



Е.П. Шевченко

Национальный медицинский университет
имени А.А. Богомольца, Киев

Характеристика генотипов вируса папилломы человека при смешанных урогенитальных инфекциях у женщин

Ключевые слова

Вирус папилломы человека (ВПЧ), высокоонкогенные типы, смешанные урогенитальные инфекции, условно-патогенные и патогенные микроорганизмы.

В последнее десятилетие прослеживается тенденция возрастания значения некоторых вирусных агентов, в частности вируса папилломы человека (ВПЧ), вируса простого герпеса, цитомегаловируса, в этиологии возникновения урогенитальных инфекций. В многочисленных публикациях акцентируется также внимание на повышении уровня микст-инфекционного поражения слизистых оболочек мочеполового канала этими вирусами в сочетании с рядом патогенных бактерий, а также на особенностях взаимосвязей инфекционных агентов [1, 2].

На современном этапе папилломавирусная инфекция из урогенитальных инфекций занимает одно из ведущих мест по распространенности, особенно среди сексуально активной возрастной категории населения [9].

Вирус папилломы человека имеет тропизм к эпителиальным клеткам и способен к воспроизведению исключительно в ядрах клеток хозяина. Клинические проявления папилломавирусной инфекции (ПВИ) мочеполовых органов очень variabelны. В настоящее время выделяют остроконечные кондиломы, папиллярные разновидности кондилом (с выраженным экзофитным ростом), а также плоские и инвертированные (внутриэпителиальные) кондиломы с эндофитным псевдоинвазивным ростом. Идентифицировано более 100 типов ВПЧ, из которых четверть поражает женскую половую систему. Типы ВПЧ, поражающие аногенитальную область, разделяют по степени онкогенного риска (высокая,

средняя и низкая). ВПЧ типов 6, 11, 36, 42, 43, 44, 46, 47, 50 могут вызывать незначительные или пограничные изменения ядер клеток, тогда как ВПЧ типов 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 58, 59, 66 являются основным этиологическим фактором предраковых и раковых поражений шейки матки [7].

В эпидемиологических исследованиях папилломавирусной инфекции было убедительно показано социальную значимость и опасность поражения ВПЧ ано- и урогенитальной сферы, а также недостаточность клинико-лабораторной базы диагностических исследований при этой инфекции.

Вирионы ВПЧ не имеют оболочки, диаметр их равен 50–55 нм. Геном представлен двуспиральной кольцевидно скрученной ДНК. В процессе репликационного цикла экспрессируется от 8 до 10 белковых продуктов. Наиболее важным с точки зрения онкопотенциала вируса папилломы человека являются ранние белки E6, E7.

Папилломавирусная инфекция протекает в два этапа (стадии): репродуктивного размножения и интегративной инфекции, при которой ДНК вируса встраивается в геном зараженных клеток. Если первая стадия обратима и чаще всего завершается спонтанной ремиссией, то вторая в большинстве случаев заканчивается развитием опухоли [10]. Установлено, что интеграция ДНК ВПЧ в геном эпителиальных клеток слизистой оболочки и кожи сопровождается активным синтезом онкобелков вируса — E6 и E7, то есть их

обнаружение в цервикальных пробах однозначно свидетельствует о начале процесса малигнизации эпителиоцитов, содержащих интегрированную копию генома ВПЧ. Мишенью для ВПЧ являются клетки базального слоя плоского эпителия, которые становятся доступными для внедрения вируса при микротравмах слизистой оболочки, преимущественно в зоне трансформации. Репликация и развитие вируса продолжается по мере созревания эпителиальных клеток и продвижения их к поверхности эпителиального пласта.

Поражения могут протекать латентно, встречается также бессимптомное носительство. При бессимптомной форме инфекции происходит только репликация вируса в клетки. Несмотря на то, что вирус проходит полный инфекционный цикл с возможностью заражения другого человека при половом контакте, морфологические изменения в гистологических и цитологических препаратах практически не отмечаются. Чаще при такой транзитной форме инфекции вирус исчезает в течение нескольких месяцев, возможно, вследствие высокого иммунного ответа. Результатом трансформирующего действия ВПЧ могут быть внутриэпителиальные поражения (дисплазия, внутриэпителиальный рак) и инвазивный рак.

Считается, что формирование в шейке матки непрерывного патологического процесса «цервикальной интраэпителиальной неоплазии» (CIN) происходит путем смены фаз: CIN I, CIN II, CIN III [6]. На первой стадии неоплазии (CIN I) наблюдается активная репликация вируса и его бессимптомное выделение. Превращение в инвазивный рак происходит с очень высокой частотой и, как правило, сопровождается интеграцией вирусной ДНК в геном клетки хозяина. Однако даже в интегрированной форме вирусный геном может быть функционально неактивным и активироваться под влиянием ряда экзогенных факторов, в том числе с урогенитальными инфекциями. Наиболее существенным является сочетание с бактериальным вагинозом, урогенитальным микоплазмозом, хламидиозом, цитомегаловирусной и герпетической инфекциями. Микстинфекция также влияет на клиническое течение заболевания и требует дифференцируемой терапии [3].

Без лечения ВПЧ может спонтанно инволютировать (в 90 % случаев), длительно персистировать или увеличиваться в размере и количестве, трансформируясь в рак (10 %). Рак *insiti* без лечения переходит в инвазивный рак в 36 % случаях за 3,8–5,7 года [10].

Прогноз папилломавирусной инфекции зависит от типа обуславливающих их ВПЧ, сопутст-

вующих заболеваний, включая инфекции, передаваемые половым путем (ИППП). Современные эпидемиологические данные указывают на то, что наличие, по меньшей мере, одной, а, возможно, и нескольких ИППП ускоряет развитие цервикальной дисплазии и является фактором риска инвазивного цервикального рака. Если ВПЧ-16 обычно приводит к развитию плоскоклеточного рака, то ВПЧ-18 вызывает аденокарциному шейки матки — форму рака с очень неблагоприятным прогнозом. Неблагоприятным прогностическим фактором является и молодой возраст пациенток [5].

В настоящее время наиболее эффективной методологией, позволяющей детектировать и типировать вирус папилломы человека, является полимеразная цепная реакция (ПЦР) [1]. Созданные в России тест-системы «АмплиСенс ВПЧ ВКР Скрин» и «АмплиСенс ВПЧ ВКР Генотип» обеспечивают диагностику с чувствительностью 87,6 и 86,5 % соответственно [4].

Цель работы — определить частоту выявляемости генотипов ВПЧ высокого риска онкогенности и процентное соотношение его выявляемости в сочетании с другими патогенными и условно-патогенными микроорганизмами у женщин репродуктивного возраста при различной урогенитальной патологии.

Материалы и методы

В отделе ДНК-технологий клинической лаборатории Александровской клинической больницы г. Киева в период 2009–2011 гг. было обследовано 1888 пациенток фертильного возраста от 17 до 46 лет (средний возраст составлял 28 лет) на наличие ДНК ВПЧ высокого риска онкогенности типов 16, 31, 33, 35, 18, 39, 45, 59, 52, 56, 58, 66 в отделяемом из мочевого канала. Для исследования использован набор реагентов «АмплиСенс» ВПЧ ВКР Генотип — ЕРн» производства ЦНИИ эпидемиологии (Москва). Амплификацию проводили с помощью термоциклера «Терцик» фирмы «ДНК — технология» (Россия) и амплификатора Corbett Research (Австрия). Наличие ДНК *S. trachomatis*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *M. genitalium*, CMV, HSV, *G. vaginalis*, *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis* определяли с наборами производства ЦНИИ эпидемиологии (Москва). Детекцию продуктов амплификации на наличие папилломавирусов и трихомонад проводили в агарозном геле с последующей визуализацией при помощи гель-документирующей системы DNA-analyzez. Остальные инфекционные агенты определяли с помощью детектора АЛА 1/4 с флюоресцирующим сигналом по конечной точке.

Результаты и обсуждение

Исследования позволили выявить ДНК папилломавируса у 820 (43,4 %) из 1888 обследованных женщин. ПЦР-анализ с типированием ВПЧ показал, что у пациенток в разном проценте случаев выявлялись 12 генотипов (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 58, 59, 66). Исследования позволили также проследить распространенность ПВИ с последующим генотипированием. Самыми распространенными типами ВПЧ высокой степени онкогенности были 56-й (29,5 %) и 16-й (25,5 %), а тип 18 был выявлен у 13,9 % обследованных пациенток. Генотипы 33, 39, 45, 58, 59 зарегистрированы в единичных случаях, в частности от 0,2 до 0,9 %, а генотипы 31, 35, 52, 66 занимали промежуточное место (от 1,9 до 3,0) (таблица).

Анализ результатов ДНК-исследования ВПЧ высокого риска онкогенности свидетельствовал, что некоторые пациентки были заражены не одним типом папилломавируса, а двумя или даже несколькими. Так, из 820 обследованных инфицированных ВПЧ пациенток у 650 (60,8 %) выявлен один тип папилломавируса высокого риска онкогенности. В 141 (13,2 %) случае обнаружены два генотипа ДНК ВПЧ в различных комбинациях. Три генотипа ДНК ВПЧ установлены у 26 (2,4 %) обследованных, а четыре — у 3 (0,2 %) женщин (рис. 1).

У обследованных женщин отмечены различные сочетания некоторых генотипов ВПЧ высокого риска онкогенности, однако определенные комбинации встречались достаточно часто. Так, из обнаруженных в одном организме двух высокоонкогенных типов ВПЧ в 48 случаях установлены генотипы 16 и 56; в 36 случаях — генотипы 18 и 56; в 25 случаях — генотипы 16 и 18; в 7 случаях — генотипы 16 и 35. Кроме того, в 15 случаях зарегистрирована комбинация трех высокоонкогенных генотипов ВПЧ, в частности 16, 18 и 56.

Учитывая, что папилломавирусная инфекция в сочетании с другими ИППП может ускорять развитие инвазивного цервикального рака, пациентки с ВПЧ были также обследованы на наличие других патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Из 820 женщин с ВПЧ высокого онкогенного типа исследования на смешанные урогенитальные инфекции прошли 607. У 74 (12,2 %) пациенток сопутствующие урогенитальные инфекции не выявлены, у остальных 533 (87,8 %) — ВПЧ сочетался с другими патогенными и условно-патогенными микроорганизмами. В частности, отмечались значительные ассоциации с условно-патогенными микроорганизмами: *U. urealyticum* — 206 случаев (38,6 %), *G. vaginalis* — 148 (27,7 %), *M. hominis* — 114 (18,8 %). Реже микст-инфекции выявлялись с другими вирус-

Таблица. Распределение выявленных генотипов ВПЧ у обследованных женщин

Тип ВПЧ высокого риска онкогенности	Абсолютное количество положительных результатов	Процент встречаемости (по мере убывания)
56	242	29,5
16	185	25,5
18	144	13,9
35	25	3,0
31	24	2,9
66	22	2,6
52	16	1,9
45	8	0,9
59	5	0,6
33	4	0,4
35	3	0,3
58	3	0,3

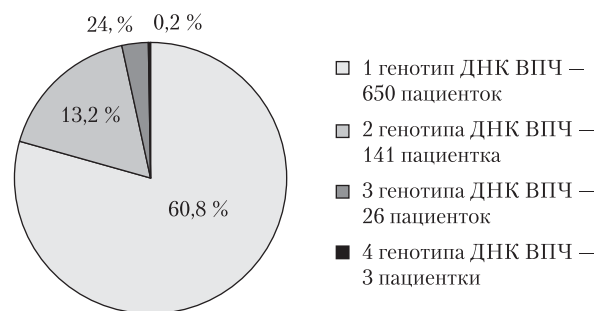


Рис. 1. Генотипы ДНК ВПЧ, установленные у 820 обследованных женщин

ными инфекциями: первым и вторым типами вируса простого герпеса (HSV) — 14 (2,3 %) пациенток, цитомегаловирусом (CMV) — 16 (3,0 %). Сочетанность с абсолютными патогенами распределилась следующим образом: *C. trachomatis* — 37 (6,9 %) женщин, *T. vaginalis* — у 52 (9,7 %), *M. genitalium* — у 15 (2,8 %). У двух пациенток выявлена ассоциация ВПЧ с гонорейной инфекцией (0,3 %) (рис. 2).

Выводы

У 820 (43,4 %) из 1888 женщин молодого репродуктивного возраста при обследовании методом ПЦР-анализа установлена ДНК ВПЧ.

Среди высокоонкогенных типов ВПЧ, выделенных из клеток мочевого канала обследованных, самыми распространенными были гено-

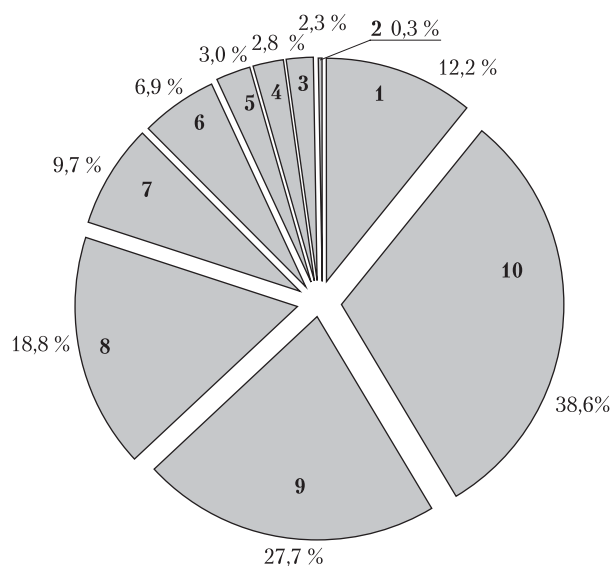


Рис. 2. **Діагностовані асоціації ВПЧ з іншими патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами**

1 — HPV; 2 — HPV, N. gon.; 3 — HPV, HSV; 4 — HPV, M. gen.; 5 — HPV, CMV; 6 — HPV, Ch. tr.; 7 — HPV, T. vag.; 8 — HPV, M. hom.; 9 — HPV, G. vag.; 10 — HPV, Ur. ur.

типи 56 (29,5 %), 16 (25,5 %) і 18 (13,9 %). Генотипи 33, 39, 45, 58, 59 встановлені в єдиничних

случаях (от 0,2 до 0,9 %), генотипи 31, 35, 52, 66 займали проміжне місце (от 1,9 до 3,0 %).

Інфікування одним типом ВПЧ високого ризику онкогенності відмічено у 650 (60,8 %) із 820 обстежених, двома типами ВПЧ — у 142 (13,2 %), трьома типами ВПЧ — у 26 (2,4 %).

Папіломавірус частіше за все поєднувався з іншими уrogenітальними інфекціями. Без асоціацій виділена ДНК ВПЧ у 74 пацієнтів (12,2 %). Серед асоційованих з папіломавірусом умовно-патогенних мікроорганізмів виділялися наступні: *U. urealyticum* — 38,6 %, *G. vaginalis* — 27,7 %, *M. hominis* — 18,8 %. Рідше микст-інфекції асоціювалися з вірусами герпесу: CMV — 3,0 %, HSV — 2,3 %, а також абсолютними патогенами: *C. trachomatis* — 6,9 %, *T. vaginalis* — 9,7 %, *M. genitalium* — 2,8 %. В двох клінічних випадках виявлено поєднання ВПЧ з гонорейною інфекцією — 0,3 %.

Аналіз результатів досліджень вказує на доцільність проведення при ППЧ комплексного клініко-лабораторного обстеження на наявність інших уrogenітальних інфекцій, що дозволяє проводити диференційовану терапію.

Список літератури

1. Дмитриев Г.А., Глазко И.И. Диагностика инфекций, передаваемых половым путем.— М.: БИНОМ, 2007.— С. 255—265.
2. Инфекции, передаваемые половым путем. Клиника, диагностика, лечение / Под ред. В.А. Молочкова, О.И. Иванова, В.В.Чеботарева.— М.: Медицина, 2006.— С. 496—515.
3. Кисина В.И., Новикова Н.Г., Михалко О.Е. и др. Роль бактериальных и вирусных агентов в патогенезе фоновых и диспластических процессов слизистой оболочки шейки матки и влагалища // Вестн. дерматол.— 2002.— № 2.— С. 40—45.
4. Кувяда Д.А., Шишулина О.Ю. Разработка и апробация тест-систем для генотипирования вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска на основе мультипраймерной ПЦР в реальном времени (ПЦР РВ) // Сб. трудов 5-й Всерос. науч.-практ. конференции «Генодиагностика инфекционных болезней».— М., 2004.
5. Мазуренко Н.Н. Роль вирусов папилломы в канцерогенезе шейки матки // Совр. онкология.— 2003.— № 1.— С. 7—10.
6. Молочков В.А., Семенова Т.Б., Киселев В.И., Молочков А.В. Генитальные вирусные инфекции.— М.: БИНОМ, 2009.— С. 108—172.
7. Титмуш Э., Адамс К. Шейка матки. Цитологический атлас / Пер. с англ.; под ред. Н.И. Кондрикова.— М.: Практическая медицина, 2009.— С. 107—112.
8. Шабалова И.П., Касоян К.Т. Цитологическая диагностика заболеваний шейки и тела матки. 3-е издание. Исправленное и дополненное.— М., Тверь: Триада, 2010.— С. 108—123.
9. Baner H., Ting Y., Creer C. Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by PCR — based method // JAMA.— 1999.— Vol. 265.— P. 472—477.
10. Rubin S.C., Hoskin N.J. et. al. Cervical cancer and preinvasive neoplasia.— Philadelphia: Lippincott—Raven Publishers, 1996.— 482 p.

О.П. Шевченко

Характеристика генотипів вірусу папіломи людини при змішаних уrogenітальних інфекціях у жінок

Представлено результати дослідження з виявлення ДНК високоонкогенних типів вірусу папіломи людини в жінок репродуктивного віку, поширеність генотипів та поєднання їх з іншими патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами.

Методом ПЛР з 1888 жінок репродуктивного віку у 820 (43,4 %) виявлено ДНК ВПЛ. Серед високо-онкогенних типів ВПЛ найпоширенішими були типи 56 (29,5 %), 16 (25,5 %) і 18 (13,9 %). Генотипи 33, 39, 45, 58, 59 встановлено в поодиноких випадках (від 0,2 до 0,9 %), генотипи 31, 35, 52, 66 посіли проміжне місце (від 1,9 до 3,0 %).

Найчастіше папіломавірус поєднувався з умовно-патогенними мікроорганізмами: *U. urealyticum* — 38,6 %, *G. vaginalis* — 27,7 %, *M. hominis* — 18,8 %. Рідше мікст-інфекції спостерігалися з вірусами герпесу: CMV — 3,0 %, HSV — 2,3 %, а також абсолютними патогенами: *C. trachomatis* — 6,9 %, *T. vaginalis* — 9,7 %, *M. genitalium* — 2,8 %. У двох клінічних випадках встановлено поєднання ПВЛ з гонорейною інфекцією — 0,3 %.

Доведено доцільність проведення при ПВЛ клініко-лабораторних досліджень на наявність інших уrogenітальних інфекцій, що дасть змогу проводити диференційовану терапію.

E.P. Shevchenko

Characterization of genotypes of human papilloma virus with mixed urogenital infections in women

The article presents the results of the study to detect DNA of oncogenic types of human papilloma virus in women of reproductive age. Prevalence of genotypes and their combination with other pathogens and conditionally pathogenic microorganisms.

DNA of HPV was detected by PCR method in 820 (43.4 %) out of 1888 women of reproductive age. Among the highly oncogenic HPV types the most common were types 56 (29.5 %), 16 (25.5 %) and 18 (13.9 %). Genotypes 33, 39, 45, 58, 59 were found in rare cases (0.2 to 0.9 %), genotypes 31, 35, 52, 66 took an intermediate position (from 1.9 to 3.0 %).

Often papillomavirus was combined with conditional pathogens: *U. urealyticum* — in 38.6 %, *G. vaginalis* — in 27.7 %, *M. hominis* — in 18.8 %. Less often mixed infections were observed with herpes viruses: CMV — 3.0 %, HSV — 2.3 %, and absolute pathogens: *C. trachomatis* — 6.9 %, *T. vaginalis* — 9.7 %, *M. genitalium* — 2.8 %. In two clinical cases (0.3 %) PVM with gonorrhea infection has been diagnosed.

The feasibility is proved of conducting clinical and laboratory researches of all patients with HPV for the presence of other urogenital infections, which will enable to carry out differential therapy.