

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ПАПЛОМАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

*Навчальний посібник
з дисципліни
«Мікробіологія, вірусологія та імунологія»
для студентів II–III курсів
медичного та стоматологічного факультетів*

За редакцією М. М. Мішиної

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Харківський національний медичний університет

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ПАПІЛАМВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

*Навчальний посібник
з дисципліни
«Мікробіологія, вірусологія та імунологія»
для студентів II–III курсів
медичного та стоматологічного факультетів*

За редакцією М. М. Мішиної

**Харків
ХНМУ
2023**

УДК 578.61:616.98:578.827.1]-074/-078(075.8)

Л12

Затверджено Вченою радою ХНМУ.
Протокол № 7 від 30.06.2023.

Авторський колектив

М. М. Мішина, О. В. Коцар,
О. В. Кочнева, Ю. М. Калашник-Вакуленко

Рецензенти:

Н. І. Філімонова – д-р мед. наук (НФаУ).

С. Г. Маланчук – канд. біол. наук (ХНУ ім. В. Н. Каразіна).

Л12 Лабораторна діагностика папіломавірусної інфекції : навч. посіб. з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія» для студентів II–III курсів мед. та стомат. факультетів / М. М. Мішина, О. В. Коцар, О. В. Кочнева, Ю. М. Калашник-Вакуленко ; за ред. М. М. Мішиної. Харків : ХНМУ, 2023. 36 с.

У навчальному посібнику міститься інформація про морфологію та ультраструктуру збудників, що спричиняють папіломавірусну інфекцію, наведена сучасна таксономія і класифікація, розглянуті питання патогенезу, епідеміології, клініки, імунної відповіді, описані методи лабораторної діагностики та профілактики інфекційних захворювань, зумовлених папіломавірусами.

Навчальний посібник відповідає програмі, затвердженій МОЗ України, призначений для студентів медичних та стоматологічних факультетів ЗВО III–IV рівня акредитації.

УДК 578.61:616.98:578.827.1]-074/-078(075.8)

© Харківський національний
медичний університет, 2023

© М. М. Мішина, О. В. Коцар, О. В. Кочнева,
Ю. М. Калашник-Вакуленко, 2023

ЗМІСТ

Вступ	4
Історична довідка	5
Біологічні властивості вірусу папіломи людини	6
Фактори ризику розвитку ПВІ	9
Шляхи передачі ВПЛ	10
Патогенез папіломавірусної інфекції	10
Клінічні симптоми ПВІ	12
Папіломавірусна інфекція під час вагітності	17
Лабораторна діагностика ПВІ	18
Лікування ПВІ	24
Профілактика ВПЛ-інфекції	29
Теоретичні питання	31
Практичні завдання, які виконуються на занятті	31
Тестові завдання	32
Література	35

ВСТУП

Папіломавірусна інфекція (ПВІ) – поширене захворювання, причиною якого є вірус папіломи людини (ВПЛ) (Human Papillomavirus). Поширення захворювання насамперед пов'язане з високим ступенем контагіозності вірусу та безладним статевим життям. Важлива проблема цього вірусу – здатність деяких його серотипів спричиняти розвиток злякисних процесів, адже ВПЛ – це індуктор раку. На сьогоднішній день відомо про існування більше 80 різних штамів вірусу папіломи людини, всі вони уражають поверхневий епітелій шкіри або слизові оболонки. Згідно зі статистикою ВООЗ, вірусом папіломи людини інфіковано 9–13 % усього населення земної кулі. Захворюваність серед жінок становить 50 %, що призводить до раку шийки матки, який займає перше місце, рак піхви – друге, рак вульви – третє та рак шкіри – четверте. Проте ці цифри відображають лише частоту клінічних проявів ВПЛ, а не справжні масштаби інфікованості населення, оскільки в більшості випадків захворювання протікає безсимптомно. Дослідники визначають, що вірус здатний передаватися не тільки статевим шляхом, але від матері до плоду, що може призводити до розвитку папіломатозу гортані у дитини, а також провокувати спонтанні аборти. Відомо про повторне зараження інфекцією протягом життя. Це підтверджує, що не у всіх перехворілих на папіломавірусну інфекцію виникає стійкий імунітет до вірусу.

Клітинами-мішенями вірусу є епітеліальні клітини шкіри та слизових оболонок, при цьому між вірусом та клітиною може відбуватися як продуктивний, так й інтегративний тип взаємодії. При продуктивному впливі виникають доброякісні новоутворення – папіломи і кондиломи шкіри та слизових оболонок. Результатом інтегративної взаємодії є дисплазія важкого ступеня захворювання, прогресуючий розвиток якого призводить до раку. Основними клінічними проявами вірусу папіломи людини є бородавки, гостроверхі і пласкі кондиломи, дисплазія і рак шийки матки (РШМ).

Вивчення цього вірусу все частіше привертає увагу лікарів різних спеціальностей: акушерів-гінекологів, урологів, дерматовенерологів, онкологів, імунологів та вірусологів. Вивчені на сьогодні імунопатогенетичні особливості персистуючої папіломавірусної інфекції доводять, що у цих хворих відбуваються порушення клітинної імунної відповіді. Різноманітність імунологічних змін обумовлює великі труднощі в діагностиці, лікуванні та профілактиці папіломавірусної інфекції, тому дана проблема є актуальною для сучасної медицини. Подальше вивчення імунопатологічних порушень при цьому захворюванні дозволить розширити знання про вірус і тим самим підвищити ефективність лікування, а своєчасна діагностика – попередити розвиток ускладнень.

Мета:

– *загальна*: оволодіти принципами лабораторної діагностики вірусної папіломної інфекції;

– *конкретна*:

а) *знати*: біологічні властивості, епідеміологію, патогенез, клінічні прояви, методи лікування та профілактики збудників ВПЛ-інфекцій;

б) *вміти*: інтерпретувати результати лабораторних досліджень збудників ВПЛ-інфекцій.

Матеріальне та методичне забезпечення теми: музейні мікропрепарати, мікроскоп, імерсійне масло, дезінфікуючий розчин, таблиці, атлас.

ІСТОРИЧНА ДОВІДКА

Прояви папіломавірусної інфекції (ПВІ) у вигляді аноурогенітальних бородавок відомі ще з античних часів та були описані лікарями Стародавньої Греції під назвою «кондиломи» або «фіги». Вірус папіломи людини (ВПЛ) вперше був виділений та охарактеризований як етіологічний агент папіломатозу у кролів R. Shope у 1933 р. В середині 70-х років ХХ ст. німецький вірусолог Харальд цур Хаузен виявив, що хворі на рак шийки матки практично всі (95 % випадків) були інфіковані ВПЛ. Надалі дослідник встановив, що більшість захворювань на РШМ були етіологічно пов'язані з високоонкогенними типами ВПЛ, насамперед 16 та 18. У 2008 р. Харальд цур Хаузен за своє відкриття, яке мало не тільки теоретичне, але й величезне практичне значення, був нагороджений Нобелівською премією в галузі медицини та фізіології (рис. 1). Доречно нагадати, що задовго до відкриття Хаузена засновник теорії вірусної природи раку Л. О. Зільбер (1946) встановив, що ДНК-вмісні віруси родини Papovaviridae, до якої в той час належали віруси папіломи людини, можуть бути причиною розвитку злоякісних пухлин.



Рис. 1. Харальд цур Хаузен – німецький вірусолог

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ВІРУСУ ПАПІЛОМИ ЛЮДИНИ

Папіломавірус – це велика група, яка включає близько 100 різновидів вірусів, з яких приблизно 80 штамів небезпечні для людини. Особливо онкогенні типи вірусу, потрапляючи в організм, вбудовують свою ДНК в клітини слизових та шкіри, запускають механізми неконтрольованого поділу клітини, що і призводить до розвитку онкологічних захворювань.

Міжнародний комітет таксономії відносить вірус до сімейства Papillomaviridae. Назва походить від лат. *papila* – «міхур» і грец. *oma* – пухлина. Сімейство складається із 16 родів, із яких п'ять патогенні для людини, а інші – для тварин: великої рогатої худоби, коней, кролів, гризунів та птахів.

Сімейство Papillomaviridae включає такі види: *Alphapapillomavirus*, *Betapapillomavirus*, *Gamma papillomavirus*, *Deltapapillomavirus*, *Epsilonpapillomavirus*, *Zetapapillomavirus*, *Etapapillomavirus*, *Thetapapillomavirus*, *Iotapapillomavirus*, *Kappapapillomavirus*, *Lambdapapillomavirus*, *Mupapillomavirus*, *Nupapillomavirus*, *Xipapillomavirus*, *Omikronpapillomavirus*, *Pipapillomavirus*.

Alphapapillomavirus (HPV-2, HPV-3, HPV-6, HPV-7, HPV-10, HPV-13, HPV-16, HPV-18, HPV-26, HPV-28, HPV-32, HPV-33, HPV-34, HPV-40, HPV-42, HPV-45, HPV-52, HPV-53, HPV-54, HPV-55, HPV-57, HPV-61, HPV-66, HPV-67, HPV-68, HPV-69, HPV-71, HPV-77, HPV-81, HPV-84, HPV-cand85, HPV-cand86, HPV-cand89, HPV-cand90, HPV-cand91, HPV-94, PCPV-1, RhPV-1). Члени цього роду найчастіше уражають слизову оболонку обличчя та аногенітальної ділянки. Для деяких типів (ВПЛ 2, 10) характерніші шкірні ураження.

Betapapillomavirus (HPV-4, HPV-5, HPV-9, HPV-12, HPV-14D, HPV-17, HPV-20, HPV-23, HPV-25, HPV-38, HPV-47, HPV-48, HPV-49, HPV-50, HPV-60, HPV-65, HPV-75 HPV-88, HPV-cand92, HPVcand96, BPV-1, BPV-2, DPV, OvPV-1, OvPV-2). Члени цієї групи найчастіше уражають шкіру. Для інфекції характерні прихований перебіг та активація при розвитку імунodefіциту. ВПЛ 9 та 49 типів пов'язані з епідермодисплазією.

Epsilonpapillomavirus (BPV (*Bovine papillomavirus*)-5). Інфекція зумовлює шкірні папіломи у рогатої худоби.

Zetapapillomavirus (EcPV (*Equus caballus papillomavirus*)-1, EcPV). Інфекція спричиняє шкірні ураження у коней.

Etapapillomavirus (FcPV (*Fringilla coelebs papillomavirus*), ChPV (*Chaffinch papillomavirus*)) та **Thetapapillomavirus** (PePV (*Psittacus erithacus timneh papillomavirus*)). Інфекція спричиняє шкірні ураження у птахів.

Iotapapillomavirus (MNPV (*Mastomys natalensis papillomavirus*)). Інфекція зумовлює шкірні ураження у гризунів.

Kappapapillomavirus (CRPV (*Cottontail rabbit papillomavirus*), ROPV (*Rabbit oral papillomavirus*)). Інфекція спричиняє ураження шкіри та слизових у кроликів.

Lambdapapillomavirus (COPV (*Canine oral papillomavirus*), FDPV (*Felis domesticus papillomavirus*)). Інфекція спричиняє ураження шкіри та слизових у собак та котів.

Mupapillomavirus (HPV-1, HPV-63). Інфекція спричиняє шкірні ураження у людини.

Nupapillomavirus (HPV-41). Інфекція спричиняє злоякісні ураження шкіри та м'яких тканин у людини.

Xipapillomavirus (BPV (*Bovine papillomavirus*)-3, BPV-4, BPV-6). Інфекція спричиняє справжні папіломи шкіри та слизової оболонки великої рогатої худоби.

Omikronpapillomavirus (PsPV (*Phocoena spinipinnis papillomavirus*)). Інфекція зумовлює появу статевих бородавок у тварин сімейства китових.

Pipapillomavirus (HaOPV (*Hamster oral papillomavirus*)). Інфекція спричиняє ураження слизових у хом'яків.

Структура папіломавірусу

ВПЛ характеризується наступним чином :

- маленький розмір, діаметр 52–55 нм;
- безоболонковий;
- ікосаедрична форма;
- має 2-ниткову ДНК, що містить 8000 пар нуклеотидів, які пов'язані з клітинними гістонами;
- білковий капсид утворений з 72 пентамерних капсомерів;
- капсид складається з двох шарів структурних білків.

Внутрішні білки, з'єднані з ДНК, являють собою клітинні гістони, а поверхневі капсидні білки – типоспецифічні антигени (рис. 2).

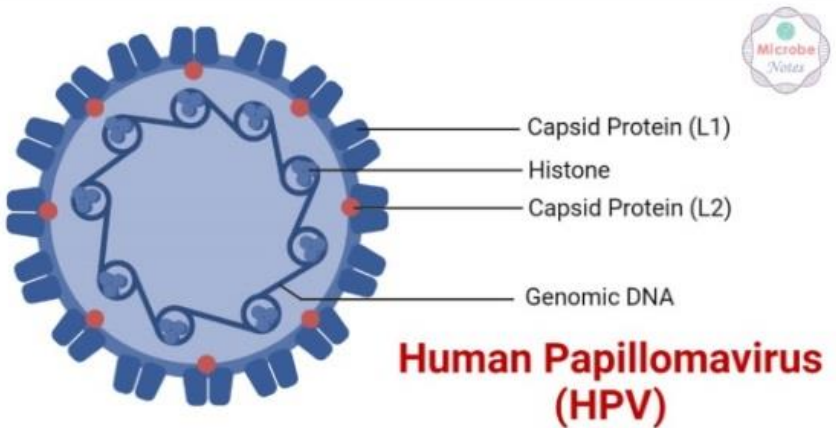


Рис. 2. Структура папіломавірусу

Реплікація ВПЛ

Вірус має тропізм до епітеліальних клітин шкіри та слизових оболонок статевих органів, також його можна побачити в базальних стовбурових клітинах. Вірус не може приєднуватися до живої тканини, він інфікує епітелій завдяки мікротравмам та саднам. В інфікованих клітинах геном ВПЛ може існувати не тільки в епісомальній формі, але й у вигляді лінійної молекули ДНК, інтегрованої в геном клітини. Для інтеграції геномної ДНК ВПЛ у геном клітини хазяїна має відбутися фізичний контакт геному вірусу і геному клітини. Для цього геномна ДНК вірусу у вигляді епісоми має проникнути у ядро та набути лінійної форми. Це перша особливість, що відрізняє ВПЛ від інших онкогенних ДНК-вірусів (вірус гепатиту В – сімейство гепаднавірусів і вірус Епштейна–Барра – сімейство герпесвірусів), які можуть вбудовувати свій геном в ДНК трансформованої клітини.

У структурі вірусу існує 6 EARLY «Е» генів, які виконують основні керуючі функції в життєвому циклі вірусу: підтримання ДНК, реплікацію та транскрипцію, що відбувається в нижніх шарах епітелію, та 2 LATE «L» гени, що складаються з L1 більшого та L2 меншого, які існують у поверхневих шарах епітелію. Визначено, що розрив кільцевої молекули ДНК відбувається, як правило, в ділянці генів E1–E2. Наслідками такого розриву стають порушення транскрипції генів E1–E5 та L1–L2, при цьому транскрипція генів E6 та E7 не змінюється. Таким чином, зберігається можливість нормальної транскрипції генів E6 та E7 ВПЛ та синтез їх продуктів у клітині. У багатьох дослідженнях було показано, що саме накопичення продуктів генів E6 та E7 у надмірній кількості призводить до розвитку процесів трансформації клітини. Важливо враховувати, що продукти генів E6 та E7 кожний окремо виявляють онкогенні властивості, а також при кооперації вони здатні значно підсилити онкогенний потенціал один одного в процесі трансформації клітин.

Друга особливість вірусу в тому, що стан клітини хазяїна регулює експресію вірусного геному. Однак вірусний ген, відповідальний за реплікацію клітинної ДНК, також може транскрибуватися і регулювати поділ клітини хазяїна. В результаті клітина хазяїна знову і знову ділиться разом із вбудованим ВПЛ, що призводить до неконтрольованого поділу клітин.

Папіломавірусна інфекція (ПВІ) обмежена в багатошаровому плоскому епітелії, стадії реплікації вірусу залежать від періоду диференціації самого епітелію. Папіломавірус – нелітичний вірус, інфекційність якого залежить від десквамації інфікованих епітеліальних клітин. Інфекційний процес ініціюється, коли L1 та L2 капсидні білки вірусу приєднуються до епітеліальної базальної мембрани, яка дозволяє приєднання вірусних часток до нових клітин хазяїна. EARLY «Е» протеїни інактивують 2 ракових супресори: E6 інактивує P53, а E7 – ретинобластомний протеїн, що призводить до початку неконтрольованого процесу (рис. 3).

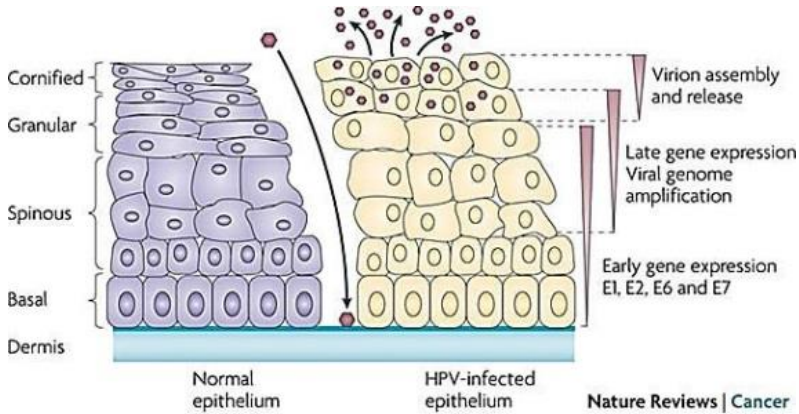


Рис. 3. Зміни в тканині, інфікованої ВПЛ

Важливо підкреслити, що вихід вірусного потомства з клітини завжди призводить до дезінтеграції ядра та лізису інфікованої клітини хазяїна.

За онкогенністю (здатністю спричиняти рак) всі типи вірусу розподіляються таким чином: до неонкогенних відносять 1, 2, 3, 5 типи; до середньо-онкогенних – 6, 11, 42, 43, 44 типи; до високоонкогенних – 31, 18, 16, 51, 39, 45, 59, 33, 58, 35, 52, 56, 68.

Найнебезпечнішими є 16 та 18 типи, які є причиною 70 % випадків раку шийки матки, а також усі онкогенні віруси сімейства мають відношення до розвитку цього захворювання. Типові штами 6 та 11 провокують розвиток доброякісних бородавок та наростів, що локалізуються на статевих органах та викликають дискомфорт в ділянці геніталій.

ВПЛ інфікує клітини епітелію, зумовлюючи появу шкірних бородавок та папілом слизової оболонки сечостатевих, дихальних шляхів й травного тракту.

ФАКТОРИ РИЗИКУ РОЗВИТКУ ПВІ

1. Ранні статеві стосунки.
2. Велика кількість та часта зміна статевих партнерів.
3. Наявність партнерів, що мали контакти із жінками, які хворіють на рак шийки матки (РШМ) або мають аногенітальні конділоми.
4. Велика кількість пологів та абортів, як подій, що призводять до травматизації шийки матки.
5. Вагітність (транзиторна імуносупресія).
6. Зміни імунного статусу внаслідок авітамінозу, надлишкової інсоляції, atopічного дерматиту.
7. Терапія супутньої патології (онкологічних захворювань, станів після трансплантації органів) із використанням цитостатиків.
8. Паління, вживання алкоголю.

9. Коінфекція з інфекціями, що передаються статевим шляхом (ІПСШ) (ВІЛ-інфекцією/СНІДом, герпетичною, цитомегаловірусною, хламідійною тощо), внаслідок посилення ними диспластичних процесів на вульві, шийці матки.

10. Тривале (понад 5–7 років) використання контрацептивів *per os*.

11. Наявність місцевих подразників (виділення з піхви, уретри, прямої кишки при різних патологічних станах, скупчення смеги, мацерація).

12. Хронічні запальні захворювання органів малого таза, ендометріоз.

ШЛЯХИ ПЕРЕДАЧІ ВПЛ

1. Прямий, зазвичай сексуальний контакт з інфікованим партнером, який має бородавки на шкірі чи слизовій оболонці статевих органів або з безсимптомним носійством. Менше розповсюджений орально-статевий або контактний-статевий. Ризик інфікування ПВІ при однократному статевому контакті становить 60–75 %, при повторному – майже 99 %.

2. Конгенітальний: прямий контакт під час пологів, вірус передається від матері до дитини, що призводить до кон'юнктивальної, ларингеальної, вульварної, періанальної інфекції. Бородавки можуть з'явитися пізніше, з 1–3-го року народження.

3. Трансплацентарний: вірус передається через плаценту від матері до дитини.

4. Інфікування ВПЛ може відбуватися контактним шляхом за умови безпосереднього тісного контакту зі шкірою хворої людини або слизовими оболонками (через мікротравми). Не виключена можливість передачі низькоонкогенних типів ВПЛ через нижню білизну, хірургічні рукавички, інструменти для біопсії та інші предмети, контаміновані ВПЛ.

5. Є поодинокі повідомлення про інфікування лікарів під час проведення медичних маніпуляцій, наприклад, при виконанні лазерної терапії від хворих з папіломатозом гортані та кон'юнктиви.

6. Ряд авторів вказують на ще один спосіб зараження ВПЛ – аутоінокуляцію (самозараження або поширення інфекції з первинного вогнища на тілі в інші місця): під час гоління, епіляції, обрізання нігтів, розчісування шкіри. В більшості випадків ВПЛ-інфекція – мультифокальна, це означає, що інфекція може розповсюджуватися по всьому організму.

ПАТОГЕНЕЗ ПАПІЛОМАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

1. Папіломавірус інтегрується в ДНК клітини хазяїна, що веде до експресії протеїнів Е6 та Е7, які мають високу афінність до клітин хазяїна.

2. Вірусні протеїни активують цикліни А та Е, що відповідають за клітинну проліферацію.

3. Е6 інактивує туморний супресор Р53, а Е7 – ретинобластомний супресор, що призводить до початку неконтрольованого процесу.

4. Вірус активує проаптогенний ген, таким чином, інгібує апоптоз (*рис. 4*).

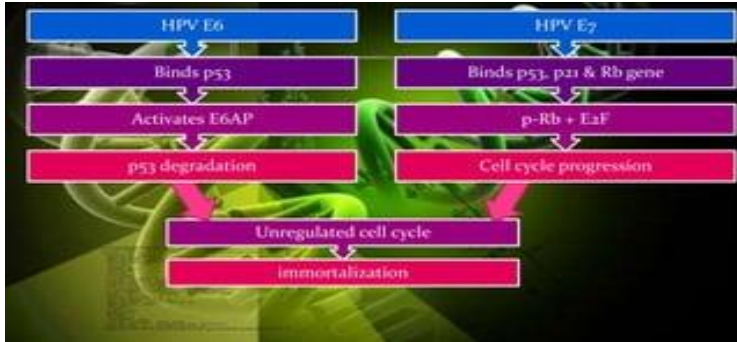


Рис. 4. Патогенез папіломавірусної інфекції

Розвиток ВПЛ-інфекції відбувається в чотирьох формах.

1. **Латентна інфекція.**

- Клітини інфіковані ВПЛ, але вірус залишається «сплячим».
- Вірусний геном не інтегрується в клітину хазяїна.
- Не виявляються дефекти в епітеліальній тканині.
- Відсутність клінічних проявів, виявляється кольпоскопічна, цитологічна та гістологічна норма. Найявність ВПЛ-інфекції в латентний період можна підтвердити лише ПЛР-методом.

2. **Продуктивна ВПЛ-інфекція.**

- Завершений життєвий цикл.
- Онкогени виділяються в низькій концентрації.
- Передбачає клінічні прояви інфекції (папіломи, бородавки, кондиломи) або безсимптомне носійство.
- Вірус виявляється за допомогою ПЛР. При гістологічному дослідженні визначаються явища гіперкератозу.

3. **Неопластична (дисплазійна) ВПЛ-інфекція:**

- Геном вірусу інтегрується в хромосоми клітини хазяїна.
- Відбувається необмежена транскрипція Е6 та Е7 протеїнів, що пригнічують дію ракових супресорів, через те клітини здатні малігнезуватися завдяки втраті клітинного контролю та накопиченню ядерних мутацій.
- При цитологічному дослідженні у цитоплазмі клітин з'являються вакуолі, ядро клітини стає неправильної форми (койлоцитоз).

4. **Інвазійна карцинома** (цервікальна інтраепітеліальна неоплазія або CIN).

- Присутність вірусу у клітині в інтегрованій формі.
- При кольпоскопічному та гістологічному дослідженні виявляються змінені, «атипові» клітини, що свідчать про злоякісність процесу.

Особливістю ВПЛ-інфекції є той факт, що через епітеліотропність вірусу він не виявляється в крові, а вироблення антитіл імунною системою відзначається далеко не у всіх інфікованих хворих, при цьому рівень антитіл дуже низький, не здатний забезпечити тривалий і надійний імунітет.

КЛІНІЧНІ СИМПТОМИ ВПІ

ВПІ не викликає одразу жодних симптомів, вони проявляються через декілька років після інфікування, що ускладнює збір анамнезу та встановлення моменту зараження. Інкубаційний період при папіломавірусній інфекції може тривати від 2 міс до 2–10 років. Інфікування людини може відбуватися як одним, так і кількома ВПІ. Деякі типи вірусу утворюють бородавки, а інші спричиняють прогресуючий рак.

Основні клінічні симптоми

1. Вульгарні бородавки.
2. Анальна дисплазія (передраковий стан).
3. Генітальний рак.
4. Фокальна епітеліальна гіперплазія (доброякісна пухлина в порожнині рота).
5. Папілома (доброякісна епітеліальна пухлина).
6. Ротоглоткова карцинома.
7. Ларингеальний папіломатоз (повітряно-крапельна доброякісна пухлина).

Вульгарні бородавки (рис. 5) зумовлює тип ВПІ 6 та 11, передаються статевим шляхом, мають здатність до малігнізації. Такі бородавки частіше розташовані в генітальній ділянці, а саме в ділянці вульви, шийки матки, пеніса, мошонки та в періанальній ділянці у вигляді маленьких горбиків, їх згрупувань. Бородавки можуть бути різними у розмірі: великими, маленькими, плоскими та у вигляді цвітної капусти, білого або тілесного кольору.



Рис. 5. Вульгарні бородавки

Існують бородавки, що асоціюються з іншою локалізацією.

Звичайні бородавки розташовані на руках, ногах, трапляються частіше у дітей; зумовлені ВПЛ 1, 2, 3, 4 типу: грубі, з піднятою верхівкою, локалізовані в ділянці рук, пальців та ліктях;

Підошовні бородавки – тверді, грубі, розташовані на ступнях; спричиняє папіломавірус 1 типу. Вони являють собою потовщення рогового шару епітелію величиною 5–8 мм, іноді неправильної форми, при надавлюванні болочі. Утворюються у місцях тиску взуттям.

Плоскі бородавки уражають дітей, молодих людей, за характером плоско-верхні, трохи піднесені над шкірою, мають темніший колір, ніж сама шкіра, локалізовані на обличчі, шиї та в ділянці ураженої шкіри. Зумовлені ВПЛ 3 та 5 типу.

Гострокінцеві кондиломи (Condylomata acuminata) обумовлені папіломавірусом 6, 11 типу. Основний шлях передачі – статевий. Гострокінцеві кондиломи визначаються як утворення м'якуватої консистенції, що мають часточкову будову, нагадують «цвітну капусту». Зазвичай розташовані на вузькій основі («ніжці»). Найчастіша локалізація у чоловіків – крайня плоть, вінцева борозна голівки статевого члена, у жінок – присінок піхви, малі і великі статеві губи, ділянка заднього проходу (*рис. 6*).

Серед гострокінцевих кондилом виділяють кілька різновидів.



Рис. 6. Гострокінцеві бородавки

Кератотичні бородавки є себореїним кератозом, що нагадує за структурою «цвітну капусту». Найчастіша локалізація у жінок – великі статеві губи, у чоловіків – тіло статевого члена та мошонка (*рис. 7*).



Рис. 7. Кератотичні бородавки

Папульозні бородавки куполоподібно піднесені над поверхнею шкіри і досягають в діаметрі 1–4 мм, мають гладку поверхню червоно-бурого кольору.

Конділома Бушке–Левенштейна має гігантський розмір (*рис. 8*). Ця патологія найчастіше розвивається внаслідок зниження клітинного імунітету. У гінекологічній практиці трапляється при вагітності.



Рис. 8. Конділома Бушке–Левенштейна

Деякі типи ВПЛ 16 та 18 у 70 % випадків здатні спричинити **злоякісні пухлини**: рак шийки, вульви, піхви, пеніса, анусу, ротоглотки, язика та мигдаликів. Цей процес може тривати роками. ВПЛ, що зумовлюють розвиток

пухлини, як правило, передається статевим шляхом. У хворих, які інфіковані ВПЛ та ВІЛ, підвищений ризик розвитку рака шийки матки та ануса.



Рис. 9. Папіломи на жіночих статевих органах

Папіломи шийки матки часто поєднуються з генітальними кондиломами, клінічно виділяють такі:

Екзофітні папіломи (кондиломи) структурно аналогічні аногенітальним кондиломам. При гістологічному дослідженні визначається койлоцитоз, іноді цервікальні інтраепітеліальні неоплазії I, II ступеня.

Ендофітні папіломи (плоскі кондиломи) локалізуються в товщі епітелію, діагностуються при кольпоскопічному дослідженні. Ендофітні папіломи схильні до малігнізація. Злоякісна трансформація розвивається у 4–10 % жінок протягом 3–5 років.

Для папіломавірусної інфекції, обумовленої ВПЛ високого онкогенного ризику, характерний розвиток **бовеноїдного папульозу** та плоскоклітинних інтраепітеліальних неоплазій шийки матки. Бовеноїдний папульоз (Bowenoid papulosis) може бути обумовлений ВПЛ 16, 18, 31, 35, 39, 42, 48, 51 і 54 типу, який клінічно проявляється куполоподібними та плоскими папулами. Іноді визначаються плями з гладкою або бархатистою поверхнею.

У вогнищах ураження слизової оболонки набувають сірувато-білого кольору з коричневим або оранжево-червоним відтінком. Бовеноїдний папулез описаний у осіб, які мають безліч статевих партнерів, що може свідчити про статевий шлях передачі інфекції. Перебіг захворювання зазвичай доброякісний, тенденція до інвазивного зростання відзначається рідко.

Існує легка неоплазія шийки матки LSIL (Low grade Squamous Intraepithelial Lesions), цервікальна інтраепітеліальна неоплазія I (CIN I) та ВПЛ-індуковані морфологічні зміни (койлоцитоз), помірна неоплазія шийки матки HSIL (High grade Squamous Intraepithelial Lesions), CIN-II, виражена неоплазія або інтраепітеліальний рак (in situ), CIN-III шийки матки (плоскоклітинна карцинома, Cervical cancer) – форми перебігу інфекційного процесу, які діагностуються при кольпоскопічному та (або) гістологічному дослідженні.

Розвиток РШМ обумовлений наявністю хронічної інфекції протягом багатьох років при носійстві одного і того ж типу ВПЛ. У жінок, які страждають від бактеріального вагінозу, на тлі персистенції папіломавірусу ризик передракових трансформацій цервікального епітелію збільшується у 1,5 разу.

Симптоми раку шийки матки. Клінічні симптоми РШМ виникають на останніх стадіях захворювання, які включають наступне:

- аномальна вагінальна кровотеча;
- біль на останніх стадіях;
- вагінальна кровотеча під час менструації;
- аномальні виділення з піхви.

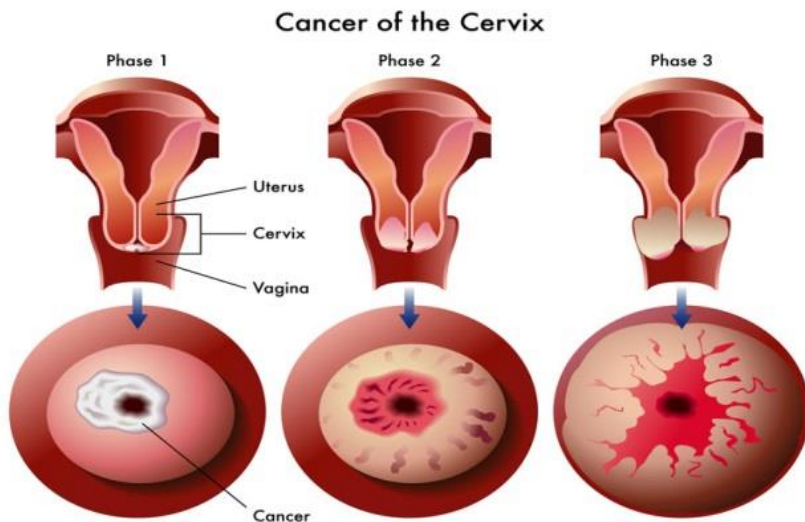


Рис. 10. Рак шийки матки (РШМ)

Відомо, що деяких випадках (до 30 %) протягом 6–12 міс відбувається мимовільна елімінація вірусу без лікування. В інших випадках спостерігається тривалий рецидивуючий перебіг, при якому можливий розвиток епітеліальної неоплазії та ракового процесу (характерно для типів ВПЛ, що мають високу трансформуючу активність відносно епітеліальних клітин). У такому випадку, якщо знаходять аномальні клітини, далі хворому рекомендують розширене обстеження.

Рак статевого члена виявляється в меншій кількості випадків, що становить 0,5 % всіх онкологічних захворювань у чоловіків. Відзначається кореляція між інцидентами раку пеніса та цервікального раку, а також відповідність типів ВПЛ у одружених пар, що підтверджує загальну етіологію інфекції.



Рис. 11. Пухлина статевого члена

ПАПІЛОМАВІРУСНА ІНФЕКЦІЯ ПІД ЧАС ВАГІТНОСТІ

Внутрішньоутробне інфікування плода відбувається лише за масивної колонізаціїпологових шляхів інфекційними агентами. Папіломавірусна інфекція генітального тракту є найбільш поширеною серед жінок репродуктивного віку, як правило, ПВІ часто поєднується з іншими інфекціями, що передаються статевим шляхом, в 71 % – це мікст-інфекція. При цьому ПВІ поєднується з генітальним кандидозом в 33,3 % випадків, з бактеріальним вагінозом (БВ) – в 66,7 %, з генітальним герпесом та цитомегаловірусною інфекцією – в 37 %, хламідійною і мікоплазменою інфекцією – в 46,3%.

Згідно з даними наукових досліджень, комбінація захворювань БВ та ПВІ пов'язана з порушенням виділення Ig A. БВ спричиняє, як правило, анаеробна мікрофлора, її продукти життєдіяльності (нітрозаміни) призводять до погіршення складу цервікального слизу, пошкодження епітелію, персистенції ВПЛ та розвитку неопластичних процесів у шийці матки. Загальновизнаним є парадокс фізіологічної імуносупресії у вагітних, тобто пригнічується і клітинний і гуморальний імунітет, що по суті є фізіологічним. Таким чином,

запальні процеси в нижніх відділах сечостатевого тракту призводять до підвищеної сприйнятливості до інфекцій, що передаються статевим шляхом, у тому числі і ВПЛ. Комплекс БВ та ПВІ асоціюється з цілою низкою ускладнень при вагітності, а саме: ранні, пізні викидні, передчасні пологи, передчасний розрив плодових оболонок, низьку масу плода, амніоніт та хоріоамніоніт, а також сприяє більш частому інфікуванню новонароджених. Дослідники стверджують, що існує чіткий зв'язок між передчасними пологами та наявністю ВПЛ, що є невиліковним вірусом, яким інфікуються більшість сексуально активних людей у певний момент свого життя.



Рис. 12. Недоношене немовля від матері з ПВІ

Значним чинником передачі вірусу папіломи людини є пологи через природні родові шляхи, що у 4,5 рази перевищують ризик вертикальної передачі вірусу папіломи плода. Також велике значення має тривалість безводного проміжку під час пологів більше ніж 6 год, що збільшує ризик передачі вірусу папіломи в 7,3 разу. Частота інфікування ВПЛ від матері з БВ у новонароджених становить 38 %.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ПВІ

1. Клініко-візуальний метод.
2. Мікроскопічний метод (цитологічний).
3. Кольпоскопічний.
4. Вірусологічний метод (зараження мишей, курячого ембріону).
5. Серологічний виділення антитіл за допомогою ІФА тесту.
6. Молекулярно-генетичний (ПЛР).
7. Гістологічний.

Клініко-візуальний метод є найпростішим у діагностиці ВПЛ-інфекції. За допомогою рутинного огляду вульви, промежини, періанальної ділянки, шийки матки та піхви з використанням тесту з розчином Люголя та 3–5 % оцтовою кислотою виявляється більшість клінічних та субклінічних форм інфекції. Однак візуальний метод не дозволяє судити про характер та прогноз перебігу патологічного процесу.

У розвинутих країнах один раз на рік жінки підлягають дослідженню на ВПЛ-інфекцію, відбираються клітини з шийки матки для **мікроскопічного дослідження** (мазок Папаніколау) (рис. 13). Цитологічний мазок (Papanicolaou test, Pap test або Pap smear) – тест, за допомогою якого можна визначити передракові або ракові клітини в піхві і шийці матки. Якщо тест позитивний, то в ньому виявляють навколядерну цитоплазматичну вакуолізацію та ядерне збільшення.

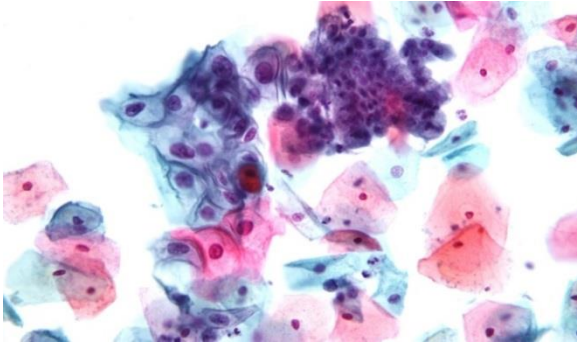


Рис. 13. Мазок Папаніколау

Незважаючи на простоту виконання, цитологічний метод має ряд недоліків: складність виконання, необ'єктивність трактування результатів, складність стандартизації та високі вимоги до кваліфікації лікаря-цитолога. Результатом цього є низька чутливість методу (40–60 %), що не відповідає вимогам, які висуваються до скринінгових тестів.

Матеріал для цитологічного тесту забирають за допомогою спеціальних цервікальних щіточок з цервікального каналу, вагінальної частини шийки матки, піхви, вульви та наносять на предметне скло. Мазок фіксують за допомогою суміші Никіфорова – спирт і ефір у рівному співвідношенні. Даний тест дозволяє виявити безсимптомні зміни епітелію шийки матки і забезпечує виявлення великого відсотку випадків злоякісних новоутворень на ранніх стадіях неопластичного процесу. Під час оцінювання результатів цитологічного дослідження використовують класифікацію результату тесту Папаніколау:

1-й клас — нормальні клітини;

2-й клас – епітеліальні клітини з незначними морфологічними змінами (невелике збільшення ядра і поява клітин метаплазованого епітелію);

- 3-й клас – клітини з вираженими змінами (дискаріоз);
- 4-й клас – атипові клітини, підозрілі щодо злоякісності;
- 5-й клас – клітини, що їх розцінюють як позитивні щодо раку.

Одним із різновидів цитологічних методів є **рідинна цитологія** (рис. 14). Це особливий спосіб приготування цервікальних мазків для подальшої цитологічної оцінки. Матеріал відбирають з поверхні шийки матки, зони стиків епітелію та цервікального каналу за допомогою спеціальної цито-щітки. Далі щіточку з клінічним матеріалом занурюють в стабілізуючий розчин, центрифугують для відділення слизу, крові, лейкоцитів, а клітини цервікального епітелію, що залишилися, наносять тонким шаром на скло та піддають візуальному дослідженню. До переваг рідинної цитології порівняно з традиційною відносяться: легка фіксація, транспортування, зберігання, візуалізація мазка, зниження кількості неякісних зразків, велика чутливість методу щодо визначення ракових клітин, одночасна можливість використання даного зразка для виділення ДНК вірусу.

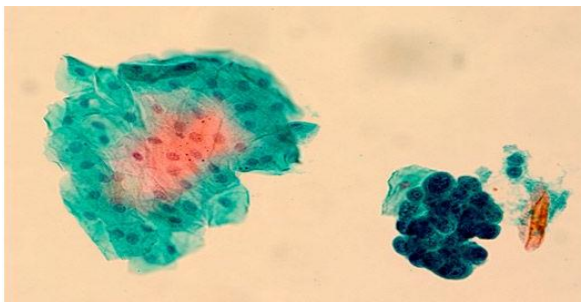


Рис. 14. Рідинна цитологія

Кольпоскопічний метод є високоінформативним і недорогим методом діагностики захворювань шийки матки (рис. 15). Він включає огляд і ревізію стану слизової оболонки шийки матки, піхви і вульви за допомогою мікроскопа.

Специфічною ознакою ПВІ є койлоцитоз. Відомо, що койлоцити утворюються в тканинах внаслідок формування цитопатичного ефекту ВПЛ. Це клітини багатоядерного плоского епітелію проміжного типу зі збільшеними ядрами, нерівною складчастою мембраною і гіперхроматозом. Цитоплазма в цих клітинах зберігається лише в периферійних відділах. Навколо ядра спостерігається ділянка просвітління, яка виникає завдяки дегенеративним змінам і руйнуванню цитоплазматичних органел. До складу койлоциту входить одна або кілька порожнин.

Конділоми мають характерний вигляд із пальцеподібними випинаннями та наявністю петлі судини в кожному з них. Великі труднощі викликає діагностика субклінічних форм папіломавірусної інфекції. Точно діагностувати внутрішньоепітеліальні кондиломи за допомогою тільки кольпоскопічного

методу можливо тільки при вираженій зроговілості або у разі поєднання плоских форм конділом з екзофітними. За допомогою лише кольпоскопії дуже важко відрізнити зони доброякісної інфекції та злоякісної пухлини. Перевагою неспецифічної кольпоскопії є можливість виявлення різних типів епітелію, оцінки розмірів та якості патологічних утворень, стану судинного малюнка та можливість прицільно зробити біопсію тканини з найбільш атипічно змінених ділянок.

Кольпоскопія

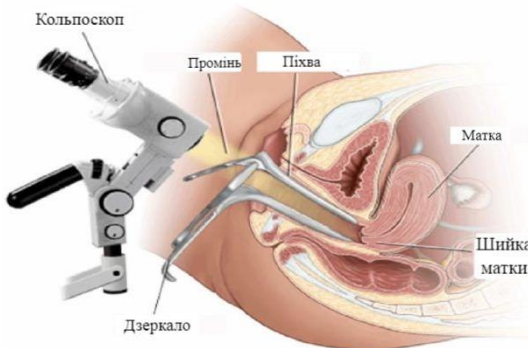


Рис. 15. Кольпоскопічний метод

Вірусологічний метод, як правило, не застосовується в медичній практиці для діагностики ПВІ, тому що вірус не росте в живих культурах клітин. Зараження тварин можливо тільки для наукових досліджень.

Серологічні тести (визначення антитіл у крові) поки що не мають клінічного значення, оскільки антитіла до ВПЛ з'являються лише у 7–70 % інфікованих. Методи імуоферментного аналізу можуть бути спрямовані на визначення онкобілка E7 в цервікальному матеріалі як маркера, що свідчить про процеси малигнізації епітеліальних клітин, які почалися, але в даний час це занадто трудомісткий процес для клінічних лабораторій. Зазвичай діагноз встановлюється на визначенні антивірусних антитіл до білків L1 та L2 в серологічних реакціях – реакції нейтралізації або ІФА.

Метод ПЛР має велику діагностичну значущість і дозволяє ідентифікувати окремі типи ВПЛ, однак використання цього методу як діагностичного критерію для неопластичних процесів шийки матки призводить до значної гіпердіагностики, оскільки приблизно у 80 % випадків інфікування має короткочасний характер і закінчується спонтанним одужанням та елімінацією вірусу. Таким чином, позитивний результат ПЛР при лабораторному дослідженні в більшості випадків не дозволяє прогнозувати розвиток цервікального раку. Однак він має велику діагностичну значущість, особливо якщо вже є картина дисплазії епітелію шийки матки, і дозволяє вказати

рівень канцерогенного ризику. У свою чергу важливість виявлення ДНК і типування вірусу обумовлена тим, що у 15–28 % жінок з наявністю ДНК (при нормальній цитології) протягом двох років розвивається сквамозна інтраепітеліальна неоплазія, а у жінок з відсутністю ДНК ВПЛ захворювання розвивається лише в 1–3 % випадків.

Зазвичай ВПЛ персистує в організмі людини, а його геномна ДНК знаходиться в клітинах у 2 формах: епісомальній та у формі лінійної молекули, інтегрованої в геном самої клітини хазяїна. Надзвичайно важливо для лабораторної діагностики використовувати саме метод ПЛР, що дозволяє виявити ДНК у будь-якій формі, а не виявляти антигени або антитіла до вірусу. До переваг молекулярного метода діагностики слід віднести можливість визначити не тільки генотип, а також кількість вірусу, що вкрай необхідно для прогнозу розвитку та наслідків ПВІ.

При цьому слід підкреслити, що морфологічні методи діагностики ПВІ не витісняються молекулярними, а залишаються вкрай важливим доповненням або навіть підґрунтям для постановки клінічного діагнозу.

Матеріалом для дослідження методом ПЛР є зскрібок цервікального каналу та/або зони трансформації, взятий цервікальною цитологічною щіточкою. Щіточку вміщують у транспортне середовище для ПЛР, а після взяття матеріалу обламують та зберігають її робочу частину у транспортному середовищі до доставки у лабораторію. Допускається використання універсального зонду для взяття матеріалу з цервікального каналу. При необхідності можливо дослідження зскрібків слизових оболонок статевих органів та ротової порожнини.

Дослідження рівня експресії маркерного онкобілка E7 за допомогою ІФА (імуноферментний аналіз).

Як відомо, ключову роль в індукції цервікального канцерогенезу відіграють ранні білки ВПЛ: E6 і E7, неконтрольована експресія яких, у свою чергу, виводить з ладу два ключові білки, що регулюють клітинний цикл – p53 і pRb. Дані білки в нормі не продукуються в клітинах цервікального епітелію, але значно інтенсивніше експресуються внаслідок неконтрольованої експресії вірусних онкогенів (є одним з маркерів канцерогенезу). Основну роль у канцерогенезі виконують онкобілки E5, E6 та E7. Білки E5 і E6 мають слабку трансформуючу активність, яка залежить від білка E7, тимчасом як білок E7 відіграє провідну роль у процесі злоякісної трансформації. Негативна дія білка E7 достатньо велика: він є посередником у порушенні контролю клітинного росту, стимулює виділення транскрипційного фактора E, індукує проонкогенні властивості білка E6, активує реплікацію ВПЛ у клітинах та пригнічує синтез інтерферону. Частоту виділення папіломавірусу можна прирівнювати з частотою виявлення E7, оскільки останній є продуктом життєдіяльності вірусу, що викликає процеси клітинної трансформації. Таким чином, при виявленні E7 в клінічному матеріалі, взятому з цервікального каналу, вказує на початок канцерогенезу, що розглядається як несприятлива прогностична ознака.

Імуноцитохімічні дослідження на онкомаркер p16ink4a.

Нормальний клітинний цикл складається з наступних фаз: G1, G2, S та M. Епітелій шийки матки являє собою динамічну тканину з постійним оновленням. Кіназа (E2F), що забезпечує перехід клітини із G1- в S-фазу клітинного циклу, в нормі неактивна, знаходячись у зв'язку з білком-супресором Rb (продукт гена ретинобластоми). Білок p16ink4a виконує контроль роз'єднання комплексу E2F-Rb, не допускаючи проліферації клітин. Синтез білка p16ink4a стримується, концентрація його в нормальній клітині значно мала. Наявність білка E7 призведе до роз'єднання комплексу E2F-Rb і E2F стає постійно активною, стимулюючи проліферацію клітин. Білок p16ink4a намагається стримувати проліферацію клітин, що призведе до безконтрольного його синтезу, таким чином, збільшується його концентрація в клітині. Це явище підтверджується в цитохімічному дослідженні, що являє собою ще один біомаркер канцерогенезу. Виділення саме цього біомаркера значно знижує кількість неясних цитологічних мазків та сприяє більш точній діагностиці.

Гістологічний метод (рис. 16) діагностики ВПЛ-інфекції міг би бути золотим стандартом діагностики вірусу папіломи людини, проте висока вартість, неможливість частого проведення, не завжди точний прицільний забір матеріалу обмежують його використання. При цьому чіткі ознаки ВПЛ-інфікування не завжди зрозумілі навіть при гістологічному дослідженні, особливо при диференціюванні картини CIN та ВПЛ-інфекції, які часто супроводжуються запальним процесом. Матеріал для дослідження отримують за допомогою біопсії із найбільш зміненої ділянки під контролем кольпоскопа, яку проводять за певними показаннями. Ділянки тканини мають включати в себе поверхневий епітелій, строму та візуально здорову тканину.

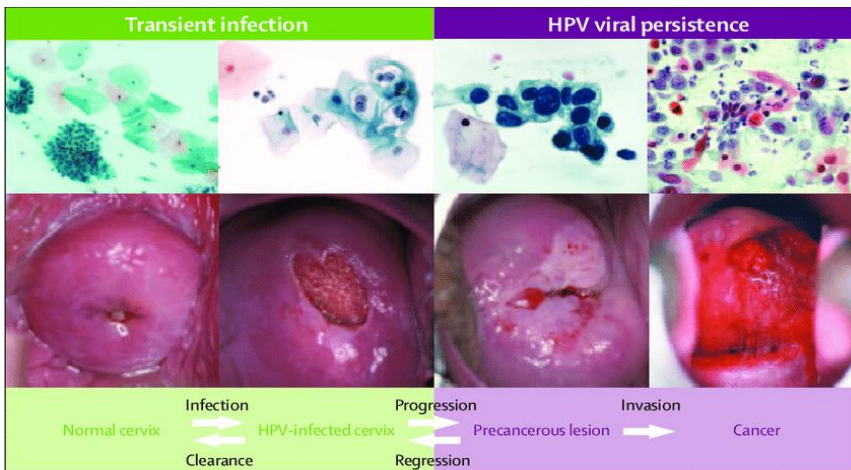


Рис. 16. Гістологічний метод

Таким чином, виявлення ДНК ВПЛ при CIN, койлоцитів, специфічних для цитопатичної дії ВПЛ, у більшості зразків дає змогу віднести цей патологічний стан до ВПЛ-асоційованих захворювань. Алгоритм дослідження включає в себе тест Папаніколау, як першочерговий цитологічний метод та ПЛР з подальшим вирішенням питання про доцільність біопсії для гістологічного дослідження.

ЛІКУВАННЯ ПВІ

Сучасні методи лікування переважно спрямовані на видалення уражень, зумовлених ВПЛ, фізичними методами, але ці впливи часто не достатньо ефективні, тому що не передбачають системного противірусного впливу на внутрішньоклітинні механізми реплікації вірусу, що може обумовлювати рецидив захворювання в короткий термін після видалення первинного патологічного вогнища. При лікуванні плоских і гострих кондилом процедура, спрямована на руйнування або видалення патологічних утворень, забезпечує лікування приблизно в 75 % випадків, і в 25 % випадків виявляються рецидиви. Відсутні докази того, що лікування знижує ймовірність передачі інфекції здоровому партнеру. Існують різні підходи щодо лікувальної тактики ВПЛ-інфекції, але на сьогоднішній день відсутній єдиний стандарт лікування. Наразі відома сучасна класифікація методів лікування папіломавірусної інфекції. При виборі оптимального методу лікування лікар повинен враховувати наступні факти:

- ефективність лікування при цій патології;
- поява рецидивів при такому методі лікування;
- переносимість (побічні дії певного методу);
- простота виконання процедури.

Відповідно до існуючих принципів ведення хворих з ПВІ лікування направлено або на руйнування папіломатозних вогнищ, що виникають на місці проникнення вірусу, або на стимуляцію противірусної імунної відповіді, або на поєднання цих підходів.

Методи лікування папіломавірусної інфекції

I. Деструктивні методи.

1. Фізичні:

- хірургічне висічення;
- електрохірургічні методи;
- кріотерапія;
- лазеротерапія.

Хірургічні методи включають видалення атипово зміненого епітелію, що виконується хірургічним, лазерним або ультразвуковим скальпелем, діатермічною петлею або електрорадіохвильовим приладом. Успішні результати операцій, за даними різних авторів, отримано в 71–88 %.



Рис. 17. Хірургічне висічення папіломи

Іншими фізичними методами лікування, які використовуються в сучасній терапії, можуть бути: кріотерапія, лазеротерапія, діатермоелектрокоагуляція та радіохірургія.

Кріотерапія. Під дією низьких температур у тканинах настає ішемічний некроз, що формується протягом 1–3 діб, потім відбувається демаркація з подальшим відторгненням некротичних мас та поступовою епітелізацією. Повне загоєння настає через 6–8 тиж. Ефективність методу становить 67–88 %.



Рис. 18. Процедура кріотерапії

Лазеротерапія. Енергія лазерного випромінювання викликає в тканинах виражені деструктивні зміни внаслідок різкого нагрівання до 394 °С і абсорбції шляхом випаровування міжклітинної рідини. Ефективність методу при лікуванні CIN, за даними різних авторів, варіює від 60 до 90 %.



Рис. 19. Лазеротерапія

Діатермоелектрокоагуляція заснована на використанні високочастотного струму, який викликає термічне розплавлення тканин. При цьому в електричний ланцюг включається організм людини, і генерація тепла відбувається в самій шийці матки. На поглинанні термічної енергії засновані випаровування міжтканинної рідини та коагуляція тканин.



Рис. 20. Діатермокоагуляція

Радіохірургія – це атравматичний метод розрізу та коагуляції м'яких тканин без їхнього руйнування. Операція виконується за допомогою радіохірургічного приладу. Переваги даного методу: швидкість лікування, швидке загоєння, мінімальний операційний біль, відсутність кровотечі, доступність біопсії та забір матеріалу для гістологічного дослідження.

Основною перевагою фізичних методів лікування – швидке одночасне ураження вогнищ. При використанні інших методів зони ураження ліквідуються за кілька годин чи тижнів, як правило, цей час можна порівняти з часом загоєння рани після використання фізичного методу. Однак частота рецидивів не залежить від вибору методу лікування. Недоліком фізичних методів лікування є: дороге обладнання, спеціальне приміщення, кваліфікований персонал, наявність ліцензій на цей вид діяльності. У зв'язку з цим дедалі більшу увагу привертають консервативні методи лікування, які може застосувати будь-який практикуючий лікар.

2. Наступний метод лікування ПВІ – **хімічний**, який більш використовується локально, спрямований на видалення кондилом та інфікованого епітелію. Для цих цілей використовуються різні хімічні сполуки, що викликають коагуляцію білка:

- азотна кислота;
- трихлороцтова;
- солкодерм;
- саліцилово-резорциновий колодій;
- солковагін.

Всі ці препарати мають невисоку ефективність, численні побічні ефекти; статистичні дані про ефективність цих препаратів мало відомі. Одним із розповсюджених препаратів для лікування ПВІ є солкодерм, що містить декілька кислот: щавлеву, оцтову, молочну та азотну.



Рис. 21. Препарат «Солкодерм»

При місцевому застосуванні хімічного методу відбувається прижиттєва фіксація з наступною муміфікацією патологічно зміненої тканини, загоєння рани відбувається під струпом, що виключає утворення відкритої поверхні рани. Вторинна інфекція та утворення рубців трапляється дуже зрідка. Простота у використанні, мінімальний негативний вплив на оточуючі тканини, здатність контролювати площу обробки – все це робить хімічний метод корисним для лікування ПВІ.

II. Для лікування кондилом застосовуються **цитотоксичні препарати**: подофілін, колхамін, фторурацил.



Рис. 22. Препарат «Фторурацил»

Цитотоксичні препарати руйнують мікротрубочки клітини й інгібують мітоз, пригнічують транспорт нуклеїнових кислот, в результаті чого відбувається інгібування синтезу ДНК і розмноження клітин. Слід відмітити, що цитохімічні препарати мають ряд побічних дій: місцеве запалення, еритема, печіння, болючість, свербіж, ерозії на місці аплікацій, також до недоліків їх застосування варто віднести високу вартість, тривалий термін лікування в поєднанні не з найвищою ефективністю.

III. **Імунні методи.** Використання противірусних препаратів, таких як інтерферон α (лейкоцитарний) і β (фібробластний), неовір, інтрон-А, аміксин, панавір.

ВПЛ зберігається тривалий час в епітеліальних клітинах та використання деструктивних методів лікування не завжди ефективно, часто призводить до рецидиву. Перспективним у цьому плані є застосування противірусних препаратів, таких як інтерферон, який можна застосовувати як монотерапію, так і в комбінації з іншими методами лікування. Відомо, що застосування інтерферону знижує кількість вірусної ДНК, що корелює з клінічним поліпшенням або зникненням вірусних уражень. Інтерферон можна використовувати різними засобами: місцево, внутрішньоосередково та системно (внутрішньом'язово, внутрішньовенно або ректально). Слід звернути увагу, що при системному введенні інтерферону можлива побічна дія, наприклад, грипopodobний стан, також відмічається невисока ефективність та висока вартість лікування. Таким чином, монотерапія інтерфероном не набула широкого розповсюдження в клінічній практиці. За даними різних авторів, найбільш ефективним вважається внутрішньоосередкове застосування противірусних препаратів. Такий засіб терапії показав ефективність у 62,5 % як лікованих, так і нелікованих конділом.

IV. **Комбінований метод** – це поєднання різних методів, наприклад деструктивних з імунними.

Певне значення комбінована імунотерапія має при лікуванні стійких бородавок, що погано піддаються лікуванню. Була доведена ефективність комбінованого лікування при застосуванні імунних препаратів у поєднанні з кріотерапією, лазеротерапією, електрокоагуляцією та солкодермом. Наприклад, дуже гарний ефект дає інтерферон з лазеротерапією, більше, ніж сама лазеротерапія. Комбінований метод вважається достатньо ефективним для профілактики рецидивів.

ПРОФІЛАКТИКА ВПЛ-ІНФЕКЦІЇ

Профілактика ВПЛ-інфекції складається зі специфічних заходів, які поділяються на первинні, вторинні та третинні, і неспецифічних.

Первинна профілактика ВПЛ-інфекції передбачає проведення заходів щодо осіб, які не мають ознак захворювання, з метою запобігання його подальшого розвитку. Класичним прикладом первинної профілактики будь-якого захворювання є вакцинація. Вона запобігає інфікуванню при першому статевому контакті. Найбільша ефективність спостерігається при вакцинації ще до початку статевого життя. На сьогоднішній день у світі розроблені три профілактичні генно-інженерні вакцини: моновалентна, квадριвалентна та бівалентна. Крім того, розробляють вакцину, спрямовану на онкобілки Е6 і Е7, що інгібують протипухлинні супресори. Терапевтична вакцина повинна зруйнувати вірус, а також індукувати клітинну відповідь та елімінувати атипично змінені клітини, але, на жаль, поки це тільки в майбутньому. Важливо підкреслити, що терапевтичні вакцини мають проявляти ефективність за наявності передракового стану, навіть злоякісних ВПЛ-асоційованих новоутворень.

Найбільших успіхів досягнуто у створенні профілактичних вакцин проти різних типів ВПЛ:

- квадριвалентна «Gardasil» (складається з ВПЛ 16, 18, 6, 11) зареєстрована у 80 країнах світу, включена до календаря імунізації багатьох країн, середній вік для вакцинації – 10–26 років.
- бівалентна «Cervarix» проти ВПЧ 16 і 18, зареєстрована в Австрії.

Порівняльна характеристика бівалентної та квадριвалентної вакцин

Вакцина	Бівалентна	Квадριвалентна
Торгова назва	«Церварікс»	«Гардасил»
Типи ВПЛ, що входять до складу вакцини	16, 18	6, 11, 16, 18
Показання	Для дівчат і жінок 9–45 років	Для дівчат і жінок 9–45 років. Для хлопців та чоловіків 9–26 років
Профілактика	Рак шийки матки, рак вульви та піхви	Рак шийки матки, рак вульви та піхви, рак анального каналу, аногенітальні кондиломи

«Церварикс» вводиться внутрішньом'язово в ділянку дельтоподібного м'яза по 0,5 мл за схемою 0–1–6 міс. На цей час зареєстровано 2-дозовий режим 0–6 міс. «Гардасил» вводиться трикратно за схемою 0–2–6 міс. Збереження імунітету після 3 доз вакцини становить як мінімум 5 років. Особливо важливим є введення провокаційної дози вакцини через 5 років після завершення вакцинації, що викликає різке підвищення титру антитіл, що свідчить про наявність імунної пам'яті.



Рис. 23. Вакцина «Церварикс»

Протипоказання до застосування вакцин: підвищена чутливість до одного з компонентів вакцини; реакція підвищеної чутливості на попереднє введення вакцини.

Вакцини безпечні для дівчаток і молодих жінок, ефективно запобігають розвитку цервікальних неоплазій та персистенції папіломавірусної інфекції. Однак вони мають ряд недоліків, властивих практично будь-якій вакцині: підвищення температури тіла; поява короткочасного ознобу; утворення набряку, припухлості в місці ін'єкції; болючість у місці ін'єкції; кропивниця.

Існують міфи, що вакцинація може активувати папіломавірусну інфекцію, якщо вона вже присутня в організмі. Насправді вакцина являє собою частки вірусу, проти яких організм утворює антитіла, таким чином підвищує імунітет. У світовій літературі також немає даних, які свідчать про зниження фертильності (здатності до народження дітей) у вакцинованих жінок.

Вторинна профілактика розвитку ВПЛ-інфекції передбачає раннє виявлення та лікування осіб, які мають фонові та передракові захворювання шийки матки, з метою попередження в подальшому розвитку інвазивного раку.

Третинна профілактика цього захворювання являє собою комплексне або комбіноване лікування, що включає оперативне втручання в поєднанні з променевою та хіміотерапією.

Слід відмітити фактори, що провокують ці захворювання: ранній початок статевого життя; велика кількість і часта зміна статевих партнерів; наявність інших інфекцій, що передаються статевим шляхом; активне та пасивне куріння; імунодефіцитні стани. Всі вони сприяють розвитку ВПЛ-інфекції.

До неспецифічних заходів профілактики ПВІ відноситься проведення цервікального скринінгу, використання презервативу та контрацептивів.



Рис. 24. Неспецифічний захід профілактики ПВІ

Епідеміологами доведено зміну показників захворюваності та смертності від РШМ, спостерігається тісний взаємозв'язку з інтенсивністю скринінгу. У популяціях, де був проведений якісний скринінг та охоплення населення було високим, відзначено значне зниження захворюваності на РШМ (50–90 %). Для скринінгу використовувався цитологічний метод. Слід зазначити, що проведення масового скринінгу потребує закупівлі лабораторного обладнання, навчання цитологів, стандартизації відповідей та оцінки якості досліджень. Чутливість цього методу становить 35–55 %. У різних країнах, що використовують програму скринінгу, міжскринінговий інтервал складає 3–5 років.

Однак використання презервативу чи інших методів контрацепції, які є безперечними щодо захисту проти генітальної інфекції, не можуть бути у 100 % протективними, тому що презерватив покриває не всі інфіковані ділянки.

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ

1. Біологічні властивості папіломавірусу.
2. Реплікація, види ВПЛ-інфекції.
3. Шляхи передачі ВПЛ-інфекції.
4. Патогенез папіломавірусної інфекції.
5. Клінічні симптоми ВПЛ-інфекції.
6. Методи лабораторної діагностики папіломавірусної інфекції.
7. Методи лікування
8. Профілактика ВПЛ-інфекції.
9. Види вакцин для профілактики папіломавірусної інфекції.

ПРАКТИЧНІ ЗАВДАННЯ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

1. Вивчення демонстраційних препаратів.
2. Розбір схеми лабораторної діагностики ВПЛ-інфекції.
3. Замальовка демонстраційних мікропрепаратів в протокол.
4. Оформлення протоколу.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Віруси папіломи людини відносяться до розповсюджених інфекцій, які викликають формування гострокінцевих кондилом та ураження статевих органів з подальшим розвитком пухлинного процесу. Назвіть сімейство, до якого належать ці віруси:
*A. Parvoviridae. C. Polyomaviridae. E. Herpesviridae.
B. Papillomaviridae. D. Poxviridae.*
2. Після обстеження жінки у лікаря-гінеколога встановлено діагноз – рак шийки матки. З яким вірусом може бути асоційована ця патологія?
*A. Вірус простого герпесу. D. Цитомегаловірус.
B. Папіломавірус 16, 18. E. Паліомавірус .
C. Varicella-Zoster вірус.*
3. Розвиток папіломавірусної інфекції може відбуватися в декількох напрямках. Які особливості процесу характеризують латентну форму захворювання?
*A. Завершений життєвий цикл вірусу.
B. Онкогени виділяються в низькій концентрації.
C. Відбувається необмежена транскрипція E6 та E7 протеїнів.
D. Відсутність змін в епітеліальній тканині.
E. Геном вірусу інтегрується в хромосоми клітини хазяїна.*
4. Вірус папіломи людини здатен зумовлювати появу гострокінцевих кондилом гігантських розмірів. Ця патологія може виникати в осіб зі зниженим рівнем клітинного імунітету або у деяких жінок під час вагітності. До яких клінічних різновидів відносять такий вид кондилом?
*A. Бовеноїдний папульоз.
B. Кондилома Бушке–Левенштейна.
C. Гострокінцеві бородавки.
D. Кератотичні бородавки.
E. Папульозні бородавки.*
5. До лікаря звернулась молода жінка 26 років зі скаргами на появу бородавок на шкірі. При огляді пацієнтки виявлені утворення темного кольору, які мали плоску поверхню, трохи піднесені над шкірою, локалізовані на обличчі та шії. Який збудник міг стати причиною даної патології?
*A. ВПЛ 16 та 18 типу. D. ВПЛ 6 та 11 типу.
B. ВПЛ 35 та 39 типу. E. ВПЛ 51 та 54 типу.
C. ВПЛ 3 та 5 типу.*
6. Своєчасна діагностика папіломавірусу людини дозволяє попередити розвиток важких ускладнень, у тому числі онкологічних захворювань. Який з наведених методів лабораторної діагностики є найбільш ефективним для підтвердження діагнозу?

А. Клініко-візуальний.

В. Мікроскопічний (цитологічний).

С. Кольпоскопічний.

Д. Серологічний – виділення антитіл за допомогою ІФА-тесту.

Е. Визначення ДНК збудника за допомогою ПЛР-тесту.

7. У більшості розвинутих країнах усі жінки після 30 років один раз на рік підлягають обстеженню на ВПЛ-інфекцію. Для цього проводять забір матеріалу з шийки матки для мікроскопічного дослідження. Як називається такий метод?

А. Фарбування за Папаніколау.

В. Фарбування за Грамом.

С. Фарбування за Буррі-Гінса.

Д. Фарбування за Туревичем.

Е. Фарбування за Лефлером.

8. Папіломавірус відноситься до ДНК-вмісних вірусів, які не мають суперкапсиду та мають малі розміри віріонів. Вкажіть, який тип симетрії характерний для них?

А. Спіральний.

С. Сферичний.

Е. Паличкоподібний.

В. Кубічний.

Д. Змішаний.

9. Ендофітні папіломи часто локалізуються у товщі зроговілого епітелію і мають схильність до злоякісної трансформації. У переважній більшості випадків ці папіломи невидимі неозброєним оком. Який метод діагностики дозволить виявити ці патологічні утворення?

А. Клініко-візуальний.

В. Мікроскопічний (цитологічний).

С. Кольпоскопічний.

Д. Вірусологічний (зараження мишей, курячого ембріону).

Е. ПЛР-тест.

10. Етіологічним чинником генітальної папіломавірусної інфекції є ряд типів вірусу папіломи людини. Передача відповідних типів ВПЛ від хворих або вірусоносіїв може відбуватися за різними механізмами. Назвіть шляхи передачі, які не характерні для цих вірусів.

А. Прямий контактний.

Д. Трансфузійний.

В. Конгенітальний.

Е. Статевий.

С. Трансплацентарний.

11. Методи імуноферментного аналізу можуть бути спрямовані на визначення показників, які характеризують процеси малігнізації епітеліальних клітин в цервікальному матеріалі при ВПЛ-інфекції. Вкажіть основний маркер, який свідчить про це.

А. СА 125.

В. Е7.

С. РЕА.

Д. ПСА.

Е. АФП.

12. Вірус папіломи людини може передаватися статевим та побутовим шляхами при контактi зi шкірою i слизовими оболонками зараженої людини. За наявності гострих кондилом ймовірність інфікування наближається до 100 %. Через який проміжок часу з моменту зараження з'являються первинні зміни на шкірі та слизових оболонках?

A. 2–6 міс. B. 3–5 міс. C. 2–4 тиж. D. 7–9 міс. E. 10–15 днів.

13. Ефективним захистом від розвитку раку шийки матки у жінок є специфічна профілактика проти папіломавірусу людини. Яку вакцину використовують в даному випадку?

A. Солка. D. Квадривалентна «Gardasil».
B. LAIV. E. Інфанрикс Гекса.
C. «Файзер».

14. Хворий 46 років звернувся до лікаря з приводу утворення папілом, які розташовані на поверхні шкіри та складок. Пацієнт відмічає, що новоутворення мають постійний контакт з одягом та часто травмуються. Які методи лікування можна застосовувати в цьому випадку?

A. Радіохірургія. D. Лазеротерапія.
B. Кріотерапія. E. Все перераховане.
C. Діатермоелектрокоагуляція.

15. Сучасні методи лікування папіломавірусів передбачають як застосування заходів, спрямованих на локальне видалення кондилом, так і використання лікарських засобів. Вкажіть, який препарат не входить до переліку засобів для лікування ВПЛ.

A. Фторурацил. B. Подофілін. C. Гентаміцин. D. Солкодерм.

16. Вакцинопрофілактика ефективно запобігає розвитку цервікальних неоплазій та персистенції папіломавірусної інфекції. Які побічні дії можуть виникати при використанні вакцин проти ВПЛ інфекції?

A. Підвищення температури тіла.
B. Поява короткочасного ознобу.
C. Все перераховане.
D. Болючість у місці ін'єкції.
E. Утворення набряку, припухлості в місці ін'єкції.

17. Папіломавірус здатний передаватися не тільки статевим шляхом, але від матері до дитини під час пологів. Яке захворювання в такому випадку може викликати ВПЛ у дитини?

A. Гострокінцеві кондиломи. D. Вульгарні бородавки.
B. Генітальний рак. E. Папіломатоз гортані.
C. Плоскі бородавки.

Правильні відповіді:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
B	B	D	B	C	E	A	B	C	D	B	A	D	E	D	C	E

ЛІТЕРАТУРА

Основна:

1. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія : підручник для студ. вищ. мед. навч. закл. / за ред. В. П. Широбокова. 2-е вид. Вінниця : Нова книга, 2011. 952 с.

3. П'яткін К. Д. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. Київ : Вища шк., 1992. 431 с.

4. Ситнік І. О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія. Тернопіль : Укрмедкнига, 1998. 392 с

Додаткова:

1. Giuliano A. R., Tortolero-Luna G. Epidemiology of Human Papillomavirus infection in men, cancers other than cervical and benign conditions. *Vaccine*. 2008. Vol. 26. P. 17–27.

2. Franco E. L., Rohan T. E., Villa L. L. Epidemiologic evidence and human papillomavirus infection as necessary cause of cervical cancer // *J Natl Cancer Inst*. 1999. Vol. 91. P. 506–511.

3. Bosch F. X., Burchell A. N., Schiffman M., et al. Epidemiology and Natural History of Human Papillomavirus Infections and Type-Specific Implications in Cervical Neoplasia // *Vaccine*. 2008. Vol. 26. Suppl. 10. K1–K16.

4. Harper D., Franco E., Wheeler C., et al. Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomized controlled trial // *Lancet*. 2004. Vol. 364. P. 1757–1765.

5. Lutz Gissmann, Michael Boshart, Matthias Durst, et al. Presence of Human Papillomavirus in Genital Tumors // *The Journal of Investigative Dermatology*. 1984. Vol. 83. 26s28s.

6. Villa L., Costa R., Petta C., et al. High sustained efficacy of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus type 6/11/16/18 L1 virus-like particle vaccine through 5 years of follow-up // *British Journal of Cancer*. 2006. Vol. 95. P. 1459–1466.

7. Zur Hausen H., Schneider A. The Papovaviridae. The papillomaviruses ; ed. P. M. Howly, N. P. Salzman. New York, 1987. Vol. 2.

8. Дзюблик В. І., Ковалюк О. В. Папіломавірусна інфекція: погляд на проблему лікаря-вірусолога // *Український хіміотерапевтичний журнал*. 2012. № 1–2 (25). С. 98–106.

9. Конспект лекцій.

Навчальне видання

Мішина Марина Митрофанівна
Коцар Олена Василівна
Кочнева Олена Володимирівна
Калашник-Вакуленко Юлія Михайлівна

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ПАПЛАМАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

Навчальний посібник
з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія»
для студентів II–III курсів
медичного та стоматологічного факультетів

За редакцією М. М. Мішиної

Відповідальний за випуск О. В. Коцар



Редактор М. В. Тарасенко
Комп'ютерна верстка О. Ю. Лавриненко
Комп'ютерний набір О. В. Коцар

Формат А5. Ум. друк. арк. 2,3. Зам. № 23-34322.

Редакційно-видавничий відділ
ХНМУ, пр. Науки, 4, м. Харків, 61022
izdatknmurio@gmail.com

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавництв, виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції серії ДК № 3242 від 18.07.2008 р.