгу вірусних антигенів в АПК. Однак, доведено, що на пухлинних клітинах, що вміщують ДНК ВПЛ інтегровану, або неінтегровану в ДНК господаря, вірусні антигени можуть бути відсутніми (42). Це обумовлює порушення розпізнавання вірусних антигенных детермінант Т-лімфоцитами та, як наслідок, послаблення імунної відповіді на ВПЛ-інфекцію.

До основних механізмів захисту організма при вірусних інфекціях відносять дію антигенспецифічних цитотоксичних Т-лімфоцитів, спроможних руйнувати клітини, що містять віруси та пухлинні клітини (43). На експериментальних моделях доведено, що імунізація мишей синтетичними пептидами, імітуючими ділянки амінокислотної послідовності антигенных детермінант ВПЛ, індукує цитотоксичні CD8+- клітини. CD8+- лімфоцити руйнували *in vitro* клітини, експресуючі білки ВПЛ та пухлинні клітини(44). При ПВЛ-інфекції імунна відповідь поєднує HLA-обмежене безпосереднє руйнування інфікованих вірусами цитотоксичними Т-лімфоцитами,

специфічним антигеном ВПЛ, тобто реакції клітинного імунітету спрямовані проти інфікованих ВПЛ та пухлинних клітин і є імунологічно специфічними. Водночас, при ПВЛ-інфекції та обумовлених нею захворюваннях геніталій, клітинний імунітет пригнічено. Саме ці процеси було доведено і розкрито при досліджені проліферативної активності Т-клітин та при аналізі цитокінового статусу (45).

Відомо, що розвиток імунної відповіді щодо вірусів, як і на інші антигени, спричинено дією різноманітних клітинних та гуморальних факторів, серед яких в першу чергу виділяють цитоціни Т-хелперів (46). На підставі функціональних особливостей і спектра продукованих цитокінів Т-клітини з хелперною функцією класифікуються не менш як на три клони- Thy0, Thy1, Thy2 (47). Клітинний імунітет при вірусних інфекціях, як і при розвитку пухлин, регулюється цитокінами Thy1 клітин- IL2, ІФН-гама(48). Продуковані Thy1- клітинами IL2 та ІФН-гама – є провідними цитокінами, що регулюють розвиток клітинного імунітету при ВПЛ-інфекції та асоційованих з нею пухлинних процесах (49).

Дисфункція в системі імунітету при розвитку ВПЛ-інфекції ідентифікована на рівні системної імунної відповіді. Однак, ВПЛ, що поширюється через епітелій статевих шляхів, індукує також порушення імунної відповіді на рівні поверхні слизових оболонок (46). Місцевий імунітет при ВПЛ-інфекції досліджено недосконало, хоча саме він є механізмом, втягнутим в передачу ВПЛ статевим шляхом. Основна роль в місцевій імунній відповіді при ВПЛ, як уже відмічалось, належить інтраепітеліальним лімфоцитам, кератиноцитам та клітинам Лангерганса (49).

Можна узагальнити, що при ВПЛ та поєднаних із нею захворюваннях сечової та статевої системи порушуються системна та клітинна імунна відповіді. В першу чергу пригнічується активність Т-лімфоцитів, НК-клітин, спостерігається зсув цитокінового профіля. Саме поєднання цих змін визначає дію вірусних продуктів на формування специфічних та

неспецифічних імунологічних реакцій. Механізми пригнічення клітинного імунного захисту при ВПЛ не досліджено повністю.

Клінічно виражену папіломавірусну інфекцію представлено гострокінцевими кондиломами вульви, шийки матки, піхви. Це бородавчасті виступи з пом'якшеною основою, що не спаяна з оточуючою тканиною.

Конділоми-утворення з багатошарового епітелію з ознаками гіперкератозу, акантозу, гіперплазії клітин базального та парабазального прошарків. При злитті декількох кондилом утворюються відповідні угрупування- конділоматоз.

На зовнішніх статевих органах з'являються екзофітні конділоми чотирьох видів:

1. Мікроконділоми;
2. Гіперпластичний конділоматоз (гострокінцеві епітеліальні розростання, на верхівці кондилом розміщена, як правило, кінцева гілка судин);
3. Папульозний тип (часто розміщується на промежині зі схильністю до дисемінації);
4. Бородавчатий-нагадує вульварні бородавки, виявляється на зовнішній поверхні великих статевих губ, промежині, паховій складці.

Діагностику клінічно виражених форм ВПЛ-інфекції слід проводити з урахуванням:

- візуального огляду,
- гінекологічного огляду,
- розширеної кольпоскопії,
- вульвоскопії.

Кольпоскопічно гострокінцеві кондиломи візуалізуються у вигляді як окремих елементів, так і сливних бляшок, з притаманною яскраво вираженою судинною реакцією та йод-яскравим зафарбуванням (1,4,26).

При аплікації оцовою кислотою зони вульварної інтраепітеліальної неоплазії можуть виглядати як нечітко окреслені пласти оцово-білого епітелію.

Прогностично несприятливим є виявлення мозаїчної пунктуації на вульві, що типово при інфікуванні ВПЛ 16,18 типу і морфологічно підтверджується інтраепітеліальна неоплазія вульви різного ступеню важкості.

Серед методик кольпоскопії виділяють:

просту кольпоскопію – огляд шийки матки при стандартному збільшенні без використання медикаментозних засобів;

розширену кольпоскопію із використанням препаратів, що є епітеліальними та судинними тестерами. Віддається перевага пробі з оцовою кислотою та 2% розчином Люголя (проба Шиллера). 3% розчин оцової кислоти розчиняє цервікальний слиз. За рахунок короткосрочного набряку епітелію відбувається зміна кольору циліндричного епітелію – він стає блідим за рахунок малої товщини та близькості судин. Багатошаровий епітелій із-за його багатошаровості майже не змінює свій колір. За умови атипічної трансформації багатошарового плоского епітелію з'являються зміни з акантотичними виростами, ознаками паракератозу, розшируються кінцеві відділи атипових судин, що добре візуалізуються.

При проведенні проби Шиллера передбачається використання йоду: зрілі клітини багатошарового плоского епітелію накопичують глікоген, з характерною для нього тропністю до йоду, що супроводжується з'явленням темно-коричневого зафарбування (йод-позитивні ділянки). При формуванні клітин з глікогеном саме тими, що не накопичують глікоген, супроводжується йод-негативною реакцією.

При проведенні вульвоскопії, цитологічно та патоморфологічно дослідження діагностичним критерієм є виявлення койлоцитарної атипії в мазку-відбитку з вульви. Однак, слід враховувати скринінговий характер таких досліджень та їх недостатню інформативність (50).

Цитологічна класифікація ушкоджень шийки матки за рекомендаціями ВООЗ передбачає виділення цервікальних інтраепітеліальних ушкоджень легкого, середнього та високого ступеню.

Широко використовується класифікація за системою CIN

1. Норма –ПАП I.

2. Відсутність злоякісних клітинних змін, плоскоклітинна атипія, спричинена запаленням, інфекцією, впливом радіації, койлоцитоз або неспецифічна атипія.

3. CIN I – легка дисплазія.

4. CIN II – дисплазія середньої важкості.

5.CIN III – важка дисплазія.

6. Інвазивний рак шийки матки.

Золотим стандартом діагностики, що підтверджує наявність папіломавірусних ушкоджень є патоморфологічне дослідження прицільно взятих біоптатів. Гістологічно неоплазія характеризується патологічними мітозами з атипією та гіперхроматозом ядер.

До впровадження молекулярно-біологічних методів діагностики патоморфологічні дослідження вважалось провідними в діагностиці ВПЛ-інфекції . Відомо, що латентну форму ВПЛ шийки матки неможливо діагностувати колъпоскопічно, цитологічно, морфологічно. Наявність ВПЛ в біоптатах шийки матки можна виявити при латентній формі інфекції за умови наявності ДНК-віруса.

Новим напрямком в діагностиці передраку та раку шийки матки є виявлення онкопротеїнів E6 та E7 у взірцях із цервікального каналу (Polar prob). Ушкодження шийки матки ВПЛ в більшості випадків за перебігом зустрічається в субклінічній та латентній формах.

На особливу увагу в патогенезі ВПЛ-інфекції заслуговує механізм індукції раку шийки матки. Геном ВПЛ поєднує 8 генів- E6,E7,E5,E4,E2,E1,L1,L2. Ранні гени залучені в регуляцію життєвого циклу вірусів, пізні гени кодують вірусні капсидні протеїни. Головними вірусними

перетворюючими генами є E6 та E7, які впливають на геном клітини. Коли вірус інтегрується в геном клітини, кільцева ДНК відривається в ділянці генів E1 та E2, які контролюють вірусну транскрипцію. Формується нерегульована експресія E6 та E7 генів, які називають онкогенами, що супроводжується первинною та критичною зложісною трансформацією.

Отже, посилення атипії клітин шийки матки спричинено значною мірою зниженням активності апоптозу. Відповідно, дизрегуляція при злущуванні апоптичних клітин та порушення механізмів апоптозу – основна передумова розвитку передраку шийки матки і саме цю обставину слід враховувати при проведенні адекватної терапії(51).

В умовах сьогодення етіотропні препарати для лікування ВПЛ відсутні. За результатами чисельних спостережень, терапія конділоматозу зовнішніх статевих органів повинна поєднувати деструктивне лікування, спрямоване на усунення тканевої ділянки з подальшим призначенням противірусних препаратів та імуномодуляторів. Деструктивна терапія може поєднувати як хімічну коагуляцію конділом, так і фізично спрямовану дію на вогнище кондилом(52).

В якості противірусних препаратів деякі автори рекомендують призначення інтерферона та його індукторів, комплексів природних цитокінів, різних Т-клітинних імуностимуляторів.

Для попередження рецидива захворювання, спричиненого ВПЛ, в умовах сьогодення приймають рекомбінантні форми інтерферонів, індуктори ендогенного інтерферону, зовнішні форми із вмістом противірусних препаратів (53).

Використання препаратів рослинного проходження з притаманною імунотропною дією заслуговує на особливу увагу, спричинену спроможністю останніх впливати на певні ланки патологічного процесу при розвитку запальних захворювань геніталій (1). Відомо, що деякі препарати можуть проявляти противірусну активність як на рівні специфічного заторможення вірус-специфічних синтезів, так і на рівні вірус-специфічних ферментативних

реакцій. Слід зазначити, що противовірусна активність препаратів може реалізовуватися на рівні системи інтерферону (ІФН) або ж моделювання іммунної системи організму.

Відомо чимало індукторів інтерферону, що широко використовуються как в лікуванні вірусних захворювань людини. Так, доведено дозозалежний ефект дії ІФН-гама при ВПІ .

Серед найбільш перспективних сполук із серії індукторів ІФН виділяють препарати , що індукують ІФН-1-го та 2-го типу. Як відомо, деякі флавоноїди можуть бути індукторами ІФН, або взаємодіяти з компонентами системи ІФН(54).

Слід враховувати також проапоптозні і апоптозні властивості препаратів, що використовуються в лікуванні як вірусних, бактеріально-вірусних, так і бактеріальних інфекцій. Роль механізму апоптозу в елімінації ушкоджених інфікованих клітин та протидія вирусів та бактерій різних груп процесам апоптозу в клітинах активно вивчається. Причому, процеси апоптозу, пов'язані із компонентами системи ІНФ в клітинах, безпосередньо з системою 2-5- олігоаденілатсинтетази, є провідним ефекторним моментом, що визначає опосередкований вплив ІФН в клітинах (55). В цьому плані на особливу увагу заслуговують данні про те, що деякі з флавоноїдів можуть бути індукторами апоптозу в клітинах ..

На особливу увагу заслуговує препарат Протефлазід, з притаманною для нього противірусною активністю що, проявляється як *in vitro*, так і *in vivo* стосовно віrusа герпеса, везикулярного стоматита, папіломавірусної інфекції (56). Проведені нами попередні дослідження дозволили переконатись, що препарат Протефлазід дозволяє стимулювати продукцію ІФН як *in vitro*, так і *in vivo* і є індуктором як альфа- так и гама-ІФН. Протефлазід індукує синтез ІФН в помірних титрах вже через 3 години після введення препарата. Водночас, даний препарат проявляє проапоптичний ефект на моделі апоптозу, індукованого цитотоксичними препаратами, що віднесено до інгібіторів ДНК-токоізомерази II (41).

Інтерфероногенна та апоптозомодулююча спроможність препарату Протефлазід суттєво впливає на механізми противовирусної та антибактеріальної активності і може, на наш погляд, адекватно використовуватись в терапії ВПЛ-інфекції геніталій. Препарат вітчизняного виробництва Протефлазід – рідкий спиртовий екстракт, отриманий з диких злакових рослин *Deschampsia caespitosa* L. та *Calamagrostis epigeios* L. Основними біологічно активними речовинами Протефлазіда є флавоноїди подібні кварцетину (рутину), основу молекули яких складає флавоновий кисеньвмішуючий гетероцикл. Флавоноїди віднесені до природних фенольних сполук. Відмінністю спектра флавоноїдів, що вміщує Протефлазід від кварцетину обумовлено наявністю різних радикалів в ароматичній частині молекули. Специфічні властивості препарата визначаються тим, що в фармакологічному плані в умовах організму діє не один флаваноїд, а прослідковано ефект системи біохімічних перетворень з присутністю високоактивних проміжних продуктів-радикалів.

При використанні *per os*, препарат всмоктується частково у шлунку, але, переважно в тонкому відділі кишківника. Незначна кількість фавоноїдів розпадається при проходженні через печінковий бар'єр (пресистемний метаболізм), основна частина розподіляється в органах і тканинах, потрапляє в інфіковані вірусом клітини. При введенні *per os* флавоноїди препарата метаболізуються повністю, тому слідова кількість препарату не визначається не в сечі, ні в калові. У дорослих повне виведення флавоноїдів коливається від 5 до 9 годин, що свідчить про доцільність призначення препарату тричі на добу.

Протефлазіду властива противірусна дія, що обумовлена блокуванням вірусоспецифічних ферментів (тимедінкінази, ДНК-полімерази). Препарат є індуктором альфа- та гама-інтерферону, йому притаманна апоптозомодулююча та антиоксидантна активність (56). Саме ці характеристики були враховані нами при обґрунтуванні підходів до лікування ВПЛ-інфекції геніталій.

Мета роботи: оцінити ефективність використання Протефлазіду при лікуванні ВПЛ- інфекції геніталій. План проведення дослідження було узгоджено з автором препарата В.П.Атаманюком.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.

В динаміці спостереження (до та через 1,3,6 місяців після лікування) було проведено клінічне, кольпоскопічне, мікробіологічне, вірусологічне, цитологічне, імунологічне обстеження 32 жінок віком від 20 до 37 років із хронічними запальними захворюваннями органів малого тазу та ПВЛ-інфекцією (латентною формою) з давністю захворювання від 2 до 5 років.

У 32 жінок було виявлено хронічний сальпінгіт, у 22(70,0%) з них до того ж – оофорит, у 28 (,7%) - ерозії та ендоцервіцити.

Кольпоскопічне дослідження виконувалось за допомогою кольпоскопу Kolposkop E(«Carl Zeiss», Німеччина), оцінювалось за клініко-ендоскопічною класифікацією Є.В.Коханевич і К.П.Ганіної (1997) та міжнародною термінологією кольпоскопічних термінів (Рим,1990). Цитологічне дослідження мазків проводили за методикою Папенгейма та класифікацією Папаніколау.

Мікробіологічне обстеження включало виявлення бактерій різних таксономічних груп, грибів в пробах патологічного матеріалу [Меньшикова В.В., 1987; Орфіла Ж., 1990]. Як для детекції ПВЛ використовували ланцюгову полімеразну реакцію (ЛПР), проводили цитоскопічне дослідження зшкірбків із цервікального канала шийки матки, уретри. В пробах крові визначали наявність антитіл до вирусів групи герпеса (1 та 2-го типу), цитомегаловіруса [Козлова В.И. и соавт., 1997].

Стан імунітету у обстежених жінок оцінювали шляхом вивчення в динаміці спостереження показників клітинного, гуморального імунітету та неспецифічної резистентності організму [Грачова М.П., 1984; Кулаков В.И. и соавт., 1999; Матвеєва Н.К. и соавт., 1995]. Дослідження показників ІФН-

статуса включало визначення: титрів циркулюючого в крові ІФН – сироваткового інтерферону (сІФН); рівень продукції ІФН- α лейкоцитами периферичної крові при його індукції *in vitro* вірусом хвороби Ньюкасла, штам Канзас; рівень продукції ІФН- γ лімфоцитами периферичної крові при його індукції *in vitro* фітогемаглютиніном. Титрування ІФН (Од/мл) проводили за загальноприйнятою методикою [Григорян С.С. и соавт., 1995].

Результати дослідження та їх обговорення.

При обстеженні жінок із хронічними запальними захворюваннями геніталій було використано загальні принципи диференційної діагностики запальних захворювань органів малого тазу з урахуванням даних анамнезу, клініко-гінекологічного обстеження.

Тривалість захворювання у 16(50,0%) жінок не перевищувала 2 роки, у 11(34,4%) була від 2 до 4 років, у 5(15,6%) – від 4 до 5 років.

Хронічні запальні захворювання геніталій у обстежених жінок переважно (90,6%) не супроводжувались маніфестними ознаками захворювання як під час огляду, так і дослідження анамнезу розвитку захворювання, однак незначна частина обстежених (9,4%) відмічали періодичні зміни характеру видіlenь (від помірних до значних, від рідких до густих), незначний дискомфорт в ділянці зовнішніх статевих органів, різний ступень диспаревнії.

При гінекологічному огляді у всіх жінок встановлено різного ступеню вираженості патологічні зміни з боку геніталій. Так у 5(15,6%) пацієнток встановлено дифузну та у 3 (9,4%) – помірну гіперемію слизової піхви.

У 28 (87,5%) вперше встановлено псевдоерозії та ендоцервіцити.

У всіх жінок при бімануальному дослідженні виявлено ущільнення придатків матки, їх чутливість при пальпації. Отже, у 32 жінок встановлено сальпінгіт, який у 22 (68,7%) з них поєднувався з – оофоритом та у 28(87,5%) – з ерозіями та ендоцервіцитами.

При проведенні ЛПР дослідження у всіх обстежених виявлено ПВЛ, причому у 12 (37,5%) – 16 типу, у 8 (25,0%) – 18 типу, у 5 (15,6%) – 31 типу,

у 3 (9,4%) – 33 типу, у 2 (6,25%) поєднання 16 та 18 типів, у 1 (3,1%) 18 та 31 типів, та у 1 (3,1%) – 18 та 45 типів. До того ж, в етіологічному спектрі запальних захворювань геніталій мали місце чинники “другого покоління”: уреаплазми – 3 (9,4%), мікоплазми – 2 (6,3%), гарднерели – 2 (6,3%), гриби – 4(12,5%), вірус герпеса другого типу – 4(12,5%). В 15,6% випадків мікроорганізми виявлялись в чисельних асоціаціях.

Проведені клініко-мікробіологічні співставлення показали поширення латентного розвитку ВПЛ-інфікованності жінок, у яких, не зважаючи на тривалий перебіг захворювання (від 2 до 5 років), вперше виявлено зміни з боку геніталій та наявність їх ушкодження папіломовірусною інфекцією. Аналіз передумов розвитку даних гінекологічних змін показав, що 18(56,3%) з обстежених жінок мали досвід статевих стосунків до 17 років, 24(75,0%) мали в анамнезі численних статевих партнерів, 11(34,4%) з легкістю їх змінювали. Всі ці моменти слід розглядати як фактори-ризику поширення ІПСШ, в тому числі ВПЛ.

Аналіз кольпоскопічної семіотики показав, що ектопія циліндричного епітелію супроводжувалась ознаками дисплазії у переходній зоні у кожному другому випадку серед обстежених жінок.

Осередки ЦН містили ацедобільний епітелій (маркер ПВЛ-інфекції) у 23(71,9%) обстежених, що підтверджує високу ймовірність поширення вірусної інфекції за умови трансформації шийкового епітелію. Причому, ацедобільний епітелій було реєстровано у всіх обстежених з ендоцервіцитами та ерозіями (87,5%), що свідчить про зростання вірусної інвазії на такому фоні.

Аналізуючи результати цитологічного дослідження шийки матки, було відмічено перевагу „цитологічної” дисплазії (68,8%) над цитологічним запаленням (21,9%).

Слід наголосити, що вище описані зміни вперше встановлено нами при огляді жінок, що підтверджує субклінічний розвиток ВПЛ-інфекції та формування суттєвих змін, зазначених при проведенні кольпоскопічного та

цитологічного дослідження, актуальність яких при діагностиці даного стану не викликає сумніву.

Зміни в системі імунітету супроводжувалось зменшенням співвідношення CD4+/CD8+ ($1,2\pm0,21$, в контролі $-2,56\pm0,35$; $p<0,05$) за рахунок підвищення відносного вмісту CD8+-клітин в периферичній крові ($28,6\pm3,6\%$, в контролі $-13,1\pm1,6\%$, $p<0,05$). В гуморальній ланці імунітету відмічено зменшення концентрації IgG ($4,9\pm0,8$ г/л, в контролі $-11,5\pm1,8$ г/л, $p<0,05$) та встановлено тенденцію до підвищення рівнів циркулюючих імунних комплексів в сироватці крові.

Було виявлено вірогідне зниження показників фагоцитарного числа нейтрофілів ($3,21\pm0,4$ ум. од., в контролі $7,1\pm2,4$ ум. од., $p<0,05$), а також тенденція до зниження показників фагоцитарного числа (моноцити) та функціонального резерву нейтрофілів, $p<0,05$).

Показники ІФН-статусу характеризувались підвищеннем сироваткового ІФН ($6,58\pm1,1$ Од/мл, в контролі- $3,0\pm1,9$ Од/мл, $p<0,05$) одночасно із зниженням здібності клітин периферичної крові до синтезу ІФН- α (в 5,8 разів) та ІФН- γ (в 4,2 рази) *in vitro* у відповідь на адекватну індукцію у порівнянні з контролем ($p<0,05$).

Першопочатково, обстеженим пацієнткам проводилась терапія з урахуванням клінічного стану та особливостей мікробіоценозу статевих шляхів. Надалі проводилось лікування , спрямоване на усунення ПВЛ-інфекції. Відповідно, призначався Протефлазід для внутрішнього прийому краплями, нанесеними на цукор за схемою : перший тиждень по 5 крапель три рази на день, другий та третій тижні - по 10 крапель тричі на день та четвертий тиждень - по 8 крапель тричі на день. Надалі призначали Протефлазід за схемою: по 5 краплин двічі на день впродовж двох місяців(узгоджено з автором препарату Атаманюком В.П.)

Паралельно в піхву вводили тампони з лікарською сумішшю, до складу якої включали Протифлазід: щоразу по 3 мл Потефлазіда у поєднанні з 20 мл фізіологічного розчину. В піхву вводили марлевий тампон, змочений

приготовленим розчином двічі на добу протягом 10 днів після завершення менструальної кровотечі. Такі цикли місцевого лікування проводили після двох послідовних менструацій.

Відповідно до проведених досліджень а також з урахуванням рекомендацій ВОЗ, нами виділено принципи етапності лікування ХЗЗГ у жінок: рання діагностика захворювання; виявлення та лікування супутньої соматичної патології; етіологічне обґрунтування протизапальної терапії з урахуванням мікробного числа і індивідуальної чутливості до препарату; проведення корекції імунологічних порушень в організмі відповідно до індивідуальних особливостей; відновлення нормобіоценозу слизової піхви; профілактика виникнення рецидивів захворювання; одночасне обстеження та лікування статевого партнера (партнерів); клінічний, мікробіологічний, вірусологічний, імунологічний контроль ефективності проведеної терапії через 1,3 ,бмесяців.

При виборі тактики лікування оцінювали: загальний стан хворих, локалізацію патологічного процесу; характер патологічних змін з боку органів малого таза та інших органів та систем; можливих ускладнень, спричинених ХЗЗГ.

Оцінка ефективності лікування проводилась через 1 та 3,6 місяців на підставі:

- 1) відсутності етіологічного фактора (ВПЛ) захворювання,
- 2). зникнення клінічних ознак запалення(підтверджених клінічно, кольпоскопічно, цитологічно),
- 3) відсутності рецидивів захворювання під час спостереження.

На тлі прийому Протефлазіду серед значної частини обстежених жінок (59,4%) відмічено покращення загального самопочуття, зменшення видіlenь за інтенсивністю із статевих шляхів.

Слід, зазначити що при використанні вагінальних тампонів з лікарською сумішшю, до складу якої входив Протефлазід, відмічено зменшення

гіперемії слизової шийки матки вже через тиждень після проведеного лікування.

Серед 28 жінок з фоновими захворюваннями шийки матки, котрі отримували в комплексі протизапальної терапії місцеве лікування з Протефлазідом, спостерігалась активна краєва та мозаїчна епітелізація ерозованої поверхні у 9 (32,2%) хворих та повна епітелізація – у 7 (24,9%) після завершення терапії.

Аналіз кольпоскопічної семіотики показав, що ектопія циліндричного епітелію, що супроводжувалась ознаками дисплазії у перехідній зоні, зберігалась лише у 3(9,4%) обстежених жінок після проведеного лікування. Саме у цих пацієнток зберігались осередки ЦН з ацедобільним епітелієм, що свідчило про необхідність проведення подальших терапевтичних дій та спостереження.

Оцінка ефективності використання Протефлазіду при терапії жінок з ВПЛ-інфекцією (латентною формою) шляхом проведення дослідження матеріалу із цервікального каналу методом ЛПР показала, що ВПЛ 16 типу виявлявся після лікування у 2 (6,3%) жінок, 18 типу – у 2 (6,3%), 31 типу - у 1 (3,1%) та 45 типу – у 1(3,1%). Тобто, за результатами проведених досліджень ефективність лікування жінок з ВПЛ-інфекцією за даними генетичного дослідження із використанням ПЛР становила 81,3%.

Включення Протефлазіду при терапії ПВЛ-інфекції супроводжувалось відновленням до норми титрів сироваткового ІФН, продукції ФНП, функціональної активності фагоцитуючих клітин, показників клітинного та гуморального імунітету після закінчення лікування. Зниженою відносно норми залишалась здібність клітин периферичної крові до продукції ІФН- α и ІФН- γ *in vitro* у відповідь на адекватну індукцію (на 33,1 и 35,4% от значення норми відповідно), що потребувало додаткового призначення Протефлазіду.

Висновки. Використання Протефлазіда в терапії ПВЛ-інфекції (латентна форма) у жінок супроводжується досягненням стійкого терапевтичного ефекту відповідно до результатів клінічного дослідження. Так ,серед обстежених з фоновими захворюваннями шийки матки (28 жінок) у 32,2% відмічено досягнення мозаїчної епітелізації ерозованої поверхні , у 24,9%- повної епітелізації.

При використанні методу ПЛР, як основного тесту при латентній формі ВПЛ-інфекції, доведено, що після завершення терапії з Протефлазідом, позитивний терапевтичний ефект досягнуто в 81,3% випадків.Останнє підтверджено при оцінці показників цитологічного дослідження.

Покращення загального самопочуття у більшості з обстежених на тлі терапії з Протефлазідом поєднувалось з відновленням до норми титрів сироваткового ІФН, продукції ФНП, функціональної активності фагоцитарних клітин, показників клітинного та гуморального імунітету після закінчення лікування.

Дослідження по вивченю ефективності використання даного препарату в лікуванні ПВЛ-інфекції продовжуються, його результати накопичуються з досягненням формування критеріїв стосовно диференційованих підходів щодо усунення даної патології відповідно до клінічних форм розвитку захворювання та особливостей ушкодження геніталій різними типами ВПЛ.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- 1.Вирусология/Под ред. Е.Фипдса, Д.Нагта-М.: Мир, 1989.- Т.2.- 494 с.
- 2.Вирусология. Итоги науки и техники. -1989. - Т.17 -164 с.
- 3.Лакатош В.П., Ляненко Л.О., Лазаренко Л.М. Сучасні уявлення про кчиніку, діагностику та лікування папіломавірусних уражень статевих органів жінок. - Лікарська справа, 1999. -№ 3. -С. 29-37.
- 4.Роговская СИ // Клинические лекции. -М, 1997. - С. 46-51.
- 5.Aranyl, Stephen K., Tyring S//Sexually Transmitted Diseases. - 1996. - Vol. 23, №6. - P. 475-480.
- 6.Bernard C, Mougin C, //J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol. -1994. - Vol. 3, № 3. - P. 23 7-250.
- 7.Bowen L., Sand P. K, Ostergard D. R. et al. //Am. J. Obstet. Gynecol. - 1986. - Vol. 154, № 1. - P. 145-146.
- 8.Clerici M., Stoccs N.I., Zajac R. A. et al. //J. Clin. Invest. -1989. - Vol. 84. -P. 1892-1899.
- 9.Creastman C, Haas P. A., Fox TA. et al. // Dis. Colon. Red.-1989. - Vol. 32. - P. 481-487.
- 10.Chardonnet Y, Bejuithivolet F., Vias J. //Pathologe. -1992. - Vol. 40, №. 3. - P. 247-256.
- 11.Doornum G. J. J. van., Hooy Kaos C, Juffermans L. //J. Med. Virol. - 1992. - Vol. 37, № 1. - P. 13-21.
- 12.Feltcamp M. C. W., Smith H. L., Vierboom M.P.M. et al. //EUR. J. Immunol. - 1993. - Vol. 23, № 9. - P. 2242-2249.
- 13.Galloway D. A., McDougallJ. K //Adv. Virus Res. -1989. - Vol. 37. -P. 125-171.
- 14.Garzetti G. G., Ciavattini A., Muzzioli M. et al. // Ginecol. Obstet. Invesrigation. - 1995. - Vol. 40, № 2.-P. 133-138.
- 15.Gissmann L., Boshart M., DorstM. et al. //J. Invest. Dermatol. -1984. - Vol. 83. - P. 26-28.

- 16.Handley G., Dinsmoke W. //J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol. -1996. - Vol. 5, № 3. - P. 251-265.
- 17.Handley J. M, Maw R. D., LawtherH. et al. //Sex. Transm. Dis. -1992. - Vol. 19.-P. 225-229.
- 18.Howley P. M, Schlegel R. /I Amer. J. Med. -1988. - Vol. 85, № 2A. - P. 155-158.
- 19.IARC Working Group //IARCMonogr. Eval. Carcinog. Risk. Cbem. Man. -1995. - Vol. 64. -P. 324-391.
- 20.Kaplan I. W. //N. Orleans. Med. Surg. J. -1992. - Vol. 94. - P. 338-340.
- 21.Kast W. M, Feltramp M. C. W., Ressing M. E. et al. //Seminars in virology. -1996. - Vol. 7, № 2. - P. 117-123.
- 22.Keating P. J., Cromme F. V, Dugganreen V. et al. //Brit. J. Cancer. - 1995. - Vol. 72, № 2. - P. 405-411.
- 23.Matte L., Arto L., Tapiio K et al. //J. Med. Virol. -1992.-Vol.37, № 3. -P. 180-186.
- 24.Ossevort M. A., Feltramp M. C. V, Van Veen K J. H. et al. //J. Immunother. -1995. - Vol. 18, № 2. - P.86-94.
- 25.Romagnani S. //Europ. Cytokine Netw. -1994. - Vol.5, № 1.-P. 7-3.
- 26.Scinicariello F., RabyA., Saltrtein D. //Cancer. -1992. - Vol. 70, № 8. P. 2143-2148.
- 27.Silva A. U., De Sivapalan S., Harindra V, Basu R. // Genitourin. Med. - 1992. - Vol. 66, № 5. - P. 346-347.
- 28.SonkartzD. B., GreenberdM. D., DaoudR. //Obsted. Ginecol. Clin. N. Am. - 1987. - Vol. 14, №. 2. -P. 589-599.
- 29.Syrjanen K J. //Pathol. Ann. -1986. - Vol. 21. - P. 25-89.
- 30.Tolino A., Ronsini S., Gallo F. //Rev. fr. ginecol. et obstet. - 1990. - Vol. 85, № 12. - P.698-701.
- 31.Turihata M., Jnone K, Ohtsuri Y. et al. //Cancer Res. -1993. - Vol. 53, N20.-P. 4823-4827.

- 32.Wiener J. S , EffertP. I., Humphrey P. A. etal./Int. J. Cancer. -1992. - Vol. 50, №5.-P. 694-701.
- 33.Wold W. S. M., Macrey J. K, Bracrmann K. H. et al. //Proc. Nat. Acad. Sci. USA. - 1978. - Vol. 75. - P. 454-458.
- 34.WHO Press Release, WHO/47, July 3, 1996.
- 35.Wu. R, Coleman N., Stanley M. //Clin. Med. J. -1996. - Vol. 109, № 11.-P. 854-858.
- 36.Wu. T-C, Robert J. K. //J. of the National Cancer Institute. -1997. - Vol. 89, №. 3. - P. 185-187.
- 37.Zur Hansen H, de Villiers E. M. //Annu. Rev. Microbiol. -1994. - Vol. 48. -P. 427-447.
- 38.Zur Hausen H,Devilliers E.M.Human papillomaviruses // Annu.Rev.Microbiol.-2004.-V.58.-P.327-347.
- 39.Zur Hausen H,Gissman L.Papillomaviruse//Virel Oncology/Ec.G.Klein.-N.Y.: Raven Press,2006.-P.433-437.
- 40.Карташов С.М., Белодед О.А. Анализ эффективности действия иммуномодуляторов, используемых в лечении папилломавирусной инфекции//Здоровье женщины.-№7,2009-С.160-163.
- 41.Ромашенко О.В., Руденко А.В., Рыбалко С.Л., Залевич Н.П., СпивакН.Я., Лебидь Л.А., Яковенко Л.Ф. Оценка эффективности использования Протефлазида в комплексной терапии воспалительных заболеваний у женщин//Здоровье м ужчины -№4.-2003-С.19-22.
- 42.Крутікова Е.І.Клініко-патогенетичне обґрунтування комплексної терапії ендоцервікозів, ускладнених папілома вірусною інфекцією. Автореферат на здобуття науков. ступ. канд. мед. наук –Київ,2004-21с.
- 43.Протефлазид- новое в лечении вирусных инфекций (ВПЧ,ВПГ,ЦМВ)в акушерстве, гинекологии и перинатологии. Методические рекомендации .-Ташкент,2004.
- 44.Ершов Ф.И. Система интерферона в норме и при патологии. -М.: Медицина, 1996. •- 240 с.

- 45.Жуков Н.А. Лечение остроконечных кондилом // Вестн. дерматол, и венерол. -1983. -№9.- С. 65-66.
- 48.Киселев ФЛ. /Итоги науки и техники. Сер. Вирусология. -М., 1988. - Т. 15. - С. 4-36.
- 49.Кривошеев Б.И., Криницына Ю.М. Терапевтическая эффективность солкодерма у больных с папилломавирусными поражениями кожи и слизистых оболочек. //Рос. журн. кожн. и вен. б-ней. - 2001. -№3.-С. 10-13.
- 50.Ульянов В.И., Муратова М.О. Выбор метода хирургического лечения перианальных кондилом. -Хирургия, 1990. -№4.-С. 76-78.
- 51.Arany I, Tyring S, K. //J. Interferon Cytokine Res. - 1996. - Vol. 16, № 6. - Р. 453-460. Прилепская В.Н., Кондриков Н.И., Бебнева Т.Н. Папилломавирусная инфекция и патология шейки матки (обзор литературы)// Гинекология.-2000-Т.,№3.С.80-82.
- 52.Хансон К.П.,Имянитов Е.Н.Современные представления о канцерогенезе рака шейки матки//Практ.Онколог.-2002.-Т3.,№3-С.145-155.
- 53.Киселев В.И., Ашрафян Л.А., Бударина С.О.Этиологическая роль вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки: генетические и патогенетические механизмы, возможности терапии и профилактики// Гинекология.-2004.-Т.6,№4.-С.175-179.
- 54.Мазуренко Н.Н.Роль папиллом в канцерогенезе шейки матки//Современная онкология.-2003-Т.5.,№1.-С.1-7.
- 55.Castellsague X., Munos N. Geographical and social patterns cervical cancer incidence// New Developments in Cervical Cancer Screening and Prevention/ Eds.E.Franco,J.Monsonego.-Oxford Bleckwell Science,2007.- Р.23-56.Протефлазид.Информационные материалы по свойствам и методикам применения.-Киев.-2002.-69с.
- 56.Протефлазид. Информационные материалы по свойствам и методикам применения. - Киев. - 2002. -69 с.