

Определение онкобелка E7 вируса папилломы человека 16-го и 18-го типов при цервикальной патологии у женщин репродуктивного возраста

О.В. Качалина, Л.Д. Андосова, Д.Д. Елисеева, С.В. Засыпкина, Г.А. Микаилова

Кафедра акушерства и гинекологии им. С.С. Добротина Нижегородской государственной медицинской академии
Российский вестник акушера-гинеколога 3, 2013

С целью повышения эффективности диагностики патологических состояний шейки матки обследованы 416 пациенток в возрасте от 17 до 46 лет с заболеваниями шейки матки, вызванными вирусом папилломы человека (ВПЧ), – цервицитами и интраэпителиальными неоплазиями. Всем больным было проведено комплексное обследование: оптическая когерентная томография с кольпоскопией, оценка микробиоценоза нижнего отдела половых органов с назначением при необходимости этиотропного лечения, ВПЧ-тестирование, типирование, определение вирусной нагрузки, жидкостная цитология, иммуноцитохимическое определение онкомаркера p16ink 4a, определение онкобелка E7 ВПЧ 16-го и 18-го типов, биопсия шейки матки, выскабливание слизистой оболочки канала шейки матки (по показаниям). При выявлении патогенной, условно-патогенной или грибковой флоры проводилось лечение Полижинаксом («Лаборатория Иннотек Интернациональ», Франция). Предложен алгоритм диагностических мероприятий при ВПЧ-ассоциированной цервикальной патологии. Подтверждена значимость определения онкобелка ВПЧ 16-го и 18-го типов в комплексном обследовании больных с цервикальной патологией в репродуктивном возрасте. У больных с латентными и субклиническими формами ВПЧ-инфекции определение онкобелка E7 необходимо для уточнения фазы существования ВПЧ в клетке-хозяине и прогнозирования реализации его онкогенного потенциала для составления индивидуального плана ведения больной.

Ключевые слова: женщины репродуктивного возраста, вирус папилломы человека, цервикальная патология, алгоритм диагностики, онкобелок E7 вируса папилломы человека 16-го и 18-го типов.

Среди вирусных инфекций, передающихся половым путем, наибольшего внимания заслуживает возрастающая заболеваемость папилломавирусной инфекцией (ПВИ), распространенность которой среди сексуально активного населения планеты составляет 20–60% [4]. Вирус папилломы человека (ВПЧ) является доказанным экзогенным этиопатогенетическим фактором в развитии цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ЦИН), в 15–20% инициирует развитие рака шейки матки (РШМ) [2, 3], в связи с чем многие авторы рассматривают ВПЧ-ассоциированный цервицит как ранний показатель предракового состояния [1]. Число случаев прогрессирования ЦИН в более высокую степень или инвазивный рак колеблется в очень широких пределах — от 1,4% до 60% (L. Harlan и соавт., 1991).

Онкогенная стратегия ВПЧ определяется интегративной виrogenией, т.е. включением вирусного генома в состав клеточных хромосом [5]. Тем не менее некоторые исследователи утверждают [10], что ДНК ВПЧ является убиквитарной, т.е. распространенной повсеместно, и вероятность ее обнаружения в женских половых органах достаточно высока.

В настоящее время не существует ни одного метода прогнозирования течения ЦИН у конкретной больной, определяющего возможность стойкой персистенции или прогрессирования ее в более высокую степень или инвазивный РШМ с указанием точной длительности этого процесса [7].

В нашей стране нет единого подхода к диагностике и лечению ВПЧ-ассоциированных заболеваний – воспалений и преинвазивных неоплазий шейки матки у молодых женщин. Так, существующие стандарты оправдывают агрессивный радикализм, который зачастую ведет к нарушению репродуктивной функции, а тактика, основанная на индивидуализации решения вопроса о биопсии и минимизации лечения, удлинняет динамическое наблюдение, что может повлечь за собой осложнения процесса.

Сотрудниками кафедры акушерства и гинекологии Нижегородской государственной медицинской академии был проведен анализ результатов 956 гистологических исследований фрагментов шейки матки, полученных после эксцизий, проведенных пациенткам с цервикальной патологией. Установлено, что 80,29% эксцизий, выполненных в ЦРБ, и 18,53% эксцизий, выполненных в ОКБ им. Н.А. Семашко, не имели данных о патологии ЦИН II+, т.е. оказались неоправданными. На наш взгляд, такая диагностическая агрессия являлась следствием недостаточности скринингового контроля ввиду ограниченных возможностей традиционных методов обследования.

Основная задача при обследовании больных с вирусными поражениями шейки матки заключается в выявлении преинвазивных интраэпителиальных неоплазий, стоимость лечения которых значительно меньше, чем РШМ. Известно, что эффективность затрат – важная составляющая любой диагностической программы, а биопсия шейки матки является не только травматическим вмешательством, но и затратным методом диагностики. Поэтому продолжается поиск новых методов диагностики (оптических, молекулярных) для решения вопроса о необходимости гистологического исследования. Выше изложенное диктует необходимость поиска методов терапии цервикальной патологии, нацеленных на снижение распространенности хронических (персистентных) папилломатозных инфекций, которые служат предшественниками инвазивных раковых опухолей [5].

Решение этих задач также стало возможным вследствие применения в клинической онкогинекологии новейших методов визуализации биотканей: оптической когерентной томографии с кольпоскопией (ОКТ-кольпоскопия) в новой скоростной модификации и молекулярно-биологического метода – определения онкобелка E7, который, как известно, является маркером интегративной виrogenии, в цервикальных пробах. Известно, что продуктивная репликация ВПЧ возможна лишь в клетках, находящихся в стадии необратимой дифференцировки, в противном случае инфекция принимает abortивный характер. Вирусный геном элиминируется или начинает персистировать, используя механизм интегративной виrogenии, когда, оказавшись в клетке, вирус-

ная ДНК транслоцируется в ядро, где и происходят основные события. Вопреки нумерации, репликация ДНК ВПЧ начинается с образования онкопротеинов E6 и E7, ответственных за трансформацию клеток, т.е. E6 и E7 следует считать вирусными онкогенами [6]. Онкобелок E7 присутствует во всех клетках, инфицированных ВПЧ и начавших неопластическую трансформацию вплоть до развития РШМ, поэтому его определение очень важно для оценки риска развития РШМ у конкретной пациентки [9]. E6 и E7 – единственные белки ВПЧ, экспрессия которых устойчиво сохраняется в тканях, пораженных РШМ [1].

Очевидно, что выявление онкобелка E7 ВПЧ 16-го и 18-го типов в образцах цервикальных проб имеет большое значение для диагностики неопластических заболеваний шейки матки, а также способствует повышению достоверности при ранней диагностике РШМ, вызванного ВПЧ 16-го и/или 18-го типов.

Цель исследования: повышение эффективности диагностики патологических состояний шейки матки у женщин репродуктивного возраста с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки путем включения в комплекс диагностических процедур определения наличия онкобелка E7 ВПЧ 16-го и 18-го типов в цервикальных пробах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 416 пациенток в возрасте от 17 до 46 лет с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки – цервицитами и интраэпителиальными неоплазиями.

Все пациентки, вошедшие в исследование, по результатам обследования на ВПЧ с типированием и определением вирусной нагрузки были разделены на три группы: ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР) были выявлены у 221 больной (1-я группа), ВПЧ низкого канцерогенного риска (НКР) – у 134 (2-я группа), у 61 пациентки ДНК ВПЧ не была обнаружена (3-я группа).

Всем женщинам было проведено комплексное обследование, включающее следующие этапы диагностики: ОКТ-кольпоскопию; оценку микробиоценоза нижнего отдела половых органов с назначением при необходимости этиотропного лечения и восстановлением лактофлоры; ВПЧ-тестирование, типирование, определение вирусной нагрузки с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени; повторную ОКТ-кольпоскопию; жидкостную цитологию; иммуноцитохимическое определение онкомаркера p16ink4a; определение онкобелка E7 ВПЧ 16-го и 18-го типов; биопсию шейки матки, выскабливание слизистой оболочки канала шейки матки по показаниям.

ОКТ-кольпоскопия предусматривает расширенную кольпоскопию с применением традиционных тестов и использованием терминологии в соответствии с Международной классификацией кольпоскопических терминов, предложенной Номенклатурным комитетом Международной Федерации по кольпоскопии и цервикальной патологии в г. Рио-де-Жанейро в 2011 г., и параллельное ОКТ-сканирование с помощью «скоростной» модификации прибора ОКТ-1300У (ИПФ РАН, ООО «Биотехмед», Н. Новгород). Для получения изображения зонд приставляли к кольпоскопически визуализируемой зоне обследования и фиксировали легким прижатием на 5– с. Сбор и отражение данных на мониторе компьютера осуществляли в режиме реального времени с использованием программы, входящей в комплект ОКТ-установки.

Оценка микробиоценоза нижнего отдела половых органов осуществлялась с помощью качественного ПЦР-анализа на абсолютные патогены и исследования микробиоценоза урогенитального тракта методом «Фемофлор».

При выявлении бактериального и грибкового инфицирования проводилось лечение с применением препарата Полижинакс.

Полижинакс выпускается «Лабораторией Иннотек Интернациональ» (Франция) в форме влагалитических капсул, является комплексным препаратом, в состав которого входят 2 антибиотика бактерицидного действия – неомицин и полимиксин В, а также противогрибковый антибиотик нистатин и диметикон.

Неомицин (в 1 капсуле содержится 35 000 МЕ), являясь аминогликозидом широкого спектра действия, активен в отношении большинства грамположительных и грамотрицательных кокков, грамположительных палочек, таких, как кориневые бактерии и *Mycobacterium tuberculosis*, грамотрицательных бактерий, в частности *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*.

Полимиксин В (в 1 капсуле содержится 35 000 МЕ) – полипептидный антибиотик, активен в основном в отношении таких грамотрицательных бактерий, как *Pseudomonas aeruginosa*, исключая *Proteus* и *Neisseria*, а также *in vitro* в отношении *Ureaplasma urealyticum*. Большинство анаэробных микробов устойчивы к этим двум антибиотикам.

Третий компонент – нистатин (в 1 капсуле содержится 100 000 МЕ) оказывает *in vitro* и *in vivo* фунгицидное и фунгистатическое действие на грибы рода *Candida*, а также на грибы родов *Histoplasma*, *Coccidioides*, *Cryptococcus*. Диметикон, входящий в состав препарата, способствует равномерному распределению основных веществ по всей поверхности влагалитца, также оказывает противовоспалительное действие.

В клинической практике при вагините и цервиците очевидно разведение концентрации препаратов вагинальными выделениями, также наблюдается значительное снижение количества лактобацилл в вагинальном биоценозе. Эффективность Полижинакса подтверждена сохранением чувствительности грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, дрожжеподобных грибов в разведениях изотонического раствора натрия хлорида 1:10, 1:100, 1:1000. Установлено также, что лактобациллы, выделенные из влагалитца женщин, в концентрированном растворе и во всех исследуемых разведениях препарата оказались резистентными [8].

Лабораторный контроль эффективности лечения проводился через 3–4 нед после его окончания.

Для цитологического исследования материал забирали из канала шейки матки, переходной зоны и экзоцервикса с помощью одноразовой цервикальной щеточки *cyto-brush*, а при наличии III типа зоны трансформации – с помощью щеточки *cervix-brush*. Оценка результатов цитологического исследования проводили согласно классификационной системе Папаниколау (ПАП) в соотношении с классификациями Бетesda и ЦИН.

Иммуноцитохимическое определение онкомаркеров p16ink4a и E7 ВПЧ 16-го и 18-го типов, гистологическое исследование проводились по общепринятой методике.

Забор материала для морфологической оценки осуществлялся с помощью биопсийной петли для радиоволновой хирургии.

В качестве одного из методов лечения применялась фотодинамическая терапия (ФДТ), в основе которой лежит фотосенсибилизационная реакция введенного в организм фотосенсибилизатора, в нашем исследовании фотодитазина, и лазерного излучения определенной длины волны в аэробных условиях. В результате этой реакции выделяются активные формы кислорода, разрушающие пораженные клетки. ФДТ позволяет не только выполнить локальную деструкцию патологических очагов эпителия, где произошла клиническая манифестация ПВИ, но и воздействовать на резервуар ВПЧ в латентном состоянии или недиагностированной субклинической форме, который остается в окружающих тканях и может являться основой для дальнейшего развития онкопатологии.

После процедуры ФДТ всем пациенткам назначали Полижинакс с целью профилактики воспалительных осложне-

ний при отхождении некротизированных тканей, что сопровождается значительной трансудацией и соответственно разведением препарата.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст обследованных пациенток составил 29 лет. 69% женщин находились в возрастной группе до 30 лет. Это подтверждает многочисленные данные международных и отечественных исследователей о том, что у женщин молодого возраста ВПЧ-ассоциированная патология встречается чаще, однако и в зрелом возрасте она является актуальной проблемой.

При первом визите всем пациенткам проводилась ОКТ-кольпоскопия. Согласно общим положениям по Международной кольпоскопической классификации, принятой в Рио-де-Жанейро, неадекватная картина отмечалась в 87% случаев из-за проявлений воспаления, контактных кровотечений, рубцовых деформаций, III типа зоны трансформации. При ОКТ-зондировании влагалищной порции шейки матки у 66% пациенток были получены изображения в соответствующей желто-коричневой палитре, где оттенки желтого соответствуют большей, а оттенки коричневого – меньшей оптической плотности. Данные изображения были отнесены к доброкачественным из-за наличия субэпителиальных включений, нормальной скорости угасания сигнала и четкой двуслойности изображения, где верхний слой имеет меньшую оптическую плотность, чем нижний. Кроме доброкачественности, изображения отражали интенсивность воспалительного процесса эктоцервикса: явное усиление, ветвистость сосудистого рисунка, отек стромы, оцениваемый с помощью сниженной скорости угасания оптического сигнала.

В остальных 13% случаев были получены сомнительные изображения, характеризующиеся двуслойностью с одинаковой оптической плотностью слоев, либо наличием оптически более плотного верхнего слоя, либо с локусами «злокачественного» (быстроугасаемого) сигнала.

У 75% пациенток наблюдалась сопутствующая патология шейки матки, из них у 70% женщин ПВИ протекала на фоне эктопии либо эктропиона, рубцовая деформация цервикса отмечалась в 13% случаев, эндометриоз шейки матки – в 8%, полипы канала шейки матки – в 3,5%.

Генитальные кондиломы как клиническая форма течения ПВИ были выявлены у 8,5% пациенток, в 4,5% случаев были диагностированы кондиломы шейки матки, в 5% – вульвы и влагалища. Распространенность данной патологии при беременности составила 62,5%.

Лечение генитальных кондилом являлось обязательным этапом ведения пациенток с ВПЧ-ассоциированными цервицитами. С профилактической целью на 6 дней пациенткам перед лечебными манипуляциями назначался Полижинакс, не только обладающий выраженными антибактериальными и фунгицидными свойствами, но и оказывающий противовоспалительный эффект. Выбор метода определялся в зависимости от вида образований, их размера, обширности поражения, необходимости гистологического исследования; осуществлялась криодеструкция либо эксцизия и деструкция с помощью аппарата радиоволновой хирургии Сургитрон.

На втором этапе диагностического исследования выявлялась этиология воспалительного процесса. По нашим данным, ПВИ чаще всего сочеталась с уреаплазмозом (в 35% случаев) и кандидозом (в 10% случаев), в 7,5% случаев у пациенток с ПВИ был обнаружен микоплазмоз, в 5% – гонорея и цитомегалия, в 2,5% – трихомониаз и хламидиоз. В 30% случаев ВПЧ-инфекция протекала на фоне дисбаланса за счет снижения количества лактобактерий, а в 32,5% случаев – на фоне анаэробного дисбиоза.

Все пациентки получали соответствующую этиотропную терапию с последующим восстановлением лактофлоры влагалища и контролем эффективности лечения через 3–4 нед после его окончания. В качестве местного лечения использовался Полижинакс.

Нами были обследованы 90 ВПЧ-положительных пациенток с нарушением влагалищного микробиоценоза. Клиническое и лабораторное обследование пациенток осуществлялось до начала терапии Полижинаксом, через 12 дней лечения и 3–4 нед после окончания лечения.

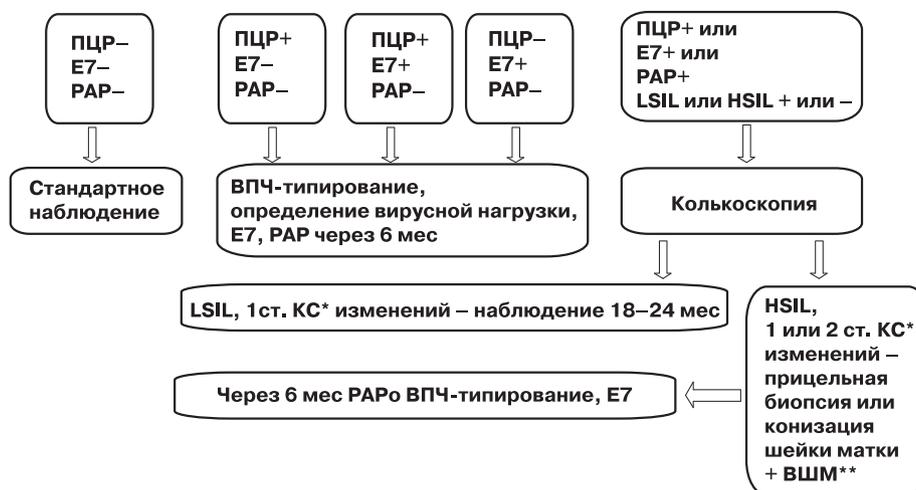
Эффективность терапии препаратом оценивали по 3 критериям: 1) по общему состоянию и самочувствию пациентки; 2) по клиническим данным (по данным анамнеза и гинекологического осмотра); 3) по данным лабораторных бактериоскопических исследований. По результатам обследования и лечения выявлены общее улучшение состояния и купирование симптомов вагинита у 94% пациенток. Отмечено изменение клинической картины и субъективных ощущений: изменение характера белей, уменьшение раздражения, зуда, жжения. По данным гинекологического осмотра также установлено улучшение состояния слизистой оболочки влагалища – уменьшение отечности и гиперемии. У большинства пациенток отмечен положительный бактериологический эффект препарата: подавление патогенной микрофлоры, в том числе грибов рода *Candida* (по данным бактериоскопии).

На третьем диагностическом этапе проводилось ВПЧ-типирование. У 53,12% обследованных были выявлены ВПЧ ВКР (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 48, 51, 52, 56-й типы), 14,57% пациенток были инфицированы ВПЧ НКР (6, 11, 42, 43, 44-й типы). В 15,62% случаев встречалось сочетание ВПЧ ВКР и ВПЧ НКР, а у 16,69% пациенток ДНК ВПЧ не было обнаружено.

После проведенного восстановления микробиоценоза нижнего отдела половых органов и соответственно после купирования признаков воспаления для динамического контроля на четвертом диагностическом этапе проводилась повторная ОКТ-кольпоскопия. Слабовыраженные поражения эпителия шейки матки, т.е. тонкий ацетобелый эпителий с неровными нечеткими краями, нежная пунктация и нежная мозаика (I степень по классификации, принятой в Рио-де-Жанейро) были зарегистрированы в 84,5% случаев. Кольпоскопические поражения II степени встречались в 8% случаев, из них 4,7% пришлось на грубую мозаику и грубую пунктацию, а 3,3% случаев – на симптом «поражения в поражении». Кольпоскопических данных, подозрительных на инвазию, выявлено не было. На четвертом диагностическом этапе ОКТ-кольпоскопия имела прицельный характер: щуп ставился на зону максимальных кольпоскопических изменений для оценки ее оптической плотности и поиска злокачественных ОКТ-локусов. Следующим этапом оптической диагностики являлось сопоставление кольпоскопических и ОКТ-границ, «поиск кольпоскопически замаскированных изменений» эпителия и субэпителиальных структур, которые могут быть расценены как резервуар инфекции.

Следующим важнейшим диагностическим шагом являлось контролируемое ОКТ-кольпоскопией прицельное цитологическое исследование, производимое методом жидкостной цитологии. По результатам нашего исследования, у 87% пациенток цитологический мазок был отнесен к LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesions – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени выраженности) по классификации Бетеса, среди них у 59,7% больных были мазки типа ASCUS (atypical squamous cell of undetermined significance – атипические клетки плоского эпителия неопределенного значения), т.е. II класс мазка по ПАП, что соответствует признакам ПВИ по системе ЦИН, а 27,3% мазков были отнесены к III классу по ПАП или к ЦИН I. У 13% женщин была выявлена нормальная цитологическая картина.

ТОРСН - ИНФЕКЦИИ И ЗППП



Алгоритм диагностических мероприятий при ВПЧ-ассоциированной цервикальной патологии.

Примечание. * КС – кольпоскопических; **ВШМ – выскабливание слизистой оболочки канала шейки матки.

Пятый диагностический этап – иммуноцитохимическое определение онкобелков p16ink4a и E7 ВПЧ 16-го и 18-го типов. Повышенный уровень экспрессии маркера p16ink4a, характерный для дисплазии многослойного плоского эпителия, был отмечен у 14, 28% обследованных женщин. У 87,5% p16ink4a-положительных пациенток цитологически была выявлена ЦИН I, негативная реакция у оставшихся 12,5% пациенток может свидетельствовать как о ложнопозитивных данных жидкостной цитологии и ложнонегативных данных определения онкомаркера p16ink4a, так и о реактивном характере дисплазии.

Шестой диагностический этап – определение онкобелка E7 в цервикальных пробах. E7-положительные пациентки составляли, по нашим данным, 78,33% среди женщин, страдающих ВПЧ-ассоциированными цервицитами. У 30,77% пациенток с цитологически подтвержденной ЦИН I онкобелок E7 16-го и 18-го типов ВПЧ был отрицательным. Это может свидетельствовать о том, что ВПЧ находился в клетке в эписомальной форме либо ЦИН I развилась на фоне других высокоонкогенных типов ВПЧ.

Гистологическое исследование должно являться заключительным седьмым диагностическим этапом, так как этот метод является инвазивным, травматичным и может нарушить репродуктивные планы пациентки. Показаниями к проведению биопсии у пациенток с ВПЧ-ассоциированными цервицитами, по нашему мнению, являются следующие: наличие злокачественных ОКТ-локусов в отсутствие данных за HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesions – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение высокой степени выраженности) по результатам жидкостной цитологии; LSIL без положительной динамики при проведении патогенетической терапии и динамическом наблюдении в течение 18–24 мес; планирование сеанса ФДТ; возраст пациентки старше 35 лет; невозможность дальнейшего наблюдения; при III типе зоны трансформации обязательным является выскабливание слизистой оболочки канала шейки матки. Биопсия должна проводиться под контролем ОКТ-кольпоскопии и быть максимально щадящей, поэтому в нашем исследовании мы применяли методы радиоволновой хирургии, что позволяло контролировать размер иссекаемого участка, глубину биопсии, получать образцы с минимальными коагуляционными повреждениями.

При выборе тактики дальнейшего ведения пациентки были разделены на 3 группы, в зависимости от конкретной клинической ситуации и согласно совокупности полученных результатов на этапах диагностики.

У 40% пациенток, у которых имело место сочетание доброкачественного типа ОКТ, I степени кольпоскопических

изменений, LSIL и p16ink4a-негативной реакции, была определена тактика активного динамического наблюдения после курса противовирусной и иммуномодулирующей терапии при E7-отрицательной реакции или нескольких таких курсов – при E7-положительной реакции, в том числе в группе женщин, планирующих беременность.

У 18% пациенток, у которых отмечалось наличие злокачественных локусов, определяемых с помощью ОКТ-кольпоскопии, I–II степени кольпоскопических изменений, LSIL, p16ink4a-негативной или положительной реакции, были выполнены прицельное гистологическое исследование, ФДТ и затем проводилось динамическое наблюдение. Всем пациенткам через 10 дней после процедуры ФДТ с профилактической целью назначались капсулы Полижинакса. Диметикон, входящий в состав препарата, является активным эципиентом с функцией распространения основных его элементов по всей поверхности влагалища. Он также оказывает успокаивающее, обволакивающее воздействие на воспаленную слизистую оболочку влагалища и улучшает процессы заживления многослойного плоского эпителия эктоцервикса после отхождения некротических масс.

В 42% случаев при персистирующей субклинической ПВИ (доброкачественный тип при ОКТ-кольпоскопии, I степень поражения по данным кольпоскопии, LSIL, p16ink4a-негативная реакция, E7-положительная или E7-отрицательная реакция) более 18–24 мес тактика ведения была следующей: прицельная биопсия, ФДТ, затем динамическое наблюдение с включением в стандартный диагностический комплекс определения онкобелка E7 ВПЧ 16-го и 18-го типов. Ни у одной пациентки 2-й и 3-й групп не было отмечено воспалительных осложнений после применения ФДТ.

При выявлении цервикальных изменений, соответствующих HSIL, Cancer in situ проводилась конизация шейки матки с последующим выскабливанием слизистой оболочки канала шейки матки.

Гистологическое исследование включало тщательную оценку краев резекции с последующим решением вопроса о необходимости дальнейшего лечения – ФДТ. Исследование края резекции считалось положительным при наличии гистологических признаков ВПЧ-инфицирования. Размер зоны воздействия также уточнялся при ОКТ-кольпоскопии, как и последующий контроль после лечения, а также жидкостное цитологическое исследование, иммуноцитохимическое определение p16ink4a, определение онкобелка E7 ВПЧ 16-го и 18-го типов.

Всем небеременным больным с ВПЧ-ассоциированным цервицитом проводились противовирусное и иммуномоду-

лирующее лечение и вакцинация квадριвалентной вакциной с целью профилактики повторного инфицирования.

По окончании данного исследования нами предложен следующий алгоритм диагностических мероприятий по выявлению цервикальной патологии, представленный на рисунке.

Таким образом, типирование папилломавирусов, определение титра высокоонкогенных ВПЧ, определение в цервикальных пробах онкобелка E7 ВПЧ 16-го и 18-го типов – реальная основа для прогнозирования злокачественной эволюции ПВИ, контроля эффективности проведенного лечения и дифференцирования эндогенных рецидивов от реинфекции. В то же время, по нашему мнению, назначение данного обследования целесообразно больным с установленным диагнозом ЦИН II и/или рака *in situ*, в связи с известной тактикой лечения.

Наличие в цервикальных пробах онкобелка E7 ВПЧ 16-го и 18-го типов после проведенной терапии может указы-

вать на продолжающуюся персистенцию вируса в наиболее опасной с точки зрения рецидивирования ЦИН-интегрированной форме и может являться показанием к активному наблюдению и/или принятию своевременного решения о дальнейшем лечении.

ВЫВОДЫ

1. Подтверждена значимость определения онкобелка E7 ВПЧ 16-го и 18-го типов в комплексном обследовании больных с цервикальной патологией в репродуктивном возрасте.

2. У больных с латентными и субклиническими формами ВПЧ-инфекции (ЦИН I) определение онкобелка E7 необходимо для уточнения фазы существования ВПЧ в клетке-хозяине и соответственно прогнозирования реализации его онкогенного потенциала для индивидуализации тактики ведения пациентки.

Визначення онкобілка E7 вірусу папіломи людини 16-го і 18-го типів при цервікальній патології у жінок репродуктивного віку

О.В. Качаліна, Л.Д. Андосова, Д.Д. Єлісеєва, С.В. Засипкіна, Г.А. Мікаїлова

З метою підвищення ефективності діагностики патологічних станів шийки матки обстежені 416 пацієнток у віці від 17 до 46 років із захворюваннями шийки матки, викликаними вірусом папіломи людини (ВПЛ), – цервіцитами і інтраепітеліальними неоплазіями. Усім хворим було проведено комплексне обстеження: оптична когерентна томографія з кольпоскопією, оцінювання мікробіоценозу нижнього відділу статевих органів з призначенням при необхідності етіотропного лікування, ВПЛ-тестування, типування, визначення вірусного навантаження, рідинна цитологія, імуноцитохімічне визначення онкомаркера p16ink 4a, визначення онкобілка E7 ВПЛ 16-го і 18-го типів, біопсія шийки матки, вишкрібання слизової оболонки каналу шийки матки (за показаннями). При виявленні патогенної, умовно-патогенної або грибкової флори проводили лікування Полжінаксом («Лабораторія Іннотек Інтернаціональ», Франція). Запропоновано алгоритм діагностичних заходів при ВПЛ-асоційованій цервікальній патології. Підтверджено значущість визначення онкобілка ВПЛ 16-го і 18-го типів у комплексному обстеженні хворих з цервікальною патологією у репродуктивному віці. У хворих з латентними і субклінічними формами ВПЛ-інфекції визначення онкобілка E7 необхідно для уточнення фази існування ВПЛ в клітині-хазяїні і прогнозування реалізації його онкогенного потенціалу для складання індивідуального плану ведення хворої.

Ключові слова: жінки репродуктивного віку, вірус папіломи людини, цервікальна патологія, алгоритм діагностики, онкобілок E7 вірусу папіломи людини 16-го і 18-го типів.

Determination of human papillomavirus types 16 and 18 E7 oncoprotein in reproductive aged women with cervical pathology

O.V. Kachalina, L.D. Andosova, D.D. Eliseeva, S.V. Zasyapkina, G.A. Mikailova

To enhance the efficiency of diagnosing abnormalities of the cervix uteri, the investigators examined 416 patients aged 17 to 46 years with human papillomavirus (HPV) – caused cervical diseases, such as cervicitis and intraepithelial neoplasias. All the patients underwent comprehensive examination: optical coherent tomography with colposcopy; assessment of lower genital tract microbiocenosis by using etiotropic treatment, if needed; HIV testing, typing; viral load determination; liquid-based cytology; immunocytochemical determination of the oncomarker p16ink 4a; determination of HPV types 16 and 18 E7 oncoprotein; biopsy of the cervix uteri; cervical canal curettage if indicated. If the pathogenic, opportunistic, or fungal microfloras were found, treatment with polygynax (Laboratory Innotek International, France) was performed. A diagnostic testing algorithm was proposed for HIV-associated cervical pathology. The importance of HPV types 16 and 18 E7 oncoprotein determination was substantiated in the comprehensive examination of reproductive-aged patients with cervical pathology. In patients with latent and subclinical HIV infection, E7 oncoprotein determination is required to specify the phase of HPV existence in the host cell and to predict the realization of its oncogenic potential in order to draw up an individual patient management plan.

Key words: reproductive-aged women, human papillomavirus, cervical pathology, diagnostic algorithm, HPV types 16 and 18 E7 oncoprotein.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аггар Б.С., Броцман Г.Л., Шпирцер М. Клиническая кольпоскопия. М.: Практическая медицина 2012; 496.
2. Дмитриев Г.А., Биткина О.А. Папилломавирусная инфекция. М.: Медицинская книга 2006; 76.
3. Ершов В.А., Нарвская О.В. Фоновые процессы и неоплазия эпителия шейки матки. СПб: Человек 2007; 79.
4. Краснополский В.И., Зароченцева Н.В., Белая Ю.М., Шипулина О.Ю., Михеева И.В., Серова О.Ф., Мельник Т.Н. Инфицированность вирусом папилломы человека среди девочек-подростков в Московской области. Рос вестн акуш-гин 2010; 10: 5: 46–49.
5. Маянский А.Н. Папилломавирусы человека: Возбудители доброкачественных и злокачественных неоплазий. Вopr диагн в педиатр 2010; 2: 2: 5–11.
6. Маянский А.Н. Патогенетическая микробиология: Руководство. Н. Новгород: Изд-во Нижегородской госу-

7. Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки. М.: ГЭОТАР-Медиа 2011; 192.
8. Савичева А.М., Рыбина Е.В. Оценка действия полижинакса на микроорганизмы, выделенные из влагалища женщин, в опыте *in vitro*. Рос вестн акуш-гин 2012; 12: 4: 104–107.
9. Селиванов Е.В., Звягинцев Е.Н., Такмакова В.А. Определение белка

- E7 вирусов папилломы 16/18-го типов: новая ступень в профилактике развития рака шейки матки. Вестн Лаборатории ДНК-диагностики 2011; 2: 11: 16–19.
10. Moscicki A.B., Ma Y., Jonte J., Miller-Benningfield S., Hanson E., Jay J., Farhat S. The role of sexual behavior and HPV persistence in predicting repeated infections with new HPV types. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2010; 19: 8: 2055–2065.