

Ассоциации генитальных инфекций и вируса папилломы человека как конфаундинг-факторы цервикальной интраэпителиальной неоплазии

Т. Е. Белокрыницкая¹, Н. И. Фролова¹, Д. А. Тарбаева¹, Е. Ю. Глотова², А. А. Золотарёва³, Т. В. Мальцева⁴

¹ Читинская государственная медицинская академия

² Забайкальский краевой перинатальный центр, г. Чита

³ Забайкальский краевой консультативно-диагностический центр, г. Чита

⁴ Медицинский центр «Академия Здоровья», г. Чита

Цель исследования: оценить ассоциативную связь между генитальными инфекциями и диспластическими поражениями шейки матки у ВПЧ-положительных и ВПЧ-негативных молодых женщин.

Материалы и методы. У 141 пациентки с ВПЧ высокого риска и 145 ВПЧ-негативных женщин в возрасте 18–35 лет проведены обследование на наличие генитальных и сексуально-трансмиссивных инфекций и исследование цитологических мазков с шейки матки.

Результаты. У ВПЧ-положительных пациенток по сравнению с ВПЧ-негативными более часто выявляли условно-патогенную флору: *Candida albicans* (относительный риск (ОР) = 11,31), *Gardnerella vaginalis* (ОР = 5,14), *Ureaplasma urealyticum* (ОР = 3,60). Общая частота встречаемости патогенных микроорганизмов в группах ВПЧ-положительных и ВПЧ-негативных женщин составила 14,9 и 6,2% соответственно (ОР = 2,40). Наиболее часто с ВПЧ ассоциировались ВПГ-2 (ОР = 6,17), *Chlamydia trachomatis* (ОР = 3,09), цитомегаловирусная инфекция (ОР = 3,09). У пациенток с ВПЧ зафиксирована более высокая распространенность плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки (squamous intraepithelial lesion — SIL): 5,0 против 0,7% в группе сравнения (ОР = 7,20). SIL высокой степени были обнаружены только у ВПЧ-положительных женщин (n = 2; 1,4%). SIL низкой степени чаще диагностировали у инфицированных ВПЧ женщин (3,6 против 0,7% в группе сравнения, ОР = 5,14).

Заключение. Частота колонизации генитального тракта условно-патогенными и патогенными микроорганизмами значительно выше у носительниц высокоонкогенных типов ВПЧ по сравнению с неинфицированными ВПЧ женщинами. Коинфекция ВПЧ 16, 18, 33-го типов, цитомегаловирусом и хламидиями является конфаундинг-фактором развития SIL высокой степени.

Ключевые слова: генитальные инфекции, плоскоклеточные интраэпителиальные поражения шейки матки, высокоонкогенные типы вируса папилломы человека.

Genital Infections Associated with Human Papillomavirus Infection as Confounding Factor in Cervical Intraepithelial Neoplasia

T. E. Belokrinskaya¹, N. I. Frolova¹, D. A. Tarbaeva¹, E. Yu. Glotova², A. A. Zolotaryova³, T. V. Maltseva⁴

¹ Chita State Medical Academy

² Transbaikal Regional Perinatal Center, Chita

³ Transbaikal Regional Consultative and Diagnostic Center, Chita

⁴ Health Academy Medical Center, Chita

Прогрессивное увеличение распространенности заболеваний шейки матки у женщин молодого фертильного возраста — одна из тревожных тенденций современности [3, 5]. В свете сегодняшних представлений важнейшим фактором канцерогенеза шейки матки является инфицирование ВПЧ: ВПЧ различных типов были найдены в 99,7% биоптатов, взятых у больных раком шейки матки по всему миру [2, 3, 5]. Наиболее часто встречаются ВПЧ 16, 18, 31, 33 и 45-го типов: они обнаружены у 80% пациенток

с плоскоклеточным раком и у 94% с аденокарциномой шейки матки [5, 8, 9]. В цервикальном секрете найдены 35 типов ВПЧ, при этом в большинстве стран ВПЧ-16 был выявлен в 50–60% случаев рака шейки матки; ВПЧ-18 — в 10–20%, ВПЧ-45 — в 4–8% и ВПЧ-31 — в 1–5% случаев [6].

Известно, что микробиота влагалища оказывает существенное влияние на женское здоровье и может быть коморбидным фоном развития ряда заболеваний [12]. Бактериальный вагиноз — наиболее распространенный вариант нарушения

Белокрыницкая Татьяна Евгеньевна — д. м. н., профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии педиатрического факультета, факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ГБОУ ВПО ЧГМА Минздрава России. 672007, г. Чита, ул. Горького, д. 39а. E-mail: tanbell24@mail.ru

Глотова Елена Юрьевна — заведующая поликлиническим отделением ГБУЗ ЗабККЦ. 672038, г. Чита, ул. Коханского, д. 16. E-mail: redaktor@rusmg.ru

Золотарёва Антонина Артемьевна — врач акушер-гинеколог ГУЗ ЗабККЦ. 672000, Чита, ул. Коханского, д. 6. E-mail: redaktor@rusmg.ru

Мальцева Татьяна Вениаминовна — врач акушер-гинеколог МЦ «Академия Здоровья». 672038, г. Чита, ул. Коханского, д. 13. E-mail: redaktor@rusmg.ru

Тарбаева Долгорма Александровна — к. м. н., ассистент кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета, факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ГБОУ ВПО ЧГМА Минздрава России. 672007, г. Чита, ул. Горького, д. 39а. E-mail: redaktor@rusmg.ru

Фролова Наталья Ивановна — к. м. н., ассистент кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета, факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ГБОУ ВПО ЧГМА Минздрава России. 672007, г. Чита, ул. Горького, д. 39а. E-mail: redaktor@rusmg.ru

биоценоза влагалища у женщин репродуктивного возраста [3, 14, 18]. Неблагоприятными последствиями бактериально-го вагиноза могут стать цервицит [3] и повышенная восприимчивость к различным патогенным микроорганизмам, таким как *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis* и ВПГ-2 [4, 20].

С другой стороны, генитальные инфекции значительно повышают вероятность трансмиссии ВПЧ и способны привести к плоскоклеточным интраэпителиальным поражениям шейки матки (squamous intraepithelial lesion — SIL) [1–3, 10].

Хорошо известны эпидемиологические факторы, связанные с большей распространенностью ВПЧ-инфекции: молодой возраст женщин, раннее начало половой жизни, большое число половых партнеров, курение [5, 17]. Однако существует также мнение о взаимосвязи между контаминацией ВПЧ и другими генитальными микроорганизмами [15].

Цель исследования: оценить ассоциативную связь между генитальными инфекциями и диспластическими поражениями шейки матки у ВПЧ-позитивных и ВПЧ-негативных молодых женщин.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было одобрено этическим комитетом Читинской государственной медицинской академии (протокол № 64 от 23 июня 2014 г.). В одномоментное исследование были включены две группы сексуально активных женщин в возрасте 18–35 лет: 141 пациентка с ВПЧ высокого риска (*основная группа*) и 145 ВПЧ-негативных женщин (*группа сравнения*). Средний возраст женщин обеих групп был сопоставим и составил в основной группе $30,0 \pm 4,6$ года, в группе сравнения — $31,1 \pm 3,8$ года ($p > 0,05$).

Для достижения цели исследования в вагинальных и цервикальных мазках, окрашенных по Граму, определяли наличие *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*, *Tr. vaginalis*, *N. gonorrhoeae*. Для идентификации возбудителей ИППП в цервикальном секрете применяли метод ПЦР с детекцией продукта амплификации в режиме реального времени. Определяли пять типов ВПЧ высокоонкогенного риска (ВПЧ 16, 18, 31, 33, 45-го типов), *Ureaplasma urealyticum*, *Ch. trachomatis*, наличие цитомегаловирусной инфекции и ВПГ. Образцы, положительные на ВПГ, были представлены для повторной ПЦР в целях выявления ДНК ВПГ-2 (система «Фемофлор Скрин», Москва). Лабораторные исследования проводили в специализированных лабораториях Забайкальского краевого кожно-венерологического диспансера, Забайкальского краевого консультативно-диагностического центра, НИИ молекулярной генетики Читинской государственной медицинской академии. Каждый биологический образец был надлежащим образом маркирован и упакован. Риск перекрестного загрязнения во время транспортировки и хранения до обработки был расценен как низкий.

Образцы крови для исследования на ВИЧ и сифилис доставляли в иммунологическую лабораторию Забайкальского краевого центра профилактики ВИЧ и инфекционных заболеваний г. Читы. Для выявления сифилиса использовали серологический тест (диагностическая система IFA-funb-LUES, Нижний Новгород); ВИЧ — ELISA-метод (DS-EIA-HIV-AGAB-SCREEN, Нижний Новгород).

Эксфолиативные цервикальные мазки готовили в соответствии с общепринятой методикой, высушивали на воздухе и окрашивали азур-эозином. Результаты цитологического исследования ранжировали по системе Bethesda 2001 (SIL:

high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) — плоскоклеточные интраэпителиальные поражения шейки матки высокой степени; low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) — низкой степени) [3].

Статистический анализ данных был осуществлен с использованием пакета программ Statistica 6.1. Проводили проверку нормальности распределения показателей в группах по критерию Колмогорова — Смирнова. При анализе взаимосвязи качественных признаков использовали анализ таблиц сопряженности нескольких признаков с вычислением значения χ^2 , при малом числе наблюдений применяли точный критерий Фишера. Об ассоциативной связи ВПЧ с другими генитальными инфекциями и внутриэпителиальной неоплазией шейки матки судили по относительному риску (ОР) при 95%-м доверительном интервале. При $p \leq 0,05$ результаты рассматривали как статистически значимые.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сифилис и ВИЧ не были обнаружены ни у одной пациентки, включенной в исследование.

Исследуемые условно-патогенные микроорганизмы в диагностически значимом титре в целом выявляли в 4,6 раза чаще у ВПЧ-инфицированных женщин (41,1 против 9,0% в группе сравнения; $p = 0,0002$). Генитальный тракт ВПЧ-позитивных пациенток был чаще колонизирован *C. albicans* (23,4 против 2,1% в группе сравнения; $p = 0,0000$) и *G. vaginalis* (14,2 против 2,8% в группе сравнения; $p = 0,0005$). Среди женщин обеих групп, у которых в цервикальном секрете были выявлены *Ur. urealyticum*, в большинстве случаев уреоплазмы обнаружены в диагностически значимом титре ($> 10^4$). При этом частота встречаемости *Ur. urealyticum* ($> 10^4$) у ВПЧ-положительных пациенток была в 3,6 раза выше, чем у женщин без ВПЧ: 14,9 и 4,1% соответственно ($p = 0,0019$).

Общая частота выявления патогенных микроорганизмов была в 2,4 раза выше в группе носительниц ВПЧ, чем в группе сравнения: 14,9 и 6,2% соответственно ($p = 0,0165$). У носительниц ВПЧ в 3,1 раза чаще выявляли положительные результаты на *Ch. trachomatis*: 6,4 против 2,1% случаев в группе сравнения ($p = 0,0689$). Генитальная цитомегаловирусная инфекция была обнаружена у 4,3% ВПЧ-инфицированных и у 1,4% женщин в группе сравнения ($p = 0,1403$); ВПГ-2 — в 4,3 и 0,7% случаев соответственно ($p = 0,0511$). *Tr. vaginalis* присутствовала в вагинальных мазках только трех (2,1%) ВПЧ-негативных женщин. Ни в одном случае не зарегистрирована *N. gonorrhoeae*, что, возможно, обусловлено методикой, примененной в данном исследовании (табл.).

У пациенток, инфицированных ВПЧ высокоонкогенных типов, отмечена более высокая частота аномальных цервикальных мазков. У них в 7,1 раза чаще обнаруживали SIL (5,0 против 0,7% в группе сравнения; $p = 0,0284$). HSIL были выявлены только в группе ВПЧ-положительных женщин ($n = 2$; 1,4%). В обоих случаях HSIL ассоциировались с ВПЧ 16, 18, 33-го типов, цитомегаловирусом и *Ch. trachomatis*. LSIL были найдены у 5 (3,6%) ВПЧ-положительных пациенток и у одной (0,7%) женщины в группе сравнения ($p = 0,0920$).

Е. F. Murta и соавт. (2000) обнаружили *C. albicans* у 23,9% и *G. vaginalis* у 17,4% здоровых женщин, в то время как в группе ВПЧ-инфицированных показатели составили 13,8 и 23,6% соответственно. Согласно этому исследованию, альтерация влагалищного эпителия *G. vaginalis* может predispose к ВПЧ-инфицированию [15]. Другие источники

Частота встречаемости условно-патогенных и патогенных микроорганизмов и относительный риск развития интраэпителиальных поражений шейки матки у обследованных пациенток

Выявленные патологии	Основная группа (n = 141), n (%)	Группа сравнения (n = 145), n (%)	χ^2	P	Относительный риск	95%-й доверительный интервал
Условно-патогенные микроорганизмы (> 10 ⁴) Из них:	58 (41,1)	13 (9,0)	13,75	0,0002	4,59	2,63–5,65
• <i>Candida albicans</i>	33 (23,4)	3 (2,1)	29,57	0,0000	11,31	3,44–11,74
• <i>Gardnerella vaginalis</i>	20 (14,2)	4 (2,8)	12,14	0,0005	5,14	1,60–7,30
• <i>Ureaplasma urealyticum</i>	21 (14,9)	6 (4,1)	9,67	0,0019	3,60	1,09–5,87
Патогенные микроорганизмы Из них:	21 (14,9)	9 (6,2)	5,75	0,0165	2,40	0,35–4,41
• <i>Chlamydia trachomatis</i>	9 (6,4)	3 (2,1)	3,31	0,0689	3,09	0,16–4,04
• Цитомегаловирусная инфекция	6 (4,3)	2 (1,4)	2,17	0,1403	3,09	0,43–6,56
• Вирус простого герпеса 2-го типа	6 (4,3)	1 (0,7)	3,81	0,0511	6,17	1,24–7,37
• <i>Trichomonas vaginalis</i>	–	3 (2,1)	–	–	–	–
Squamous intraepithelial lesion Из них:	7 (5,0)	1 (0,7)	4,80	0,0284	7,20	1,24–7,37
• high-grade	2 (1,4)	–	–	–	–	–
• low-grade	5 (3,6)	1 (0,7)	2,84	0,0920	5,14	1,35–10,25

свидетельствуют о том, что *G. vaginalis* повышает восприимчивость к различным патогенным микроорганизмам, таким как *N. gonorrhoeae*, *Ch. trachomatis*, *Tr. vaginalis* и ВПГ-2 [4, 6, 20], которые значительно увеличивают риск передачи ВПЧ [1, 3, 7, 10].

Наши сведения о высокой колонизации *C. albicans* у ВПЧ-положительных пациенток совпадают с результатами, полученными E. Voog и соавт. (1995), на основании которых авторы высказали предположение, что кандидозная коинфекция может активировать латентную ВПЧ-инфекцию [19].

L. Mendoza и соавт. (2013) не выявили статистически значимой связи между ВПЧ и *Ur. urealyticum*, *Tr. vaginalis*, *G. vaginalis* или кандидозной инфекцией [13]. Данные нашего исследования согласуются с результатами этих авторов только относительно патогенного микроорганизма *Tr. vaginalis*, который не был обнаружен у ВПЧ-положительных женщин. Что касается других инфекционных агентов, то мы, напротив, выявили ассоциативную связь между инфицированием высокоонкогенными типами ВПЧ и контаминацией *Ur. urealyticum* (титр > 10⁴, ОР = 3,60), *G. vaginalis* (ОР = 5,14), *C. albicans* (ОР = 11,31).

Роль ВПЧ в этиологии цервикальной неоплазии несомненна, однако имеются сообщения об участии в канцерогенезе и других микробных агентов, например ВПГ и *Ch. trachomatis* [1, 10, 11, 16].

L. Mendoza и соавт. (2013) сделали вывод, что существует ассоциация между инфицированием *Ch. trachomatis* и ВПЧ, которую следует учитывать при диагностике и лечении цервикальной интраэпителиальной неоплазии [13]. Мы выявили высокий риск сочетания высокоонкогенных типов ВПЧ с хламидийной инфекцией (ОР = 3,09) и ВПГ-2 (ОР = 6,17).

Следует отметить, что среди обследованных нами женщин ни в одном случае не был идентифицирован патогенный микроорганизм *N. gonorrhoeae*. L. Mendoza и соавт. (2013) также не обнаружили его ни у ВПЧ-положительных,

ни у ВПЧ-отрицательных пациенток [13]. Такие результаты, возможно, обусловлены методикой бактериоскопии, примененной в обоих исследованиях, и позволяют сделать вывод о необходимости совершенствования методов тестирования и диагностики *N. gonorrhoeae* в целях повышения качества ее выявления, особенно в популяциях с высокой частотой встречаемости других ИППП.

Мы не обнаружили у обследованных женщин сифилис и ВИЧ-инфекцию. В то же время многие исследователи отмечают более высокую частоту их встречаемости у ВПЧ-инфицированных пациенток и делают заключение о необходимости периодического скрининга на эти инфекции, поскольку они являются факторами риска патологической трансформации цервикального эпителия [3, 5].

Роль *Ch. trachomatis* и ВПЧ-коинфекции как факторов риска развития цервикального интраэпителиального поражения широко обсуждается в литературе [10, 11]. Мы обнаружили, что все случаи HSIL у носительниц высокоонкогенных типов ВПЧ ассоциировались с *Ch. trachomatis* и генитальной цитомегаловирусной инфекцией. Коинфекция *Ch. trachomatis* и ВПЧ является значимым фактором риска развития цервикальных интраэпителиальных неоплазий за счет развития хронического воспаления и влияния на иммунитет хозяина [1, 16].

Нами выявлена статистически значимая ассоциативная связь между ВПЧ высокого онкогенного риска и частотой SIL (ОР = 7,2). ОР развития LSIL у ВПЧ-положительных женщин составил 5,14, а HSIL зарегистрированы только в группе носительниц ВПЧ высокоонкогенных типов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Частота колонизации генитального тракта условно-патогенными и патогенными микроорганизмами значительно выше у носительниц высокоонкогенных типов ВПЧ по сравнению с неинфицированными ВПЧ женщинами. Коинфекция ВПЧ

16, 18, 33-го типов, цитомегаловирусом и хламидиями является конфаундинг-фактором развития плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки высокой степени. В целом, основываясь на результатах нашего исследова-

ния и современных научных данных, можно заключить, что ассоциация ВПЧ с другими генитальными инфекциями существенно увеличивает риск развития цервикальных плоскоклеточных интраэпителиальных поражений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белокриницкая Т. Е., Пономарева Ю. Н., Бунина Е. Н., Ладыгина Н. М. Генитальные инфекции и локальная продукция цитокинов при диспластических процессах шейки матки // Сиб. мед. журн. 2005. № 7. С. 29–31.
2. Короленкова Л. И. Роль ВПЧ-тестирования методом гибридного захвата (Hybrid Capture 2) в оценке эффективности органосохраняющего лечения тяжелых интраэпителиальных неоплазий, преинвазивного и микроинвазивного рака шейки матки // Вопр. онкологии. 2011. Т. 57. № 3. С. 322–326.
3. Шейка матки, влагалище, вульва: физиология, патология, кольпоскопия, эстетическая коррекция: руководство для практикующих врачей / Под ред. С. И. Роговской, Е. В. Липовой. М.: Status Praesens, 2014. 832 с.
4. Allsworth J. E., Peipert J. F. Severity of bacterial vaginosis and the risk of sexually transmitted infection // Am. J. Obstet. Gynecol. 2011. Vol. 205. N 2. P. 113.
5. Bosch F. X., Broker T. R., Forman D., Moscicki A. B. et al. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases // Vaccine. 2013. Vol. 31. Suppl. 7. P. SH1–31.
6. Castellsague X., Diaz M., de Sanjose S., Munoz N. et al. Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention // J. Natl. Cancer Inst. 2006. Vol. 98. N 5. P. 303–315.
7. Chernes L., Meyn L. A., Krohn M. A., Lurie J. G. et al. Association between acquisition of herpes simplex virus type 2 in women and bacterial vaginosis // Clin. Infect. Dis. 2003. Vol. 37. N 3. P. 19–25.
8. Ciapponi A., Bardach A., Glujovsky D., Gibbons L. et al. Type-specific HPV prevalence in cervical cancer and high-grade lesions in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis // PLoS One. 2011. N 6. P. e25493. Цум. no: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3186785/> (дата обращения — 21.01.2015).
9. Khan M. J., Castle P. E., Lorincz A. T., Wacholder S. et al. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice // J. Natl. Cancer Inst. 2005. Vol. 97. N 14. P. 1072–1079.
10. Malhotra M., Sood S., Mukherjee A., Muralidhar S. et al. Genital Chlamydia trachomatis: an update // Indian J. Med. Res. 2013. Vol. 138. N 3. P. 303–316.
11. Markowska J. The role of chlamydia trachomatis infection in CIN and cervical cancer development // Ginekol. Pol. 2002. Vol. 73. N 5. P. 472–476.
12. Martin D. H. The microbiota of the vagina and its influence on women's health and disease // Am. J. Med. Sci. 2012. Vol. 343. N 1. P. 2–9.
13. Mendoza L., Mongelos P., Paez M., Castro A. et al. Human papillomavirus and other genital infections in indigenous women from Paraguay: a cross-sectional analytical study // BMC Infect. Dis. 2013. Vol. 9. N 13. P. 531.
14. Morris M., Nicoll A., Simms I., Wilson J. et al. Bacterial vaginosis: a public health review // Br. J. Obstet. Gynaecol. 2001. Vol. 108. N 5. P. 439–450.
15. Murta E. F., Souza M. A., Araújo Júnior E., Adad S. J. Incidence of Gardnerella vaginalis, Candida sp. and human papilloma virus in cytological smears // Sao Paulo Med. J. 2000. Vol. 118. N 4. P. 105–108.
16. Paba P., Bonifacio D., Di Bonito L., Ombres D. et al. Co-expression of HSV2 and Chlamydia trachomatis in HPV-positive cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia lesions is associated with aberrations in key intracellular pathways // Intervirology. 2008. Vol. 51. N 4. P. 230–234.
17. Remschmidt C., Kaufmann A. M., Hagemann I., Vartazarova E. et al. Risk factors for cervical human papillomavirus infection and high-grade intraepithelial lesion in women aged 20 to 31 years in Germany // Int. J. Gynecol. Cancer. 2013. Vol. 23. N 3. P. 519–526.
18. Shipitsyna E., Roos A., Datcu R., Hallén A. et al. Composition of the vaginal microbiota in women of reproductive age — sensitive and specific molecular diagnosis of bacterial vaginosis is possible? // PLoS One. 2013. Vol. 8. N 4. P. e60670. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3621988/> (дата обращения — 21.01.2015).
19. Voog E., Bolmstedt A., Olofsson S., Ryd W. et al. Human papillomavirus infection among women attending an STD clinic correlated to reason for attending, presence of clinical signs, concomitant infections and abnormal cytology // Acta Derm. Venereol. 1995. Vol. 75. N 1. P. 75–78.
20. Wiesenfeld H. C., Hillier S. L., Krohn M. A., Landers D. V. et al. Bacterial vaginosis is a strong predictor of Neisseria gonorrhoeae and Chlamydia trachomatis infection // Clin. Infect. Dis. 2003. Vol. 36. N 5. P. 663–668. 