

УДК 616-006.6

**ВЫЯВЛЕНИЕ ОНКОГЕННЫХ ТИПОВ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА У ЖЕНЩИН  
С ПАТОЛОГИЕЙ ШЕЙКИ МАТКИ**

Л.Д. АНДОСОВА\*, О.В. КАЧАЛИНА\*, О.В. МИХАЛЕВА\*\*, С.Ю. КУДЕЛЬКИНА\*\*, Е.С. ГОНОВА\*\*

\**Нижегородская государственная медицинская академия, e-mail: larisa-andosova@yandex.ru*

\*\**Медицинский центр «Тонус», e-mail: tonus\_nn@mail.ru*

**Аннотация:** статья посвящена: анализу результатов скрининга на вирусы папилломы человека высокого канцерогенного риска методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени у женщин с различной тяжестью цервикальных поражений.

**Ключевые слова:** вирус папилломы человека, рак шейки матки.

**DETECTING ONCOGENIC TYPES OF HUMAN PAPILLOMA VIRUS AT WOMEN WITH  
CERVIX UTERI PATHOLOGY**

L.D.ANDOSOVA, O.V.KACHALINA, O.V. MIKHALEVA, S.YU.KUDELKINA, YE.S. GONOVA

*Nizhny Novgorod State Medical Academy, e-mail: larisa-andosova@yandex.ru*

*Medical Center "Tonus", e-mail: tonus\_nn@mail.ru*

**Abstract:** the article considers the analysis of the results of screening viruses of high carcinogenic risk human papilloma by applying polymerase chain reaction technique in real time format at women with different severity of cervical lesions.

**Key words:** human papilloma virus, carcinoma of uterine cervix.

Патология шейки матки является одним из наиболее часто встречающихся гинекологических заболеваний, особенно в условиях женской консультации от 25 до 45% [1]. В гинекологии и акушерстве ранняя диагностика и адекватное лечение фоновых и предраковых заболеваний, а также начальных форм рака шейки матки остаются одной из важнейших проблем [2]. Как правило, патология шейки матки сопровождается урогенитальной и (или) вирусной инфекцией [3]. В настоящее время имеется достаточно данных, подтверждающих причинную связь между папилломавирусной инфекцией и опухолевыми заболеваниями шейки матки [4, 5]. *Вирус папилломы человека* (ВПЧ) занимает особое место среди возбудителей заболеваний, передающихся половым путем. В настоящее время известно более 90 генетически родственных подтипов вирусов, более 30 из них вызывают поражение аногенитальной области – от остроконечных кондилом до плоскоклеточного рака шейки матки, вульвы и влагалища у женщин и онкологических заболеваний мочеполовых органов у мужчин. Ежегодно не только увеличивается количество идентифицированных типов вируса, но и возрастает число пациентов, инфицированных вирусом папилломы. С появлением эффективных методов диагностики ВПЧ-инфекции стала проясняться картина истинного распространения ВПЧ в популяции: только за последнее десятилетие количество лиц с установленным диагнозом ВПЧ-инфекции возросло в 10 раз [6]. Широкое внедрение молекулярно-биологических методов стало поворотным пунктом в диагностике, позволив в массовом порядке выявлять этиологический фактор патологических процессов, диагностировать субклинические формы инфекции. Стало возможным выявление групп риска по онкозаболеваниям урогенитальных органов, появился объективный критерий оценки эффективности проводимой терапии [7, 8].

**Цель исследования** – анализ результатов скрининга на *ВПЧ высокого канцерогенного риска* (ВПЧ ВКР) методом *полимеразной цепной реакции в режиме реального времени* (ПЦР-РВ) у женщин с различной тяжестью цервикальных поражений.

**Материалы и методы исследования.** Изучаемую группу составили 193 пациентки от 20 до 60 лет с цитологически верифицированным диагнозом *цервикальной интраэпителиальной неоплазии* (ЦИН) или ВПЧ-эффекта (койлоцитоз). Материалом для исследования служили образцы эпителия шейки матки, забранные в транспортную среду торговой марки «АмплиСенс» для материала из урогенитального тракта женщин. Для выявления и определения генотипа ВПЧ использовали тест-систему «Ампли Сенс ВПЧ ВКР генотип-Fb». Наборы данных реагентов предназначены для выявления, дифференциации и количественного определения ДНК ВПЧ ВКР 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 типов в клиническом материале методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией. Принцип метода основан на одновременной амплификации (мультикомплекс – ПЦР) в одной пробирке участков ДНК трех типов ВПЧ и участка ДНК β-глобинового гена, используемого в качестве эндогенного внутреннего контроля. ПЦР-анализ на наличие ДНК двенадцати типов ВПЧ проводится в четырех пробирках. Каждый тип регистрируется по своему каналу флуоресценции, что позволяет не только выявлять, но и определять генотип обнаруженного ВПЧ ВКР. Материал исследовали методом ПЦР-РВ с использованием анализатора «iQ5» Cycler («BIO-RAD», США),

комплекта тест-систем ФГУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора. От всех пациенток был взят материал для цитологического исследования. Материалом для гистологического исследования явились цельные биоптаты или ткань шейки матки, полученные в результате петлевой эксцизии зоны трансформации или электрокоагуляции. Полученные данные подвергнуты статистической обработке. Оценивались следующие статистические показатели: распределение эмпирических статистических совокупностей и параметров этого распределения, промежуточные итоги в виде абсолютных величин, относительные величины.

**Результаты и их обсуждение.** В анализ было включено 193 пробы, полученные от пациенток с патологией шейки матки: 1 группа – 84 женщины с фоновыми процессами шейки матки; 2 группа – 27 пациенток с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями I/II степени тяжести; 3 группа – 26 с ЦИН II/III, 4 группа – 32 больные с ЦИН III, рак *in situ* шейки матки; 5 группа – 24 женщины с инвазивным раком. Согласно данным мировой литературы, наиболее часто ВПЧ ВКР определяются при предраковых состояниях и раке шейки матки [9,10]. Нас интересовал вопрос о частоте выявления онкогенных типов вируса папилломы человека у женщин с патологией шейки матки. В целом, присутствие онкогенных типов ВПЧ обнаружено у 174 (90,2%) обследованных; среди 1 группы – у 83,3% (70), с ЦИН I/II степени – в 81,5% случаев (22) и в 100% у женщин в группах с ЦИН II/III, ЦИН III. Из таблицы 1 видно, что вирус папилломы человека 16 типа был обнаружен у 94 пациенток (48,7%), остальные типы распределились по распространенности следующим образом: 51 (18,6%), 58 (17,6%), 31, 52 (16,6%), 33 (14,5%), 45, 56 (14%), 18 (10,9%), 39 (10,4%), 59 (4,7%), 35 (2,6%) (табл.).

*Таблица*

**Распределение генотипов в ВПЧ ВКР у пациенток с патологией шейки матки**

| Тип ВПЧ | Фоновые (n=84)<br>1 группа |      | ЦИН I/II (n=27)<br>2 группа |      | ЦИН II/III (n=26)<br>3 группа |      | ЦИН III,<br>рак <i>in situ</i> ш.м. n=32<br>4 группа |      | РШМ<br>n=24<br>5 группа |      |
|---------|----------------------------|------|-----------------------------|------|-------------------------------|------|--|------|-------------------------|------|
|         | Абс.                       | %    | Абс.                        | %    | Абс.                          | %    | Абс.   | %    | Абс.                    | %    |
| 16      | 19                         | 12,9 | 7                           | 16,3 | 16                            | 29,6 | 26   | 39,4 | 26                      | 47,3 |
| 18      | 11                         | 7,5  | 3                           | 7,0  | 2                             | 3,7  | 0  | 0    | 5                       | 9,1  |
| 31      | 16                         | 10,9 | 6                           | 13,9 | 4                             | 7,4  | 4  | 6,1  | 2                       | 3,6  |
| 33      | 14                         | 9,5  | 2                           | 4,6  | 6                             | 11,1 | 4  | 6,1  | 2                       | 3,6  |
| 35      | 1                          | 0,7  | 0                           | 0    | 4                             | 7,4  | 0  | 0    | 0                       | 0    |
| 39      | 12                         | 8,2  | 0                           | 0    | 2                             | 3,7  | 4  | 6,1  | 2                       | 3,6  |
| 45      | 15                         | 10,2 | 3                           | 7,0  | 2                             | 3,7  | 2  | 3,0  | 5                       | 9,1  |
| 56      | 9                          | 6,1  | 3                           | 7,0  | 4                             | 7,4  | 10   | 15,1 | 1                       | 1,8  |
| 51      | 14                         | 9,5  | 4                           | 9,3  | 6                             | 11,1 | 8  | 12,1 | 4                       | 7,3  |
| 52      | 16                         | 10,9 | 6                           | 13,9 | 2                             | 3,7  | 6  | 9,1  | 2                       | 3,6  |
| 58      | 15                         | 10,2 | 5                           | 11,6 | 6                             | 11,1 | 2  | 3,0  | 6                       | 10,9 |
| 59      | 5                          | 3,4  | 4                           | 9,3  | 0                             | 0    | 0  | 0    | 0                       | 0    |

Частота встречаемости отдельных генотипов в группе была определена в процентах к общему количеству ВПЧ-позитивных образцов. В группе пациенток с фоновыми процессами и с ЦИН I/II наиболее часто встречались ВПЧ 16 типа (12,9-16,3%), 31 тип (10,9-13,9%), 52 тип (10,9-13,9%), 58 тип (10,2-11,6%), 45 тип (10,2-7,0%). У больных с ЦИН II/III преобладал ВПЧ 16 типа – 29,6%. При дисплазии III и рак *in situ* шейки матки, инвазивном раке ВПЧ 16 типа существенно доминирует над остальными типами (39,4-47,3%, соответственно), а основными типами ВПЧ ВКР обнаруживаемыми при РШМ являются 58 тип (10,9%), 18 и 45 типы (9,1%). Инфицирование одним онкогенным типом (моноинфекция) в группе женщин с фоновыми процессами шейки матки наблюдалось у 33,3% (28), двумя – у 6% (5 женщин). Инфекция тремя и более типами вирусов, как правило, имела место у женщин моложе 20 лет. У пациенток 2 и 3 групп обозначились те же тенденции. Среди пациенток с поражениями высокой степени тяжести (ЦИН III, рак *in situ* шейки матки) моноинфекция наблюдалась в 12,5% (4), мультиинфекция: двумя типами вируса – в 31,2% (10), тремя – в 40,6% (13), четырьмя – в 15,6% (5); у пациенток с инвазивным раком 1 генотип ВПЧ ВКР не выявлялся, два генотипа – 33,3% (8), три генотипа – 45,8% (11), четыре и пять генотипов дали одинаковые значения – 8,3% (2) и шесть генотипов – 4,2% (1 пациентка). У пациенток с моноинфекцией и с фоновыми процессами шейки матки, ЦИН I/II, ЦИН II/III наиболее распространенными типами ВПЧ ВКР были 16 (6,6%), 33 (3,6%). У пациенток с мультиинфекцией в этой же группе ВПЧ 16 типа – в 22,6% случаев, 31, 51 типы – в 13,9%, 58 тип в 12,4% случаев. Среди пациенток с моноинфекцией в группе с ЦИН III, рак *in situ*, инвазивным раком шейки матки наиболее часто встречались ВПЧ 16 типа (19,6%), 51 типа (3,6%). У пациенток с мультиинфекцией в этих группах также преобладал ВПЧ 16 (66,1%), за которым следовали ВПЧ 56 (33,9%), 51 (21,4%), 52 (16,1%), 31, 33, 45, 58 типы (14,3%), 39 тип (10,7%); 18, 35 типы в этой группе встречались менее чем в 7% случаев.

Для определения зависимости между частотой выявления ВПЧ и возрастом женщины обследуемую группу мы разделили по возрастным категориям. В 1 группе – женщины с фоновыми процессами шейки

матки наиболее многочисленными находками – это женщины 20-30 лет – 62 положительных результата (73,8%). В остальных возрастных группах: 31-40 лет, 41-50 лет – 12 (14,3%), 3 (3,6%), соответственно. Во 2 и 3 группах – плоскоклеточные интраэпителиальные поражения низкой степени тяжести (LSIL) сохранялась та же тенденция: 20-30 лет 18 женщин (66,7%), 16 (61,5%), остальные группы – 8 женщин (29,6%), 10 пациенток (38,5%), соответственно. Женщины с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями высокой степени тяжести (HSIL) более половины выявлений – 56,2% показывают в возрастной группе 31-40 лет, группа 20-30 лет, 50-60 лет одинаковый процент выявлений – 12,5%, пациентки 41-50 лет – 18,7%. Необходимо отметить увеличение выявлений ВПЧ ВКР в возрастной группе до 30 лет, а также большой процент выявлений в группе 31-40 лет. Данный контингент представляет трудоспособную и репродуктивно активную часть населения, что имеет большое социальное значение. Сопоставление полученных результатов с материалами современных работ по аналогичной тематике показало, что большинство обследуемых относятся к группе 20-30 лет [11]. Повышенного внимания заслуживает контингент женщин в группе 31-40 лет, так как в этой группе высока доля вероятности трансформации процесса в диспластический. После 40 лет в этих группах вирусы обнаруживаются реже [12]. Носительство ВПЧ ВКР, судя по данным исследования, не является фатально пожизненным. После прекращения действия факторов риска элиминация вируса более чем реальна. У больных 5 группы пик выявлений ВПЧ ВКР приходится на возраст 41-50 лет – 29,2%, группы 31-40 лет, 51-60 лет составил по 25% выявлений, возрастная категория более 60 лет – 12,5%. Полученные результаты подтверждают данные, что инвазивный рак наиболее часто регистрируется в возрасте 49 лет [13]. Доказано, что наличие ВПЧ повышает риск развития ЦИН и у женщин старшего возраста, следовательно, они также нуждаются в ВПЧ-тестировании.

**Заключение.** У женщин с высокой степенью плоскоклеточного интраэпителиального поражения чаще всего обнаруживаются ВПЧ 16 типа, а также 56, 58, 18, 45 типы ВПЧ ВКР. При этом отмечена зависимость частоты встречаемости ВПЧ 16 типа со стадией заболевания. Выявленное широкое распространение ВПЧ ВКР в разных возрастных группах свидетельствует о необходимости проведения скрининговых исследований методом ПЦР-реальное время на ВПЧ высокого канцерогенного риска при осмотрах женщин с патологией шейки матки. Своевременное обнаружение ВПЧ ВКР, вызывающих дисплазии различной степени тяжести позволит повысить эффективность профилактики рака шейки матки и других онкологических заболеваний уrogenитального тракта.

#### **Литература**

1. *Киселев, В.И.* Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки./ В.И.Киселев.– М.: Димитрейд График Групп, 2009.– С.7–182.
2. *Коханевич, Е.В.* Патология шейки и тела матки / Е.В. Коханевич.– Нежин: Гидромакс, 2009.– С. 9–38.
3. *Кувейда, Д.А.* ВПЧ-тестирование: алгоритмы диагностики и требования к молекулярным тестам для выявления вирусов папилломы человека. В кн.: Молекулярная диагностика 2007. Науч. ред. академик РАМН Покровский В.И./ Д.А.Кувейда, О.Ю.Шипулина.– М.: Университетская книга, 2007.– Т. III.– С. 108–119.
4. *Мушкамбаров, Н.Н.* Молекулярная биология / Н.Н. Мушкамбаров, С.Л. Кузнецов.– М.: Медицинское информационное агентство, 2003.– С. 13–38.
5. *Прилепская, В.Н.* Патология шейки матки и генитальные инфекции / В.Н. Прилепская.– М.: МЕД пресс-информ, 2008.– С. 3–384.
6. *Роговская, С.И.* Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки / С.И. Роговская.– М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008.– С. 4–188.
7. *Семенов, Д.М.* Папилломавирусная инфекция / Д.М. Семенов, С.Н. Занько, Т.И. Дмитраченко.– Санкт-Петербург: Диалект, 2008.– С.3–82.
8. *Шкарупета, М.М.* Папилломавирусная инфекция: пособие для врачей / М.М. Шкарупета, Н.И. Портнова, М.В. Байцур.– М.: 2009.– 3.– С. 217–226.
9. *Baldwin, P.* Translation approaches to improving cervical screening / P.Baldwin, R.Laskey, N.Coleman.– Nat. Rev. Cancer.– 2004.– 3.– P. 217–226.
10. *Castellsague, X.* Male circumcision, penile human papillomavirus infection, and cervical cancer in female partners / X.Castellsague [et al].– N. Engl. J. Med., 2002.– 346 (15).– P. 1105–1112.
11. *Cuzick, J.* Role of HPV testing in clinical practice / J.Cuzick.– Virus Res, 2002.– 89 p.
12. *Dalstein, V.* Human papillomavirus testing for primary cervical cancer screening / V. Dalstein [et al].– Basel: Karger, 2006.– P. 103–119.
13. *Malijn, A.* Molecular diagnosis of Human papillomavirus (HPV) infection / A. Malijn [et al].– J. Clin. Virol.– 2005.– 32 p.