

14. Alessandro Ucci, et al. One-year experience in carotid endarterectomy combining general anaesthesia with preserved consciousness and sequential carotid cross-clamping. Acta Bio-Medica Atenei Parm. 2018 Mar 27;89(1):61-6. doi: <https://doi.org/10.23750/abm.v89i1.6814>

15. Dönmez AA, Adademir T, Sacli H, Koksall C, et al. Comparison of Early Outcomes with Three Approaches for Combined Coronary Revascularization and Carotid Endarterectomy. Braz J Cardiovasc Surg. 2016 Oct;31(5):365-70. doi: <https://doi.org/10.5935/1678-9741.20160076>

Стаття надійшла до редакції  
06.04.2020



УДК 616.22-006.52-097-08:615.371

<https://doi.org/10.26641/2307-0404.2020.3.214820>

**Д.І. Заболотний,  
М.Б. Самбур,  
Т.Д. Савченко,  
Л.Д. Кривохатська,  
Т.А. Заєць,  
М.Д. Тимченко**

## **ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ІМУНОЛОГІЧНОЇ РЕАКТИВНОСТІ ХВОРИХ НА ПАПІЛОМАТОЗ ГОРТАНІ В РІЗНІ СТРОКИ ПІСЛЯ КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯМ ПРОТИВІРУСНОЇ КВАДРИВАЛЕНТНОЇ ВАКЦИНИ «ГАРДАСИЛ»**

ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України»  
(дир. – акад. НАМН України, проф. Д.І. Заболотний)  
вул. Зоологічна, 3, Київ, 03057, Україна  
SI“ Institute of Otolaryngology named after Prof. O.S. Kolomyichenko of NAMS of Ukraine”  
Zoologichna str, 3, Kyiv, 03057, Ukraine  
e-mail: mbsambur@gmail.com

**Цитування:** Медичні перспективи. 2020. Т. 25, № 3. С. 87-95  
**Cited:** Medicni perspektivi. 2020;25(3):87-95

**Ключові слова:** папіломатоз гортані, імунологічна реактивність, протирецидивна терапія, квадринагентна противірусна вакцина

**Ключевые слова:** папилломатоз гортани, иммунологическая реактивность, противорезидивирующая терапия, квадринагентная противовирусная вакцина

**Key words:** laryngeal papillomatosis, immunological reactivity, antirelapse therapy, antiviral quadrivalent vaccine

**Реферат.** Динамика показателей иммунологической реактивности больных папилломатозом гортани в разные сроки после комплексного лечения с применением противовирусной квадринагентной вакцины «Гардасил». Заболотный Д.И., Самбур М.Б., Савченко Т.Д., Кривохатская Л.Д., Заец Т.А., Тимченко М.Д. Цель работы - определение нарушений иммунного гомеостаза у больных папилломатозом гортани в разные сроки после комплексного лечения с включением в состав адъювантной терапии квадринагентной вакцины «Гардасил». Исследования состояния иммунитета были проведены у 26 больных папилломатозом гортани (ПГ) до, через 2-12 и 13-29 месяцев после комплексного лечения, состоявшего из хирургического удаления папиллом и противорезидивирующей терапии, включавшей ингаляции лаферобиона, прием витаминно-минерального комплекса и курс вакцинации противовирусной квадринагентной вакциной «Гардасил», который проводился по схеме, по которой вторая и третья инъекции вводилась через 2 и 6 месяцев после первой. Существенные нарушения показателей клеточного и гуморального иммунитета у больных ПГ были выявлены в

виде разнонаправленных изменений функциональной активности естественных клеток-киллеров, уменьшения общего количества Т-лимфоцитов, в основном за счет CD4<sup>+</sup> - субпопуляции, повышения уровня циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови и концентрации секреторного IgA в секрете ротоглотки. Дисбаланс в системе цитокинов больных выразился в повышении сывороточных уровней  $\gamma$ -ИФН и TNF- $\alpha$ , усилении спонтанной продукции интерферона и угнетении стимулированной продукции  $\lambda$ - и  $\gamma$ -интерферонов клетками крови *in vitro*. Комплексное лечение с использованием в послеоперационном периоде квадριвалентной противовирусной вакцины «Гардасил» способствовало нормализации большинства измененных у больных показателей иммунологической реактивности. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования противовирусной вакцины в составе адъювантной противорецидивующей терапии после хирургического лечения у больных с ПГ и указывают на целесообразность проведения длительного клинического и иммунологического мониторинга в разные сроки после вакцинации.

**Abstract. Dynamics of immunological reactivity indices in patients with laryngeal papillomatosis at different periods after complex treatment with antiviral quadrivalent vaccine "Gardasil". Zabolotny D.I., Sambur M.B., Savchenko T.D., Krivokhatskaya L.D., Zayets T.A., Tymchenko M.D.** *The aim of the study is to determine disorders of immune homeostasis in patients with laryngeal papillomatosis at different periods after complex treatment with the inclusion of the "Gardasil" quadrivalent vaccine in the adjuvant therapy. Studies of the immunity state were conducted in 26 patients with laryngeal papillomatosis (LP) before, 2-12 and 13-29 months after complex treatment, consisting of surgical removal of papillomas and anti-relapse therapy, including inhalation of Laferobion, taking a vitamin-mineral complex and a course of vaccination with antiviral "Gardasil" quadrivalent vaccine according to which the second and third injections were administered in 2 and 6 months after the first. Significant disorders of cellular and humoral immunity indices in patients with LP were revealed in the form of multidirectional changes in the functional activity of natural killer cells, a decrease in the total number of T lymphocytes, mainly due to CD4<sup>+</sup> subpopulation, increase in circulating immune complexes level in blood serum and concentration of secretory IgA in the secretion of the oropharynx. Disbalance in the patient's cytokine system resulted in increased  $\gamma$ -IFN and TNF- $\alpha$  serum levels, an increase in spontaneous production of interferon and inhibition of stimulated production of  $\lambda$ - and  $\gamma$ -interferon by blood cells *in vitro*. Complex treatment with the use of the "Gardasil" quadrivalent antiviral vaccine in the postoperative period contributed to the normalization of most immunological reactivity indices that were altered in patients. The results indicate the prospects of using the antiviral vaccine as part of adjuvant antirelapse therapy after surgical treatment of LP patients and indicate the advisability of long-term clinical and immunological monitoring at different periods after vaccination.*

Захворювання на папіломатоз гортані (ПГ) характеризується прогресуючим, рецидивним перебігом, здатне до малігнізації, що негативно впливає на якість життя пацієнтів, має серйозні соціальні та фінансові наслідки. На сьогодні вважається доведеним, що основним етіологічним чинником його розвитку є вірус папіломи людини (ВПЛ) [10, 11, 13]. Респіраторний папіломатоз найчастіше асоціюють з вірусами 6 та 11 типів, які відносять до низького канцерогенного ризику, рідше – 16, 18 типів високого канцерогенного ризику, які, як вважається, визначають найбільш агресивний перебіг захворювання [10]. Частота малігнізації респіраторних папіломатозів за даними різних авторів становить 2-3%. Отже, рання діагностика захворювання, підвищення ефективності його лікування є важливими чинниками профілактики раку гортані.

Основним способом лікування ПГ є хірургічне видалення папілом. Проте через його здатність до поширення в органах верхніх дихальних шляхів та часте рецидивування лікування цієї патології все ще становить проблему і потребує комплексного підходу з використанням у післяопераційному періоді протирецидивної ад'ювантної терапії. Сучасні

підходи ад'ювантного лікування ПГ включають імуномодулюючу, противірусну терапію, використання цитостатиків та ін. [14]. В останні роки з'явилися роботи, які свідчать про включення до складу комплексної терапії профілактичних вакцин проти ПВЛ [17]. На теперішній час зареєстровані три вакцини, що забезпечують захист від декількох типів вірусу папіломи людини. До вакцин першого покоління відносять Церварікс® (GlaxoSmithKline), Гардасіл-4® (Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, USA). Церварікс – це бівалентна рекомбінантна вакцина, що містить вірус-подібні частини ВПЛ типів 16 та 18, які з боку верхніх дихальних шляхів спричиняють більшість випадків раку порожнини рота та гортані.

Гардасіл-4 – квадριвалентна неінфекційна рекомбінантна вакцина проти ВПЛ, що містить вірус-подібні частини, характерні для ВПЛ 6, 11, 16, 18-го типів. Вакцини не містять вірусний генетичний матеріал, а складаються з головних капсидних білків L1, що індують розвиток реакцій гуморального імунітету, виготовляються генно-інженерним шляхом, не здатні до репродукції і не є інфекційними [16].

У 2014 році Управлінням із санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів США (FDA) була ліцензована вакцина проти ВПЛ другого покоління Gardasil-9, яка додатково до чотирьох типів (HPV 6,11, 16,18) містить антигени ще п'яти типів ВПЛ високого онкогенного ризику (HPV31, 33, 45, 52 і 58) і може запобігти до 93% випадків раку, асоційованого з ВПЛ [12]. Проведені дослідження визначили, що вакцина Gardasil-9 безпечна, у цілому добре переноситься, її висока ефективність (90-98%) у профілактиці деяких передракових захворювань, пов'язаних з ВПЛ, зберігалася до шести років. Проте в осіб з порушеною реактивністю системи імунітету відповідь антитіл на активну імунізацію може бути знижена [8].

Одним з найважливіших чинників, які визначають стійкість або чутливість організму до ВПЛ, є стан імунологічної реактивності організму. Як показано багатьма клініко-імунологічними дослідженнями, персистуюча хронічна інфекція спричиняє порушення локального та системного імунітету, які суттєво впливають на клінічний перебіг захворювання та ефективність лікування [13]. Все це зумовлює актуальність нашого дослідження, метою якого стало визначення порушень імунного гомеостазу в пацієнтів з папіломатозом гортані до та в різні строки після комплексного лікування із включенням до складу протирецидивної терапії квадριвалентної противірусної вакцини «Гардасил».

#### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження показників імунологічної реактивності проведено в 26 хворих на рецидивуючий ПГ до лікування та 21 пацієнта після комплексного лікування, яке включало оперативне втручання, спрямоване на видалення папілом, та курс протирецидивної терапії. Остання складалась із інтраопераційного введення амінокапронової кислоти в/в, інгаляцій лаферобіону, вітамінно-мінерального комплексу (віт. А, Е, С, Se, Zn, Cu) та трьох щеплень у дельта-видний м'яз плеча квадριвалентної профілактичної вакцини «Гардасил», які проводились за схемою, за якою друга та третя ін'єкції вводилась через 2 та 6 місяців після першої.

У видалених патологічно змінених тканинах усіх хворих методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) були визначені ВПЛ 11 типу, 6 типу, їх поєднання або асоціації з ВПЛ високого канцерогенного ризику [4]. Хворі після лікування залежно від строків спостереження були розподілені на дві групи. Першу групу склали пацієнти, повторне обстеження яких проводили через 2-12 місяців після лікування, другу групу –

хворі зі строком повторного обстеження більше року (13-29 місяців). Результати зіставляли з аналогічними показниками у практично здорових осіб контрольної групи (n=10).

Визначення показників системної імунологічної реактивності хворих здійснювали, одержуючи сироватку та виділяючи мононуклеари крові в градієнті щільності фікол.-верографіну. Показники клітинного імунітету характеризували, визначаючи кількісний склад CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> та CD8<sup>+</sup> субпопуляцій лімфоцитів крові з використанням моноклональних антитіл до лімфоцитарних CD-маркерів (виробництва Гомель, Республіка Беларусь) за методом [6], цитотоксичну активність природних клітин-кілерів (ПКК) спектрофотометричним методом за О.Ф. Мельниковим, Т.А. Заєц [5].

Вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) оцінювали за методом Е.С. Белозерова, Т.А. Макарової [2].

Систему інтерферону крові вивчали, використовуючи метод індукції інтерферону в мікрокількостях нерозведеної крові в модифікації І.В. Дзюблик та співавторів [3]. Як індуктор для α-ІФН використовували вакцинний штам вірусу хвороби Ньюкасла 10 ТДЦ на клітину, γ-інтерферон стимулювали за допомогою мітогену фітогемаглютиніну (ФГА) «Difco» в концентрації 5-10 мкг/мл. Оптимальний час для стимуляції α-ІФН – 24 год., γ-ІФН – 42-72 год. при температурі 37°C. Активність інтерферону оцінювали за пригніченням цитопатичної дії тест-вірусу – вірусу везикулярного стоматиту, штам Індіана в культурі клітин Нер-2. Оптичну густину вимірювали при довжині хвилі 570 нм [3].

Концентрацію імуноглобулінів, α-ІФН, γ-ІФН та TNF-α в сироватці крові та sIgA в ротоглотковому секреті визначали за методом ІФА, згідно з інструкціями виробника («ХЕМА Медика», РФ).

Статистичну обробку результатів досліджень проводили за допомогою ліцензійного пакету програм STATISTICA 6.1., використовуючи непараметричний критерій U Вілкоксона-Манна-Уїтні, та за методом кутового перетворення Фішера. Статистичну обробку даних інтерферонового статусу хворих проводили, визначаючи вірогідність різниці середньої величини за допомогою критерію Стьюдента [1].

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати проведених досліджень, репрезентовані в таблиці 1, свідчать про те, що у хворих на ПГ суттєво зменшується кількість Т-лімфоцитів, переважно за рахунок їх CD4<sup>+</sup>-субпопуляції. Після проведеного лікування було

відзначено нормалізацію відносної кількості CD4<sup>+</sup>-Т-клітин в периферичній крові хворих протягом першого року після вакцинації, яка знову зменшувалась у більш пізні строки спостережень. Відносна кількість CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів у

хворих на ПГ вірогідно не відрізнялась від значень аналогічних показників в осіб контрольної групи та суттєво не змінювалась у різні строки після лікування.

Таблиця 1

**Показники клітинного імунітету у хворих на ПГ у різні строки обстеження**

Показники	Відносна кількість клітин, %			
	до лікування n=13	після лікування		контроль n=14
		2-12 міс. n=11	13-29 міс. n=13	
CD3 <sup>+</sup> -лімфоцити, %	45,4* (33,0-60,0)	52,6 (44,0-62,0)	49,2 (36,0-56,0)	54,1 (40,0-65,0)
CD4 <sup>+</sup> -лімфоцити, %	28,9** (17,0-46,0)	34,2 (26,0-45,0)	30,8** (21,0-36,0)	35,6 (27,0-41,0)
CD8 <sup>+</sup> -лімфоцити, %	19,4 (10,0-31,0)	18,4 (14,0-26,0)	18,6 (13,0-25,0)	21,1 (14,0-28,0)
Активність ПКК, %	22,5 (0,0-63,4)	18,2 (0,0-65,2)	13,4* (0,0-33,9)	23,9 (10,8-32,8)

Примітки: у дужках представлені межі коливань, \* – p<0,05; \*\* – p<0,01 порівняно з контролем.

Важливу роль серед клітинних реакцій реактивності у хворих на ПГ як для перебігу, так і для прогнозу захворювання відіграють показники функціональної активності природних клітин-кілерів.

Проведені дослідження показали, що середні показники рівнів природної цитотоксичної активності (ПЦА) мононуклеарних клітин периферичної крові хворих із папіломатозом гортані в середньому не відрізнялись від показників у практично здорових осіб контрольної групи (табл. 1). Проте у хворих на ПГ значно розширені межі індивідуальних коливань рівнів функціональної активності ПКК, які коливались від 0 до 63,4%, порівняно з такими в осіб контрольної групи, що становили 10,8-32,8%, що стало підставою для визначення нами кількості пацієнтів з нормальним, зниженим або підвищеним рівнем функціональної активності ПКК у кожній групі обстежених. Після проведеного лікування середньостатистичне значення активності ПКК крові хворих у стадії ремісії протягом першого року після вакцинації мало тенденцію до зменшення. У строки спостереження більше року середнє значення рівнів ПЦА клітин крові хворих зменшилось, вірогідно відрізняючись від показників інших груп пацієнтів, за рахунок зниження в частини хворих

стимульованих до лікування рівнів ПЦА до нормальних значень, на що вказують наведені в таблиці 1 межі індивідуальних коливань визначених показників, що призвело до збільшення після лікування до 40% протягом першого року (p=0,05) і 38,5% у подальші строки спостереження відносної кількості осіб з нормальними значеннями функціональної активності ПКК порівняно з 23,5% таких хворих при первинному обстеженні.

Результати дослідження показників інтерферонового статусу у хворих на ПГ показали значні порушення в системі інтерферогенезу, які проявилися пригніченням продукції *in vitro* клітинами крові хворих  $\alpha$ - та  $\gamma$ -інтерферонів на тлі стимуляції продукції спонтанного інтерферону та підвищення його сироваткового рівня (табл. 2).

Визначення  $\alpha$ - та  $\gamma$ -інтерферонів у сироватці крові хворих у динаміці спостереження показало, що збільшення концентрації сироваткового інтерферону ІФН супроводжувались підвищенням вмісту  $\gamma$ -ІФН при незмінному рівні в сироватці крові хворих на ПГ  $\alpha$ -ІФН, що разом із пригніченням здатності клітин крові до стимульованої продукції  $\alpha$ -ІФН свідчить про недостатню ефективність у них противірусного захисту, опосередкованого системою інтерферонів.

Таблиця 2

Показники інтерферонового статусу у хворих на ПГ до та в різні строки після лікування ( $M \pm m$ )

Показники	Середні титри інтерферону, од/мл			
	контрольна група n=10	хворі до лікування n=16	хворі після лікування	
			через 2-12 міс n=10	через 13-29 міс n=13
Спонтанної продукції ІФН	2,3±2,0	4,0±1,5**	4,0±1,0	4,0±1,5
Продукції $\alpha$ -ІФН	34,8±2,5	13,4±2,0**	34,5±1,9*	28,7±2,2*
Продукції $\gamma$ -ІФН	14,6±1,7	4,3±1,0**	10,8±1,5*	9,4±1,5*
Сироваткового ІФН	7,3±1,7	10,4±1,5**	9,3±2,1	9,9±2,0

Примітки: \* – результати, які вірогідно відрізняються від показників у хворих до лікування,  $p < 0,05$ ; \*\* – результати, які вірогідно відрізняються від контролю,  $p < 0,05$ ; n – кількість обстежених у групі.

Після проведеного лікування було встановлено, що здатність до продукції стимульованими клітинами крові хворих  $\alpha$ - та  $\gamma$ -інтерферонів суттєво збільшувалась, вірогідно перевищуючи аналогічні показники до лікування. У сироватці крові хворих спостерігалось збільшення рівнів як  $\gamma$ -ІФН, так і  $\alpha$ -ІФН (табл. 2). Спонтанна продукція клітинами крові хворих

інтерферону та рівень сироваткового  $\gamma$ -ІФН залишились збільшеними.

Показники вмісту одного з важливих індикаторів активації процесу запалення – TNF- $\alpha$  у сироватці крові хворих у динаміці лікування вказують на вірогідне збільшення його рівня у хворих порівняно з контрольною групою та суттєве зменшення після проведеного лікування (табл. 3).

Таблиця 3

Рівні  $\alpha$ -ІФН,  $\gamma$ -ІФН та TNF- $\alpha$  в сироватці крові хворих на ПГ у динаміці спостереження

Показники	Групи обстежених		
	контрольна	хворі на ПГ	
		до лікування	через 13-29 міс після лікування
$\alpha$ -ІФН, пг/мл	31,5 (2,0-66,8) n=15	31,1 (0-91,3) n=11	260,0* (20,7-632,1) n=10
$\gamma$ -ІФН, пг/мл	51,1 (23,5-89,7) n=8	131,6* (14,6-920,7) n=10	219,1* (17,1-958,9) n=9
TNF- $\alpha$ , пг/мл	3,9 (0-11,1) n=8	8,1* (5,6-14,8) n=9	5,7 (4,9-7,4) n=11

Примітки: у дужках представлені межі коливань; \* –  $p < 0,05$  порівняно з контролем

Стан гуморальних механізмів захисту хворих на ПГ оцінювали, визначаючи вміст циркулюючих імунних комплексів, імуноглобулінів різних класів сироватки крові та секреторного IgA в секреті ротоглотки.

Показано, що рівень циркулюючих імунних комплексів у хворих на ПГ суттєво перевищує

такий в осіб контрольної групи (табл. 4). Через 2-12 місяців після проведеного лікування концентрація ЦІК у крові хворих на ПГ зменшувалась і в середньому вже достовірно не відрізнялась від показників у групі контролю. Через 13-29 місяців після вакцинації показники ЦІК

повністю нормалізувались і не виходили за межі контрольних значень у всіх обстежених хворих.

Аналіз досліджень вмісту сироваткових імуноглобулінів різних класів свідчить про збільшення концентрації сироваткового IgM у хворих на ПГ порівняно з його вмістом в осіб контрольної групи, і така тенденція змін цього показника залишається і після проведеного

лікування. Показник вмісту сироваткового IgG у хворих до та після лікування не зазнав суттєвих коливань і в більшості пацієнтів не виходив за межі фізіологічних значень. Збільшений за рахунок значного підвищення концентрації у частини пацієнтів (6 хворих, 28,6%) вміст IgA у хворих на ПГ після лікування зменшується практично до значень групи контролю.

Таблиця 4

**Концентрація імуноглобулінів різних класів, ЦК у сироватці крові та секреторного імуноглобуліну А в секреті ротоглотки хворих на ПГ до та після лікування**

Групи хворих	Статистичні показники	IgM, г/л	IgG, г/л	IgA, г/л	ЦК, у.о.	sIgA, мг/л
До лікування	СЗ	1,5*	11,5	2,6	67,6*	580*
	МК	0,9 – 2,8	7,2 – 15,7	0,7 – 7,6	7,0-155,0	130 – 1275
	n	21	21	21	18	8
Через 2-12 місяців після лікування	СЗ	1,4	11,0	1,9	45,7	520
	МК	0,8 – 2,8	9,0 – 15,0	0,5 – 3,2	5,0-95,0	487 – 556
	n	12	12	12	11	3
Через 13-24 місяці після лікування	СЗ	1,7	10,9	2,0	37,5	440*
	МК	0,6 – 3,9	7,3 – 13,7	1,2 – 3,4	5,0-61,0	124 – 1104
	n	13	13	13	13	9
Контрольна група	СЗ	1,1	12,0	1,8	28,0	220
	МК	0,5-1,6	10,5-5,0	1,0-2,40	0-62,0	58 - 700
	n	10	10	10	15	10

Примітки: СЗ – середнє значення; МК – межі коливань; n – кількість обстежень; \* – достовірність розбіжностей з контролем,  $p < 0,05$ .

Кількість секреторного IgA в ротоглотковому секреті хворих на ПГ вірогідно перевищує контрольні значення в усіх групах обстежених, суттєво не змінюючись у різні строки спостереження (табл. 5), що свідчить про високий рівень реагування організму на вірусну інфекцію з боку основного чинника локального імунітету слизових оболонок ротоглотки, відіграючи роль компенсаторного механізму, особливо в умовах недостатності клітинного імунітету.

Таким чином, одержані результати досліджень свідчать про те, що у хворих на ПГ визначаються суттєві зміни показників клітинного та гуморального імунітету, які проявляються дефіцитом Т-клітин периферичної крові, в основному за рахунок їх CD4<sup>+</sup>-субпопуляції, різноспрямованими змінами цитотоксичної активності природних клітин-кілерів, порушеннями інтерферонового статусу у вигляді пригнічення стимульованої продукції клітинами крові α- та γ-інтерферонів та спонтанної продукції інтерферону клітинами крові in vitro, підвищення рівня сироваткового γ-ІНФ, підвищенням рівнів ЦК та TNF-α. У ротоглотковому секреті хворих на ПГ було визначено підвищення концентрації секреторного IgA.

Результати повторних досліджень імунологічної реактивності хворих вказують на те, що проведене лікування, особливо протягом першого року після вакцинації, сприяло нормалізації більшості змінених чинників системи імунітету. Зокрема, було відзначено збільшення відносної кількості Т-клітин крові та їх CD4<sup>+</sup>-субпопуляції, нормалізацію стимульованої цитотоксичної активності ПКК, здатності до продукції in vitro клітинами крові альфа- та гамма-інтерферонів, концентрації ЦК у сироватці крові. В обидва строки спостереження у хворих після лікування спонтанна продукція клітинами крові інтерферону та рівень сироваткового γ-ІНФ залишаються збільшеними. Разом із тим суттєво підвищується концентрація в сироватці крові противірусного α-ІНФ та нормалізується вміст TNF-α.

Незмінними залишилися підвищені у хворих показники концентрації секреторного IgA в секреті ротоглотки.

Одержані результати свідчать про ефективність запропонованого в післяопераційному періоді лікування хворих на ПГ комплексу із застосуванням у складі протирецидивної терапії вакцини "Гардасил", здатного корегувати більшість визначених у них порушень імунологічної



реактивності, на тлі яких перебігають клінічні прояви захворювання, що підтверджується позитивними клінічними результатами – відсутністю протягом строку спостереження у хворих випадків злоякісної трансформації захворювання, збільшенням міжрецидивного періоду, вірогідним зменшенням у них частоти рецидивів до 4,8% порівняно з 23,5% рецидивів у пацієнтів, які отримували аналогічне лікування за виключенням вакцинації ( $p \leq 0,02$ ) [7].

Як показали результати наших попередніх досліджень, проведених методом полімеразної ланцюгової реакції, серед 55 хворих на ПГ у видалених патологічно змінених тканинах найчастіше зустрічались ВПЛ 6 типу (35%) хворих, у 33 % випадків у тканині видалених папілом був виявлений ВПЛ 11 типу, у 18% випадків визначалась асоціація 6 та 11 типів вірусів, їх поєднання з вірусами папіломи людини високого канцерогенного ризику – у 14% пацієнтів [3]. Проведений через 1 рік після вакцинації 10 хворим контрольний ПЛР-аналіз не виявив наявності 6, 11 та 16-33 типів ВПЛ у зскрібці зі слизової оболонки гортані.

Результати нашого дослідження корелюють з даними інших авторів про те, що вакцини «Гардасил-4» та «Гардасил-9» викликають у хворих більш сильні клітинно-опосередковані та гуморальні імунні реакції на ВПЛ, ніж ті, що були активовані саме ВПЛ-інфекцією, здатні стимулювати реактивність антитіл до асоційованих типів ВПЛ, що супроводжується зменшенням частоти хірургічних втручань, подовженням міжрецидивного періоду [9, 15].

Результати клінічних досліджень свідчать, що сучасні вакцини проти ВПЛ можуть бути використані в пацієнтів із ВПЛ – асоційованими захворюваннями в складі ад'ювантної терапії, ефективність якої була підтверджена і при лікуванні хворих на рецидивуючий респіраторний папіломатоз [11, 17].

Разом з тим, зміни низки показників імунологічної реактивності, визначені в обстежених нами хворих після проведеного лікування, вказують на стійкі порушення в них імунного гомеостазу, що були спричинені хронічною персистуючою вірусною інфекцією, і можуть служити обґрунтуванням доцільності проведення

тривалого клініко-імунологічного моніторингу цих хворих та подальшого пошуку нових ефективних схем ад'ювантної терапії з використанням сучасних полівалентних вакцин проти ВПЛ з метою підвищення ефективності їх лікування, а саме: корекції змінених показників імунного гомеостазу, формування тривалого специфічного захисту, запобігання подальших рецидивів захворювання.

#### ВИСНОВКИ

1. Дослідження імунологічної реактивності хворих на ПГ визначило порушення в них ряду показників клітинного та гуморального імунітету, які позначились у різноспрямованих змінах цитотоксичної активності природних клітин-кілерів, зменшенні відносної кількості Т-лімфоцитів переважно за рахунок їх CD4+-субпопуляції, порушенні інтерференового статусу, збільшенні рівня ЦІК та концентрації секреторного IgA в секреті ротоглотки. Дисбаланс у системі цитокінів хворих позначився підвищенням сироваткових рівнів  $\gamma$ -ІНФ та TNF- $\alpha$ , підвищенням спонтанної продукції інтерферону та пригніченням стимульованої продукції  $\alpha$ - та  $\gamma$ -інтерферонів клітинами крові *in vitro*.

2. Комплексне лікування із застосуванням квадριвалентної вакцини «Гардасил» сприяло нормалізації у хворих на ПГ більшості змінених показників імунологічної реактивності, а саме збільшенню кількості Т-лімфоцитів крові та їх CD4+-субпопуляції, нормалізації підвищеної цитотоксичної активності ПКК та здатності до стимуляції *in vitro* продукції клітинами крові  $\alpha$ - та  $\gamma$ -інтерферонів, нормалізації рівнів ЦІК та TNF- $\alpha$  в сироватці крові.

3. Одержані результати свідчать про ефективність використання вакцини Гардасил-4 в комплексі післяопераційної терапії хворих на ПГ, на що вказують суттєве зменшення в них частоти рецидивів, відсутність випадків злоякісної трансформації захворювання, нормалізація більшості визначених у хворих порушень імунологічної реактивності та негативні результати ПЛР-аналізу на визначення ВПЛ.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антомонов М. Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. 2-е изд. Киев: МИЦ «Мединформ», 2017. 579 с.
2. Белозеров Е. С., Макарова Т. А. Преципитационный метод исследования иммунных комплексов у

больных вирусным гепатитом В. *Лаб. дело*. 1982. № 12. С. 741-743.

3. Дзюблик І. В., Трохименко О. П., Кривохатська Л. Д., Ковалюк О. В. Інтерфероновий статус людини при вірусних інфекціях: метод. реком.

Київ. мед. акад. післядиплом. освіти ім. П. Л. Шупика МОЗ України. 2002. 12 с.

4. Клініко-вірусологічні особливості у хворих на папіломатоз гортані / Д. І. Заболотний та ін. *Журн. вушних, носових і горлових хвороб*. 2014. № 3. С. 59-64.

5. Мельников О. Ф., Заец Т. А. Сравнение радиоизотопного и спектрофотометрического метода определения цитотоксичности клеток. *Лаб. диагностика*. 1998. № 1. С. 43-45.

6. Новиков Д. К., Новиков П. Д. Метод определения Т- и В-лимфоцитов на основе моноклональных антител. *Иммунология*. 2000. № 2. С. 31-33.

7. Эффективность противорецидивного лечения рецидивирующего папилломатоза гортани с применением вакцины «Гардасил» в отдаленном периоде / М. Б. Самбур и др. *Журн. вушних, носових і горлових хвороб*. 2015. № 5. С. 60-61.

8. Final efficacy, immunogenicity, and safety analyses of a nine-valent human papillomavirus vaccine in women aged 16-26 years: a randomised, double-blind trial / W. K. Huh et al. *Lancet*. 2017. 11-17 Nov. (Vol. 390, No. 10108). P. 2143-2159.

DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31821-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31821-4)

9. Immunological response to quadrivalent HPV vaccine in treatment of recurrent respiratory papillomatosis / Pian Gi RE Tjon et al. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol*. 2016. Vol. 273, No. 10. P. 3231-3236.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s00405-016-4085-3>

10. Larson D. A., Derkay C. S. Epidemiology of recurrent respiratory papillomatosis. *APMIS*. 2010. Vol. 118, No. 6-7. P. 450-454.

DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2010.02617.x>

11. Pan X. F., Wang J., Xiao Y. Research status of human papillomavirus vaccine for prevention and treatment of respiratory papillomatosis. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*. 2019. Vol. 33, No. 2. P. 189-192.

DOI: <https://doi.org/10.13201/j.issn.1001-1781.2019.02.025>

12. Recombinant human papillomavirus nonavalent vaccine in the prevention of cancers caused by human papillomavirus / Z. Q. Toh et al. *Infect Drug Resist*. 2019. No. 12. P. 1951-1967.

DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S178381>

13. Recurrent Respiratory Papillomatosis. A complex defect in responsiveness to human papillomavirus-6 and -11 / V. R. Bonagura et al. *APMIS*. 2010. Vol. 118, No. 6-7. P. 455-470.

DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2010.02617.x>

14. Recurrent respiratory papillomatosis: A state-of-the-art review / H. R. Fortes et al. *Respir. Med*. 2017. Vol. 126. P. 116-121.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2017.03.030>

15. Schiller J., Lowy D. Explanations for the high potency of HPV prophylactic vaccines. *Vaccine*. 2018. Vol. 36, No. 32. P. 4768-4773.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.12.079>

16. Slifka M. K., Amanna I. J. Role of Multivalency and Antigenic Threshold in Generating Protective Antibody Responses. *Front. Immunol*. 2019. No. 10. P. 956-959.

DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00956>

17. Sullivan C., Curtis S., Mouzakes J. Therapeutic use of the HPV vaccine in Recurrent Respiratory Papillomatosis: a case report. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol*. 2017. Feb. (Vol. 93). P. 103-106.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2016.12.035>

## REFERENCES

1. Antomonov MYu. [Mathematical processing and analysis of biomedical data. 2nd edition]. Kyiv: MIC "Medinform"; 2017. p. 579. Russian.

2. Belozherov ES, Makarova TA. [Precipitation method of immune complexes investigation in patients with viral hepatitis B]. *Lab. delo*. 1982;(12):741-43. Russian.

3. Dzyublyk IV, Trokhimenko OP, Krivokhatska LD, Kovalyuk OV. [Human interferon status in viral infections]. Method. Recommendations. Kyiv Medical Academy after the diploma education named after PL Shupyk of the Ministry of Health of Ukraine; 2002. p. 12. Ukrainian.

4. Zabolotny DI, Dzyublyk IV, Kovalyuk OV, Savchenko TD, Klochkov EI, Artemchuk GP. [Clinical and virological features in patients with laryngeal papillomatosis]. *Zhurn. Vushnih, Nosovih and Gorlov. Hvorob*. 2014;(3):59-64. Ukrainian.

5. Melnikov OF, Zayets TA. [Comparison of radioisotope and spektrofotometric method for determining cell cytotoxicity]. *Lab. diagnostika*. 1998;(1):43-45. Russian.

6. Novikov DK, Novikov PD. [Method of determining the T- and B-lymphocyte based on monoclonal antibody]. *Immunologiya*. 2000;(2):31-33. Russian.

7. Sambur MB, Zabolotny DI, Savchenko TD, Krivokhatskaya LD, Timchenko MD, Zayats TA. [The

effectiveness of antirelapse treatment of recurrent laryngeal papillomatosis with the use of the vaccine "Gardasil" in the long term] *Zhurn. Vushnih Nosovih and Gorlov. Hvorob*. 2015;(5):60-61. Ukrainian.

8. Huh WK, Joura EA, Giuliano AR, Iversen OE, de Andrade RP, Ault KA, Bartholomew D, Cestero RM, Fedrizzi EN, Hirschberg AL, Mayrand MH, Ruiz-Sternberg AM, Stapleton JT, Wiley DJ, Ferenczy A, Kurman R, Ronnett BM, Stoler MH, Cuzick J, Garland SM, Kjaer SK, Bautista OM, Haupt R, Moeller E, Ritter M, Roberts CC, Shields C, Luxembourg A. Final efficacy, immunogenicity, and safety analyses of a nine-valent human papillomavirus vaccine in women aged 16-26 years: a randomised, double-blind trial. *Lancet*. 2017;390(10108):2143-59.

doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31821-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31821-4)

9. Tjon Pian Gi RE, San Giorgi MR, Pawlita M, Michel A, van Hemel BM, Schuurin EM, van den Heuvel ER, van der Laan BF, Dijkers FG. Immunological response to quadrivalent HPV vaccine in treatment of recurrent respiratory papillomatosis. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol*. 2016;273(10):3231-6.

doi: <https://doi.org/10.1007/s00405-016-4085-3>

10. Larson DA, Derkay CS. Epidemiology of recurrent respiratory papillomatosis. *APMIS*. 2010;118(6-7):450-4.

doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2010.02617.x>



11. Pan XF, Wang J, Xiao Y. Research status of human papillomavirus vaccine for prevention and treatment of respiratory papillomatosis. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*. 2019;33(2):189-92. doi: <https://doi.org/10.13201/j.issn.1001-1781.2019.02.025>

12. Toh ZQ, Kosasih J, Russell FM, Garland SM, Mulholland EK, Licciardi PV. Recombinant human papillomavirus nonavalent vaccine in the prevention of cancers caused by human papillomavirus. *Infect Drug Resist*. 2019 Jul 4;12:1951-67. doi: <https://doi.org/10.2147/IDR.S178381>

13. Bonagura VR, Hatam LJ, Rosenthal DW, DeVoti JA, Lam F, Steinberg BM, Abramson AL. Recurrent Respiratory Papillomatosis. A complex defect in responsiveness to human papillomavirus-6 and -11. *APMIS*. 2010;118(6-7):455-70. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2010.02617.x>

14. Fortes HR, von Ranke FM, Escuissato DL, Araujo Neto CA, Zanetti G, Hochhegger B, Souza CA, Marchiori E. Recurrent respiratory papillomatosis: A state-of-the-art review. *Respir. Med*. 2017;126:116-21. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2017.03.030>

15. Schiller J, Lowy D. Explanations for the high potency of HPV prophylactic vaccines. *Vaccine*. 2018;36(32Pt A):4768-73. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.12.079>

16. Slifka MK, Amanna IJ. Role of Multivalency and Antigenic Threshold in Generating Protective Antibody Responses. *Front. Immunol*. 2019;10:956-9. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00956>

17. Sullivan C, Curtis S, Mouzakes J. Therapeutic use of the HPV vaccine in Recurrent Respiratory Papillomatosis: A case report. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaringol*. 2017;93:103-6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2016.12.035>

Стаття надійшла до редакції  
08.04.2020

