

МОНИТОРИНГ ЖЕНЩИН - НОСИТЕЛЬНИЦ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА С ФОНОВЫМИ И ПРЕДРАКОВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ШЕЙКИ МАТКИ

Н.Н. Захирова, Н.Э. Атаханова, Б.К. Ирисбаев, Н.Н. Гаппарова

*Ташкентская медицинская академия; Ташкентский городской онкологический диспансер;
Институт генетики и экспериментальной биологии растений АН Республики Узбекистан*

MONITORING OF FEMALE HUMAN PAPILLOMAVIRUS CARRIERS WITH BACKGROUND AND PRECANCER DISEASES OF THE CERVIX UTERI

N.N. Zakhirova, N.E. Atakhanova, B.K. Irisbayev, N.N. Gapparova

*Tashkent Medical Academy, Tashkent City Cancer Dispensary, Institute of Plant Genetics
and Experimental Biology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan*

In women with background diseases of the cervix uteri, human papillomavirus (HPV) types 16 and 18 infection was found in 26.9% of cases, while in those with varying cervical intraepithelial neoplasia, it was in 68.5% of cases, i.e. 2.5 times higher, mainly at the age of 25 to 30 years. Polymerase chain reaction serum assays for HPV infection were negative in 99.9% of cases.

After diathermoelectronization of the cervix uteri, HPV was identified in 28.6% of the female virus carriers with background diseases and in 49.9% of the women with varying dysplasia, i.e. half the female virus carriers in this group continued to have the earlier identified HPV types 16 and 18.

Key words: human papillomavirus, cancer of the cervix uteri, screening for cancer of the cervix uteri, erosion of the cervix uteri

В настоящее время рак шейки матки (РШМ) все еще остается одной из наиболее часто встречающихся форм новообразований и является вторым по распространенности злокачественным новообразованием у женщин, что составляет 9,8% всех раковых заболеваний в данной популяции [1].

При анализе статистических данных по Ташкенту 2008 г. отмечена тенденция увеличения в 1,2 раза числа первично выявленных больных РШМ по сравнению с 2001 г. — со 112 до 135 случаев. Пик смертности (88 случаев) отмечен в 2006 г.

Несмотря на то что проблеме заболеваемости РШМ уделяется пристальное внимание как онкологов, так и гинекологов, в течение уже почти 100 лет и до настоящего времени многие вопросы этиологии, патогенеза, клиники, диагностики (особенно ранней) остаются открытыми.

Проведенные за последние 25 лет эпидемиологические исследования убедительно продемонстрировали связь между РШМ и вирусом папилломы человека (ВПЧ), в частности ВПЧ 16-го и 18-го генотипов, передаваемых в 46—76% случаев половым путем и относящихся по онкогенной значимости к группе высокого риска развития злокачественных новообразований шейки матки [2]. В то же время перечисленные генотипы вирусов являются условными патогенами и в 2—39% наблюдений обнаруживаются у абсолютно здоровых женщин [3]. В клиническом течении ВПЧ-инфекции выделяют несколько форм: классическую, субклиническую и латентную. Как правило, ла-

тентная форма протекает без проявления какой-либо симптоматики, но при этом диагностируется примерно в 5,5—37,5% случаев [4].

Несмотря на проведение научно-исследовательских работ в этом направлении, предлагаемые некоторыми авторами скрининговые программы не дают возможности проследить за ВПЧ-инфицированными женщинами с фоновыми и предраковыми заболеваниями шейки матки в процессе их лечения и после него. Наблюдение за носителями вируса в динамике в течение нескольких лет показало, что за это время часть женщин избавилась от вируса, а часть — вновь приобрели его. Частое приобретение и потеря ВПЧ без клинических проявлений характерны для женщин молодого возраста [5].

Кроме того, в прогрессировании ВПЧ-инфекции имеет значение наличие ряда кофакторов: цитомегаловирус (ЦМВ), уреаплазмоз, курение, ведение беспорядочной половой жизни [2, 4, 5]. Однако в популяции женщин Ташкента данная проблема пока еще не изучена.

Следует подчеркнуть, что в проведенных до настоящего времени отечественных научно-исследовательских работах материалом для исследования служили мазки с поверхности шейки матки, в ряде случаев биоптаты из шейки матки, тогда как нами выполнено исследование сыворотки крови всех обследованных пациенток с целью выявления ВПЧ инфекции посредством диагностики методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Таблица 1. Распределение пациенток по группам и возрасту

Группа	18—30	Возраст, годы <40	<50 лет	Всего
1-я	10 (38,5)	11 (42,4)	5 (19,2)	26 (100)
2-я	7 (36,8)	4 (21)	8 (42,1)	19 (100)
3-я	8 (25)	12 (50)	4 (16,7)	24 (100)
Всего (n= 69)...	25 (36,2)	27 (39,1)	17 (24,6)	69 (100)

Примечание. Здесь и далее представлено число больных, в скобках — процент.

В связи с этим для оптимизации программы скрининга РШМ в популяции женщин Ташкента нами проведено исследование, целью которого было выявление частоты носительства ВПЧ 16-го и 18-го генотипов у пациенток с фоновыми и предраковыми заболеваниями шейки матки до и после лечения в сравнительном аспекте с больными РШМ на базе ПЦР-диагностики.

Материалы и методы

Всего нами обследованы 69 пациенток в возрасте от 18 до 50 лет. По патологическим изменениям шейки матки и возрасту женщины были распределены на 3 группы (табл. 1).

Первую группу составили 26 (37,7%) пациенток с гистологически доказанным эндоцервикозом и эрозированным эктропионом, 2-ю — 19 (27,5%) женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (ЦИН) различной степени, 3-ю — 24 (34,8%) больные РШМ I—III стадии.

Материалом для исследования послужили биоптаты и соскобы с поверхности шейки матки, которые помещались в специальные одноразовые пробирки фирмы «Eppendorf» (Германия) со стерильным физиологическим раствором, а также сыворотка крови в количестве 1 мл, помещенная в идентичные пробирки без раствора.

ПЦР-диагностику ВПЧ проводили в лаборатории генной инженерии и биотехнологии Института генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз.

В исследовании использовали тест-системы Gentex-Master-HPV_{скрин}TM — ПЦР-тест и «Gentex-

Master-HPV h.g_{скрин}TM — ПЦР-тест (Ташкент), предназначенные для диагностики ВПЧ методом ПЦР.

Принцип работы тест-системы основан на использовании процесса детекции ДНК методом ПЦР, с помощью которого можно размножить и выделить определенную последовательность ДНК в количестве, превышающем первоначальное в 10⁸ раз и выше. При осуществлении

амплификации с помощью ПЦР применяли 2 немодифицированных олигонуклеотидных праймера, синтезированных на основе уникальных нуклеотидных последовательностей генома ВПЧ.

Для «выравнивания» сиквенсов использована программа MegaLine, а для выбора праймеров — Primer Select («LazerGene», США).

Детекцию продукта ПЦР проводили электрофорезом в агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, в ультрафиолетовом свете при длине волны 302 нм. Регистрацию результатов осуществляли визуально или с помощью фотографирования. Произведена идентификация ВПЧ 16-го и 18-го генотипов.

Полученные результаты подвергались статистической обработке на IBM PC P-II-400 с использованием программ Statgraphics v.7.0. и пакета электронных таблиц Excel v.6.0. Различия показателей оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Результат считали достоверным при p<0,05.

Результаты

Как видно из табл. 2, из числа обследованных женщин 1-й группы вирусы обнаружены у 7 (26,9%) пациенток, причем в одинаковом числе случаев, т.е. в 3 (11,5%), выявлены ВПЧ 16-го и ВПЧ 16-го и 18-го типов одновременно, тогда как ВПЧ 18-го типа имел место только в 1 (3,8%) наблюдении. У 19 (73%) женщин ВПЧ-инфекции не зафиксировано. Во 2-й группе были инфицированы 13 (68,4%) пациенток, у них также чаще выявлялись ВПЧ 16-го и ВПЧ 16-го и 18-го типов одновременно, т.е. 5 (26,3%) и 6 (31,5%) случаев со-

ответственно, тогда как носительство ВПЧ 18-го типа в данной группе установлено у 2 (10,5%) женщин. У 6 (31,6%) пациенток этой группы факт вирусоносительства не установлен. Положительные реакции на наличие ВПЧ-инфекции наблюдались в биоптатах из шейки матки, во всех образцах сыворотки крови отмечена отрицательная реакция.

Таблица 2. Частота выявления ВПЧ 16-го и 18-го типов у женщин обследуемых групп

Группа	Средний возраст, годы	16	ВПЧ-тип 16 и 18	18	Всего вирусо- носителей
1-я (n=26)	25±0,5	3 (11,5)	3 (11,5)	1 (3,8)	7 (26,9)
2-я (n=19)	30±0,7	5 (26,3)	6 (31,5)	2 (10,5)	13 (68,4)
3-я (n=24)	32±0,5	6 (25)	13 (54,2)	4 (16,7)	23 (95,8)
Всего (n=69) ...		14 (20,3)	22 (31,9)	7 (10,1)	43 (62,3)

Таблица 3. *Кофакторы, влияющие на прогрессирование папилломавирусной инфекции*

Группа	Кофактор		беспорядочная половая жизнь	Число обследованных женщин
	ВПЧ + ЦМВ	ВПЧ + уреоплазма	курение, сигарет в день ≤5 > 5	
1-я	2 (7,7)	1 (3,8)	2 (7,7) 4 (15,4)	26 (100)
2-я	—	1 (5,3)	1 (5,3) 3 (15,8)	19 (100)
3-я	—	—	2 (8,3) 4 (16,7)	24 (100)
Всего ...	2 (2,9)	2 (2,9)	5 (7,2) 11 (15,9)	69 (100)

В 3-й группе ВПЧ-инфицированность наблюдалась у 23 (95,8%) из 24 пациенток, причем все положительные результаты отмечены в образцах биоптатов, и лишь у 1 больной в возрастной категории от 30 до 40 лет наличие ВПЧ 18-го типа прослежено в сыворотке крови. Чаше встречалась инфицированность ВПЧ 16-го и 18-го типов одновременно — 13 (54,2%) случаев, в то время как ВПЧ 16-го и 18-го типов имели место в 6 (25%) и 4 (16,7%) наблюдениях соответственно.

По данным, представленным в табл. 3, можно заключить, что синергизм ВПЧ и ЦМВ отмечен у 2 из 26 больных 1-й группы, что составило 7,7% случаев от числа пациенток с фоновыми заболеваниями шейки матки и 2,9% — от общего количества обследуемых женщин, тогда как в других обследуемых группах этот синергизм не прослежен. Присутствие ВПЧ и уреоплазмы наблюдалось у 1 (3,8%) пациентки 1-й группы и 1 (5,3%) — 2-й. В 3-й группе признаков наличия синергизма ВПЧ с ЦМВ и уреоплазмой не выявлено.

Среди всех обследуемых женщин 5 (7,2%) пациенток курили ≤5 сигарет в день, тогда как 11 (15,9%) — > 5 сигарет. Ведение беспорядочной половой жизни, т.е. наличие > 5 половых партнеров, также отмечено у больных всех групп — 10,1% случаев, тогда как у женщин 3-й группы данный показатель составил 12,5%.

Всем обследованным нами пациенткам была проведена диатермоэлектроконизация (ДЭК) шейки матки в условиях Ташкентского городского онкологического диспансера, после чего через 3

мес у них были взяты соскобы с поверхности шейки матки на выявление ВПЧ 16-го и 18-го типов посредством ПЦР-диагностики.

В табл. 4 представлены результаты данного исследования.

Как видно из табл. 4, у 10 (47,6%) инфицированных ранее пациенток после локального лечения (ДЭК шейки матки) присутствовала ВПЧ-инфекция. Чаше отмечалось наличие ВПЧ 18-го типа в обеих группах женщин — 2 (28,6%) и 4 (28,6%) случая соответственно, тогда как ВПЧ 16-го типа выявлен у 1 (14,3%) пациентки из числа вирусоносительниц 1-й группы и у 1 (7,1%) — 2-й. Одновременное обнаружение ВПЧ 16-го и 18-го типов наблюдалось у больных 2-й группы — 2 (14,3%) случая из числа ранее инфицированных во всех возрастных категориях, но большее число вирусоносительниц были в возрасте 25±0,5 годы.

Обсуждение

В нашем исследовании частота инфицированности ВПЧ, по данным ПЦР-диагностики, составила 44,4%, а по результатам исследований, проведенных в клинике Калифорнийского университета, этот показатель равен 46% [6]. Положительная ПЦР-реакция на ВПЧ наблюдалась преимущественно у женщин в возрасте от 25 до 30 лет, что совпадает с данными литературы [6, 7].

Следует подчеркнуть, что в нашей работе носительство ВПЧ у пациенток с фоновыми заболеваниями шейки матки имело место в 26,9% случаев, в то время как у женщин с дисплазией

Таблица 4. *Частота выявления носительства ВПЧ 16-го и 18-го типов у женщин с фоновыми и предраковыми заболеваниями шейки матки через 3 мес после ДЭК шейки матки*

Средний возраст, годы	1-я группа (n=7)			ВПЧ-тип	2-я группа (n=14)			Всего (n=20)
	16	16, 18	18		16	16, 18	18	
25±0,5	1 (14,3)	—	2 (28,6)		—	1 (7,1)	2 (14,3)	6 (28,6)
30±0,7	—	—	—		1 (7,1)	1 (7,1)	1 (7,1)	3 (14,3)
32±0,5	—	—	—		—	—	1 (7,1)	1 (4,8)
Всего ...	1 (14,3)	—	2 (28,6)		1 (7,1)	2 (14,3)	4 (28,6)	10 (47,6)

шейки матки — в 68,4%, т.е. в 2,5 раза больше, чем в 1-й группе. Наличие ЦМВ-инфекции, по данным нашего исследования, зафиксировано в 7,7%, уреаплазмоз — в 9,1% наблюдений, по сведениям других авторов [5], этот показатель составляет 22 и 24% соответственно. Такие факторы риска прогрессирования ВПЧ-инфекции, как курение > 5 сигарет в день и ведение беспорядочной половой жизни, наблюдались у пациенток обеих групп приблизительно в одинаковом числе случаев. Сочетание ≥ 2 кофакторов усиливает прогрессирование ВПЧ-инфекции [4]. На основании данных табл. 3 можно сделать вывод о том, что распространенность ВПЧ-типов — 16-го и 18-го была более высокой у больных с предраковой патологией шейки матки, чем у пациенток с фоновыми заболеваниями данной локализации.

С учетом результатов собственных исследований также следует отметить, что после локального лечения (ДЭК шейки матки) ВПЧ-инфекция продолжала сохраняться почти у половины (47,6%) вирусоносительниц. Более того, преобладало наличие одновременно 2 типов ВПЧ — 16-го и 18-го — 31,9% случаев, затем ВПЧ 16-го типа — 20,3%. Однако ВПЧ 18-го типа чаще встречался после проведения ДЭК шейки матки, что свидетельствует о его агрессивности [8]. Это подтверждается также определением данного генотипа в сыворотке крови больной — 1,1%.

По данным литературы [4, 9, 10], особенностью инфицирования ВПЧ является способность вируса к самопроизвольной регрессии при отсутствии ЦИН (66,7% случаев), ЦИН I (50—55%), II (43—56%), III (20,7%) степени. Таким образом, чем выраженнее поражение шейки матки, тем ниже частота регрессии.

Заключение

Инфицирование ВПЧ 16-го и 18-го типов у женщин с фоновыми заболеваниями шейки матки зафиксировано в 26,9% случаев, а у пациенток с ЦИН различной степени — в 68,5% (в 2,5 раза больше), в основном в возрасте от 25 до 30 лет. Исследование сыворотки крови на наличие ВПЧ-инфекции, по результатам нашего исследования, не является целесообразным, так как в 99,9% случаев был получен отрицательный результат.

При контрольном проведении ПЦР-диагностики ВПЧ-инфицированных женщин после выполнения им ДЭК шейки матки факт вирусоносительства установлен у 28,6% пациенток с фоновыми заболеваниями и у 49,9% пациенток с ЦИН различной степени т.е. почти половина вирусоносительниц этой группы женщин не избавилась от идентифицированных ранее вирусов 16-го и 18-го типов. По данным литературы [11], проведение ДЭК шейки матки позволяет добиться полного излечения от ВПЧ-инфекции в 94% наблюдений. Однако в случае если ВПЧ-инфекция продолжает сохраняться и после этого лечения, что было установлено и по результатам нашего исследования, то возможен весьма высокий риск развития рецидива дисплазии — 8,6% [12]. В связи с этим основными компонентами комплексного лечения ВПЧ-инфицированных женщин с фоновыми и предраковыми заболеваниями шейки матки являются проведение системной противовирусной терапии и диспансерное наблюдение этих пациенток с последующим контрольным исследованием у них мазков с поверхности шейки матки при помощи метода ПЦР каждые 6 мес, что поможет выделить группу женщин с высоким риском развития РШМ и определить контингент, подлежащий ВПЧ-вакцинации.

ЛИТЕРАТУРА

- Новик В.И. Эпидемиология рака шейки матки, факторы риска, скрининг. *Практ онкол* 2002;3(3): 156—65.
- Роговская С.И., Прилепская В.Н., Межевитинова Е.А. и др. Папилломавирусная инфекция гениталий у женщин. *Вестн дерматол венерол* 1998;(6):48—51.
- Александрова Ю.Н., Лыщев А.А., Сафронникова Н.Р. и др. Папилломавирусная инфекция у здоровых женщин Санкт-Петербурга. *Вопр онкол* 2000;46(2):175—9.
- Волков В.Г., Захарова Т.В. Роль вируса папилломы человека в возникновении рака шейки матки. *Вестн нов мед технол* 1999;(2):85—8.
- Филатенков А.Г., Богатырева И.И., Самсонов В.А. и др. Особенности клиники и лечения урогенитальных поражений ВПЧ у женщин на фоне других заболеваний, передаваемых половым путем. *Вестн дерматол венерол* 1997;(3):73—6.
- Голованова В.А., Новик В.И., Гуркин Ю.А. Частота и факторы риска папилломавирусной инфекции и дисплазии эпителия шейки матки у сексуально активных девушек-подростков. *Вопр онкол* 1999;(6): 623—6.
- Cecchini S., Grazzini G., Iossa A. et al. Subclinical vulvar papillomavirus infection. *J Reprod Med* 1991;36(2):143—6.
- Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний шейки и тела матки. — СПб., 1999.
- Дубенский В.В. Урогенитальная папилломавирусная инфекция (обзор). *Рос журн кож венер бол* 2000;(5):50—5.
- Abadi M.A., Ho G.Y., Burk R.D. et al. Stringent criteria for histological diagnosis of koilocytosis fail to eliminate overdiagnosis of human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia grade 1. *Hum Pathol* 1998;29(1):54—9.
- Kusera E., Sluitz G., Czervenska K. Is high risk HPV-infection associated with cervical intraepithelium neoplasia? *Eur J Obstet Gynaecol Reprod Biol* 2001;100(1):72—6.
- Вишневский А.С., Сафронникова Н.Р. Дискуссионные вопросы лечения папилломавирусной инфекции шейки матки. *Практ онкол* 2002;3(3):166—72.