

в организме, преимущественным поражением лиц молодого возраста, многообразием клинических форм, отсутствием высокоэффективного специфического лечения. Возбудитель ПВИ — вирус папилломы человека (ВПЧ) — вызывает большой интерес у специалистов, так как его роль в патогенезе цервикальных неоплазий и рака шейки матки является доказанной и общепризнанной [5, 6, 16]. По данным ВОЗ, ежегодно в мире диагностируется около 2,5–3 миллионов случаев ПВИ. В последнее десятилетие число инфицированных папилломавирусами возросло более чем в десять раз [1, 4, 18].

ПВИ может иметь как бессимптомное, так и клинически выраженное течение в виде доброкачественных и злокачественных образований кожи и слизистых, включая рак шейки матки. Факторами, способствующими переходу латентной инфекции в манифестную, являются иммуногормональные дисфункции, длительное применение гормональных препаратов, сопутствующие инфекции урогенитального тракта, курение, иммунодефицитные состояния [5, 8, 9].

Многочисленные работы зарубежных и отечественных исследователей свидетельствуют о высоком уровне инфицированности ВПЧ женщин с инфекционно-воспалительными процессами репродуктивной сферы и заболеваниями шейки матки [2, 7, 12].

Лабораторная диагностика ПВИ основана на использовании молекулярно-генетических методов, таких как гибридизация, амплификация, секвенирование.

Современные отечественные ПЦР-тест-системы характеризуются высокой диагностической и аналитической специфичностью и чувствительностью, позволяют не только выявить вирус папилломы человека в исследуемом материале, но и определить концентрацию вируса, а также установить его генотип [3, 10].

Генотипирование основных клинически значимых генотипов ВПЧ, ответственных за 95 % случаев тяжелых цервикальных дисплазий и рака шейки матки, имеет важное научное и практическое значение, поскольку позволяет установить региональные отличия по частоте встречаемости различных генотипов ВПЧ, является неотъемлемой частью эпидемиологического надзора за ПВИ. Инфицированные ВПЧ женщины имеют в 300 раз более высокий риск развития рака [13, 14, 17].

Несмотря на большую эпидемиологическую и медицинскую значимость, пристальный интерес специалистов разных профилей, проблема папилломавирусной инфекции далека от окончательного решения.

Целью работы являлась оценка частоты встречаемости вируса папилломы человека, ассоциированного с онкопатологией шейки матки, у женщин Нижнего Новгорода.

Материалы и методы. Обследовано 630 женщин с дисплазией эпителия шейки матки различной степени выраженности и 107 пациенток Нижегородского областного клинического онкологического диспансера (ГБУЗ НО «НОКОД») с первично выявленным раком шейки матки, не проходивших лечение. Средний возраст обследуемых женщин составил 39,5 лет. Все пациентки онкодиспансера были обследованы цитологически. У 30 женщин цитологически была определена

цервикальная интраэпителиальная неоплазия I степени (CIN I), у 40 женщин — CIN II, у 27 — CIN III, у 10 — инвазивный рак шейки матки. Группу сравнения составили клинически здоровые женщины (625), обратившиеся в женские консультации с профилактической целью, не имеющие жалоб на момент обращения.

В работе исследовались образцы соскобов эпителия слизистых цервикального канала и/или зоны трансформации, отобранные с помощью одноразовых цервикальных щеток в транспортную среду «Ампли-Сенс». Выделение ДНК из клинического материала проводили с использованием реагентов «ДНК-сорб-АМ». Детекцию и дифференциацию 14 генотипов папилломавирусов высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) проводили методом ПЦР с использованием тест-систем «АмплиСенс ВПЧ ВКР генотип-FRT» в формате «мультиплекс» и с визуализацией результатов ПЦР в режиме реального времени. Анализ результатов осуществлялся с помощью программы «AmplifySens FRT HR HPV Screen Quant Results Matrix.xls». Концентрация ДНК ВПЧ выражалась в Ig (количество копий ДНК ВПЧ на 10^5 клеток) и интерпретировалась следующим образом: малозначимая — менее 3 Ig; клинически значимая — от 3 до 5 Ig; повышенная вирусная нагрузка — более 5 Ig.

Детекцию возбудителей урогенитальных инфекций (*Ureaplasma urealyticum/parvum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Chlamydia trachomatis*) и герпесвирусов (*Cytomegalovirus*, *Herpes simplex I/II*, *Epstein — Barr virus*, *Herpes human virus 6*) осуществляли с использованием коммерческих тест-систем «Ампли-Сенс».

Результаты и обсуждение. Показано, что ВПЧ-тесты производства ЦНИИЭ Роспотребнадзора, направленные на обнаружение 14 генотипов, целесообразно использовать в диагностических алгоритмах, так как они соответствуют предъявляемым требованиям и являются валидированными, обладают высокой специфичностью и чувствительностью и позволяют установить предраковые состояния в 95 % случаев. Определение количественного содержания различных генотипов ВПЧ ВКР дает возможность интерпретировать лабораторные данные дифференцированно. Учитывая показатель вирусной нагрузки Ig (количество копий ДНК вируса в 10^5 клеток), можно прогнозировать течение ПВИ (развитие дисплазии или высокий риск ее прогрессирования, наличие транзитной инфекции) и оценивать эффективность терапии.

Уровень общей инфицированности женщин высокоонкогенными папилломавирусами составил 41,8 %. Спектр ВПЧ ВКР был представлен 14 генотипами: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 (рис. 1).

Среди генотипов доминирующими являлись 16 (39,2 %), 18 (15,5 %), 33 (16,6 %), 56 (11,9 %). Частота обнаружения других генотипов варьировала от 0,6 % (68 генотип) до 6,7 % (39 генотип). Полученные результаты согласуются с данными отечественных и зарубежных исследователей [1, 2, 4].

Выявлено широкое распространение ВПЧ ВКР у женщин с интраэпителиальными неоплазиями шейки матки (58,1 %) и в группе

женщин с раком шейки матки (90 %). Частота обнаружения ДНК ВПЧ ВКР при цервикальной интраэпителиальной неоплазии I степени (CIN I) составила 36,7 %, при CIN II и CIN III — 52,5 % и 70,4 % соответственно, при инвазивном раке шейки матки — 90,0 %. Следует отметить, что спектр генотипов у женщин с неоплазиями разной степени отличался. У женщин с CIN II, CIN III наиболее часто выявлялись «вакцинные» генотипы ВПЧ ВКР (16, 18), играющие ведущую роль при развитии рака шейки матки. У женщин с инвазивным раком шейки матки также доминировали 16 и 18 генотипы.

В структуре общей инфицированности женщин ВПЧ ВКР преобладает моноинфицирование (69 %). Доля смешанного инфицирования, вызванного вирусами двух генотипов, составила

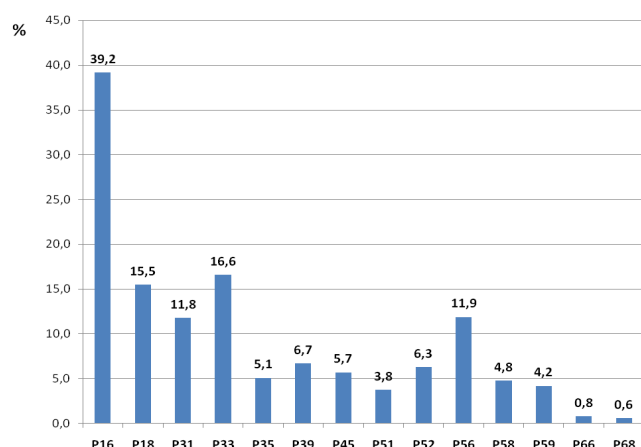


Рис. 1. Частота выявления различных генотипов ВПЧ высокого канцерогенного риска у женщин Нижнего Новгорода

Fig. 1. Detection rates of various high-risk HPV genotypes in the women of Nizhny Novgorod

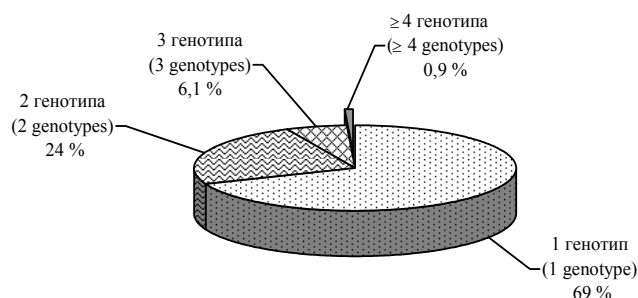


Рис. 2. Структура общей инфицированности женщин ВПЧ ВКР

Fig. 2. Distribution of the infected women by the number of detected high-risk human papillomavirus genotypes

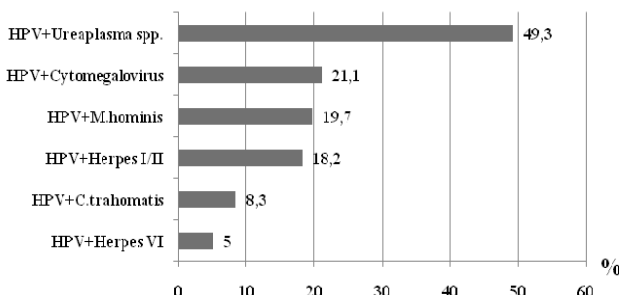


Рис. 3. Коморбидность ВПЧ-инфекции

Fig. 3. Comorbidity of the HPV infection

24 %, трех генотипов — 6,1 %, четырех генотипов — 0,9 % (рис. 2). Отмечены единичные случаи одновременного выявления пяти и восьми генотипов. Наиболее распространенными вариантами смешанного инфицирования ВПЧ ВКР были следующие: 16 и 31 (21,5 %), 16 и 33 (12,2 %), 31 и 45 (6,6 %), 16, 35, 45 (6,6 %). Следует отметить, что инфекция, обусловленная тремя и более генотипами ВПЧ ВКР, как правило, имела место у женщин моложе 25 лет. Инфицирование несколькими генотипами ВПЧ ВКР ассоциировано с повышенным риском развития рака шейки матки [7, 11, 15].

Анализ вирусной нагрузки у ВПЧ-положительных лиц показал, что в группе здоровых женщин ВПЧ ВКР в клинически значимых концентрациях 3,6 lg (копий ДНК вируса в 10^5 клеток и более) выявлялись в 21 %, в группе с воспалительными заболеваниями шейки матки — в 28,2 % случаев, в группе с диспластическими изменениями шейки матки (цервикальными интраэпителиальными неоплазиями CIN 2, CIN 3) — в 58,4 %, у пациентов с инвазивным раком — в 95,8 %.

Известно, что инфекции, передающиеся половым путем (ИППП), являются кофактором инфицирования ВПЧ ВКР, приводят к снижению местного иммунитета, способствуя персистенции ВПЧ и реализации его канцерогенного эффекта. В связи с этим была определена коморбидность ПВИ с различными возбудителями негенококковых урогенитальных инфекций и герпесвирусами у женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией. Наиболее часто инфицирование женщин ВПЧ ВКР сочеталось с инфицированием *Ureaplasma spp.* — 49,3 %, *Mycoplasma hominis* 20,1 %, *Cytomegalovirus* (21,1 %), *Herpes simplex I/II* — у 18,2 %. Ассоциации ВПЧ ВКР с *Chlamydia trachomatis* обнаружены у 8,3 %, с *Herpes 6* — у 5 % женщин (рис. 3).

Материалы, полученные в ходе научного исследования, подтверждают широкую распространенность высокоонкогенных ВПЧ 16 и 18 генотипов, что свидетельствует о целесообразности применения для специфической профилактики ПВИ зарегистрированных в России вакцин «Церварикс» и «Гардасил», содержащих антигены данных типов вируса.

Заключение. Таким образом, выявлено широкое распространение ВПЧ ВКР среди женщин Нижнего Новгорода, что свидетельствует о целесообразности скрининговых исследований при профилактических осмотрах на ВПЧ ВКР методом ПЦР. Полученные данные о высокой частоте выявления у ВПЧ-положительных пациенток герпесвирусов и возбудителей ИППП указывают на необходимость контроля пациенток с клиническими проявлениями генитального герпеса и урогенитальных инфекций, ассоциированных с микоплазмами, уреаплазмами и хламидиями. Таких женщин следует отнести к группе высокого риска развития дисплазий шейки матки, требующей динамического кольпоскопического, цитологического и гистологического (при необходимости) контроля.

Своевременное обнаружение папилломавирусов, вызывающих дисплазии различной степени тяжести, и проведение специфической противовирусной терапии позволит повысить

эффективности профилактики рака шейки матки и других онкозаболеваний, ассоциированных с ВПЧ ВКР. Внедрение вакцинации против папилломавирусной инфекции должно базироваться на результатах организованной системы скрининга, изучении региональных особенностей распространения инфекции. Установление региональных особенностей инфицированности населения, оценка географических вариаций частоты выявления определенных генотипов ВПЧ необходимы для прогнозирования заболеваемости ПВИ и организации мероприятий по ее профилактике.

Список литературы (пп. 3, 6, 16, 18 см. References)

1. Лялина Л.В. Инфекции и рак: перспективы развития единой системы эпидемиологического надзора и профилактики // Папилломавирусная инфекция и злокачественные новообразования. Интегрированная система надзора и профилактики. Материалы международного симпозиума. СПб.: Изд-во НИИЭМ им. Пастера, 2009. С. 7–11.
2. Макарова Н.Н., Уразова Л.Н., Писарева Л.Ф., и др. Распространенность ВПЧ-инфекции у больных раком и дисплазией шейки матки в Якутии // Якутский медицинский журнал. 2014. № 2 (46). С. 93–95.
4. Александрова Ю.Н., Лышев А.А., Сафронникова Н.Р. Папилломавирусная инфекция у здоровых женщин Санкт-Петербурга // Вопросы онкологии. 2000. Т. 46, № 2. С. 175–179.
5. Лопухов П.Д., Брико Н.И., Халдин А.А. Папилломавирусная инфекция: основные характеристики, клинические проявления, вакцинопрофилактика // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2016. № 1. С. 71–78.
7. Нарвская О.В. Вирус папилломы человека. Эпидемиология, лабораторная диагностика и профилактика папилломавирусной инфекции // Инфекция и иммунитет. 2011. Т. 1. № 1. С. 15–22.
8. Роговская С.И., Полонская Н.Ю., Гайлярова А.Ж. и др. Вторичная профилактика рака шейки матки // Микробиологические проблемы жизнедеятельности. 2016. № 1 (15). С. 70–76.
9. Андосова Л.Д., Качалина О.В., Куделькина С.Ю. и др. Генодиагностика папилломавирусной инфекции у женщин с различной патологией репродуктивной сферы // Медицинский альманах. 2012. № 2 (20). С. 71–73.
10. Морозова С.Е., Каменева О.А., Косякова К.Г. и др. Распространенность ВПЧ-инфекции высокого онкогенного риска среди женщин репродуктивного возраста Санкт-Петербурга. В сб.: трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017»; 18–20 апреля 2017. Москва, 2017. С. 106–107.
11. Чирский В.С., Ершов В.А., Вязовая А.А., и др. Цервикальная неоплазия и вирусная нагрузка ВПЧ 16 генотипа // Инфекция и иммунитет. 2014. Т. 4, № 2. С. 192–196.
12. Куведва Д.А., Шипулина О.Ю. Генодиагностика генитальной папилломавирусной инфекции: алгоритмы использования и требования к тестам // Папилломавирусная инфекция и злокачественные новообразования. Интегрированная система надзора и профилактики: материалы международного симпозиума. СПб.: Изд-во НИИЭМ им. Пастера, 2009. 120 с.
13. Уразова Л.Н., Видяева И.Г., Писарева Л.Ф. ДНК-диагностика вируса папилломы высокого онкогенного риска у жителей региона Сибири и Дальнего Востока. В сб.: VII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика 2010»; 24–26 ноября 2010. Москва, 2010. Т. 3. С. 400–403.
14. Шипулина О.Ю., Лешкина Г.В., Романюк Т.Н., Дмитрикова М.Ю. Современные методы цервикального скрининга и опыт их использования в клинико-диагностической лаборатории. В сб.: IX Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика 2017»; 18–20 апреля 2017. Москва, 2017. Т. 1. С. 123–125.
15. Шипулина О.Ю. Вирус папилломы человека. В сб.: Международная научно-практическая конференция «Молекулярная диагностика 2018»; 27–28 сентября 2018. Минск, Беларусь; 2018. С. 493–499.
17. Фадеев И.Е., Роговская С.И., Полетова Т.Н., Масс Е.Е. Системная профилактика рака шейки матки в России: грядут большие перемены? // Вестник СурГУ. Медицина. 2018. № 3 (37). С. 42–45.

References

1. Lyalina LV. Infections and cancer: Prospects for the development of a unified system of epidemiological surveillance and prevention. In:

Proceedings of the International Symposium “Papillomavirusnaya infekciya i zlokachestvennye novoobrazovaniya. Integrirovannaya sistema nadzora i profilaktiki.” [Papillomavirus infection and malignant neoplasm. The integrated system of surveillance and prevention.] St. Petersburg: NIIEМ im. Pastera Publ. 2009. P. 7–11. (In Russian).

2. HPV infection in patients with cervical cancer and dysplasia in Yakutia. *Yakutskij Medicinskij Zhurnal*. 2014; 46(2):93–5. (In Russian).
3. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev*. 2013; 16(1):1–17. DOI: 10.1128/CMR.16.1.1–17.2003
4. Aleksandrova YuN, Lyshev AA, Safronnikova NR. Human papilloma virus infection in healthy women in St. Petersburg. *Voprosy Onkologii*. 2000; 46(2):175–9. (In Russian).
5. Lopukhov PD, Briko NI, Khaldin AA, et al. Papillomavirus infection: Principle characteristics, clinical manifestations, vaccine prophylaxis. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii*. 2016; (1):71–78. (In Russian). DOI: 10.36233/0372-9311-2016-1-71-78
6. Zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: From basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer*. 2002; 2(5):342–50. DOI: 10.1038/nrc798
7. Narvskaya OV. Virus of human papilloma. Epidemiology, laboratory diagnostics and prevention of papilloma viral infection. *Infekcia i Immunitet*. 2011; 1(1):15–22. (In Russian).
8. Rogovskaya SI, Polonskaya NYU, Gajlyarova AZh, et al. Secondary prevention of cervical cancer. *Mikrobiologicheskoe Problemy Zhiznedeyatel'nosti*. 2016; 15(1):70–76. (In Russian).
9. Andosova LD, Kachalina OV, Kudelkina SYu, et al. Genodiagnostics of papilloviral infection with different pathology of reproductive system. *Medicinskij Almanah*. 2012; 21(2):71–73. (In Russian).
10. Morozova SE, Kameneva OA, Kosyakova KG, et al. Prevalence of HPV infection of high oncogenic risk among women of reproductive age in St. Petersburg. In: *Proceedings of the IX Russian Scientific and Practical Conference with International Participation “Molecular Diagnostics 2017”* 18–20 April 2017. Moscow. 2017; 1:106–107. (In Russian).
11. Chirsky VS, Ershov VA, Vyazovaya AA, et al. Cervical neoplasia and viral load of HPV 16 genotype. *Infekcia i Immunitet*. 2014; 4(2):192–196. (In Russian).
12. Kuevda DA, Shipulina OYu. Genodiagnostics of genital papillomavirus infection: use algorithms and test requirements. In: *Proceedings of the International Symposium “Papillomavirusnaya infekciya i zlokachestvennye novoobrazovaniya. Integrirovannaya sistema nadzora i profilaktiki.”* [Papillomavirus infection and malignant neoplasm. The integrated system of surveillance and prevention.] St. Petersburg: NIIEМ im. Pastera Publ. 2009. P. 59–72. (In Russian).
13. Urazova LN, Vidyayeva IG, Pisareva LF. DNA diagnostics of oncogenic human papillomavirus types among residents of Siberia and the Far East. In: *Proceedings of the VII Russian Scientific and Practical Conference with International Participation “Molecular Diagnostics 2010”* 24–26 November 2010. Moscow; 2010. P. 400–3. (In Russian).
14. Shipulina OYu, Leshkina GV, Romanyuk TN, et al. Modern methods of cervical screening and experience of their use in clinical-diagnostic laboratory. In: *Proceedings of the IX Russian Scientific and Practical Conference with International Participation “Molecular Diagnostics 2017”* 18–20 April 2017. Moscow. 2017; 1:123–5. (In Russian).
15. Shipulina OYu. Human papillomavirus. In: *Proceedings of the International Scientific and Practical Conference “Molecular Diagnostics 2018”* 27–28 September 2018. Minsk, Belarus. 2018. P. 493–9. (In Russian).
16. Broccolo F, Chiari S, Piana A, et al. Prevalence and viral load of oncogenic human papillomavirus types associated with cervical carcinoma in a population of North Italy. *J Med Virol*. 2009; 81(2):278–87. DOI: 10.1002/jmv.21395
17. Fadeev IE, Rogovskaya SI, Poletova TN, et al. The cervical cancer prevention system in Russia: Are great changes coming? *Vestnik SurGU. Medicina*. 2018; 37(3):41–45. (In Russian).
18. Bosch FX, Broker TR, Forman D, et al. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine*. 2013; 31(Suppl 7):H1–31. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.10.003

Контактная информация:

Бруснигина Нина Федоровна, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией метабеномики и молекулярной индикации патогенов ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, кандидат медицинских наук, доцент
e-mail: nfbusnigina@yandex.ru

Corresponding author:

Nina F. Brusnigina, Candidate of Medical Sciences, Lead Researcher, Head of the Laboratory of Metagenomics and Molecular Indication of Pathogens, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology
e-mail: nfbusnigina@yandex.ru