

Квант 4 – нова якісна та кількісна ДНК-діагностика основних типів вірусів папіломи людини в Україні

С.І. Жук¹, А.М. Кошмеринська², О.А. Таран³

¹Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

²Житомирський обласний онкологічний диспансер

³Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

У статті зазначено, що віруси папіломи людини (ВПЛ) 6,11,16,18-го серотипів є найбільш поширеними причинами доброякісної та злоякісної патології аногенітальної ділянки жіночого населення репродуктивного віку на території України. Тому необхідно проводити їх визначення при патології шийки матки запального та незапального генезу. Квант 4 є новітнім сучасним методом ДНК-діагностики даних серотипів ВПЛ в режимі реального часу. За допомогою методики Квант 4 можливо проконтролювати правильність забору біологічного матеріалу для дослідження медичним персоналом та оцінити клінічно значущий рівень вірусного навантаження на організм жінки, а це в свою чергу дозволяє розробляти індивідуальний підхід до лікування та проконтролювати якість лікувального процесу

Ключові слова: папіломавірусна інфекція, Квант 4, методика, ДНК-діагностика.

Вірус папіломи людини (ВПЛ) є найбільш поширеною інфекцією, яка передається статевим шляхом, та може бути причиною розвитку раку аногенітальної локалізації [7, 9]. У світі щорічно реєструють близько 500 тис. нових випадків раку шийки матки, що посідає за частотою друге місце серед онкологічної патології у жінок [15].

Важливим питанням є типування вірусу залежно від онкогенного ризику.

Деякі типи ВПЛ є небезпечними з точки зору онкології, а саме високоонкогенні. Установлено, що ВПЛ 16-го і 18-го серотипів спричинюють близько 70% раку шийки матки в світі і є найбільш поширеними серед цієї групи вірусів. 16-й тип є причиною плоскоклітинного раку, 18-й тип залишається основним у виникненні аденокарциноми. 6-й і 11-й типи належать до низькоонкогенних, які призводять до розвитку 90% гострокінцевих кондиллом.

У зв'язку з цим, для запобігання розвитку онкологічної патології необхідною є своєчасна діагностика даної групи вірусів за допомогою клінічного огляду, цитологічного дослідження, гістологічного дослідження біоптату шийки матки та молекулярно-біологічного методу дослідження.

Оскільки на території України найбільш поширеними типами ВПЛ є 6,11,16,18-й серотипи, які можуть стати причиною розвитку гострокінцевих кондиллом та цервікальної інтраепітеліальної неоплазії різних ступенів важкості, і як наслідок – онкопатології, необхідною є їх типоспецифічна ДНК-діагностика з кількісним визначенням. Результати проведених досліджень і лягли в основу розроблення сучасної ДНК-діагностики в режимі реального часу за допомогою Квант 4.

Мета дослідження: ДНК-діагностика найбільш поширених в території України типів (6,11,16,18) та кількісне визначення ВПЛ за допомогою Квант 4 (HPV КВАНТ 4 ДНК-технології, Росія) в режимі реального часу, а також контроль за-

бору матеріалу медичним персоналом у пацієток із патологією шийки матки. За допомогою даної ДНК-діагностики також можливо провести передвакцинальне визначення ВПЛ та контроль проведеної вакцинації. Крім того, за допомогою даного методу можна оцінити ефективність лікування клінічних проявів ВПЛ.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У дослідженні брали участь 97 жінок репродуктивного віку з різною патологією шийки матки. Патологічні зміни шийки матки були представлені запальними змінами шийки матки (ендо- та екзоцервіцити), ектропіозом шийки матки, площинними конділомами шийки матки, цервікальною інтраепітеліальною неоплазією шийки матки легкого ступеня, цервікальною інтраепітеліальною неоплазією шийки матки помірного ступеня та цервікальною інтраепітеліальною неоплазією шийки матки важкого ступеня.

Комплекс обстежень включав звичайний гінекологічний огляд з одночасним забором матеріалу з екзо- та ендоцервіксу для бактеріологічного та цитологічного дослідження, кольпоскопію (звичайну та розширену) та залежно від показань біопсію з патологічного вогнища шийки матки з наступним гістологічним дослідженням.

Діагностика ВПЛ базувалась на принципі методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням процесу ампліфікації ДНК, що полягала в повторюваних циклах: температурній денатурації ДНК, відбитку праймерів з комплементарними послідовностями і наступної добудови поліонуклеотидних ланцюгів із даних праймерів Таq-полімеразою.

Набір реагентів HPV КВАНТ 4 призначений для діагностики, типування та кількісного визначення ДНК ВПЛ низького онкогенного ризику (ВПЛ 6,11) та високого онкогенного ризику (ВПЛ 16,18). Особливостями набору була специфічність та контроль забору матеріалу.

Дослідження виконували у жінок в фолікулярну фазу менструального циклу до проведення будь-яких інших методів обстеження. Жодна з них перед дослідженням не отримувала ніякого лікування та не санувалася. Усі пацієнтки були соматично здорові, перед дослідженням протягом 24 год утримувалися від коїтуса та не відзначали у себе кров'янистих виділень з піхви.

Збір матеріалу проводили перед бімануальним обстеженням, попередньо видаливши стерильним ватним тампоном слиз, запальний ексудат і обробивши шийку матки стерильним фізіологічним розчином. При заборі матеріалу із ендоцервіксу зонд вводили в канал шийки матки на 0,5–1,5 см, а при отриманні матеріалу з екзоцервіксу обережно зішкрябами ексфолювативний клітинний матеріал із піхвової частини шийки матки, зони трансформації.

Зразки отриманого матеріалу транспортували до лабораторії в замороженому вигляді.

Отримані результати обробляють за допомогою пакета прикладних програм для статистичного оброблення «Excel».

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті виконаного дослідження встановлено, що вік пацієнок, які підлягали обстеженню, коливався в межах від 17 до 56 років, основну вікову групу від 21 до 40 років склали 70 жінок (72,2%). Забір біоматеріалу у всіх пацієнок проведено правильно, тобто контроль забору у жодної з обстежуваних не був меншим за 10⁴. Скарги на виділення з піхви (слизові, молочно-кислі, з неприємним запахом) пред'являли 83 (85,6%) пацієнтки. Під час проведення обстеження у пацієнок з патологією шийки матки були верифіковані наступні патологічні зміни: енцервіцит був діагностований у 29 пацієнок (29,9%), дисплазія легкого ступеня виявлена у 31 жінки (31,1%), помірна дисплазія була встановлена у 10 хворих (10,3%), важку дисплазію діагностували у 5 пацієнок (3,1%) та ектропіон у 22 жінок (22,7%). ВПЛ виявлено у 22 хворих (22,6%) при патології шийки матки. Серед низькоонкогенних вірусів 6-й тип встановлено у 6 пацієнок (6,1%), а серед високоонкогенних типів 16-й тип вдалось діагностувати у 14 пацієнок (14,4%), 18-й тип лише у 2 жінок (2,1%). Клінічно значуще навантаження вірусу відзначено у хворих, в яких виявлено 16-й тип вірусу, що є основною причиною розвитку плоскоклітинної карциноми. Даний показник коливався в межах від 10^{5,0} до 10^{8,0}. У даних пацієнок з клінічно значущим навантаженням вірусу цитологічно та гістологічно було діагностовано цервікальну інтраепітеліальну неоплазію шийки матки різного ступеня.

Виявлені ВПЛ, наведені на малюнку.

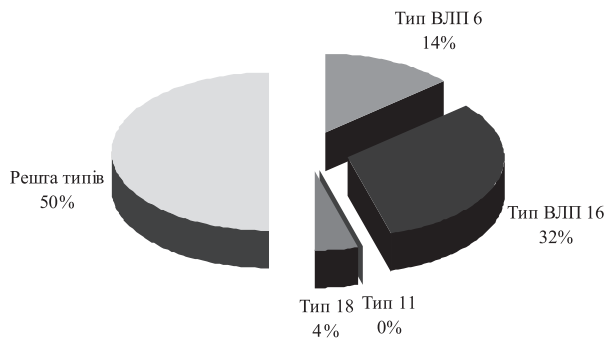
Таким чином, згідно з отриманими даними ВПЛ 6, 11, 16-го та 18-го типів є найбільш поширеними на території України і складають основний відсоток доброякісної та злоякісної патології аногенітальної ділянки, тому своєчасна діагностика даних типів дозволить правильно вибрати тактику лікування та контролювати якість отриманої терапії та диспансерного спостереження.

Установлено, що Квант 4 є високоінформативною сучасною новою методикою ДНК-діагностики ВПЛ, що має значні перспективи застосування її при патології шийки матки запального та незапального генезу.

Основними перевагами вказаної методики є виконання в режимі реального часу, генотипування 4 найбільш поширених на території України серотипів ВПЛ з їх кількісним визначенням та контроль забору біологічного матеріалу медичним персоналом. Крім цього, Квант 4 є зручним у використанні, оскільки практичний лікар не повинен володіти додатковими навичками при проведенні дослідження (табл. 1–3).

ВИСНОВКИ

У зв'язку з викладеним вище рекомендуємо застосовувати дану методику у жінок репродуктивного віку, що мають суб'єктивні або об'єктивні симптоми, пов'язані з розладами уrogenітального тракту, а також у жінок репродуктивного віку, в яких цитологічно або гістологічно виявлено цервікальну інтраепітеліальну неоплазію II, III ступеня важкості, у жінок репродуктивного віку, в яких протягом 1 року періодично цитологічно виявляли цервікальну інтраепітеліальну неоплазію I ступеня важкості. Крім того, для контролю якості лікування цервікальної інтраепітеліальної неоплазії різного ступеня важкості, лейкоплакії шийки матки та ерозії, асоційованих з ВПЛ, при кольпоскопічній картині гіперкератозу та лейкоплакії, при ерозії шийки



Відсоткова характеристика ВПЛ 6, 16, 11 та 18 типів у вбірці 97 обстежених

Таблиця 1

Правильність забору матеріалу

| Показники | Сума | % |
|-----------|------|------|
| <4 | - | 0 |
| 4,0-5,0 | 45 | 46,4 |
| >5,0 | 52 | 53,6 |

Таблиця 2

Основні типи вірусів, виявлені при обстеженні

| Типи ВПЛ | % із 97 | Сума | % із 22 |
|----------|---------|------|---------|
| 6 | 6,1 | 6 | 27,3 |
| 16 | 14,4 | 14 | 63,6 |
| 11 | - | - | 0 |
| 18 | 2,1 | 2 | 9,1 |

Таблиця 3

Клінічне навантаження вірусу, виявленого у пацієнок за допомогою Квант 4

| Типи вірусів | Кількісне навантаження | Медіана |
|--------------|------------------------|---------|
| 16 | 104,9 | 4,8 |
| 16 | 105,9 | 6,5 |
| 16 | 105,8 | 4,9 |
| 16 | 106,2 | 6,7 |
| 16 | 107,1 | 6,6 |
| 16 | 105,1 | 5,3 |
| 16 | 106,5 | 6,8 |
| 16 | 106,4 | 6,7 |
| 16 | 107,0 | 7,4 |
| 16 | 105,3 | 6,4 |
| 16 | 107,7 | 7,6 |
| 18 | 106,8 | 7,2 |

майки, що тривало загоєється, після кріодеструкції, ДТКонізації та лазерної вапоризації, за наявності поліпів шийки матки та їх рецидивів, за наявності площинних та гострокінцевих кондилом зовнішніх статевих органів, у разі незахищеного статевих акту з партнером, що має кондиломи зовнішніх статевих органів, під час планування вагітності при репродуктивних втратах, за наявності 3 і більше статевих партнерів.

Квант 4 – новая качественная и количественная ДНК-диагностика основных типов вирусов папилломы человека в Украине
С.И. Жук, А.Н. Кошмеринская, О.А. Таран

Quantum 4 – new qualitative and quantitative DNA diagnostics of the basic types of Human Papillomavirus (HPV) in Ukraine
S.I. Zhuk, A.M. Koshmerynska, O.A. Taran

В статье отмечено, что вирусы папилломы человека (ВПЧ) 6,11,16,18-го серотипов является наиболее распространенными причинами доброкачественной и злокачественной патологии аногенитальной зоны женского населения репродуктивного возраста на территории Украины. Поэтому необходимо проводить их определение при патологии шейки матки воспалительного и невоспалительного происхождения.

Методика Квант 4 является новационным современным методом ДНК-диагностики данных серотипов ВПЧ в режиме реального времени. При помощи методики Квант 4 возможно проконтролировать правильность взятия биологического материала для исследования медицинским персоналом и оценить клинически значимый уровень вирусной нагрузки на организм женщины, а это в свою очередь позволяет разработать индивидуальный подход к лечению и проконтролировать качество лечебного процесса.

Ключевые слова: папилломавирусная инфекция, Квант 4, методика, ДНК-диагностика.

The paper shows that HPV of the serotypes 6,11,16,18 are the most common causes of benign and malignant pathology of anogenital areas of females of reproductive age in Ukraine. It is therefore necessary to diagnose them in cases of cervical pathology of inflammatory and non-inflammatory origin. Quantum 4 is the innovative modern method of DNA diagnostics of the data serotypes of HPV in real time. With the help of methods of quantum 4 it is possible to control the accuracy of sampling of biological material for medical researching as well as to assess clinically significant level of viral load on a woman's body, and this in its turn will allow to develop an individual approach to medication and control the quality of the treatment process.

Key words: Papillomavirus infection, quantum 4, methodology, DNA diagnostics.

Сведения об авторах

Жук Светлана Ивановна – Национальная медицинская академия последиplomного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9. E-mail: zhuksvitlana@ukr.net

Таран Оксана Анатольевна – Винницкий национальный медицинский университет имени Н.И. Пирогова, 21018, г. Винница, ул. Пирогова, 5б; тел.: (097) 538-12-06. E-mail: taranoa@ukr.net

Кошмеринская Алина Николаевна – Житомирский областной онкологический диспансер, 10013, г. Житомир, ул. Фещенко-Чопивского, 24/4; тел.: (067) 113-62-75. E-mail: alina.koshmerinskaya@mail.ru

СПИСОК ЛИТЕРАТУРИ

1. Громова А.М. Патологіологічна характеристика фонових і передракових захворювань шийки матки, асоційованих з папіломавірусною інфекцією / А.М. Громова, Е.І. Крутікова, А.В. Білаш // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2002. – № 6. – С. 86–91.
2. Кишакевич І.Г. Удосконалення лікування фонових захворювань шийки матки у жінок з папіломавірусною та герпетичною інфекціями: Автореф. дис. ... канд. мед. наук : спец. 14.01.01 «Акушерство і гінекологія» / І.Т. Кишакевич. – Львів, 2004. – 20 с.
3. Коханевич Е.В. Актуальные вопросы акушерства, гинекологии и репродуктологии. – М.: Триада Х, 2006. – 480 с.
4. Коханевич Е.В. Тактика лікування дисплазії епітелію шийки матки при порушеннях гормонального статусу / Е.В. Коханевич, А.А. Суханова, В.В. Семенко // Збірник наукових праць Асоц. акуш.-гінек. України. – К.: «ТМК», 2000. – С. 466–469.
5. Козлюк В.А. Клинические, молекулярно-биологические и цитоморфологические особенности заболеваний шейки матки на фоне папилломавирусной инфекции / В.А. Козлюк, А.С. Козлюк, К.В. Прощаков // Репродуктивное здоровье женщины. – 2004. – № 1 (17). – С. 40–44.
6. Кулаков В.И. Папилломавирусная инфекция гениталий. Клиника, диагностика и лечение / В.И. Кулаков, С.И. Роговская, Т.Н. Бебнева // Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы: Клинические лекции / Под ред. проф. В.Н. Прилепской. – 4-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2005. – С. 241–254.
7. Прилепская В.Н. Папилломавирусная инфекция: диагностика, лечение и профилактика / В.Н. Прилепская, С.И. Роговская, Н.И. Кондриков, Г.Т. Сухих. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 32 с.
8. Прилепская В.Н. Профилактика рака шейки матки: методы ранней диагностики и новые скрининговые технологии: клиническая лекция // Гинекология, 2007. – Т. 9, № 1. – С. 12–15.
9. Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2004. – 141 с.
10. Роговская С.И. Клинико-морфологические особенности папилломавирусной инфекции гениталий у женщин / С.И. Роговская, Л.С. Ежова, В.Н. Прилепская и др. // Гинекология, 2004. – Т. 6, № 2. – С. 57–59.
11. Сопко Н.И. Современные представления о папилломавирусной инфекции / Н.И. Сопко, В.В. Максимов // Мед. аспекты жен. здоровья. – 2006. – № 3. – С. 23–25.
12. Human papillomavirus infection and cervical cytology in women screened for cervical cancer in the United States, 2003–2005 / S.D. Datta, L.A. Koutsky, S. Ratelle [et al.] // ann. Intern. Medicine. – 2008. – Vol. 148. – P. 493–500.
13. Human papillomavirus testing for primary cervical cancer screening acceptability among adults in Quebec, Canada / C. Sauvageau, B. Duval, V. Gilca [et al.] // BMC Public Health. – 2007. – Vol. 7. – P. 304.
14. Human papillomavirus and cervical cancer / E.M. Burd // Clin. Microbiol. Reviev. – 2003. – Vol. 16. – P. 1–16.
15. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. / A.G. Ostor // Int J Gynecol Pathol. – 1993. – Vol. 12 (2). – P. 186–192.
16. Human Papillomavirus and prognosis of invasive cervical cancer: a population-based study. / Schwartz S.M., Daling J.R., Shera K.A. et al // J Clin Oncol. – 2001. – Vol. 19 (7). – P. 196–215.

Статья поступила в редакцию 16.07.2013