

УДК 618.15-006.52-07

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА  
У БОЛЬНЫХ С ПАТОЛОГИЕЙ ШЕЙКИ МАТКИ****В.Н. Беляковский****Гомельский государственный медицинский университет**

Обследованы 92 женщины с клиническими и субклиническими проявлениями папилломавирусной инфекции, дисплазией шейки матки I–III степени, преинвазивным и микроинвазивным (T1a1NoMo) раком шейки матки мультипраймерной модификацией полимеразной цепной реакции. Использовалась тестсистема «Ампли-Сенс ВПЧ высокого риска» Московского НИИ эпидемиологии для выявления и дифференцировки ДНК вирусов папилломы человека высокого и среднего канцерогенного риска: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 58, 59, 66 типов. У больных дисплазией III степени, внутриэпителиальным и микроинвазивным раком шейки матки мы обнаружили достоверное увеличение ВПЧ высокого онкогенного риска по сравнению с больными дисплазией I–II степени, койлоцитозом, кондиломами и латентной формой ПВИ ( $85,7 \pm 5,0\%$  против  $62,7 \pm 7,3\%$ ) ( $p < 0,05$ ). Характерно, что с увеличением тяжести дисплазии шейки матки и у больных внутриэпителиальным и микроинвазивным раком наблюдается достоверный рост ассоциаций ВПЧ (2 и более типов ВПЧ) и преобладание в них вирусов высокого онкогенного риска ( $53 \pm 7,1\%$  против  $25,6 \pm 6,6\%$ ) ( $p < 0,01$ ).

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

**HUMAN PAPILLOMAVIRUS IDENTIFICATION  
IN PATIENTS WITH PATHOLOGY OF CERVIX****V.N. Belyakovsky****Gomel State Medical University**

By means of multiprimer modification of polymerase chain reaction 92 women with clinical and subclinical signs of papillomaviral infection, I–III stage dysplasia of the cervix, preinvasive and microinvasive (T1a1NoMo) cervical carcinoma have been examined. Toolkit «Ampli-Sense High Risk HPV» made in Moscow Research Institute of Epidemiology was used. The toolkit is designed for detection and differentiation of HPV DNA of high and medium carcinogenic risk: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 58, 59, 66 type. In patients with III stage dysplasia, intraepithelial and microinvasive carcinoma we detected significant increase of high oncogenic risk HPV in comparison with patients with I–II stage dysplasia, koilocytosis, condylomas and latent form of PVI ( $85,7 \pm 5,0\%$  versus  $62,7 \pm 7,3\%$ ) ( $p < 0,05$ ). It is typical that with the increase of severity of dysplasia of the cervix in patients with intraepithelial and microinvasive carcinoma the reliable growth of HPV associations (2 and more types of HPV) and predominance of high oncogenic risk viruses in them ( $53 \pm 7,1\%$  versus  $25,6 \pm 6,6\%$ ) ( $p < 0,01$ ) was observed.

**Key words:** papillomaviral infection, I–III stage dysplasia of the cervix, preinvasive and microinvasive (T1a1NoMo) cervical carcinoma.

В начале 70-х годов впервые была выдвинута гипотеза инфекционного происхождения опухолей шейки матки, а несколько позднее предположили, что таким инфекционным агентом могут быть вирусы папилломы человека (ВПЧ) [2].

За последние 10 лет крупные эпидемиологические и экспериментальные исследования выявили сильную взаимосвязь

между цервикальной неоплазией и генитальной инфекцией, вызываемой ВПЧ. Международное агентство по исследованию рака (МАИР) официально объявило ВПЧ-16 и ВПЧ-18 канцерогенными факторами, а типы 31, 33 и 35 — возможными канцерогенами [14].

Папилломавирусная инфекция (ПВИ) — одна из наиболее часто встречающихся ин-

фекций, передаваемых преимущественно половым путем в развивающихся странах [4, 6]. Ежегодно в мире выявляется 30 миллионов новых случаев генитальной папилломавирусной инфекции [8]. В США этот вид сексуально-трансмиссивной инфекции стоит на III месте после хламидиоза и трихомониаза, а среди вирусной инфекции — на I месте. 24 миллиона американцев инфицированы ВПЧ и ежегодно выявляется от 0,5 до 1 млн новых случаев [10].

Известно около 100 типов вирусов папилломы человека, 70 из которых идентифицированы в настоящее время [1]. 30 из них обладают избирательностью к аногенитальному тракту [5, 12]. По степени онкогенности в настоящий период ВПЧ подразделяются на 3 категории: ВПЧ 16, 18, 45, 56 типов относятся к категории высокого риска; 30, 31, 33, 35, 39, 51, 52, 58, 59, 66 — среднего; ВПЧ 6, 11, 42, 43, 44, 53, 54, 55 типов — низкого риска [13, 15].

Идентификация ВПЧ выполняется методами молекулярной биологии, в частности, методом амплификации нуклеиновых кислот полимеразной цепной реакцией (ПЦР), ставшей к настоящему времени стандартом лабораторной диагностики папилломавирусной инфекции и широко используемой в практической медицине [7]. Основное достоинство метода ПЦР — чрезвычайно высокая чувствительность — позволяет обнаружить ВПЧ задолго до появления цитологических и уж тем более — клинических признаков заболевания, что представляет возможность проведения профилактических и лечебных мероприятий, препятствующих развитию патологических процессов [9].

Наиболее перспективной в настоящий период является мультипраймерная модификация ПЦР, позволяющая за один анализ определять из одной пробы несколько типов вирусов папилломы человека. Совершенствование мультипраймерной технологии ПЦР способствовало разработке современных тест систем для идентификации ВПЧ высокого и среднего риска у больных с патологией шейки матки [11].

В Гомельской области эпидемиологические исследования папилломавирусной инфекции ранее не проводились. С 2002 г. начато определение ВПЧ молекулярно-биологическими методами у больных с различной патологией

шейки матки и проявлениями генитальной папилломавирусной инфекции.

Целью настоящего исследования явилось определение зависимости тяжести патологических проявлений от типа ВПЧ, возраста больных, сочетания субклинических форм генитальной папилломавирусной инфекции.

#### **Материалы и методы исследования**

В группу вошли 92 женщины с различной патологией шейки матки, у которых с 2002 года по настоящий период методом ПЦР идентифицированы вирусы папилломы человека.

Средний возраст больных составил  $27,9 \pm 7,6$  лет (возрастном диапазоне от 16 до 52 лет). Группа больных до 30 лет оказалась преобладающей — 65 женщин и составила  $79,6 \pm 4,7\%$ . 52 женщины ( $56,5 \pm 5,1\%$ ) были нерожавшими. Раннее начало сексуальной жизни (до 18 лет) отметили 75 женщин ( $81,5 \pm 4,0\%$ ), на наличие 2 и более сексуальных партнеров в анамнезе указали 68 человек ( $73,9 \pm 4,5\%$ ).

Всем больным была выполнена кольпоскопия, прицельная биопсия шейки матки, гистологическое исследование. У 5 пациенток ( $5,4 \pm 2,3\%$ ) кольпоскопически определялась эктопия цилиндрического эпителия и эктропион, гистологически признаков ПВИ не выявлено, что позволило выставить латентную форму ПВИ.

У 6 больных ( $6,5 \pm 2,5\%$ ) диагностирован папилломавирусный цервицит, кольпоскопически определяющийся в виде ацетобелой пунктации и микропапиллярного эпителия в зоне и вне зоны трансформации, гистологически подтвержденный койлоцитопатией.

Кондиломы шейки матки и влагалища без дисплазии диагностированы у 4 больных, что составило  $4,4 \pm 2,1\%$ .

У 8 больных гистологически верифицирована дисплазия шейки матки I степени в сочетании с койлоцитозом, кольпоскопически выглядевшей в виде пунктации, мозаики в зоне трансформации, микропапиллярного ацетобелого эпителия вне зоны трансформации.

Дисплазия II степени была определена у 20 ( $21,7 \pm 4,3\%$ ) больных, преобладающей кольпоскопической картиной была пунктация и мозаика в зоне трансформации, и у 18 из них — микропапиллярный

ацетобелый эпителий вне зоны трансформации. Койлоцитоз диагностирован у 14 больных.

У 36 ( $39,1 \pm 5,0\%$ ) больных дисплазией шейки матки III степени кольпоскопически определялась грубая пунктация и мозаика в зоне трансформации, у 30 из них — микропапиллярный ацетобелый эпителий вне зоны трансформации, у 8 больных — мелкие кондиломы в сводах влагалища. Койлоцитоз гистологически диагностирован у 20 больных с дисплазией III степени.

У 10 больных диагностирован внутриэпителиальный рак на фоне тяжелой дисплазии, у 6 из них гистологически определялся койлоцитоз. Кольпоскопически в зоне трансформации визуализировалась грубая пунктация, мозаика с появлением атипических сосудов, у 6 больных вне зоны трансформации определялась ацетобелая пунктация.

У 3 больных верифицирован микроинвазивный рак шейки матки IA стадии, T1a1NoMo, кольпоскопически определялись в зоне трансформации очаги грубой пунктации с сосудистой атипией, у 1 больной визуализировались в сводах и на шейке матки кондиломы, микропапиллярный ацетобелый эпителий.

У 33 женщин ( $35,8 \pm 5,0\%$ ) при гистологическом исследовании определялись герпетические включения. Койлоцитоз отмечен у 54 больных ( $58,7 \pm 5,1\%$ ).

Забор материала для ПЦР выполнялся одноразовыми ложечками Фолькмана, одноразовыми зондами, материал смывался в готовую среду в пробирке типа «Эппендорф» (1,5 мл физиологического раствора).

ПЦР выполнялась в сертифицированной вирусологической лаборатории (регистрационный № ВУ/112 02.1.0.1301 10 ноября 1997 года) Гомельского областного центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья. Использовалась тестсистема «Ампли-Сенс ВПЧ высокого риска» Московского НИИ эпидемиологии для выявления и дифференцировки ДНК вирусов папилломы человека высокого и среднего канцерогенного риска: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 58, 59, 66 типов.

Анализ результатов проведен с помощью компьютерной программы Excel «Статистика 6,0», определялись средние величины, стандартное отклонение, достоверность показате-

лей определялась с помощью метода Хи-квадрат с поправкой Йетса.

### **Результаты и обсуждение**

Из 92 у 70 больных ( $76 \pm 4,4\%$ ) диагностированы ВПЧ высокого онкогенного риска (16, 18, 45, 56 тип). У 54 больных ( $58,7 \pm 5,1\%$ ) выявлен один тип ВПЧ, у 38 ( $41,3\%$ ) — ассоциации 2 и более типов.

Из 54 больных с монотипом у 36 ( $66,6 \pm 6,4\%$ ) были определены ВПЧ высокого риска, из 38 больных с ассоциациями нескольких типов ВПЧ высокого онкогенного риска диагностированы у 35 ( $92,1 \pm 4,3\%$ ) ( $p < 0,01$ ).

Ассоциации 2 типов преобладали и выявлены у 25 из 38 больных, что составило  $65,8 \pm 7,7\%$ , у 10 больных ( $26,3 \pm 7,1\%$ ) зарегистрированы 3 типа. Максимальное количество (5 типов ВПЧ) идентифицировано у 2 больных дисплазией III степени, и 4 типа — у 1 больной дисплазией I степени (суммарно  $7,9 \pm 4,3\%$ ). У 10 больных ( $26,3 \pm 7,1\%$ ) отмечено самое неблагоприятное сочетание 2 типов ВПЧ высокого онкогенного риска.

В группе из 23 женщин, которую составили больные с латентной формой ПВИ, кондиломами, койлоцитозом и дисплазией легкой степени (изменения эпителия низкой степени тяжести по классификации Bethesda system), у 15 диагностированы ВПЧ высокого риска, что составило  $65,2 \pm 9,9\%$ , ассоциации нескольких типов вирусов папилломы человека выявлены лишь у 3 больных ( $13 \pm 7,0\%$ ).

В группе из 69 женщин, в которую вошли больные дисплазией II–III степени, внутриэпителиальным и микроинвазивным раком шейки матки, ВПЧ высокого онкогенного риска диагностирован у 56 пациентов ( $81,1 \pm 4,7\%$ ), в сравнении с предыдущей группой различия недостоверны ( $p > 0,05$ ). Ассоциации 2 типов и более обнаружены у 34 больных, что составило  $49,2 \pm 6,0\%$ , что достоверно больше, чем в группе с изменениями эпителия низкой степени тяжести ( $p < 0,01$ ), причем присутствие ВПЧ высокого риска определены у 32 из 34, что составило  $94,1 \pm 4,0\%$ .

Учитывая классификацию дисплазии шейки матки («МКБ-10») и объединив больных с изменениями эпителия низкой степени тяжести с больными дисплазией II степени, не относящейся к предраку

шейки матки, мы получили группу в количестве 43 человек. ВПЧ высокого риска диагностированы у 27 женщин, что составило  $62,7 \pm 7,3\%$ , ассоциации 2 и более ВПЧ выявлены у 11, что соответствовало  $25,6 \pm 6,6\%$ .

В оставшейся группе из 49 больных дисплазией III степени, внутриэпителиальным и микроинвазивным раком шейки матки ВПЧ высокого риска идентифицированы у 42 женщин, что составило  $85,7 \pm 5,0\%$ , что достоверно выше этого показателя в предыдущей группе ( $p < 0,05$ ). Ассоциации вирусов папилломы человека диагностированы у 26 больных ( $53 \pm 7,1\%$ ), что также достоверно выше, чем у больных с изменениями низкой степени тяжести и дисплазией шейки матки II степени ( $p < 0,01$ ).

Самой большой оказалась группа из 36 больных дисплазией шейки матки III степени. ВПЧ высокого риска выявлены у 32 женщин, что составило  $88,8 \pm 5,2\%$ , ассоциации вирусов папилломы человека отмечены у 26 больных ( $55 \pm 8,2\%$ ), что достоверно выше этих же показателей у больных с изменениями эпителия низкой степени тяжести, дисплазией шейки матки I–II степени ( $p < 0,01$ ). Представительство ВПЧ высокого онкогенного риска в вирусных ассоциациях отмечено у 19 из 20 больных дисплазией III степени ( $95 \pm 4,8\%$ ).

У всех 6 больных внутриэпителиальным и микроинвазивным раком шейки матки в ассоциациях отмечены ВПЧ высокого риска.

У 7 из 49 больных дисплазией III степени, внутриэпителиальным и микроинвазивным раком шейки матки идентифицированы ВПЧ средней степени риска: у 5 женщин — 35 тип, у 1 — 31, у 1 — 31 и 52 тип. При гистологическом исследовании в эпителиальных клетках у этих женщин определялись герпетические включения.

Таким образом, в исследованной группе женщин мы выявили преобладание ВПЧ высокого онкогенного риска ( $76 \pm 4,4\%$ ), что можно объяснить молодым возрастом женщин, сексуальным опытом, превалированием сочетанных субклинических форм генитальной папилломавирусной инфекции: койлоцитоз диагностирован у 54 больных ( $58,7 \pm 5,1\%$ ), причем у 42 из 64 больных ( $65,6 \pm 5,9\%$ ) дисплазией шейки матки I–III степени. У больных дисплазией

III степени, внутриэпителиальным и микроинвазивным раком шейки матки мы обнаружили достоверное увеличение ВПЧ высокого онкогенного риска по сравнению с больными дисплазией I–II степени, койлоцитозом, кондиломами и латентной формой ПВИ ( $85,7 \pm 5,0\%$  против  $62,7 \pm 7,3\%$ ) ( $p < 0,05$ ). Характерно, что с увеличением тяжести дисплазии шейки матки и у больных внутриэпителиальным и микроинвазивным раком наблюдается достоверный рост ассоциаций ВПЧ (2 и более типов ВПЧ) и преобладание в них вирусов высокого онкогенного риска ( $53 \pm 7,1\%$  против  $25,6 \pm 6,6\%$ ) ( $p < 0,01$ ).

### Выводы

1. У молодых женщин с сочетанными субклиническими формами папилломавирусной инфекции шейки матки отмечается преобладание вирусов папилломы человека высокого онкогенного риска (16, 18, 45, 56).

2. Изменение степени тяжести дисплазии шейки матки у больных с папилломавирусной инфекцией коррелирует с инфицированностью вирусами папилломы человека высокого риска и их ассоциациями (2 типа и более).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Башмакова М.А., Савичева А.М. Вирусы папилломы человека и их роль в образовании опухолей. — Н. Новгород: Издательство НГМА, 1999. — 15 с.
2. Богатырева И.И. Клиника, диагностика и комбинированный метод лечения ПВИ человека на слизистых оболочках урогенитального тракта // Вестник дерматологии и венерологии. — 1997. — № 3. — С. 70–72.
3. 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 // Вопросы онкологии. — 1999. — Т. 45. — № 6. — С. 623–627.
5. Киселев Ф. Молекулярные механизмы РШМ. // Врач. — 1997. — № 8. — С. 32–33.
6. Минкина Г.Н., Царькова М.А. Папилломавирусная инфекция в структуре фоновых заболеваний шейки матки // Журнал акуш. и женских болезней. Спец. выпуск. — 1998. — С. 55.
7. Молекулярная клиническая диагностика. Методы: Пер. с англ. / Под ред. С. Херрингтона, Дж. Макги. — М.: Мир, 1999. — 1045 с.
8. Папилломавирусная инфекция гениталий у женщин / С.И. Роговская, В.Н. Прилепская, Е.А. Межевитинова, М.Н. Костова. // Вестн. дерм. и венерол. — 1998. — № 6. — С. 48–51.

9. Полимеразная цепная реакция (ПЦР): возможности и перспективы использования для диагностики заболеваний на генетическом уровне. / В.С. Камышников, Н.Д. Коломиец, И.Ю. Румянцев и др. // Международные обзоры по медицинским технологиям и лечебной практике. — 1997. — № 2. — С. 25—30.
10. Прилепская В.Н. Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы. — М.: МЕДпресс, 1999. — 427 с.
11. Современные подходы к лабораторной диагностике заболеваний, передающихся половым путём / В.Ф. Ерёмин, Л.Г. Барабанов, Е.Л. Гасич, И.Г. и др. // Мед. новости. — 2001. — № 4. — С. 3—11.
12. Baer H., Allen S., Braun L. Knowledge of human papillomavirus infection among young adult men and women: implications for healths education and research // J. Community Health. — 2000. — 25, № 1. — P. 67—78.
13. Hillemans P., Kimmig R., Huttemann U. Screening for cervical neoplasia by self-assessment for human papillomavirus DNA // J. Lancet. — 1999. — 354, № 9194. — P. 1970.
14. Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study. M.A. Nobbenhuis, J.M. Walboomers, T.J. Helmerhorst et al. // Lancet. — 1999. — 354, № 9172. — P.20—25.
15. Shinji S., Jun-ichi M., Kiyoshi I. Prognostic features of cervical dysplasia associated with specific types HPV DNA and cytologic features characteristic of HPV infection in dysplasia // Acta cytol. — 1998. — 42, № 6. — P. 1377—1381.

Поступила 25.03.2005

## УДК 618.15-006.52-07 СОЧЕТАНИЕ СУБКЛИНИЧЕСКИХ ФОРМ ГЕНИТАЛЬНОЙ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ ДИСПЛАЗИЕЙ ШЕЙКИ МАТКИ

В.Н. Беляковский

Гомельский государственный медицинский университет

Проведен анализ гистологических исследований и кольпоскопических проявлений у 400 больных с дисплазией I—III степени и преинвазивным раком шейки матки. У молодых женщин чаще встречаются сочетанные проявления папилломавирусной инфекции в виде дисплазии в нижних и койлоцитоза в верхних слоях эпителия. С возрастом чаще диагностируются изолированные проявления. Различный диапазон частоты рецидивов дисплазии шейки матки после применения инвазивных методов лечения можно объяснить возрастом женщин, вошедших в группу исследования. Чем моложе женщины с проявлениями папилломавирусной инфекции, тем больше риск развития рецидива в связи с сочетанием субклинических форм: дисплазии, койлоцитоза и акантоза с дискератозом.

Ключевые слова: папилломавирусная инфекция, дисплазия I—III степени, койлоцитоз

## COMBINATION OF SUBCLINICAL FORMS OF GENITAL PAPILLOMAVIRAL INFECTION IN PATIENTS WITH DYSPLASIA OF CERVIX

V.N. Belyakovsky

Gomel State Medical University

The analysis of histological examinations and colposcopic signs in 400 patients with I—III stage dysplasia and preinvasive carcinoma cervix has been conducted. In young women the appearance of combined papillomaviral infection in the form of dysplasia in lower and koilocytosis in upper layers of epithelium is more frequently observed. With age, isolated signs are more frequently diagnosed. Various range of recurrence rate of dysplasia of cervix after surgical invasion is explicable by the age of the women who formed the surveyed group. The younger are the women with PVI signs, the higher is the risk of the recurrence development due to combination of subclinical forms: dysplasia, koilocytosis and acanthosis with dyskeratosis.

Key words: I—III stage dysplasia, papillomaviral infection, koilocytosis.