

АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ОНКОГЕННЫХ ТИПОВ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА У ЖЕНЩИН С ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

О.Л. БЛАТОВА, К.Н. КОНТОРЩИКОВА, Л.Д. АНДОСОВА, О.В. МИХАЛЕВА, С.Ю. КУДЕЛЬКИНА

Analysis of the incidence of revealing oncogenic types of the human papillomatosis virus in females with gynecological pathology

O.L. BLATOVA, K.N. KONTORSHCHIKOVA, L.D. ANDOSOVA, O.V. MIKHALEVA, S.YU. KUDEL'KINA

Об авторах:

О.Л. Блатова — врач-дерматовенеролог Медицинского центра «Тонус», г. Н. Новгород

К.Н. Конторщикова — зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики ЦПК ППС Нижегородской государственной медицинской академии, г. Н. Новгород, д.б.н., профессор

Л.Д. Андосова — асс. кафедры клинической лабораторной диагностики ЦПК ППС Нижегородской государственной медицинской академии, г. Н. Новгород, к.м.н.

О.В. Михалева — врач-дерматовенеролог Медицинского центра «Тонус», г. Н. Новгород

С.Ю. Куделькина — врач клинической лабораторной диагностики Медицинского центра «Тонус», г. Н. Новгород

Цель исследования: оценить общую инфицированность вирусами папилломы человека, вирусную нагрузку у вирусопозитивных женщин с применением технологии полимеразной цепной реакции. Обследованы 4105 женщин, обратившихся в клиники Нижнего Новгорода по поводу различных гинекологических заболеваний. При исследовании общей инфицированности вирусами показано, что из 4105 обследованных женщин 962 (23,4%) оказались вирусопозитивными. Лидирующими по частоте встречаемости вирусами у вирусопозитивных лиц являются вирусы высокого канцерогенного риска типов 16/18 — у 33% женщин, типов 31/33 — у 9,5%, типов 6/11 — у 12%. Количество пациенток с выявленной клинически значимой концентрацией вируса чуть больше группы с клинически малозначимой концентрацией — 119 и 99 соответственно (54% против 45%).

Ключевые слова: папилломавирусная инфекция, вирусная нагрузка, полимеразная цепная реакция.

Study purpose: to assess the overall contamination with the human papillomatosis viruses and the viral load in virus-positive women using the polymerase chain reaction. Totally 4105 women referred to medical clinics of Nizhny Novgorod for the treatment of various gynecological diseases were examined. At assessment of overall viral contamination it was demonstrated that 962 women among 4105 (23.4%) were virus-positive. By incidence, the following viruses in virus-positive subjects were the leading: high cancerogenous risk types of viruses 16/18 in 33% of women, 31/33 types in 9.5%; 6/11 types in 12%. The amount of patients with diagnosed clinically significant concentrations of viruses was slightly higher than the amount of women with clinically insignificant concentrations of viruses as 119 and 99, respectively (54% against 45%).

Key words: papilloma viral infection, viral load, polymerase chain reaction.

Проблема диагностики и лечения заболеваний, обусловленных вирусом папилломы человека (ВПЧ), продолжает привлекать внимание врачей различных специальностей ввиду достоверного резкого роста заболеваемости во всем мире, значительной контагиозности и доказанной высокой онкогенности определенных типов ВПЧ [1, 2]. Диагностика ВПЧ, как и всех вирусов, затруднена [3, 4]. Появление молекулярно-биологических методов решило эту задачу [5]. Отечественные диагностические тест-системы позволяют не только эффективно выявлять ВПЧ, но и изучать стадии развития инфек-

ционного процесса и осуществлять контроль качества лечения [6, 7].

Цель и задачи исследования: оценить общую инфицированность ВПЧ, частоту встречаемости ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР) и вирусную нагрузку среди вирусопозитивных женщин с различной гинекологической патологией с применением технологии Real-time PCR. В исследование были включены пациентки Медицинского центра «Тонус», женских консультаций Нижнего Новгорода. Материалом для выделения ДНК и последующей амплификации послужили соскобы, взятые с эпителии цервикального канала и шейки матки одноразовыми цитощетками. Полученный материал исследовали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) формат Real-time на анализаторе iQ5 (Bio Rad,

США). Для выявления широкого спектра ВПЧ онкогенных типов 16, 31, 33, 35Н, 52, 58, 67, 18, 45, 39, 59 без дифференциации использовали тесты «ВПЧ-скрининг» (ДНК-Технология, Москва). Для отдельного определения ВПЧ генотипов 16 и 18, 31 и 33, 6 и 11, типирования и количественного анализа ВПЧ в пробах, положительных на ДНК ВПЧ онкогенных типов, использовали тесты «АмплиСенс» (Центральный НИИ эпидемиологии, Москва). Концентрацию ДНК ВПЧ в исследуемых пробах определяли с помощью стандартных кривых, построенных с использованием ВПЧ клонов данных типов. Вирусную нагрузку рассчитывали как количество копий ДНК ВПЧ на 10^5 геномов человека [8].

Обследованы 4105 женщин в возрасте от 18 до 60 лет и старше, обратившихся в клиники Нижнего Новгорода по поводу различных заболеваний. При исследовании общей инфицированности ВПЧ показано, что из 4105 обследованных женщин 962 (23,4%) оказались ВПЧ-позитивными.

Для определения зависимости частоты выявления ВПЧ от возраста женщины обследуемую группу разделили по возрастным категориям: до 20 лет — 318 женщин, 21—30 лет — 2160 женщин, 31—40 лет — 1000 женщин, 41—50 лет — 412 женщин, 51—60 лет — 108 женщин, 61 год и старше — 8 женщин.

Наиболее многочисленную группу составили женщины 20—30 лет — 2160 обследованных, из них положительные результаты обследования были получены у 620 (28,7%). Среди женщин до 20 лет ВПЧ обнаружен у 74 (23,3%). В группе 31—40 лет процент положительных находок составил 19,4 (194 женщины). Известно, что папилломавирусы являются своего рода маркером сексуальной активности, что объясняет пик выявления ВПЧ у женщин в возрасте до 30 лет — 28% (694). У женщин старше 30 лет вирусы обнаруживаются реже. Это обстоятельство может являться еще одним косвенным доводом против теории кумуляции и пожизненного носительства ВПЧ [9]. В 41—50 лет выявляемость ВПЧ составляет 12,6% (52 женщины), что почти в 3 раза ниже, чем в возрастной группе 21—30 лет. Именно в указанный период начинается физиологическая

перестройка женского организма, что, возможно, и определяет описанную особенность. В возрасте старше 50 лет встречаемость ВПЧ значительно ниже — 8,3% (9 человек). Эти цифры объясняются эпидемиологическими характеристиками и патогенетическими особенностями папилломавирусной инфекции [10]. В возрастной группе 61 год и старше положительных результатов не зарегистрировано.

При подробном изучении полученных положительных результатов обнаружено, что лидирующими по частоте встречаемости вирусами среди ВПЧ-позитивных лиц являются ВПЧ ВКР типов 16/18 — у 33% женщин, типы 31/33 встречаются значительно реже — у 9,5% (табл. 1).

Исследования по скринингу ВПЧ ВКР выявили положительные результаты у 439 женщин, что составило 45,6% от числа ВПЧ-позитивных лиц. Типы 16, 31, 33, 35Н, 52, 58, 67 обнаружены у 269 (28%) женщин, группа типов 18, 45, 39, 59 — у 170 (17,5%).

Группа типов ВПЧ низкого канцерогенного риска (ВПЧ НКР) представлена более чем 10 генотипами, среди которых наибольшее значение имеют генотипы 6 и 11, ответственные за подавляющее число случаев низкоонкогенных остроконечных кондилом гениталий [11]. ВПЧ НКР обнаружены у 115 (12%) женщин.

При исследовании распределения вирусной нагрузки среди ВПЧ-позитивных лиц (220 человек) показано, что количество женщин, у которых обнаружена клинически значимая концентрация ВПЧ, составило 54,1% (119 женщин), при этом чаще всего встречается концентрация 3—5 lg на 100 тыс. клеток (36%), затем 2—3 lg (24%) и концентрация 1—2 lg (15%) (табл. 2).

Основанием для введения порога клинической значимости послужил ряд работ, указывающих на то, что вирусная нагрузка ниже определенного значения («порог значимости») не встречается в образцах тяжелой дисплазии и рака и ассоциирована с регрессией инфекции (клинически незначимое инфицирование). Нагрузка выше данного порога обозначается как клинически значимое инфицирование. Также выделяется второй порог («порог прогрессии»). Вирусная нагрузка выше данного значе-

Таблица 1

Частота встречаемости отдельных типов ВПЧ

Тип ВПЧ	Количество обследованных	
	абс.	% (M ± m)
16/18	316	33 ± 1,5
31/33	91	9,5 ± 0,9*
6/11	115	12 ± 1,0*
Скрининг 16, 31, 33, 35Н, 52, 58, 67	269	28 ± 1,4
Скрининг 18, 45, 39, 59	170	17,5 ± 1,2**

Примечание. * Статистически значимые различия в сравнении с группой ВПЧ 16/18 позитивных лиц ($p \leq 0,05$).

** Статистически значимые различия в сравнении с группой ВПЧ 16, 31, 33, 35Н, 52, 58, 67 позитивных лиц ($p \leq 0,05$).

Таблица 2

Распределение вирусной нагрузки среди ВПЧ-положительных лиц

Суммарная вирусная нагрузка ВПЧ, lg	Количество обследованных	
	абс.	% ($M \pm m$)
До 1,0	13	6
1—2	33	15
2—3	53	24
До 3,0	99	45 ± 3,3
3—5	79	36 ± 3,2* порог значимости
5—6	12	5,4
6—7	23	10,4
Более 7,0	5	2,3
Более 3,0	119	54,1
Более 5,0	40	18,2 ± 2,6* порог прогрессии
Отрицательное значение	2	0,9 ± 0,9*

Примечание. * Статистически значимые различия в сравнении с группой ВПЧ-положительных лиц, содержащих концентрацию вируса ниже порога значимости — менее 3 lg на 100 тыс. клеток человека ($p \leq 0,05$).

ния обозначается как повышенная и ассоциирована с большей вероятностью наличия или прогрессии в цервикальную интраэпителиальную неоплазию (CIN) 2, 3-й степени [12]. На основании проведенных в Научном центре иммунологии и эпидемиологии исследований и данных мировой литературы были определены пороговые значения концентрации ВПЧ в образце: 3 lg геномов ВПЧ на 100 тыс. клеток — порог клинической значимости, 5 lg ВПЧ на 100 тыс. клеток — порог прогрессии. Количество пациенток с клинически значимой концентрацией ВПЧ несущественно превышает число женщин с клинически малозначимой концентрацией — 119 и 99 соответственно (54% против 45%). Часть женщин имеют клинически малозначимые концентрации ВПЧ, что говорит о высокой вероятности самостоятельного излечения в этой группе без применения медикаментозных и хирургических средств [13]. Большая группа — 119 (54%) человек содержит ВПЧ с вирусной нагрузкой, превышающей порог клинической значимости, т.е. это группа, которая нуждается в дальнейшем обследовании и наблюдении.

Выводы

Полученные данные подтверждают высокий уровень инфицированности ВПЧ у женщин с различными гинекологическими диагнозами, что свидетельствует о необходимости проведения скрининговых исследований методом ПЦР на ВПЧ высокого канцерогенного риска при профилактических осмотрах женщин. Данные о распределении вирусной нагрузки не противоречат аналогичным, полученным при изучении инфицированности ВПЧ женского населения других регионов России, главным образом европейской части, где лидирующим вирусом также является ВПЧ 16-го типа. Определение

вирусной нагрузки является новым подходом к диагностике папилломавирусной инфекции, поэтому заслуживает особого внимания.

Литература

1. Прилепская В. Н. Патология шейки матки и генитальные инфекции. М.: МЕДпресс-информ, 2008; 384.
2. Катханова О. Роль ВПЧ в генезе неопластических процессов шейки матки. Оптимизация лечебной тактики. Врач. 2009; (3): 23—26.
3. Прилепская В. Н. Профилактика рака шейки матки. Методы ранней диагностики и лечения. Акушерство и гинекология. 2007; (5): 73—76.
4. Киселева В. И., Крикунова Л. И., Шинкаркина А. П. и др. ВПЧ-отрицательный рак шейки матки и его прогноз. Рос. онколог. журн. 2008; (3): 23—26.
5. Мушкамбаров Н. Н., Кузнецов С. Л. Молекулярная биология. М.: Медицинское информационное агентство, 2003.
6. Куевда Д. А., Шипулина О. Ю. Сравнение аналитических характеристик различных молекулярно-биологических тестов для диагностики папилломавирусной инфекции. Сборник трудов 5-й Всероссийской научно-практической конференции «Генодиагностика инфекционных болезней-2004», 2004; I: 325—331.
7. Куевда Д. А., Шипулина О. Ю. ВПЧ-тестирование: алгоритмы диагностики и требования к молекулярным тестам для выявления вирусов папилломы человека. Сборник трудов 6-й Всероссийской научно-практической конференции «Генодиагностика инфекционных болезней-2007», 2007; III: 108—119.
8. Куевда Д. А., Шипулина О. Ю., Минкина Г. Н. и др. Количественный подход к диагностике генитальной папилломавирусной инфекции. Сборник трудов 6-й Всероссийской научно-практической конференции «Генодиагностика инфекционных болезней-2007», 2007; III: 120—124.
9. Роговская С. И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008.
10. Кубанов А. А. Комплексная иммунологическая и молекулярная диагностика папилломавирусной инфекции у больных и определение формирования злокачественной трансформации эпителиальных тканей: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. М., 2005.
11. Молочков В. А., Киселев В. И., Рудых И. В. и др. Папилломавирусная инфекция. М.: Мирада Вива, 2008.
12. Семенов Д. М., Занько С. Н., Дмитраченко Т. И. Папилломавирусная инфекция. СПб.: Диалект, 2008.
13. Сидорова И. С., Леваков С. А. Фоновые и предраковые процессы шейки матки. М.: Медицинское информационное агентство, 2006.