

ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ СОЧЕТАННЫХ ИНФЕКЦИЙ У ЖЕНЩИН С МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ ШЕЙКИ МАТКИ

© 2012 Меджидова Д.Б., Адиева А.А.*, Нисевич Л.Л.**,
Адиева Ф.А.***, Джамалова С.А.*

Республиканский центр планирования семьи и репродуктологии,
г. Махачкала,

*Дагестанский государственный институт народного хозяйства,

**Научный центр здоровья детей РАМН, г. Москва,

***Республиканский медицинский центр № 1, г. Махачкала

Проведено комплексное исследование соскобов женщин с нормальной и аномальной цитологией морфологическими и молекулярно-биологическими методами. Показана высокая частота смешанной (вирус простого герпеса + вируса папилломы человека) инфекции ($P=0,002$) в группе женщин с видимой патологией шейки матки, но без аномальных клеток (Pap I) по сравнению с группой женщин без каких-либо клинических симптомов.

The authors of the article performed a complex analysis of women's scrapes with normal and abnormal cytology using morphological, molecular and biological methods. High frequency of mixed infection (HPV+HSV) is shown ($P=0,002$) in a group of women with an obvious pathology of uterine neck, but without any ill-defined cells (Pap I) in comparison with a group of women having no clinical symptoms.

Ключевые слова: РМШ, методы диагностики, смешанная инфекция, вирусы.

Keywords: CUC, diagnostic methods, mixed infection, viruses.

В структуре онкологической заболеваемости женщин злокачественные опухоли шейки матки составляют почти 15% среди поражений органов репродуктивной системы и стабильно занимают третье место после рака молочной железы и рака эндометрия [2, 4]. По смертности рак шейки матки (РМШ) также занимает третье место, уступая лишь раку яичников и раку эндометрия. Заболевание относят к разряду «визуальных локализаций», при этом качество диагностики до настоящего времени не улучшается. В России начальный рак выявляют у 15,8% первичных больных, запущенный РМШ стадий III–IV – в 39,5% наблюдений [5,

7]. Для установления диагноза применяют морфологические (цитология Pap-test) и молекулярно-биологические (классический ПЦР и ПЦР в реальном времени) методы.

Цитологическое исследование мазков шейки матки, впервые предложенное Папаниколау, представляет собой наиболее распространенный метод скрининга рака шейки матки за рубежом. В нашей стране используют одну из модификаций данного метода (окраска мазков гематоксилином и эозином).

Как показывают результаты изучения опухолей вирусной этиологии, важную роль в развитии опухолей шейки матки

игают вирусы папилломы человека (ВПЧ). Это стало очевидным после доказательства онкогенной природы папилломавирусов и создания первой профилактической вакцины от кондиломатозов и рака шейки матки Харальдом Цурхаузенем (Harald zur Hausen), получившим Нобелевскую премию по физиологии и медицине в 2008 году.

Как правило, доброкачественные опухоли шейки матки связаны с ВПЧ 6 и 11 типами, которые называют неонкогенными, и риск развития рака при этом довольно низок. ВПЧ 16 и 18 типов и в меньшей степени ВПЧ 31, 33, 35 типов обнаруживается при слабых и сильных дисплазиях и раке шейки матки и считаются онкогенными, с высоким риском развития рака.

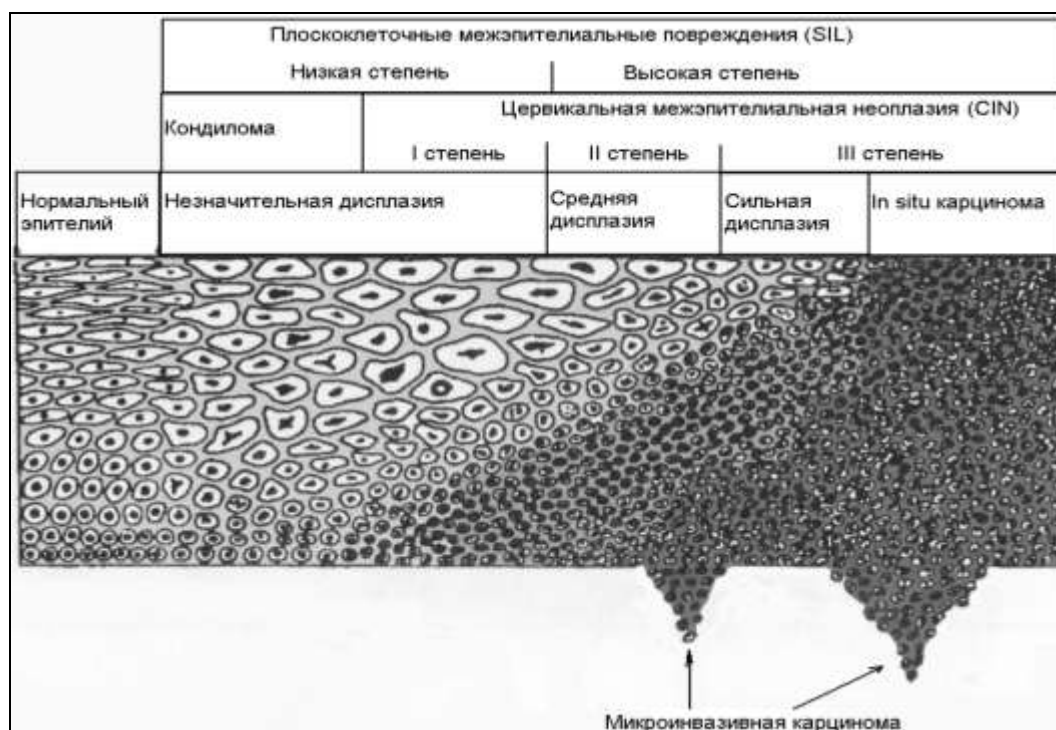


Рис. 1. Сводная схема морфологических критериев изменения шейки матки при ВПЧ

Хотя ВПЧ считается этиологическим агентом в развитии дисплазий и РМШ, однако, несмотря на распространенность ВПЧ, РМШ не возникает у каждого носителя и, очевидно, в патогенезе могут иметь значение другие, пока что неизвестные факторы [9]. До настоящего времени не определена роль сочетанной инфекции, вирусоносительства и реинфекции в патогенезе диспластических процессов.

Вопросы, касающиеся вируса простого герпеса (ВПГ) и цитомегаловируса (ЦМВ) в отношении развития рака шейки матки, остаются дискуссионными, в то же время герпесвирусы могут быть одним из

факторов риска возникновения рака шейки матки.

Цель нашей работы состояла в определении частоты выявления маркеров возбудителей, передаваемых половым путем (ДНК ВПЧ, ВПГ и ЦМВ) у женщин, проживающих в черте города и в горной местности, а также в определении частоты выявления маркеров этих инфекций у женщин с отклонениями Pap-smear и у женщин без цитологических (морфологических) изменений.

Материалы и методы

Исследования проводились на базе 2 женской консультации, РМЦ № 1 г. Махачкалы и научно-консультативной

диагностической лаборатории при НПО «Питательные среды».

Были обследованы женщины, обратившиеся за помощью по поводу различных гинекологических нарушений. Все женщины были разделены на 2 группы: первая группа – женщины 20-40 лет, проживающие в горной местности (80 человек), вторая группа – женщины того же возраста, проживающие в черте города (80 человек). В качестве группы сравнения обследовали женщин того же возраста, обратившихся в поликлинику по поводу ежегодных профосмотров, вне зависимости от места проживания (90 человек).

Для получения оптимальных результатов брали отдельно 2 мазка из эндоцервикса щеткой Cervex, а также с поверхности экзоцервикса шпателем Эйра, которые объединяли в один мазок и использовали для рутинного цитологического анализа. При исследовании мазков придерживались общепринятой классификации цервикальных каналов по Папаниколу: 1-й класс – нормальная цитологическая картина; 2-й класс – (изменение морфологии клеток, обусловленное воспалительным процессом во влагалище и/или в шейке матки); 3-й класс – (единичные клетки с аномалиями ядер или цитоплазмы (подозрение на злокачественное новообразование); 4-й класс – (отдельные клетки с явными признаками озлокачествления (увеличение массы ядер, аномалии цитоплазмы, изменение ядра, хромосомные aberrации); 5-й класс – (большое количество атипичных раковых клеток).

Для выявления ДНК ВПГ 1 и 2 типов, ВПЧ 16/18 типов, ЦМВ методом полимеразной цепной реакции материал, оставшийся на щетке от первого соскоба, а также материал, полученный при втором соскобе, помещали в 0,5 мл физиологического раствора.

Выделение ДНК, амплификацию и детекцию продуктов амплификации проводили методом ПЦР в качественном варианте, согласно инструкции фирмы-производителя (Гентех, Москва). Для определения количества лакто- и бифидобактерий, а также возбудителей аэробной и анаэробной инфекций производился бактериальный посев содержимого влагалища на питательных средах производства НПО «Микроген».

Для статистической обработки полученных результатов использовали пакет программ Statistika V6.0. Анализ частоты встречаемости маркеров инфекций в группах пациентов проводили с помощью точного критерия Фишера и χ^2 (Хи-квадрат). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования.

В связи с тем, что риск заболеть РШМ наиболее высок у женщин промискуитетной группы (раннее начало половой жизни, частая смена сексуальных партнеров, наличие инфекций, передающихся половым путем, первые роды в очень раннем возрасте, частые аборт), при сборе анамнеза мы обращали особое внимание на перенесенные заболевания, гинекологические заболевания и экстрагенитальную патологию.

Анализ анамнестических данных показал, что у значительного числа женщин всех исследуемых групп был отягощенный акушерско-гинекологический анамнез. Экстрагенитальная патология, тяжелая анемия, болезни мочеполовой системы были выявлены у подавляющего большинства обследованных женщин фертильного возраста. Данные представлены в таблице 1. Из гинекологических заболеваний, преимущественно воспалительного генеза (сальпингоофорит, аднексит, эндометрит), наиболее часто у женщин отмечался кольпит (17-25%), в 12,5-20% случаев – эрозия шейки матки.

Таблица 1

Состояние женщин фертильного возраста на момент начала обследования и взятия на учет

Выявленная патология	Группы сравнения		
	Группа 1 n=80	Группа 2 n=80	Группа 3 n=90
Гинекологические заболевания:			

Эрозии шейки матки	10 (12,5% ± 3,7)	16 (20,0% ± 4,5)	12 (13,3% ± 3,6)
Кольпит	14 (17,5% ± 4,2)	20 (25,0% ± 4,8)	17 (18,8% ± 4,1)
Сальпингооофорит	12 (15,0% ± 4)	10 (12,5% ± 3,7)	5 (5,5% ± 2,4)
Аднексит	10 (12,5% ± 3,7)	14 (17,5% ± 4,2)	9 (10,0% ± 3,2)
Эндометриит	8 (10,0% ± 3,4)	6 (7,5% ± 2,9)	3 (3,3% ± 1,9)
Экстрагенитальная патология:			
Заболевания щитовидной железы	38 (47,5% ± 5,6)	34 (42,5% ± 5,5)	39 (43,3% ± 5,2)
Заболевания желуд.-кишечного тракта	12 (15,0% ± 4)	10 (12,5% ± 3,7)	7 (7,7% ± 2,8)
Болезни ЛОР-органов	40 (50,0% ± 5,6)	34 (42,5% ± 5,5)	28 (31,1% ± 4,9)
Железодефицитная анемия	62 (77,5% ± 4,7)	56 (70,0% ± 5,1)	45 (50,0% ± 5,3)
Хронический пиелонефрит	40 (50,0% ± 5,6)	32 (40,0% ± 5,5)	42 (46,6% ± 5,3)
Сердечно-сосудистые заболевания	6 (7,5% ± 2,9)	6 (7,5% ± 2,9)	7 (7,7% ± 2,8)
Носительство гепатита В	4 (5,0% ± 2,4)	6 (7,5% ± 2,9)	6 (6,6% ± 2,6)
Инфекции, передающиеся половым путем	22 (27,5% ± 5)	18 (22,5% ± 4,7)	27 (30,0% ± 4,8)
Склонность к ОРВИ	56 (70,0% ± 5,1)	50 (62,5% ± 5,4)	67 (74,4% ± 4,6)

Очень часто при первом посещении женщины отрицали какие-либо болезни и считали себя здоровыми, однако при тщательном сборе анамнеза и при обследовании выяснялось, что 92% имели различную экстрагенитальную патологию: болезни ЛОР органов (до 50%), частые ОРВИ (62,5-74,4%), болезни желудочно-кишечного тракта (8-15%), сердечно-сосудистой системы (7-8%), эндокринные заболевания и др. До настоящего времени у 22,5-30% выявлялись инфекции, передающиеся половым путем. У каждой второй в анамнезе отмечался хронический пиелонефрит. Выявленная генитальная и экстрагенитальная патология встречалась практически с одинаковой частотой у женщин сравниваемых групп.

У большинства женщин в анамнезе как в 1 (47,5%), так и во 2 и 3 (43%) группах были болезни щитовидной железы, что, по-видимому, связано с дефицитом йода в данном регионе [1] (в Дагестане анемия встречается в 70-80% случаев, в Махачкале – 68,4%). Как показал анализ, среди обследованных женщин не было ни одной практически здоровой женщины во всех трех группах.

Приведенные данные свидетельствуют о крайне отягощенном соматическом и гинекологическом анамнезе.

Данные первичного лабораторного обследования также указывают на сходство инфекционной патологии женщин во всех трех группах. При исследовании мазка методом световой микроскопии у 39,2% женщин был выявлен дисбактериоз влагалища с обнаружением кокков, дрожжевых грибов и повышенного количества лейкоцитов. Бактериальный посев мазка показал положительный рост анаэробной и аэробной флор у 54,7% женщин. Бактериальная микст-инфекция (два и более возбудителя) диагностирована у 64% женщин.

По клиническим проявлениям и результатам цитологического обследования женщин во всех группах нами проведено разделение еще на 3 группы (без симптомов и аномальных клеток, с видимой патологией шейки матки, но без аномальных клеток и с патологией шейки матки). Данные представлены в таблице 2.

Таблица 2

Частота выявления гистологической патологии у женщин в сравниваемых группах

Данные морфологического исследования	1 группа	2 группа	3 группа (группа сравнения)
Без симптомов и аномальных клеток	50	36	70
С видимой патологией ш/м, но без аномальных клеток (Pap I)	28	44	30
С патологией ш/м (Pap II; III; IV)	2	–	–

Исследование соскобов показало значительную инфицированность женщин вирусными инфекциями во всех группах. Результаты исследования мазков на наличие ДНК

цитомегаловируса человека, вируса простого герпеса и вируса папилломы человека 16 и 18 типов приведены в таблице 3.

Таблица 3

Частота выявления возбудителей инфекций у женщин

Возбудители инфекций	1 группа	2 группа	3 группа (группа сравнения)
ЦМВ	4 (5% ± 2,4)	7 (8,7% ± 3,2)	5 (5,5% ± 2,4)
ВПГ 1/2 типов	12 (15% ± 4)	18 (22,5% ± 4,7)	24 (26,6% ± 4,7)
ВПЧ 16/18 типов	21 (26,2% ± 4,9)	19 (23,7% ± 4,8)	10 (11,1% ± 3,3)
Всего	80	80	90

Как видно из таблицы, вирус папилломы человека 16/18 типов в первой и во второй группе выявлена чаще, чем в группе сравнения (21 из 80 и 10 из 90, $P=0,054$; 19 из 80 и 10 из 90, $P=0,1$ соответственно). При объединении первой и второй групп и сопоставление их с группой сравнения данные по значительно большему выявлению ДНК ВПЧ в первых двух группах находили дополнительное подтверждение (40 из 160 и 10 из 90, $P=0,043$). Приведенные данные показывают значительную инфицированность вирусом папилломы человека женщин, проживающих как в черте города, так и в сельской местности, а также достоверно большее выявление ВПЧ у женщин с гинекологическими нарушениями по сравнению с женщинами, проходящими ежегодный профосмотр.

У женщин, проживающих в горной местности, ДНК ВПГ выявлялась незначительно реже, чем у женщин, проживающих в городе и группы сравнения (соответственно 15%, 22,5% и 26,6%). Высокая инфицированность во всех группах и незначительные различия

в выявлении вируса простого герпеса 1 и 2 типов, вероятно, объясняются недостаточным количеством обследованных больных и/или повсеместным распространением ВПГ 1 и 2 типов вне зависимости от заболевания и проживания женщин. Обращает внимание достаточно высокий процент выявления ДНК ВПГ у жительниц города и у женщин группы сравнения, где также многие проживают в городе, по сравнению с жителями села. Эти данные подтверждают известный факт активизации вируса простого герпеса при иммунодепрессивных состояниях, которые более характерны для городов с их неблагоприятной экологической обстановкой.

Как видно из таблицы 3, ДНК ЦМВ выявлялась практически с одинаковой частотой у женщин, проживающих в черте города и в горной местности, и с такой же частотой ДНК ЦМВ была обнаружена в группе сравнения. Моно - или смешанная вирусная инфекция в первых двух группах была выявлена почти у 100% женщин, в группе сравнения меньше чем у половины.

Таблица 4

Частота выявления маркеров при наличии или отсутствии патологии в клетках

Данные морфологического исследования	1 группа			2 группа			3 группа		
	Всего	Из них		Всего	Из них		Всего	Из них	
		ВПЧ	ВПЧ+ВПГ		ВПЧ	ВПЧ+ВПГ		ВПЧ	ВПЧ+ВПГ
Без симптомов и аномальных клеток	50	14	4	36	9	3	70	2	1
С видимой патологией ш/м, но без аномальных клеток (Pap I)	28	8	5	44	10	8	30	8	7
С патологией ш/м (Pap II; III; IV)	2	2	2	–	–	–	–	–	–

Наибольший интерес представлял корреляционный анализ гистологических изменений у женщин и выявление ДНК различных возбудителей. Для этого мы объединили группы с видимой

патологией ш/м, но без аномальных клеток (Pap I) и женщин с патологией шейки матки (Pap II; III; IV). Объединенная группа состояла из 104 женщин. ДНК ВПЧ 16/18 типов была

обнаружена в 26,9% случаев (28 из 104). У 22 из 28 (78,5%) этих женщин параллельно была выявлена ДНК вируса простого герпеса 1 и 2 типов. ДНК ЦМВ в ассоциации с ВПЧ была выявлена в 14,2% случаев (у 4 женщин из 28). Анализ данных показал, что выявление ВПЧ в соскобах прямо коррелирует с гистологическими изменениями шейки матки. ВПГ в ассоциации с ВПЧ чаще встречается в группах с видимой патологией ш/м, но без аномальных клеток (Рар I) и в группе с патологией ш/м (Рар II; III; IV) по сравнению с женщинами без симптомов и аномальных клеток в мазках.

При детальном анализе данных по наличию смешанной ВПЧ+ВПГ инфекции у женщин без симптомов (табл. 4) смешанная инфекция была выявлена в 5,1% случаев (8 из 156), у женщин с Рар I в 19,6% случаев (20 из 102) и в обоих случаях с Рар III. Высокая частота смешанной (ВПЧ+ВПГ) инфекции в группе женщин с Рар I по сравнению с группой женщин без каких-либо симптомов оказалась достоверной ($P=0,002$).

Обсуждение

Полученные результаты подчеркивают связь инфицирования ВПЧ, ВПГ с предраком и РШМ и согласуются с данными авторов о наиболее неблагоприятной роли ассоциации ВПЧ и ВПГ [3, 6]. Установлено, что у больных РШМ ВПГ выявляется в 2 раза чаще, чем у здоровых женщин [8]. Полученные нами результаты и данные литературы указывают на необходимость

дальнейших исследований для установления связи РШМ с герпесвирусными инфекциями, а также роли сочетанных вирусных инфекций в патогенезе РШМ.

Несмотря на определенные успехи, достигнутые в области диагностики и лечения, рак шейки матки продолжает занимать одну из лидирующих позиций в структуре онкологической заболеваемости женской половой сферы. Основным и наиболее перспективным направлением борьбы с этим заболеванием является его профилактика, которая заключается в своевременном выявлении и адекватном лечении фоновых, предраковых процессов, а также начальных форм рака шейки матки.

В настоящее время лечению подвергаются все пациентки с цитологическими аномалиями шейки матки, хотя во многих случаях в этом нет нужды: как показали некоторые исследования, только у 10-30% женщин с дисплазией Рар III и Рар IV развивается инвазивный рак шейки матки. Использование средств профилактики папилломавирусной инфекции (Gardasil и Cervarix, разработанные фармацевтической компанией Merck & Co.), по данным FDA, обладает «почти 100% эффективностью» против четырех основных разновидностей ВПЧ, заражение которыми может привести к появлению злокачественных новообразований, однако пока специалисты не могут ответить на вопрос, сколь долговечную защиту обеспечивают новые препараты.

Примечания

1. Абусуев С. А., Асельдерова З. М., Эседова Т. С., Хачиров Д. Г., Унтилов Г. В. Дефицит йода и эндемический зоб в Дагестане // Мат-лы II Всерос. тиреоидологического конгресса «Актуальные проблемы заболеваний щитовидной железы». М., 2002. С. 167.
2. Автандилов Г. Г., Глухова Ю. К., Преображенская Т. М. Дифференциальная диагностика стадий канцерогенеза в шейке матки (по данным плоидометрического исследования) // Архив патологии 2004. Т. 66. № 3. С. 23-27.
3. Киселев В. И., Киселев О. И. Этиологическая роль вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки: генетические и патогенетические механизмы // Цитокины и воспаление.

2003. Т. 2. № 4. С. 31-38. **4.** Купренко М. В. Рак шейки матки: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. Донецк : Донец. госуд. мед. университет, 2003. 36 с. **5.** Лихтенштейн А. В., Потапова Г. И. Генетические дефекты как маркеры опухолевого роста // Молекулярная биология. 2003. Т. 37. 2. С. 181-193. **6.** Мамаев Н. Н. Структурная организация и экспрессия рибосомных генов в физиологических и патологических условиях // Цитология. 2007. Т. 39. С. 80-83. **7.** Назарова Е. К., Гиммельфарб Е. И., Созаева Л. Г. Микробиоценоз влагалища и его нарушения (этиология, патогенез, клиника, лабораторная диагностика) // Клин. лаб. диагностика. 2003. Т. 2. С. 25-32. **8.** Новик В. И., Урманчеева А. Ф. Принципы организации цитологического скрининга рака шейки матки // Мат-лы съезда онкологов и радиологов СНГ. Ч. 1. Минск : ОДО «Тонпик», 2004. С. 241. **9.** Полонская Н. Ю., Юрасова И. В., Сокольская Т. Ю. Преимущества и эффективность стандартизации цитологических исследований в гинекологии // Клин. лаб. диагностика. 2004. Т. 11. С. 47-50.

Статья поступила в редакцию 14.05.2012 г.