

# ПАПІЛОМАВІРУСНА ІНФЕКЦІЯ: ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ ЛІКАРЯ-ВІРУСОЛОГА

**I. В. Дзюблик О. В. Ковалюк**

*Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України, Київ*

**Резюме.** У статті розглянуті питання медико-соціального значення папіломавірусної інфекції. Викладені сучасні данні щодо класифікації, структури, особливостей репродукції вірусу папіломи людини та патогенезу папіломавірусної інфекції. Наведені основні клінічні прояви папіломавірусної інфекції в контексті мультидисциплінарної проблеми. Представлені основні методи лабораторної діагностики, особливості епідеміології та специфічної профілактики цієї інфекції.

**Ключові слова:** *вірус папіломи людини, папіломавірусна інфекція, репродукція, лабораторна діагностика, специфічна профілактика.*

## ПАПИЛЛОМАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ: ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ ВРАЧА-ВИРУСОЛОГА

**I. В. Дзюблик, Е. В. Ковалюк**

**Резюме.** В статье рассмотрены вопросы медико-социального значения папилломавирусной инфекции. Изложены современные данные о классификации, структуре, особенностях репродукции вируса папилломы человека и патогенезе папилломавирусной инфекции. Приведены основные клинические проявления папилломавирусной инфекции в контексте мультидисциплинарной проблемы. Представлены основные методы лабораторной диагностики, особенности эпидемиологии и специфической профилактики этой инфекции.

**Ключевые слова:** *вирус папилломы человека, папилломавирусная инфекция, репродукция, лабораторная диагностика, специфическая профилактика.*

## HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION: PERSPECTIVE OF VIROLOGIST

**I. V. Dziublyk, O. V. Kovalyuk**

**Summary.** The article discusses medical and social aspects of human papillomavirus infection and shows the recent data about classification, structure and features of the virus reproductive process and pathogenesis. Authors stated main clinical implications of human papillomavirus in context of multidisciplinary approach. Presented basic methods of laboratory diagnostics, special features of epidemiology and specific preventive measures.

**Key words:** *human papillomavirus, papillomavirus infection, reproduction, laboratory diagnostics, specific preventive measures.*

Адреса для листування:

Дзюблик Ірина Володимирівна

д-р мед. наук, професор, завідувач кафедри вірусології

НМАПО імені П. Л. Шупика МОЗ України

E-mail: idzyublyk@ukr.net

**Актуальність.** Віруси папіломи людини (ВПЛ) та захворювання, що вони викликають, привертають до себе посилену увагу як науковців, так і практичних лікарів. Це пояснюється тим, що на початку XXI століття спостерігається безпрецедентне поширення папіломавірусної інфекції (ПВІ) серед населення земної кулі. Фахівці вважають, що ВПЛ інфіковано майже три чверті сексуально активних дорослих людей по всьому світу. Тільки в США щорічно цим вірусом інфікується майже 6,2 млн осіб, а загальна кількість хворих на ПВІ сягає 20 млн осіб. Шляхи інфікування, висока контагіозність ВПЛ, онкогенні властивості збудника зумовлюють потенційну небезпеку щодо інфікування для кожної людини, проте вважається, що ця небезпека є найвищою для жінок репродуктивного віку. Актуальність та соціальна значущість цієї інфекції в значній мірі обумовлені доведеною етіологічною роллю ВПЛ в розвитку раку анального каналу, раку статевих органів для обох статей, раку ротоглотки, практично всіх випадків раку шийки матки (РШМ), доброякісних пухлин статевих органів (гострокінцевих кондилом геніталій) та рецидивуючого респіраторного

папіломатозу (РРП). В цілому понад 95 % випадків РШМ, 75 % випадків раку прямої кишки, 50 % випадків раку пенісу та 20 % випадків новоутворень ротової порожнини зумовлені ВПЛ. Серед злоякісних новоутворень у хворих на СНІД особливе місце займають рак прямої кишки та РШМ, спричинені ВПЛ на тлі Т-клітинного імунного дефіциту. При цьому ПВІ розглядається як СНІД-асоційована інфекція, а РШМ — як СНІД опортуністичне новоутворення (пухлина). Таким чином, з ПВІ та її клінічними проявами зустрічаються лікарі різних спеціальностей, а сама проблема ПВІ постійно перебуває в сфері інтересів багатьох наукових дисциплін, в тому числі медичної вірусології.

**Історична довідка.** Прояви ПВІ у вигляді аноурогенітальних бородавок відомі ще з античних часів та були описані лікарями Древньої Греції під назвою «кондиломи» або «фіги». Проте сам папіломавірус вперше був виділений та охарактеризований як етіологічний агент папіломатозу у кролів R. Shour у 1933 р. В середині 70-х років XX століття німецький вірусолог Харальд Цур Хаузен виявив, що хворі на РШМ практично завжди (у 95 % ви-

падків) 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. Цур Хаузен за своє відкриття, яке мало не тільки теоретичне, але й величезне практичне значення, був вшанований Нобелівською премією в галузі медицини та фізіології (рис. 1).

Доречно нагадати, що задовго до відкриття Цур 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.

**Вірус папіломи людини (ВПЛ).** Назва папіломавірусів походить від лат. *papilla* — пухирець і грец. *oma* — пухлина. За своєю структурою ВПЛ відносяться до ДНК-вмісних безоболонкових вірусів, що мають просту будову, сферичну форму та розміри 55 нм. Вірусна частинка складається із ДНК та білкової оболонки (капсиду). ВПЛ не мають суперкапсидної ліпідної оболонки. Капсид, сформований двома структурними білками, має ікосаедричний тип симетрії та складається із 72 капсомерів (субодиниць), організованих у 12 пента- і 6 гексамерів. Саме така будова вірусу та організація білкової оболонки надає ВПЛ сферичну форму (рис. 2).

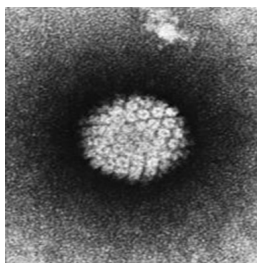


Рис. 2. Схематичне (А) та електронно-мікроскопічне (Б) зображення ВПЛ.

Геном ВПЛ представлений однією молекулою кільцевої суперспіралізованої дволанцюгової ДНК, що містить біля 8 тисяч пар нуклеотидів та здатна до інтеграції в геном клітини-господаря. Геном ВПЛ має 8 ранніх генів (Е1 — Е8) та 2 пізніх гени (L1 та L2), які кодують 8 — 10 білків в залежності від типу вірусу. Молекулярна вага білків ВПЛ коливається від 7 до 73 кДа. Більшість вірусних генів є поліфункціональними (рис. 3).

Білки L1 та L2 (відповідно кодуються генами L1 та L2) формують вірусний капсид та відіграють важливу роль в процесі інфікування клітини. Основною функцією білку L1 є роз-

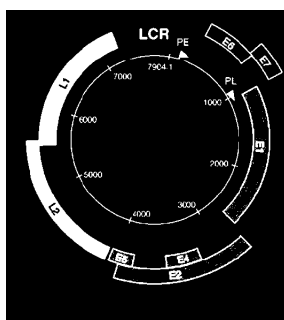


Рис. 3. Схема геному ВПЛ.

пізнавання специфічних рецепторів на поверхні клітини-мішені. Білки E1 та E2 забезпечують реплікацію вірусу та внутрішньогеномну регуляцію (E2). Білки E5, E6 та E7 беруть участь в реплікації клітинної ДНК. Білок E4 виконує більш пізню функцію та приєднується до цитоскелетних структур. Відомості, щодо функцій білків E3 та E8 на сьогодні обмежені. Важливою структурною особливістю папіломавірусів є наявність у складі віріону білків клітинного походження. Клітинні гістони H2a, H2b, H3, H4 разом із геномною ДНК вірусу формують нуклеокапсид, структура якого дуже нагадує міні-хромосому.

Особливості будови вірусів в повній мірі обумовлюють стійкість збудника до дії фізико-хімічних чинників. ВПЛ відноситься до вірусів, що мають просту будову, тому вони не чутливі до дії розчинників ліпідів (ефіру, ацетону, тощо), стійкі до дії багатьох дезінфектантів та кислого середовища (не руйнуються при pH 3,0), добре зберігаються при низьких температурах. ВПЛ інактивуються при +50 °C впродовж 1 год.

**Класифікація.** До 2002 р. папіломавіруси входили до родини *Papovaviridae*. Відповідно до рішення 7-го міжнародного конгресу з таксономії вірусів, що відбувся у 2005 р., з родини *Papovaviridae* відокремлені дві нові самостійні родини — *Papillomaviridae* (Папіломавіруси) і *Polyomaviridae* (Поліомавіруси).

Родина *Papillomaviridae* включає в себе 16 родів, з яких патогенними для людини є представники 5 родів, а саме: *Alphapapillomavirus* (інфікують оральний та уrogenітальний епітеліальний шар людей та приматів), *Betapapillomavirus* та *Gamma papillomavirus* (інфікують клітини шкіри людини), *Mu papillomavirus* (інфікують клітини шкіри людини), *Nu papillomavirus* (викликають доброякісні та злоякісні утворення шкіри людини). Інші представники 11 родів здатні інфікувати та викликати захворювання тільки у тварин (велика рогата худоба, коні, кролі, собаки, хом'яки) та птахів (зяблики, папуги, тощо).

За даними Національного бюро клітинних досліджень США та медичної мережі Medline, ро-

дина *Papillomaviridae* постійно поповнюється і на сьогодні нараховується понад 170 типів вірусів, з яких 100 — це віруси папіломи людини — ВПЛ. Серед ВПЛ до групи високого онкогенного ризику належать типи 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 та 82; до категорії припустимо високого ризику відносяться 26, 53 та 66 типи. Низькоонкогенними вважаються 6, 11, 40, 42 — 44, 54, 61, 72, 81 типи. ВПЛ низького онкогенного ризику призводять до розвитку класичних проявів ПВІ — гострокінцевих кондилом геніталій та дисплазій легкого ступеня. Типи ВПЛ високого онкогенного ризику відрізняє наявність трансформуючого по відношенню до клітини потенціалу, що призводить до розвитку дисплазій середнього та високого ступеня важкості та раку (рис. 4).

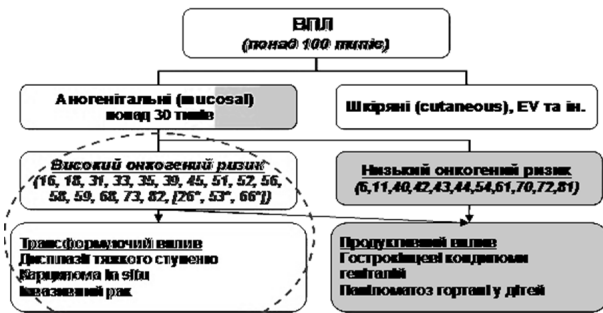


Рис. 4. Класифікація ВПЛ (Nubia Munoz et al., 2003)

Деякі автори умовно поділяють ВПЛ на «шкіряні», тропні до зроговілого епітелію типи (переважно представники родів *Betapapillomavirus* та *Gammapapillomavirus*) та слизові або аногенітальні, тропні до слизових оболонок, типи вірусів (рід *Alphapapillomavirus*). В таблицях 1 та 2 наведені ураження шкіри та уrogenітального тракту різними типами ВПЛ.

Таким чином, ВПЛ відносяться до патогенних для людини вірусів, що виявляють епітеліотропність. Тропізм вірусу визначається розпізнанням специфічних клітинних рецепторів, що зумовлюють чутливість клітини до вірусу. Вважа-

ють, що цими рецепторами для ВПЛ є гепарансульфат протеінглікан та α6-інтегрин — компонент міжклітинного матриксу епітеліальних тканин. Взаємодія цих рецепторів клітин із вірусним білком L1 є високоспецифічним процесом, з якого починається інфікування клітини та життєвий цикл ВПЛ — його репродукція.

**Особливості репродукції та механізм трансформуючого потенціалу ВПЛ.** ВПЛ розпізнає на поверхні чутливої клітини специфічні рецептори — гепарансульфат протеінглікан та α6-інтегрин, адсорбується та проникає у клітину за механізмом рецепторного ендцитозу. Після інфікування ВПЛ базальної клітини та «роздягання», молекула геномної ДНК знаходиться в ній у вигляді епісоми (кільцевої суперспіралізованої молекули). За умови, що геномна ДНК персистує в клітині у вигляді

Таблиця 2  
Різні типи ВПЛ та ураження уrogenітального тракту, що вони викликають

Тип ВПЛ	Асоційовані ураження
6	Гострокінцеві кондиломи, дисплазія епітелію шийки матки, вульви, папіломатоз гортані (верукозний ларингіт)
11	Гострокінцеві кондиломи, дисплазія епітелію шийки матки, вульви
16	Дисплазія епітелію шийки матки, піхви, вульви, статевих органів, злоякісні новоутворення статевих органів, бовеноїдний папульоз, рідко — злоякісні новоутворення порожнини рота
18	Дисплазія епітелію шийки матки, злоякісні новоутворення статевих органів
30	Дисплазія епітелію шийки матки, злоякісні новоутворення гортані
31, 33	Дисплазія епітелію шийки матки, рідко — РСШМ
35, 58	Дисплазія епітелію шийки матки, злоякісні новоутворення матки
39 – 40	Дисплазія епітелію шийки матки, статевих органів
42, 44, 45	Дисплазія епітелію шийки матки, гострокінцеві кондиломи
43	Дисплазія епітелію шийки матки
51 – 52	Дисплазія епітелію шийки матки, злоякісні новоутворення матки
53	Виявляють в епітеліальних тканинах органів уrogenітального тракту, не асоціюють з патологічними
54	Гострокінцеві кондиломи
56	Дисплазія епітелію шийки матки, злоякісні новоутворення
57	Папульозні зміни порожнини рота, дисплазія епітелію шийки матки
59	Дисплазія епітелію вульви
16+18+45	73,3 % карциноми шийки матки
16+18+45+31	76,9 % карциноми шийки матки
16+18+45+31+33	80,3 % карциноми шийки матки
16+18+45	89,7 % аденокарциноми шийки матки
16+18+45+59	92,7 % аденокарциноми шийки матки
16+18+45+59+33	94,1 % аденокарциноми шийки матки
61, 62, 68, 70, 73	Передракові й онкологічні захворювання уrogenітального тракту

Таблиця 1  
Різні типи ВПЛ та ураження шкіри, що вони викликають

Тип ВПЛ	Асоційовані ураження
1	Вульгарні та плоскі бородавки на кистях рук, підшві
2	Вульгарні та плоскі бородавки на кистях рук, підшві, верукозний стоматит
3	Плоскі та юнацькі бородавки
4	Вульгарні та плоскі бородавки на кистях рук і підшві, верукозний стоматит
7	Бородавки у робітників м'ясної промисловості
10	Плоскі бородавки, рідко гострокінцеві кондиломи
14, 15, 27	Плоскі бородавки
26, 28 – 29	Шкіряні бородавки
37	Кератоакантома
41	Шкіряні бородавки, злоякісні новоутворення шкіри
55	Бовеноїдний папульоз

епісоми, зчитування генів вірусу починається з промотору P97, а далі відбувається транскрипція ранніх генів і трансляція вірусних білків E6, E7 та інших, конче необхідних для початку реплікації вірусної геномної ДНК, а потім — синтез структурних білків L1 та L2. За нормальних умов транскрипція ранніх генів ВПЛ швидко завершується. По мірі того, як відбувається процес диференціації епітеліальної клітини у її ядрі відбуваються заключні стадії вірусної репродукції, що завершуються складанням та виходом вірусу з клітини. Важливо підкреслити, що вихід вірусного потомства з клітини завжди призводить до дезінтеграції ядра та лізису інфікованої клітини-господаря.

Проте 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-господаря 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. Визначено, що розрив кільцевої молекули ДНК відбувається, як правило в області 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. В багатьох дослідженнях було показано, що саме з накопиченням продуктів генів E6 та E7 у надмірній кількості, пов'язано розвиток процесів трансформації клітини. Важливо враховувати, що продукти генів E6 та E7 кожний окремо виявляють онкогенні властивості, та при кооперації вони здатні значно підсилювати онкогенний потенціал один одного в процесі трансформації клітин. Безумовно, процеси трансформації при ПВІ, що відбуваються в умовах *in vitro* та *in vivo* надзвичайно складні та ще недостатньо вивчені, проте теоретично механізм трансформуючого потенціалу ВПЛ схематично можна представити наступним чином: вірус має у своєму геномі два трансформуючих гена (E6 та E7), синтез продуктів яких у той чи інший спосіб порушують функції клітинних генів, що відіграють ключову роль в регуляції клітинного циклу. Виникнення та накопичення додаткових мутацій в клітинному геномі може призвести до селекції клону клітин та появи моноклональної популяції цих клітин, а відтак, до виникнення та росту пухлини.

Таким чином, розвиток РШМ можна умовно розділити на наступні етапи: 1) первинна інфекція ВПЛ; 2) персистенція геному ВПЛ в епісомальній формі та можлива продукція вірусних часточок; 3) інтеграція ДНК ВПЛ у геном клітини-господаря з наступним процесом транскрипції генів E6 та E7 та синтезом відповідних білків у надмірній кількості, їх трансформуючий вплив на проліферацію клітин; 4) виникнення мутацій в геномі клітини та його нестабільність; 5) селекція клону клітин, що мають мутантну ДНК та геномну ДНК

ВПЛ в інтегрованому стані; 6) активне розмноження клону клітин та ріст пухлини (рис. 5).



Рис. 5. Етапи розвитку РШМ.

**Клінічні прояви ПВІ.** Клінічні прояви ПВІ дуже різноманітні. Так, дерматовенеролог зустрічається та лікує хворих на ПВІ, що мають різні види генітальних бородавок, папіломи слизових оболонок та шкіри; гінеколог — цервікальні інтраепітеліальні неоплазії (CIN) шийки матки I — III ступеня тяжкості; онколог — CIN III та РШМ. Як ми вже вказували вище, з часом збільшується частота захворювань на рак прямої кишки, на рецидивуючий папіломатоз гортані тощо. Отже, ПВІ — це така інфекція, з якою зустрічаються лікарі різних спеціальностей, а сама проблема ПВІ стає мультидисциплінарною.

Інкубаційний період при ПВІ складає від 1 до 10 міс (в середньому 3 міс). ПВІ може бути клінічно вираженою, перебігати субклінічно або бути у латентному стані.

Латентним називається стан, при якому вірус знаходиться у незрілих клітинах базального шару епітелію та не визначається кольпоскопічно, цитологічно та гістологічно. ДНК ВПЛ виявляють за допомогою молекулярно-біологічних методів діагностики, при цьому жодної клінічної або субклінічної патології не спостерігається. Вважають, що в цей період вірус знаходиться у клітині у епісомальній формі у невеликій кількості. Більшість авторів називають латентну ПВІ безсимптомним вірусоносійством.

Субклінічна форма не супроводжується симптомами, але може бути діагностована при кольпоскопії або під час цитологічного дослідження. Клінічні прояви у пацієнтів видно «неозброєним оком» у вигляді гострокінцевих, плоских або ендодітних кондилом зовнішніх статевих органів, піхви, шийки матки. Генітальні прояви ВПЛ можуть поєднуватися з екстрагенітальними. Гострокінцеві кондиломи зустрічаються не часто та являються лише «верхівкою айсберга». Маніфестація клінічних проявів ПВІ виникає переважно внаслідок впливу соціальних, інфекційних та імунних чинників. Про пряму кореляцію між станом імунної системи макроорганізму та прогресуванням ПВІ свідчить висока частота виявлення передпухлинних захворювань та ВПЛ-асоційованого РШМ у хворих з імуносупресією різної етіології.

Клінічні прояви ПВІ та прогноз наслідків захворювання залежить від типу ВПЛ, наявності супутньої патології (включаючи ІПСШ), стану імунної системи та інших ко-факторів, що ускладнюють захворювання. Велику роль в генезі РШМ відіграє спадкова запрограмованість. У жінок із цим захворюванням частіше виявляються зміни в 5, 6, 10, 11 та 17 хромосомах.

Численними дослідженнями показано, що на перебіг ПВІ і асоційованих з нею уражень статевих органів впливають певні чинники, які можна розглядати як фактори ризику та прогресування захворювання. До найбільш значущих відносять:

- ранній сексуальний дебют, велика кількість та часта зміна статевих партнерів;
- наявність проміскуїтетних зв'язків;
- наявність партнерів, що мали контакти з жінками, які хворіють на РШМ або аногенітальні кондиломи;
- велика кількість пологів та абортів, як подій, що призводять до травматизації шийки матки;
- вагітність (транзиторна імуносупресія);
- зміни імунного статусу внаслідок авітамінозу, надлишкової інсоляції, атопічного дерматиту;
- терапія супутньої патології (онкологічних захворювань, станів після трансплантації органів) із використанням цитостатиків;
- паління, вживання алкоголю;
- ко-інфекція з ІПСШ (ВІЛ-інфекцією/СНІДом, герпетичною, цитомегаловірусною, хламідійною, тощо) внаслідок посилення ними диспластичних процесів на вульві, шийці матки;
- тривале (понад 5 – 7 років) використання контрацептивів *per os*;
- наявність місцевих подразників (виділення з піхви, уретри, прямої кишки при різних патологічних станах, скупчення смегми, мацерація);
- хронічні запальні захворювання органів малого тазу, ендометріоз;
- якісні та кількісні порушення мікрофлори піхви.

Виділяють наступні клінічні форми ПВІ: екзофітні кондиломи (ЕК), типові гострокінцеві кондиломи, плоскі кондиломи, ураження у вигляді плям, гігантські кондиломи (Бушке-Левенштайна), бовеноїдний папульоз.

У переважній більшості ЕК асоціюються з ВПЛ 6 та 11 типів. ЕК вважається найбільш частою клінічною формою ПВІ. Вони мають три основні форми: гострокінцеву, папілярну та папулоподібну. В клінічній практиці загальноприйнятною є назва «гострокінцеві кондиломи». Усі форми ЕК мають спільну морфологічну структуру та загальну характеристику — екзофітний ріст. Майже у половини жінок з ПВІ немає жодних скарг, а кондиломи невеликих розмірів виявляються випадково. Під час вагітності ЕК схильні до бурхливого росту, після вагітності — спонтанно регресують.

Типові гострокінцеві кондиломи — це пальцеподібні вирости епітелію з добре васкуляризованою сполучнотканинною строюю з тонкою

ніжкою або широкою основою у вигляді поодиноких вузликів або численних епітеліальних виростів. Вони мають білуватий або коричневий колір, на слизових — блідо-рожевий або червонуватий. Зазвичай діагностика типових великих і дрібних кондилом не викликає труднощів, а проведення біопсії не обов'язкове.

Плоскі кондиломи частіше локалізуються на шкірі. Їхні розміри становлять 3 – 7 мм. Плоскі кондиломи не мають пальцеподібних виростів, часто гіперпігментовані та гіперкератозні. Такі пацієнтки потребують консультації онколога, дерматолога та проведення гістологічного дослідження біоптату. Нерідко при лабораторній діагностиці методом ПЛР у таких пацієнток визначається 16 та 18 типи ВПЛ.

Досить рідкісною формою ПВІ вважаються гігантські кондиломи. Вони характеризуються агресивним ростом вглиб дерми, а також рецидивним перебігом. На початковому етапі розвитку вони мають вигляд дрібних елементів типу папілом в аногенітальній ділянці. Надалі елементи бурхливо ростуть, зливаються та формують вогнища ураження з широкою основою і вегетаціями, ворсинчастими утвореннями, мацерацією та вторинним інфікуванням.

Бовеноїдний папульоз зумовлений 55 типом ВПЛ. Характерно, що він часто реєструється у молодих людей віком від 25 до 35 років. Клінічно проявляється гіперпігментованими папулами та плямами. У разі локалізації на шкірі має темно-сірий або коричнево-чорний колір, на слизових оболонках — коричнево-червоний або білувато-сірий.

З 1953 р. для зазначення проліферативних процесів в епітелії стали застосовувати термін «дисплазія», запропонований J. Reagan. Майже через 20 років він був затверджений ВООЗ, а у 1975 р. у загальний вжиток увійшла аббревіатура «CIN», що означає Cervical Intraepithelial Neoplasia — цервікальна інтраепітеліальна неоплазія. За існуючими оцінками, на сьогодні у світі на 10 млн жінок з ПВІ приходиться 1 млн випадків кондиломатозу, 1 млн випадків дисплазій шийки матки, 55 тисяч випадків карциноми та 15 тисяч випадків РШМ. Інвазивний РШМ розвивається у 0,15 % жінок, інфікованих ВПЛ.

**Прогноз наслідків захворювання** залежить від типу ВПЛ, вірусного навантаження, наявності супутньої патології (включаючи ІПСШ), стану імунної системи та інших ко-факторів, що ускладнюють прогноз захворювання.

**Імунітет.** Імунітет до ВПЛ є типоспецифічним і не запобігає наступному інфікуванню іншими серотипами. Після самостійного вилікування від ВПЛ певного генотипу реінфікування тим же генотипом не відбувається.

**Лабораторна діагностика.** В лабораторній діагностиці ПВІ класичні вірусологічні методи дослідження не застосовуються. ВПЛ не можна культивувати та виділяти в культурах клітин в умовах *in vitro*. Дуже обмеженим є застосування електронної мікроскопії та серологічних методів.

Провідне місце в практиці лабораторної діагностики ПВІ займають молекулярні методи, спрямовані на виявлення ДНК вірусу. Це пояснюється тим, що ВПЛ персистує в організмі людини, а його геном ДНК знаходиться в клітинах у 2-х формах: епісомальній та у формі лінійної молекули, інтегрованої в геном самої клітини-господаря. Відтак, надзвичайно важливо для лабораторної діагностики використовувати саме такі методи, що дозволяють виявити ДНК у будь-якій формі, а не виявляти антигени або антитіла до вірусу. До переваг молекулярних методів діагностики слід також віднести можливість визначити генотип та кількість вірусу, що вкрай необхідно для прогнозу розвитку та наслідків ПВІ. При цьому слід підкреслити, що морфологічні методи діагностики ПВІ не витісняються молекулярними методами діагностики, а залишаються вкрай важливим доповненням або навіть підґрунтям для постановки клінічного діагнозу. Серед молекулярних методів в діагностиці ПВІ застосовують метод молекулярної гібридизації та методи ампліфікації нуклеїнових кислот. Серед останніх перевагу надають полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР).

Матеріалом для дослідження методом ПЛР є зішкріб цервікального каналу та/або зони трансформації, взятий цервікальною цитологічною шіточкою. Шіточку вмішують в транспортне середовище для ПЛР. Після взяття матеріалу шіточку обламують та зберігають робочу частину шітки у транспортному середовищі до доставки у лабораторію. Допускається використання універсального зонду для взяття матеріалу з цервікального каналу. Можливо дослідження зішкрібів слизових оболонок статевих органів, ротової порожнини.

Принцип ПЛР, запропонованої у 1983 р. Кару Mullis, полягає у багаторазовому копіюванні (ампліфікації) у пробірці певних ділянок ДНК в процесі температурних циклів, які повторюються. Після кожного циклу ампліфікації відбувається подвоєння кількості ДНК копій (геномного матеріалу). Відтак, після закінчення ПЛР в пробірці міститься величезна кількість фрагментів геному ВПЛ, які можна виявити різними методами. Нині найчастіше використовують електрофоретичну детекцію в агарозному гелі та гібридизаційно-флуоресцентну детекцію у форматах: «у кінцевій точці» (формат FEP-флуоресценція «End point») та у режимі «реального часу» (FRT флуоресценція «Real-time»). Перевагами ПЛР в етіологічній діагностиці ПВІ є її висока чутливість та специфічність, здатність виявляти широкий спектр типів високого канцерогенного ризику, стандартизація, починаючи з етапу відбору матеріалу, відносна простота та швидкість виконання, автоматизований облік результатів, економічно обґрунтована вартість дослідження. ПЛР дає можливість виявляти окремі фрагменти геному ВПЛ (якісна ПЛР) та кількість вірусних часток (в геномних еквівалентах) в певній кількості клітин досліджуваного зразку (кількісна ПЛР).

Кількісна ПЛР або ВПЛ Degene-тест дозволяє диференціювати клінічно значущу концентрацію ДНК вірусу в клітинах (тобто вірусне навантаження, що на пряму корелює з потенціалом вірусу до трансформації клітин) та незначущу концентрацію ДНК ВПЛ (менше 3 Іg на 100 тис. клітин), яка характеризується мінімальним ризиком розвитку дисплазій та майже 100 % спонтанною регресією від клінічно значущої (понад 3 Іg на 100 тис. клітин). ВПЛ Degene-тест рекомендований до застосування FDA як скринінговий метод в США та вже широко застосовується в інших високо розвинутих країнах світу. В Україні для лабораторної діагностики ПВІ зареєстровані ВПЛ-тести для якісного дослідження, для визначення вірусного навантаження та для генотипування.

У 2009 р. за участю групи міжнародних експертів були розроблені вимоги, яким повинні відповідати молекулярні тести на основі ПЛР (скорочено ВПЛ-тести), що використовуються для виявлення ВПЛ у популяційному скринінгу. Була визначена роль ВПЛ-тесту у скринінгу — виявлення ВПЛ-інфікованих пацієнтів, які мають ймовірність розвитку важкої дисплазії та РШМ. Була сформульована задача ВПЛ-тестування — виявлення групи ризику розвитку захворювання для подальшого, більш ретельного обстеження осіб групи ризику додатковими методами дослідження.

До основних методів лабораторної діагностики ПВІ, крім молекулярних методів, відноситься цитологічна діагностика (Пап-тест, Бетесда-тест) та гістологічне дослідження біоптату зміненої тканини. Цитологічні та гістологічні методи спрямовані на виявлення клітин, змінених під впливом вірусу (койлоцитів) або трансформованих вірусом. Вони використовуються для встановлення ступеня зміни клітин.

*Цитологічний метод діагностики ПВІ.* Матеріал забирають за допомогою спеціальних цервікальних шіточок з цервікального каналу, вагінальної частини шийки матки, піхви, вульви та наносять на предметне скло. Мазок фіксують. Для цього застосовується суміш Никифорова — спирт і ефір у рівному співвідношенні. Класичним методом забарвлення є Пап-тест. Пап-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 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.

Нині також застосовують класифікацію Бетесда, відповідно до якої розрізняють три категорії мазків: норма; невизначені мазки (незрозумілі) ASCUS; внутрішньоепітеліальне ураження (передракове) низького (LSIL) і високого (HSIL) ступенів.

Специфічною ознакою ПВІ є койлоцитоз. Відомо, що койлоцити утворюються в тканинах внаслідок формування цитопатичного ефекту ВПЛ. Це клітини багаточарового 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 койлоцита входить одна або кілька порожнин.

За результатами метааналізу встановлено, що чутливість одного традиційного Пап-тесту для виявлення CIN 2/3 коливається від 20 до 87 %, а специфічність — від 90 до 97 %. Цитологічний метод є неспецифічним по відношенню до інфекції, зумовленої ВПЛ високого онкогенного ризику, проте немає сумнівів щодо наявності прямого зв'язку між виявленням високоонкогенних типів ВПЛ у тканинах шийки матки і ступенем тяжкості CIN.

Для підвищення ефективності Пап-тесту та для покращення якості досліджуваного зразка був розроблений метод рідинної цитології. Особливістю методу є наявність рідини, призначеної для зберігання клітинного матеріалу, отриманого з шийки матки. Матеріал відбирається за допомогою цервікальної щітки і вміщується у рідке консервуюче середовище. В подальшому завдяки обробляють для отримання однорідного тонкого шару клітин шийки матки з меншою кількістю клітинного дебрису на предметному склі. Така оптимізація дає можливість уникнути основних недоліків, що мають місце при виконанні цитодослідження: отримання потенційно нерепрезентативного зразка клітин, негативного впливу крові та слизу на можливість інтерпретації мікропрепарату.

*Гістологічний метод діагностики ПВІ.* Матеріал отримують за допомогою біопсії, яку проводять за певними показаннями. Для отримання матеріалу використовують конхотом, скальпель, радіоніж. Матеріал беруть із найбільш зміненої ділянки під контролем кольпоскопа. Ділянки тканини мають включати в себе поверхневий епітелій, строму та візуально здорову тканину. Він має бути максимально збереженим і фіксованим. Гістологічне дослідження при кондиломатозному цервіциті та вагініті характеризується структурою багаточарового плоского епітелію з дрібними гострокінцевими виростами і наявністю койлоцитів. При цьому в більшості спостережень виявляють ВПЛ низького онкогенного ризику. Варто підкреслити, що у 64,2 % хворих ПВІ шийки матки поєднується з хронічним екзоцевіцитом, що утруднює диференційну діагностику змін епітелію, зумовлених і не зумовлених ВПЛ.

У 2001 р. Klaes запропонував використовувати в якості маркера дисплазії та неоплазії інгібітор циклінзалежної кінази P16 (INK4a). Експресія гену INK4a підсилюється в присутності білку E7 ВПЛ, що може слугувати індикатором процесу інтеграції вірусної ДНК в геном клітини, проте ген INK4a може регулюватися й іншими чинниками, не зв'язаними з ПВІ. Імуногістохімічний метод ґрунтується на виявленні P16<sup>ink4a</sup>-клітинного протеїну, який бере участь в регуляції клітинного циклу. В нормальних епітеліальних клітинах шийки матки протеїн P16<sup>ink4a</sup> експресується в дуже малій кількості та імуногістохімічними методами не виявляється. Порушення регуляції P16<sup>ink4a</sup>, можливо, пов'язано з пригніченням функції білку pRb (супресора пухлинного росту) в результаті формування інактивуючих комплексів з онкопротеїном E-7 (E-7/pRb). Тому P16<sup>ink4a</sup> може розглядатися як непрямий маркер активної онкогенної експресії ВПЛ високого онкогенного ризику. В гістологічних препаратах різниця між дисплазією та метаблазією епітелію полягає у характерному фарбуванні P16<sup>ink4a</sup> — дифузно та локально відповідно.

Таким чином, виявлення ДНК ВПЛ при CIN і РШМ, койлоцитів, специфічних для цитопатичної дії ВПЛ, у більшості зразків дає змогу віднести цей патологічний стан до ВПЛ-асоційованих захворювань. У широкомасштабних скринінгових програмах вдаються до комплексного застосування різних методів лабораторної діагностики ПВІ, що значно зменшує ймовірність отримати хибні результати. Алгоритм дослідження включає в себе ПАП-тест як першочерговий цитологічний метод та ПЛР з подальшим вирішенням питання про доцільність біопсії для гістологічного дослідження.

**Особливості епідеміології та специфічної профілактики.** ПВІ — антропонозна інфекція. Джерелом збудника інфекції є хвора людина. ВПЛ має повсюдне поширення.

Основним шляхом передачі ВПЛ є статевий. Інфікування може відбуватися при традиційних та нетрадиційних (гомосексуальний, аногенітальний та ін.) статевих контактах. Ризик інфікування ПВІ при однократному статевому контакті становить 60 – 75 %, при повторному — майже 99 %. Можливе одночасне інфікування однієї людини декількома типами ВПЛ. Від 50 до 70 % сексуально активних чоловіків та жінок інфікуються ВПЛ саме під час статевих контактів, при цьому бар'єрні методи контрацепції (презервативи) значно зменшують ризик інфікування, проте не виключають його зовсім.

Інфікування ВПЛ може відбуватися контактним шляхом за умови безпосереднього тісного контакту із 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.

ВПЛ може передатися від матері до дитини. Можливе інфікування немовлят ВПЛ від матері,

у якої є кондиломи, під час пологів, оскільки у них вірус міститься у величезній кількості. Є повідомлення, про наявність ВПЛ в амніотичній рідині вагітних, у вагінальному та цервікальному секреті жінок, інфікованих вірусом. При цьому інфікування новонародженої дитини можливе при аспірації біологічної рідини під час пологів, що з часом може привести до виникнення ларенгеального та респіраторного папіломатозу гортані у дітей раннього віку (з ураженням гортані, трахеї, бронхів). Можлива також поява у немовлят аногенітальних бородавок.

Є поодинокі повідомлення про інфікування лікарів при проведенні медичних маніпуляцій, наприклад при виконанні лазерної вапоризації тканин у хворих з папіломатозом гортані та кон'юнктиви.

Ряд авторів вказують на ще один спосіб зараження ВПЛ — ауто-інокуляцію (самозараження або поширення інфекції з первинного вогнища на тілі в інші місця): під час гоління, епіляції, обгризання нігтів, розчісування шкіри.

За даними ВООЗ, щорічно реєструється більше 300 млн хворих на інфекції, що передаються статевим шляхом (ІПСШ), при цьому відмічається тенденція до зростання кількості випадків захворювань, що не відносяться до класичних ІПСШ, при цьому одне з перших місць належить ПВІ. До надзвичайно небезпечних негативних аспектів повсюдного поширення ВПЛ та росту захворюваності на ІПСШ папіломавірусної природи слід віднести зростання захворюваності серед жінок на РШМ. За даними ВООЗ щорічно у світі, переважно в країнах, що розвиваються, реєструється 250 000 жінок, які вмирають від РШМ, в 95 % випадків РШМ визначається ДНК ВПЛ високоонкогенних типів. Опираючись на дані літератури, було проведено мета-аналіз з метою оцінки глобального поширення ВПЛ серед 157 879 жінок з нормальною цитологією. Всі жінки були ідентифіковані в загальних програмах скринінгу і об'єднані в 5 груп за географічними континентами відповідно до місця проживання. Дослідженнями було встановлено, що ДНК ВПЛ (в більшості випадків високоонкогенних типів вірусу) було визначено у 10 % жінок. Було встановлено, що Африка є регіоном особливо високого ризику щодо інфікування ВПЛ, в той же час Європа була віднесена до регіону з відносно низьким поширенням ВПЛ. Серед онкогенних типів переважали ВПЛ-16, -18, -31, -33, -35, -39, -45, -51, -56 та -58. Показано домінування ВПЛ-16 на всіх п'яти континентах. Його питома вага в структурі всіх виявлених ВПЛ коливалась від 2,3 % у Європі до 3,5 % у Північній Америці. Що стосується інших онкогенних типів ВПЛ, то вони відносно рівномірно були поширені на всіх континентах. Цікавим видається той факт, що серед всіх типів ВПЛ високого онкогенного ризику на долю ВПЛ-16 прийшлося 50 % випадків, а на долю ВПЛ-18 — 20 %. Вчені припускають, наявність у збудника ВПЛ-16 та ВПЛ-18 певних біологічних

переваг, що сприяють передачі вірусу статевим шляхом або певним чином стабілізують структуру та інфекційну активність збудника.

Необхідно підкреслити, що в Україні молекулярно-епідеміологічний моніторинг за ВПЛ не проводиться. Проте окремі публікації щодо поширення генотипів ВПЛ корелюють з міжнародними дослідженнями (рис. 6).

При аналізі поширення різних онкогенних типів ВПЛ серед жінок України в залежності від віку, було встановлено, що найбільш уразливою до ВПЛ виявилась молодь від 17 до 29 років. Важливо підкреслити, що серед молоді у більшості випадків одночасно виявлялась ДНК ВПЛ двох і більше (5 – 7) типів високого онкогенного ризику. Серед жіночого населення старших вікових груп одночасне інфікування кількома генотипами ВПЛ практично не зустрічалось (рис. 7).

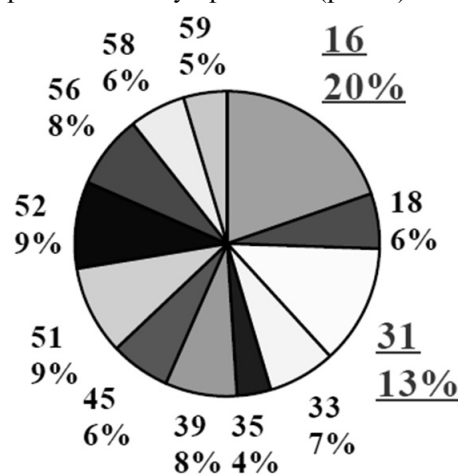


Рис. 6. Частота виявлення генотипів ВПЛ серед населення України у 2011 р. (згідно даних лабораторії «Сінево», 2011 р.).

Сьогодні у світі розроблені три профілактичні генно-інженерні вакцини: моновалентна, квадрівалентна та бівалентна. Активно розробляються та знаходяться на різних етапах доклінічних та клінічних досліджень терапевтичні вакцини, мішенню яких є онкобілки ВПЛ Е6 та Е7. Призначенням терапевтичних вакцин є допомога імунній системі у руйнуванні ВПЛ та елімінації з організму людини ракових клітин. Важливо підкреслити, що терапевтичні вакцини мають проявляти ефективність при наявності передракового стану і, навіть, при наявності злоякісних ВПЛ-асоційованих новоутворень. Профілактичні вакцини призначені для первинної профілактики та захищають від розвитку передракових станів та інвазивного РШМ. Першою у світі була апробована моновалентна вакцина проти ВПЛ 16 типу, розроблена компанією MSD. Клінічні дослідження, в яких приймали участь 2392 жінки віком від 16 до 23 років, продемонстрували 100 % ефективність вакцини проти персистуючої ПВІ (Koutsky J. et al., 2002). Перша в світі квадрівалентна вакцина Гардасил, виробництва компанії MSD, зареєстрована більш ніж у 100 країнах світу, включаючи США, Канаду, країни Євросоюзу, Росію та Україну. Профілак-



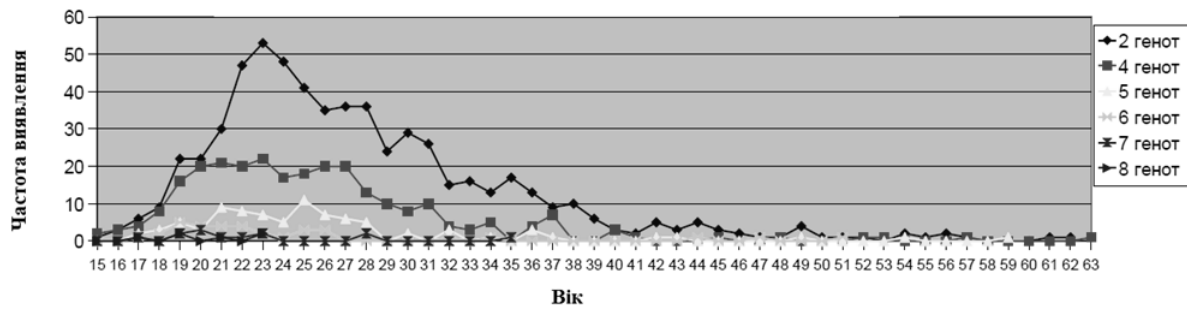


Рис. 7. Частота виявлення генотипів ВПЛ в залежності від віку у 2011 р. (згідно даних лабораторії «Сінево», 2011 р.).

тична дія квадριвалентної вакцини Гардасил спрямована відразу проти 4 типів ВПЛ (6, 11, 16 та 18). Вакцина має у своєму складі антигени ВПЛ 6 — 20 мкг, ВПЛ 11 — 40 мкг, ВПЛ 16 — 40 мкг, ВПЛ 18 — 20 мкг, ад'ювант (аморфний гідроксифосфат сульфат алюмінія) — 225 мкг. Вакцинація (за умови дотримання схеми вакцинації) викликає потужну гуморальну відповідь та продукцію типоспецифічних віруснейтралізуючих антитіл. Призначена для застосування у дітей та підлітків від 9 до 17 років та у молодих жінок віком від 18 до 26 років. В клінічних дослідженнях вакцини Гардасил приймали участь 25 000 осіб віком від 16 до 26 років. Вакцина продемонструвала 99 % ефективність у профілактиці РШМ, 100 % ефективність у профілактиці раку вульви та вагіни, 99 % ефективність у профілактиці генітальних кондилом (Villa L. et al., 2005; The FUTURE II Study Group, 2007). Профілактична дія бивалентної вакцини Церварікс, виробництва компанії GSK, спрямована проти ВПЛ 16 та 18 типів. До складу вакцини входять антигени ВПЛ 16 — 20 мкг, ВПЛ 18 — 20 мкг та новий ад'ювант — алюмінія гідроксид з монофосфорилом ліпиду А (AL+ MPL). Новий ад'ювант, виробництва компанії GSK, значно підвищує імуногенну активність вакцини. За даними клінічних випробувань бивалентна вакцина характеризується високою ефективністю щодо профілактики СІНІІ+ (98 — 100 %). Нині в Україні вакцини Церварікс та Гардасил зареєстровані та з'явилась можливість їх застосування у дівчаток і у жінок для профілактики передракових уражень та РШМ, спричинених 16 та 18 типами ВПЛ. Вакцинація проти ПВІ включена до розділу III Національного календаря профілактичних щеплень (наказ МОЗ України № 595 від 16.09.2011 р. «Про порядок проведення профілактичних щеплень в Україні та контроль якості й обігу медичних імунобіологічних препаратів»). За прогнозами багатьох провідних фахівців, вакцинація профілактичними вакцинами проти ПВІ поки що не може замінити скринінгові програми, проте може реально знизити захворюваність на РШМ та смертність від ВПЛ-асоційованих новоутворень та значно зменшить витрати держави на охорону здоров'я в найближчі 10 — 15 років.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Киселев В.И., Свешников П.Г., Барановский П.М., и др. Онкобелок E7 вируса папилломы человека — новый маркер ранних стадий канцерогенеза. *TERRA MEDICA*. — 2011. — №1. — С.35–39.
2. Кувейда Д.А., Шипулина О.Ю. ВПЧ—тестирование: алгоритмы диагностики и требования к молекулярным тестам для выявления вирусов папилломы человека. — «Профілактична медицина». — 2008. — №4. — С.75–82.
3. Медична мікробіологія, вірусологія, імунологія /за ред. академіка НАН України В.П. Широкова.— Вінниця.— Нова книга.— 2010.— 951 с.
4. Профілактика рака шийки матки. — Руководство для врачей.—М.: «МЕДпресс—информ», 2008, 55 с.
5. Патология шейки матки и генитальные инфекции /Под ред. проф. В.Н. Прилепской. — М.: МЕДпресс—информ, 2008. — 384 с.
6. Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки: руководство для практикующего врача. — «ГЭОТАР—Медиа».— М.: 2005, 144 с.
7. Товстановская В.А., Воробей—Виховская В.Н., Крук О.Ю. Значение современных методов диагностики папилломавирусной инфекции на доклинической и ранней клинической стадии. — «Здоровье женщины». — 2012. — №2(68). — С. 88–92.
8. Чернышова Л.А. Молекулярные методы диагностики папилломавирусной инфекции и рака шейки матки. — «Consilium medicum Ukraina» 2012, С.15–19.
9. Хаша І.І., Андрашко Ю.В. Нові можливості лікування та профілактики патологічних станів жіночих геніталій, асоційованих з вірусом папіломи людини. — Збірник рекомендацій з актуальних проблем клінічної медицини. — Київ. — 2009. — С.121–154.
10. Bosch F.X., Lorincz A., Munoz N. et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin. Pathol* 2002; 55: 244–265.
11. 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; 91: 506–511.
12. F. Xavier Bosch, Ann N. Burchell, Mark Schiffman et al. Epidemiology and Natural History of Human Papillomavirus Infections and Type—Specific Implications in Cervical Neoplasia. — *Vaccine* 26S (2008) K1–K16.
13. 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.
14. Lutz Gissmann, Michael Boshart, Matthias Durst et al. Presence of Human Papillomavirus in Genital Tumors. — *The Journal of Investigative Dermatology*, 83:26s — 28s. — 1984.
15. 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. — 95. — P. 1459–1466.
16. Zur Hausen H., Schneider A., Ed. Howly P.M., Salzman N.P. // *The Papovavirid e. Vol.2 the papillomaviruses Plenum*. — New York, 1987.