

ЛИТЕРАТУРА

1. Вассерман Л.И., Трифонова Е.А. Методология исследования качества жизни в контексте психосоматических и соматопсихических соотношений // Обзорение психиатрии и медицинской психологии имени В.М.Бехтерева. – 2006. – Т.

3. №4. – С.20-28.

2. Колесникова И.Ю. Качество жизни, психологический статус и особенности течения заболевания у больных при язвенной болезни // Клиническая медицина. – 2001. – №6. – С.44-46.

Информация об авторах: 634050, г.Томск, Московский тракт, 2, кафедра терапии ФПКППС, тел. (3822) 53-02-43,

Белобородова Эльвира Ивановна – профессор, д.м.н.; Корнетов Николай Алексеевич – профессор, д.м.н.;
Гладилина Елена Константиновна – врач, к.м.н.; Белобородова Екатерина Витальевна – заведующая кафедрой, профессор
д.м.н.; Загрямова Татьяна Борисовна – доцент, к.м.н.; Устюжанина Елена Анатольевна – заведующая отделением, к.м.н.;
Колосовская Татьяна Александровна – доцент, к.м.н.; Диамант Светлана Анатольевна – аспирант;
Лютина Анастасия Николаевна – ординатор.

© КЛИНЫШКОВА Т.В., КАРАТЮК Т.И., САМОСУДОВА И.Б. – 2011

УДК 618.146 – 002.6 – 036.1 – 076: 578.827

**КЛИНИКО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВИРУС ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА-
АССОЦИИРОВАННЫХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ
ПОРАЖЕНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ**

Татьяна Владимировна Клинышкова¹, Татьяна Ивановна Каратюк¹, Ирина Болеславовна Самосудова²

(¹Омская государственная медицинская академия, ректор – д.м.н., проф. А.И. Новиков, кафедра акушерства и гинекологии ЦПК и ППС, зав. – д.м.н. Е.Н. Кравченко, ²МУЗ «Женская консультация №1», гл. врач – Л.И. Цыганкова)

Резюме. Обследовано 140 пациенток с CIN на фоне вируса папилломы человека (ВПЧ): CIN I (1-я группа) и CIN 2-3 (2-я группа) и ВПЧ-негативные пациентки с CIN I (группа сравнения). Комплексное обследование включало кольпоскопию, цитологическое, гистологическое исследование, ПЦР, оценку вирусной нагрузки ДНК ВПЧ 16 и 18 типа. Выявлено, что во 2-й группе наблюдается увеличение числа больных с высокой вирусной нагрузкой ВПЧ 16,18 типа; более высокий уровень вирусной нагрузки ВПЧ 16 типа и клинико-кольпоскопического индекса, который коррелирует с вирусной нагрузкой ВПЧ онкогенного риска ($r_s = 0,4$, $p = 0,01$).

Ключевые слова: CIN, вирус папилломы человека, вирусная нагрузка, клинико-кольпоскопический индекс.

**CLINICAL AND MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF HPV-ASSOCIATED SQUAMOUS
CERVICAL INTRAEPITHELIAL LESIONS**

T.V. Klinyshkova¹, T.I. Karatjuk¹, I.B. Samosudova²

(¹Omsk State Medical Academy, ²Municipal Gynecology Clinic №1)

Summary. The study involved 140 patients with HPV-associated CIN: CIN I (1st group), CIN 2-3 (2nd group) and HPV-negative patients with CIN I (comparison group). Complex research included colposcopy, cytological, histological examination, PCR, determination of the 16 and 18 types of DNA HPV viral load. It was revealed that in 2nd group the increase in number of patients with high virus loading HPV 16,18 types is observed; higher level of virus loading HPV 16 types and clinico-colposcopy index correlating with virus loading HPV of oncogenic risk ($p < 0,05$) has also been observed.

Key words: CIN, HPV, viral load, clinico-colposcopy index.

Широкие эпидемиологические исследования с очевидностью подтвердили причинную связь между папилломавирусной инфекцией и большинством случаев цервикальных интраэпителиальных неоплазий (CIN) шейки матки [9,11]. В настоящее время общепризнанной считается вирусная этиология рака шейки матки [1,14,15]. В практической лабораторной диагностике для детекции вируса папилломы человека (ВПЧ) используется полимеразная цепная реакция (ПЦР), Digene-тест и метод ПЦР в режиме реального времени («real time») для количественной оценки концентрации вируса, однако прикладное значение последнего имеет ограниченное значение. Установлено, что введение порога клинически значимого количества вируса на уровне 3 lg на 10⁵ клеток повышает специфичность исследования с 63,2% до 81,9% [2]. Низкая вирусная нагрузка (менее 3 lg на 10⁵) клеток характеризуется минимальным риском развития дисплазии, в то время как высокая нагрузка (более 5 lg на 10⁵ клеток) отражает наличие дисплазии или высокий риск ее развития [7,8].

Поскольку клинические проявления CIN в ряде случаев неспецифичны [5,6,12], комплексное применение кольпоскопии, морфологического метода и ВПЧ-тестирования способствует не только совершенствованию диагностики, но и выбору рациональной тактики ведения пациенток с CIN.

Цель работы: изучить клинико-микробиологические

особенности течения CIN с оценкой типирования и нагрузки ВПЧ в зависимости от степени поражения.

Материалы и методы

В результате целенаправленного скрининга среди пациенток специализированного приема по патологии шейки матки группы обследования составили 140 пациенток репродуктивного возраста с верифицированной CIN в возрасте от 19 до 45 лет. Среди 115 ВПЧ-положительных пациенток выделено 2 основные группы больных с плоскоклеточным поражением низкой и высокой степени: LSIL (CIN 1) – 73 пациентки (1-я группа), HSIL (CIN 2-3) – 42 пациентки (2-я группа); пациентки с LSIL (CIN 1), у которых ВПЧ не был выявлен, составили группу сравнения (n=25).

Критерии включения пациенток в исследование: возраст от 19 до 45 лет; гистологически подтвержденный диагноз CIN I, CIN II, CIN III; отсутствие антибактериальной терапии на протяжении последних 3-х месяцев; отсутствие у пациенток острых или обострения хронических воспалительных заболеваний на начало исследования; согласие пациенток на участие в исследовании.

Критерии исключения: возраст моложе 19 и старше 45 лет; преинвазивный и инвазивный рак шейки матки; беременность; лактация; обострение хронических или появление острых воспалительных заболеваний в про-

цессе исследования; нежелание пациенток участвовать в исследовании.

Комплексное обследование включало кольпоскопию, морфологическое исследование, детекцию ВПЧ высокого (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 58, 59, 67 типов) и низкого (6, 11 типов) онкогенного риска посредством ПЦР (тест-система Литех, Москва). Проводилась оценка вирусной нагрузки ДНК ВПЧ 16 и 18 типа методом ПЦР real time с выделением 3-х степеней вирусной нагрузки: низкая – $3 \lg$ на 10^5 , средняя – от 3 до $5 \lg$ на 10^5 , высокая – более $5 \lg$ на 10^5 клеток (ИнтерЛабСервис, Москва). Выполнялось цитологическое исследование (Betesda, 2001), гистологическое исследование биоптатов экзоцервикса, соскобов эндоцервикса (по показаниям). Для объективизации полученных клинических и кольпоскопических данных использовали клинко-кольпоскопический индекс (M.Shafi and S.Nazeer, 2006) [10] с бальной градацией кольпоскопических признаков по степени побеления эпителия после уксусной кислоты, площади поверхности поражения, с оценкой межкапиллярной дистанции, очаговости поражения, характера поверхности с учетом данных цитологического исследования, возраста и курения больных.

В процессе статистической обработки данных применены методы описательной статистики, графического анализа данных, для сравнения двух независимых групп – критерий Манна-Уитни (z), для оценки значимости различий в группах, имеющих качественные переменные, использовался хи-квадрат (χ^2) и точный критерий Фишера (ϕ). Причинно-следственные связи определялись в ходе корреляционного анализа Спирмена (r_s). Полученные данные представлены в виде $M \pm s$, где M – это среднее значение, s – стандартное отклонение (при нормальном распределении) или с указанием медианы, верхнего и нижнего квартиля P_{50} (P_{25} – P_{75}) (при распределении, отличном от нормального). Расчеты и графический анализ данных проводились на базе пакетов прикладных программ Microsoft Excel и STATISTICA 6.0. Результаты считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При анализе анамнестических данных пациенток с верифицированной CIN установлено, что средний возраст обследованных составил $27,0 \pm 6,5$ лет. Возраст пациенток 1-й группы на момент обследования варьировал от 19 до 45 лет, составив в среднем $25,0 \pm 5,8$ лет, во 2-й группе – от 21 до 45 лет, $28,0 \pm 7,19$ лет. Возраст пациенток группы сравнения колебался от 23 до 45 лет, составив в среднем $30,0 \pm 6,14$ лет. Выявленные различия в возрасте пациенток основных групп указывали на более старший возраст при ВПЧ-ассоциированных HSIL ($z = -2,07$, $p = 0,038$). Различия в возрасте пациенток с LSIL (1-й группы и группы сравнения) свидетельствовали о более молодом возрасте больных с ВПЧ-ассоциированными LSIL в сравнении с ВПЧ-негативными LSIL ($z = -3,57$, $p = 0,0003$). Обращал внимание более юный возраст начала сексуальных отношений при HSIL с дебютом до 15 лет (26,2%) и более коротким интервалом от менархе до дебюта чем при LSIL ($3,0 \pm 1,54$ лет и $5,0 \pm 2,43$ лет соответственно, $p < 0,05$).

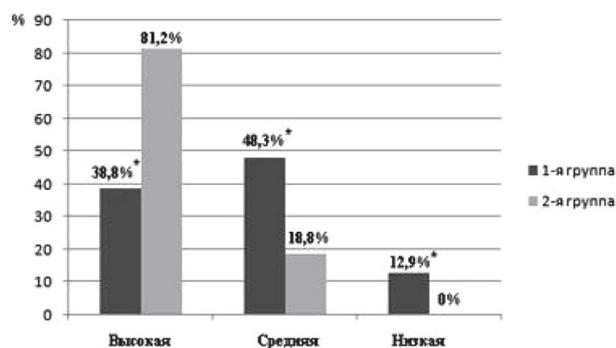
При ВПЧ-тестировании больных основных групп ВПЧ высокого риска выявлен у всех пациенток с CIN. ВПЧ-тестирование пациенток 1-й группы позволило установить 16, 18 типы ВПЧ в 49 (67,2%) случаях, другие типы ВПЧ онкогенного риска – у 24 (32,8%) пациенток. ВПЧ 16 типа обнаружен у 35 (48%) пациенток в варианте моноинфекции, ВПЧ 18 типа – 8 (11%), сочетание 16 и 18 типов ВПЧ – 6 (8,2%), другие типы ВПЧ – 24 (32,8%) пациенток. Во 2-й группе пациенток 16, 18 типы выявлены у 37 (88%), другие типы ВПЧ – у 5 (12%) пациенток. 16 тип ВПЧ в форме моноинфекции был выявлен у 29 (69%) пациенток с HSIL, 18 тип – 6 (14,3%), сочетание 16 и 18 – 2 (4,7%), другие ВПЧ – 5 (12%) пациенток. Установлено преобладание ВПЧ 16 типа относи-

тельно других типов ВПЧ во 2-й группе ($p < 0,0001$). При сравнительном анализе результатов типирования ВПЧ в двух группах выявлено преобладание ВПЧ 16 типа во 2-й группе ($p = 0,0457$), другие же типы ВПЧ ВКР преобладали в 1-й группе ($p = 0,0232$). При типировании пациенток на ВПЧ НКР (6,11 типы) ВПЧ 6 типа обнаружен у 6 (8,2%) пациенток 1-й группы и 2 (4,7%) – 2-й группы ($p = 0,7482$).

Наряду с качественной ПЦР изучали количественную составляющую ВПЧ. Оценка вирусной нагрузки 16 и 18 типов выполнена в 86 случаях. В 1-й группе оценка вирусной нагрузки ВПЧ 16 типа выполнена в 40 случаях, из них в 14 случаях была установлена высокая, в 21 – средняя, в 5 – низкая вирусная нагрузка. Оценка вирусной нагрузки ВПЧ 18 типа выполнена в 14 случаях, из них в 7 случаях выявлена высокая, в 5 – средняя, в 2 – низкая вирусная нагрузка.

Во 2-й группе оценка вирусной нагрузки ВПЧ 16 типа выполнена в 28 случаях, из них в 25 случаях встретилась высокая, в 3 – средняя, низкой вирусной нагрузки не выявлено ни в одном случае. Диапазон высокой вирусной нагрузки во 2-й группе составил $5,03$ – $8,67 \lg$ на 10^5 . Оценка вирусной нагрузки ВПЧ 18 типа выполнена в 4 случаях, из них в 1 случаях встретилась высокая, в 3 – средняя, низкой вирусной нагрузки также не выявлено ни в одном случае.

Суммарная высокая вирусная нагрузка ВПЧ 16, 18 типа встречалась достоверно чаще во 2-й группе (81,2%) в сравнении с 1-й (38,8%) ($p = 0,0001$) (рис. 1). Средняя и низкая вирусная нагрузка чаще наблюдалась в 1-й группе (48,3 и 12,9%) чем во 2-й (18,8 и 0% соответственно), ($\phi = 0,08643$, $p = 0,0054$ и $\phi = 0,05251$, $p = 0,0330$).



Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении 1-й и 2-й групп.
Рис. 1. Распределение уровня вирусной нагрузки ВПЧ 16, 18 типа у больных LSIL и HSIL.

Среднее значение вирусной нагрузки 16 типа в 1-й группе $4,2 \pm 2,01 \lg$, во 2-й группе – $5,6 \pm 1,93 \lg$. Выявлено статистически значимое превышение уровня вирусной нагрузки во 2-й группе в сравнении с 1-й ($z = 4,41$; $p = 0,00001$). При сравнении распределения уровня вирусной нагрузки ВПЧ 18 типа в двух группах не выявлено статистически значимых отличий, вероятно из-за малого количества наблюдений ($z = 1,17$; $p = 0,241$).

При кольпоскопическом исследовании с использованием клинко-кольпоскопического индекса (M.Shafi and S.Nazeer, 2006) частота больных с минимальным значением индекса (0-1 балл) отмечена в 75% случаев в 1-й группе против в 6,6% во 2-й ($p = 0,0000$). В противоположность, во 2-й группе чаще регистрировались больные с оценкой 4-5 баллов (23,3%) в сравнении с 1-й группой (5,3%) ($p = 0,0187$). Оценка в 6-7 баллов (43,3%), а также в 8-10 баллов (13,3%) встретилась лишь во 2-й группе при отсутствии в 1-й группе ($p = 0,0000$; $p = 0,0129$).

Выявлено превышение уровня клинко-кольпоскопического индекса P_{50} (P_{25} – P_{75}) во 2-й группе (6,0 (4,0–6,0) баллов) в сравнении с 1-й (1,0 (0–2,0) баллов), ($z = 0,58$, $p = 0,0000$), при отсутствии различий 1-й группы с группой сравнения (1,0 (0–1,0) баллов), ($z = 0,16$, $p = 0,385$) (рис. 2).

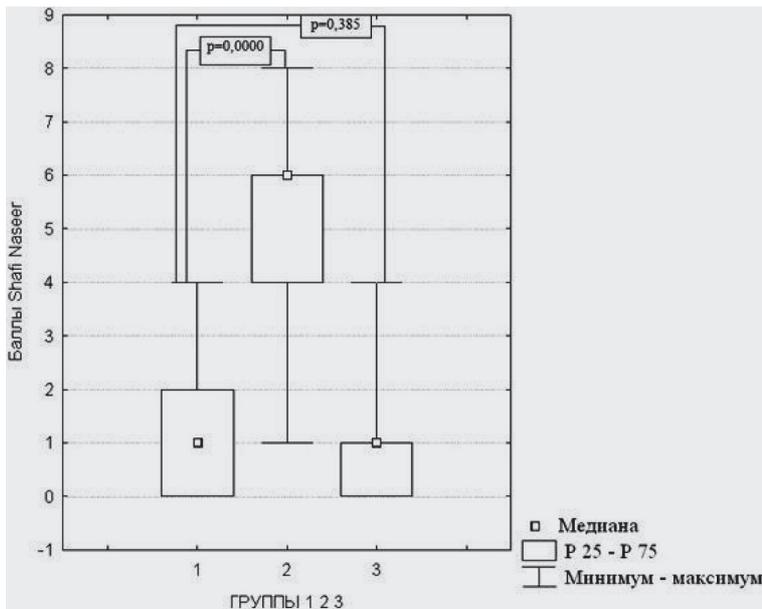


Рис. 2. Среднее значение бальной оценки клинко-кольпоскопического индекса у больных 1-й (1), 2-й группы (2) и группы сравнения (3).

При проведении корреляционного анализа Спирмена получена связь средней силы между уровнем вирусной нагрузки ВПЧ 16 типа и количеством кольпоскопических баллов ($r_s=0,4$, $p=0,01$).

Итак, среди больных с HSIL в репродуктивном возрасте характерна более высокая распространенность заболевания в среднем и позднем репродуктивном возрасте, чем при LSIL, что согласуется с данными Н.Ю. Мелеховой (2005), установившей влияние возраста на степень ВПЧ-ассоциированных поражений шейки матки. Нами отмечено преобладание высокой вирусной нагрузки ВПЧ 16, 18 типа, более высокий уровень вирусной нагрузки ВПЧ 16 типа у больных с HSIL (CIN II, CIN III) в сравнении с LSIL (CIN I), что сопоставимо с данными других исследователей [7,8], которые выявили увеличение вирусной нагрузки в зависимости от степени CIN.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анопилина И.А., Денисова Е.Д. Папилломавирусная инфекция гениталий: актуальная проблема современной гинекологии и пути ее решения // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2007. – Т. 6. №6. – С.70-75.
2. Кувейда Д.А. Современные требования к диагностике генитальной папилломавирусной инфекции. Материалы Российского научного форума «Мать и дитя». – М., 2007. – С.434-435.
3. Мелехова Н.Ю. Папилломавирусные поражения шейки матки у пациенток различного возраста: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2005. – 39 с.
4. Подистов Ю.И., Лактионов К.П., Петровичев Н.Н., Брюзгин В.В. Эпителиальные дисплазии шейки матки (диагностика и лечение). – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 136 с.
5. Rogovskaya S.I. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 105 с.
6. Abu J., Davies Q. Endocervical curettage at the time of colposcopic assessment of the uterine cervix // Obstet Gynecol Surv. – 2005. – Vol. 60. №5. – P.315-320.
7. Botezatu A., Socolov D., Goia C.D. The relationship between HPV 16 and HPV 18 viral load and cervical lesions progression // Roum Arch Microbiol Immunol. – 2009. – Vol. 68. №3. – P.175-182.

Для больных с ВПЧ-ассоциированными CIN характерна связь между уровнем вирусной нагрузки ВПЧ 16 типа и величиной кольпоскопического индекса. Этот факт представляет интерес в связи с отсутствием специфических кольпоскопических признаков ПВИ на настоящий момент и отсутствием данных по вопросу взаимосвязей кольпоскопии с ВПЧ-нагрузкой. Метаанализ данных по изучению эффективности кольпоскопии показал, что ее чувствительность при дифференциации LSIL / HSIL составляет 85%, специфичность – 69% [13]. По данным Ю.И. Подистова (2006), отмечена четкая взаимосвязь между выраженностью кольпоскопических изменений и степенью тяжести дисплазии. Однако если при легкой и тяжелой степени дисплазии имеется достоверная разница между частотой выявления малых и больших кольпоскопических изменений, то при средней степени дисплазии эти отличия не столь явны. Выявленная нами зависимость тяжести кольпоскопических признаков от вирусной нагрузки ВПЧ онкогенного риска обосновывает необходимость проведения деструктивного лечения на фоне противовирусной терапии для профилактики рецидивов заболевания.

Таким образом, для больных с ВПЧ-ассоциированными LSIL характерна более высокая распространенность в раннем репродуктивном возрасте, чем при HSIL и ВПЧ-негативных LSIL; преобладание средней и низкой вирусной нагрузки ВПЧ 16,18 типов; снижение уровня вирусной нагрузки ВПЧ 16 типа; более низкое значение клинко-кольпоскопического индекса в отличие от HSIL. Для больных с HSIL характерно преобладание высокой вирусной нагрузки ВПЧ 16,18 типа; повышение уровня вирусной нагрузки ВПЧ 16 типа и клинко-кольпоскопического индекса. Установлено, что факт ВПЧ не влияет на величину кольпоскопического индекса при LSIL, однако среди инфицированных больных уровень вирусной нагрузки коррелирует с величиной кольпоскопического индекса, что необходимо учитывать при лечении больных с ЦИН.

8. Carcopino X., Henry M., Benmoura D., et al. Determination of HPV type 16 and 18 viral load in cervical smears of women referred to colposcopy // J. Med. Virol. – 2006. – Vol. 78. №8. – P.1131-1140.
9. Crook T., Farthing A. Human papillomavirus and cervical cancer // Br. J. Hosp. Med. – 1993. – Vol. 49. №2. – P.131-132.
10. EAGC Course Book on colposcopy / Ed. by P. Bosze, D. M. Luesley – Budapest: Primed-x, 2003. – 250 p.
11. Jakobsson M., Pukkala E., Paavonen J., et al. Cancer incidence among finnish women with surgical treatment for cervical intraepithelial neoplasia, 1987-2006 // Int. J. Cancer. – 2010. – Apr 29. [Epub ahead of print].
12. Lukic A. Microcolposcopy in the diagnostic evaluation of abnormal cervical cytology: when and why to do it // Clin Exp Obstet Gynecol. – 2009. – Vol. 36. №1. – P.26-30.
13. Mitchell M.F., Schottenfeld D., Tortolero-Luna G., et al. Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis // Obstet. Gynecol. – 1998. – Vol. 91. №4. – P.626-631.
14. Mougin C., Dalstein V., Prétet J.L., et al. Epidemiology of cervical papillomavirus infections. Recent knowledge // Presse Med. – 2001. – Vol. 30. №20. – P.1017-1023.
15. Zur Hausen H. Human papillomaviruses in the pathogenesis of anogenital cancer // Virology. – 1991. – Vol. 184. №1. – P.9-13.

Информация об авторах: 644043, Омск-43, ул. Ленина, 12; тел. (3812) 23-02-93, e-mail: klin_tatyana@mail.ru, TKaratuk@mail.ru, Клинышкова Татьяна Владимировна – д.м.н., профессор; Каратюк Татьяна Ивановна – аспирант; Самосудова Ирина Болеславовна – врач акушер-гинеколог