

УДК 618.146-006.6.52-022

О.В. Грищенко, В.В. Бобрицкая

Ассоциации уровня интерферона и клинических признаков различных типов вируса папилломы человека

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

PERINATOLOGY AND PEDIATRIC. UKRAINE. 2018.3(75):56-60; doi 10.15574/PP.2018.75.56

Цель — определение соответствия уровня сывороточного интерферона (ИФН) клиническим признакам заболеваний репродуктивной системы женщины при наличии различных типов вируса папилломы человека (ВПЧ).

Материалы и методы. 250 женщин 23–37 лет были разделены на группы: основная I группа — пациентки с наличием клинических форм папилломавирусной инфекции (ПВИ). Контрольная группа разделена на две подгруппы: II A — женщины, имевшие положительные результаты ПЦР ВПЧ без клинических признаков ПВИ; II B — клинически здоровые женщины, результаты ПЦР ВПЧ отрицательны. Проведен Digene-тест ВПЧ 6,11,16,18,26,31,33,35,39,44,45,51,52,53,56,58,59,68,69,73,82 с вирусной нагрузкой; инфектологическое обследование на наличие бактерий, хламидий, мико- и уреаплазм. Всем пациенткам проведено исследование уровня сывороточного ИФН.

Результаты. В I группе выделены типы ВПЧ, соответствующие диспластическим процессам половых органов. Вирусная нагрузка менее 3 Lg наблюдалась у 28 (56,0%) пациенток I группы и 18 (36,0%) группы II A, от 3 Lg до 5 Lg — у 67 (44,6%) пациенток I группы и 4 (8,0%) II A группы. В I группе уровень 2–4 Lg ассоциировался с выраженным диспластическими изменениями половых органов, кожи промежности, требующими электрохирургического лечения. В контрольной подгруппе при наличии более высокого уровня сывороточного интерферона клинические проявления ПВИ не были диагностированы.

Выводы. ВПЧ 6,11,16,18,26,31,33,35,39,44,45,51,52,53,56,58,59,68,69,73,82 типов ассоциируются с диспластическими заболеваниями шейки матки, влагалища, наружных половых органов; прогнозом заболевания и тяжести диспластических процессов служит вирусная нагрузка от 3 Lg до 5 Lg, а также уровень сывороточного ИФН. Данные исследования можно рекомендовать для прогноза развития заболевания и в комплексе прегравидарной подготовки.

Ключевые слова: вирус папилломы человека, вирусная нагрузка, сывороточный интерферон, дисплазия.

Associations of interferon level and clinical signs of various types of human papillomavirus

O.V. Grishchenko, V.V. Bobritskaya

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine

Objective: to determine the compliance of the serum interferon level (IFN) with the clinical signs of the female reproductive system diseases in the presence of various types of human papillomavirus (HPV).

Materials and methods. In total 250 women aged 23–37 years were divided into two groups. The main group I comprised patients with clinical manifestations of human papillomavirus infection (PVI). The control group was divided into two subgroups: group II A included women who had HPV-positive PCR without clinical signs of PVI, in group II B were enrolled clinically healthy women with HPV-negative PCR results. Digene HPV 6,11,16,18,26,31,33,35,39,44,45,51,52,53,56,58,59,68,69,73,82 test with viral load was performed; as well as examination for bacteria, chlamydia, myco- and ureaplasma. The IFN level in blood serum was detected in all patients.

Results. In group I, the identified HPV types were responsible for the dysplastic processes of the genital organs. Viral load less than 3 Lg was observed in 28 (56.0%) patients of group I and 18 (36.0%) of group II A, from 3 Lg to 5 Lg - in 67 (44.6%) patients of group I and 4 (8.0%) of group II A. In group I, the level of 2-4 Lg was associated with high-grade dysplastic changes in the genital organs and skin of the perineal area, which require electro-surgical treatment. In the control subgroup with a higher level of serum interferon, clinical manifestations of PVI were not diagnosed.

Conclusions. The HPV types 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 44, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 68, 69, 73, 82 are associated with dysplastic diseases of the cervix, vagina, external genitalia; the prognosis of the disease and severity of dysplastic processes is connected with the viral load of 3 Lg to 5 Lg, as well as the IFN serum level. These tests may be recommended to predict the disease development and use in the comprehensive pregravid preparation.

Key words: human papillomavirus, viral load, serum interferon, dysplasia.

Асоціації рівня інтерферону і клінічних ознак різних типів віrusу папіломи людини

О.В. Грищенко, В.В. Бобрицька

Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна

Мета — визначення відповідності рівня сироваткового інтерферону (ІФН) клінічним ознакам захворювань репродуктивної системи жінки за наявності різних типів віrusу папіломи людини (ВПЛ).

Матеріали та методи. 250 жінок 23–37 років були розподілені на групи: основна I група — пацієнтки з наявністю клінічних форм папіломавірусної інфекції (ПВІ). Контрольна група була розподілена на дві підгрупи: II A — жінки, які мали позитивні результати ПЛР ВПЛ без клінічних ознак ПВІ, II B — клінічно здорові жінки, результати ПЛР ВПЛ негативні. Проведено Digene-тест ВПЛ 6,11,16,18,26,31,33,35,39,44,45,51,52,53,56,58,59,68,69,73,82 з вірусним навантаженням; інфектологічне обстеження на наявність бактерій, хламідій, міко- та уреаплазм. Усім пацієнткам проведено дослідження рівня сироваткового ІФН.

Результати. У I групі виділені типи ВПЛ, що відповідали диспластичним процесам статевих органів. Вірусне навантаження менше 3 Lg спостерігалося у 28 (56,0%) пацієнток I групи і 18 (36,0%) групи II A, від 3 Lg до 5 Lg — у 67 (44,6%) пацієнток I групи і 4 (8,0%) II A групи. У I групі рівень 2–4 Lg асоціювався з виразними диспластичними змінами статевих органів, шкіри промежини, які вимагають електрохірургічного лікування. У контрольній підгрупі за наявності більш високого рівня сироваткового інтерферону клінічні прояви ПВІ не були діагностовані.

Висновки. ВПЛ 6,11,16,18,26,31,33,35,39,44,45,51,52,53,56,58,59,68,69,73,82 типів асоціюються з диспластичними захворюваннями шейки матки, піхви, зовнішніх статевих органів; прогнозом захворювання і важкоті диспластичних процесів служить вірусне навантаження від 3 Lg до 5 Lg, а також рівень сироваткового ІФН. Дані дослідження можна рекомендувати з метою прогнозу розвитку захворювання та у комплексі прегравідарної підготовки.

Ключові слова: віrus папіломи людини, вірусне навантаження, сироватковий інтерферон, дисплазія.

Введение

Проблема элиминации папилломавирусной инфекции (ПВИ), а также прогноза реализации неопластических процессов различной локализации является актуальной и недостаточно изученной. Несмотря на то, что вирус папилломы человека (ВПЧ) признан причиной развития рака шейки матки, абсолютно доказанной с патогенетической точки зрения является лишь роль нескольких типов вируса: 16, 18, 31, 33. Научно и клинически подтвержденной является также роль ВПЧ в развитии неопластических процессов различной локализации, причем с одинаковой частотой как у женщин, так и у мужчин [1]. Интересным является факт, что при наличии новообразований, ассоциированных с ВПЧ, у женщины половой партнер часто не является носителем вируса либо при исследовании определяются другие типы возбудителя. Также часто диагностируются рецидивы «носительства» ВПЧ, вызванные другими типами вирусов, либо, в случаях аналогичных клинических проявлений, диагностируются различные типы данной инфекции.

Известна способность вирусов к мутации, что связано с нарушением процессов генной детерминации. Влияние на мутацию генов могут оказывать как внешние факторы, так и состояние защитных механизмов макроорганизма, напряженности иммунитета [2,3].

К факторам неспецифической противовирусной защиты относятся макрофаги, клетки-продуценты интерферона, интерлейкины (ИЛ): фактор некроза опухоли (ФНО), ИЛ-6, некоторые виды белков плазмы. К факторам специфической противовирусной защиты, в том числе обеспечивающим клеточную память и последующие реакции защиты, относятся В- и Т-лимфоциты: CD4, CD8, интерфероны — специфические белки противовирусного и противоопухолевого действия [10].

Классическим признаком противовирусной защиты признан уровень интерферона (ИФН) в сыворотке крови, значение которого определяется также совокупностью механизмов действия перечисленных выше факторов [2,3,8].

Вирусная инвазия проявляется чаще всего в комплексе микст-инфекции репродуктивного тракта, а также при наличии микозов слизистых, в том числе при микотических вагинитах. Как известно, микозы сопровождаются снижением местного иммунитета, а также «интерферонового статуса» пациентов. Заслуживают особого

внимания данные об элиминации ПВИ после проведения курса местной терапии антимикотиком, без применения специфической противовирусной либо иммуномодулирующей терапии [9]. Можно предположить потенцирование патологического действия инфекционных агентов. Бактериальные и микотические патогены на фоне снижения иммунитета разрушают физиологическую бактериальную пленку слизистой, что является причиной проникновения вирусов в подлежащие слои эпителия. Либо, наоборот, бактериально-грибковые ассоциации поддерживают персистенцию вируса и развитие последующих неопластических процессов.

В настоящее время изучены более 90 штаммов ВПЧ. Наиболее часто встречающимися являются 6, 9, 11 штаммы, ассоциирующиеся в большей степени с возникновением остроконечных кондилом и ранее считавшиеся вирусами с низким онкогенным потенциалом. В настоящее время 6 и 11 типы также связывают с развитием дисплазии шейки матки, вульвы; 6 тип обнаружен при развитии папилломатоза гортани, в том числе у новорожденных от матерей, имевших в анамнезе кондиломы половых органов [10]. Однако и большинство штаммов ВПЧ — с 30 по 79 — в настоящее время считают причиной развития дисплазии эпителия шейки матки, вульвы [6,7].

Установлено, что течение гестационного процесса после перенесенной ПВИ, в том числе после электрохирургического лечения шейки матки, осложняется угрозой прерывания беременности, преимущественно в сроки беременности 16–18 недель [4,5].

Все вышеизложенное подтверждает актуальность изучения проблемы реализации ПВИ, соответствия клинической картины определенным типам ВПЧ, а также определения степени иммунной защиты, в частности уровня содержания ИФН в сыворотке крови как одного из показателей противовирусного действия макроорганизма.

Цель исследования — определение соответствия уровня сывороточного ИФН клиническим признакам заболеваний репродуктивной системы женщины при наличии различных типов ВПЧ.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на базе Харьковской медицинской академии последипломного образования в 2016–2018 гг. В исследование были включены 250 женщин в возрасте 23–38 лет.

Основную группу I составили 150 пациенток, имевших положительные результаты полимеразно-цепной реакции (ПЦР) на наличие ВПЧ одного или нескольких типов (6,11,16,18, 26,31,33,35,39,44,45,51,52,53,56,58,59,68,69,73,82) при наличии различных клинических форм ПВИ: дисплазия шейки матки, дисплазия влагалища, вульвы, кондиломы шейки матки, влагалища, наружных половых органов. Группу контроля II составили 100 пациенток, которые, в свою очередь, были разделены на подгруппы II A и II B по 50 человек. Подгруппа II A — пациентки, имевшие положительные результаты ПЦР ВПЧ различных типов (6,11,16,18,26, 31,33,35,39,44,45,51,52,53,56,58,59,68,69,73,82), но не имевшие клинических признаков ПВИ. Подгруппа II B — здоровые пациентки (без клинических признаков ПВИ, с отрицательными результатами ПЦР ВПЧ).

Пациенткам основной и контрольных подгрупп проводили ПЦР ВПЧ Digene-тест методом «гибридного захвата», с определением типов ВПЧ 6,11,16,18,26,31,33,35,39,44,45,51,52,53,56, 58,59,68,69,73,82, а также вирусной нагрузки — количества копий вируса в расчете на 100 000 эпителиальных клеток, Lg копий на образец.

Лабораторные показатели вирусной нагрузки оценивали следующим образом: менее 3 Lg (HPV/105) — малозначимая, низкий риск диспластических изменений; 3 Lg до 5 Lg (HPV/105) — значимая, высокий риск развития диспластических изменений, либо их наличие; более 5 Lg (HPV/105) — высокозначимая, с максимальной вероятностью наличия дисплазии.

Всем пациенткам также проводилось инфекционное обследование: бактериологический посев отделяемого влагалища, ПЦР на наличие хламидийной, мико-, уреаплазменной инфекции.

Всем пациенткам основной и контрольных групп проводили определение уровня ИФН в сыворотке крови с помощью тест-системы, включающей диплоидные клетки, вирусодержащую жидкость и стандартный ИФН- α человека. В качестве диплоидных клеток тест-система включает клетки охарактеризованной линии диплоидных клеток — фибробластов человека M-20 на уровне 20–33 пассажей, культивированные в среде с добавлением 10% фибринолитически активной плазмы (ФАП). А в качестве вируса — адаптированный к клеткам линии M-20 вирус везикулярного стоматита (BBC), штамм Индиана, при этом тест-система дополнительно

Таблица 1
Количественное выявление и типы ДНК ВПЧ в сочетании с различными клиническими проявлениями папилломавирусной инфекции (абсолютное число пациенток, %)

Тип вируса	Выявлено ПЦР ВПЧ (n=150)	CIN III (n=150)	CIN I (n=150)	CIN II (n=150)	Дисплазия влагалища, вульвы	Кондиломы шейки матки влагалища	Остроконечные кондиломы наружных половых органов
ВПЧ 6	21 (42,0%)	4 (2,6%)	1 (0,6%)	2 (1,3%)	2 (1,3%)	5 (3,3%)	8 (5,3%)
ВПЧ 11	20 (13,3%)	1 (0,6%)	2 (1,3%)	3 (2,0%)	—	5 (3,3%)	9 (6,0%)
ВПЧ 16	19 (12,6%)	2 (1,3%)	6 (4,0%)	6 (4,0%)	1 (0,6%)	2 (1,3%)	2 (1,3%)
ВПЧ 18	21 (14,0%)	3 (2,0%)	5 (3,3%)	6 (4,0%)	2 (1,3%)	3 (2,0%)	4 (2,6%)
ВПЧ 26	9 (6,0%)	3 (2,0%)	3 (2,0%)	2 (1,3%)	—	1 (0,6%)	—
ВПЧ 31	14 (9,3%)	2 (1,3%)	3 (2,0%)	5 (3,3%)	3 (2,0%)	1 (0,6%)	—
ВПЧ 33	13 (8,6%)	4 (2,6%)	2 (1,3%)	2 (1,3%)	3 (2,0%)	2 (1,3%)	—
ВПЧ 35	9 (6,0%)	1 (0,6%)	—	2 (1,3%)	2 (1,3%)	3 (2,0%)	1 (0,6%)
ВПЧ 39	2 (1,3%)	1 (0,6%)	—	—	—	—	1 (0,6%)
ВПЧ 44	1 (0,6%)	1 (0,6%)	—	—	—	—	—
ВПЧ 45	2 (1,3%)	—	1 (0,6%)	—	—	1 (0,6%)	—
ВПЧ 51	2 (1,3%)	—	—	—	1 (0,6%)	1 (0,6%)	—
ВПЧ 52	1 (0,6%)	—	—	—	—	1 (0,6%)	—
ВПЧ 53	2 (1,3%)	—	—	—	—	1 (0,6%)	1 (0,6%)
HPV 56	5 (3,3%)	1 (0,6%)	1 (0,6%)	2 (1,3%)	—	1 (0,6%)	1 (0,6%)
ВПЧ 58	3 (2,0%)	—	—	—	—	1 (0,6%)	2 (1,3%)
ВПЧ 59	1 (0,6%)	—	—	—	—	—	1 (0,6%)
ВПЧ 68	1 (0,6%)	—	—	—	—	1 (0,6%)	—
ВПЧ 69	1 (0,6%)	—	—	—	—	1 (0,6%)	—
ВПЧ 73	2 (1,3%)	—	—	—	1 (0,6%)	1 (0,6%)	—
ВПЧ 82	1 (0,6%)	—	—	—	1 (0,6%)	—	—

Таблица 2

Уровень сывороточного ИФН пациенток групп исследования, МЕ

Группа	Группа I (n=150)	Группа II A (n=50)	Группа II B (n=50)
ИФН, МЕ/мл	1,7±1,4*	3,7±1,2*•	6,3±2,2*•

Примечания: * — различия показателей основной группы I статистически достоверны по сравнению с контрольными подгруппами II A и II B ($p<0,05$); • — различия показателей групп II A и II B статистически достоверны ($p<0,05$).

включает витальный краситель на основе двух флуорохромов — трипафлавина и родамина С.

Исследование выполнено в соответствии с принципами Хельсинской декларации. Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом всех участвующих учреждений. На проведение исследований получено информированное согласие женщин.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенного исследования определены ассоциации между наличием различных типов ВПЧ и клиническими признаками ПВИ. Тот или иной тип ВПЧ был выделен у всех пациенток, имевших различные клинические формы заболеваний: дисплазию шейки матки от первой до третьей степеней, диспластические изменения слизистой влагалища (лейкоплакию), кондиломы половых органов. Данные исследования представлены в таблице 1.

Научный и практический интерес вызывает наличие достаточно большой частоты встречаемости ВПЧ 6 и 11 типов, ассоциированных с диспластическими заболеваниями шейки матки, хотя данные типы вирусов обычно связывают с наличием кожных неоплазий — бородавок, кондилом.

Результаты инфектологического исследования продемонстрировали сочетание бактериальной флоры клинически значимых степеней роста с внутриклеточными возбудителями и кандидозом. Среди пациенток I группы достоверно выше была частота выделения бактериальных ассоциаций условно-патогенной и патогенной флоры — в 65 (43,3%), хламидиоза — в 35 (23,3%), микоплазменной инфекции — в 45 (30,0%) случаях. Среди пациенток группы II A бактериальные ассоциации выделены в 15 (30,0%) случаях. Микозы диагностированы у 87 (58,0%) пациенток группы I, у 12 (24,0%) женщин группы II A (сочетание *Candida albicans* 10⁶ и *Candida nonalbicans* 10⁵ степени роста), у 4 (8,5%) пациенток группы II B (*Candida albicans* в 10³ степени роста).

Вирусная нагрузка менее 3 Lg наблюдалась у 28 (56,0%) пациенток I группы и 18 (36,0%) группы II A. Нагрузка от 3 Lg до 5 Lg — у 67

(44,6%) пациенток I группы и 4 (8,0%) женщин II A группы. В основной группе уровень вирусной нагрузки 2–4 Lg ассоциировался с выраженным диспластическими изменениями половых органов, кожи области промежности, требующими электрохирургического лечения. В контрольной подгруппе при наличии более высокого уровня сывороточного интерферона клинические проявления ПВИ не были диагностированы. Дисплазия шейки матки CIN III в 5 случаях ассоциировалась с наличием вирусной нагрузки более 5 Lg. Уровень сывороточного ИФН был достоверно ниже среди всех пациенток основной группы по сравнению с контрольными подгруппами (табл. 2).

Таким образом, можно заключить, что персистенция вирусной инфекции происходит на фоне снижения сывороточного ИФН, а также в сочетании с микст-инфекцией, в том числе микозами. Вирусы папилломы человека 6,11,16,18, 26,31,33,35,39,44,45,51,52,53,56,58,59,68,69,73,82 могут быть диагностированы при различных по клинической значимости диспластических заболеваниях. Одним из факторов прогноза заболевания, вызванного ВПЧ, можно считать уровень сывороточного ИФН.

Выводы

1. Вирусы папилломы человека 6,11,16, 18,26,31,33,35,39,44,45,51,52,53,56,58,59,68,69,73, 82 типов ассоциируются с диспластическими заболеваниями шейки матки, влагалища, наружных половых органов; прогнозом заболевания и тяжести диспластических процессов служит вирусная нагрузка от 3 Lg до 5 Lg.

2. Уровень ИФН сыворотки в I группе достоверно снижен по сравнению с пациентками групп II A и II B, а также достоверно различен среди пациенток — носителей ВПЧ без клинических проявлений ПВИ (группа II A) по отношению к здоровым пациенткам (группа II B).

3. Определение уровня сывороточного ИФН можно рекомендовать как метод прогноза возможного развития заболевания, а также необходимости назначения иммуномодулирующего лечения.

4. Расширенный скрининг ДНК ВПЧ с определением вирусной нагрузки может быть рекомендован как составляющая прегравидарной подготовки для снижения осложнений геста-

ционного периода и риска инфицирования новорожденного.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галицкая МГ, Ивардava МИ. (2009). Папилломавирусная инфекция у мальчиков и молодых мужчин. Возможности ее первичной профилактики. Педиатрическая фармакология. 6 (2):12–14.
2. Головина ДА, Трофимова ОБ, Ермилова ВД и соавт. (2014). Комплекс молекулярно-генетических и иммуногистохимических методов для выявления вирусов папиллом человека в раковом эпителии мочевого пузыря. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 157(1):81–84.
3. Еремин ВФ, Вергейчик ГИ, Стрибук ЖА. (2010). Папилломавирусы человека: некоторые аспекты патогенеза и современная классификация. Проблемы здоровья и экологии. 3(24):22–24.
4. Качалина ТС, Качалина ОВ, Вахабова ГА, Зиновьева МС. (2017). Анализ течения беременности и родов после лечения различных форм ВПЧ-ассоциированной цервикальной патологии. Медицинский альманах. 6(51):36–39.
5. Качалина ТС, Качалина ОВ, Вахабова ГА. (2018). Течение беременности и родов у пациенток, ранее перенесших патологию, ассоциированную с вирусом папилломы человека. Акушерство и гинекология. 7:62–66.
6. Клинышкова ТВ, Буян МС. (2018). Течение цервикального предрака в условиях персистирующей папилломавирусной инфекции. Мать и дитя в Кузбассе. 1(72):77–80.
7. Babash S, Soliemani M. (2011). The oncogenic and tumour suppressive roles of microRNAs in cancer and apoptosis. Eur J Cancer. 47(8):1127–37.
8. Bodily J, Laimins LA. (2011). Persistence of human papillomavirus infection: keys to malignant progression. Trends Microbiol. 9(1): 33–39. doi 10.1016/j.tim.2010.10.002.
9. Gorbunova OV, Zarichanska HV. (2018). Efficiency of using antifungal drugs in women with vaginal candidiasis on the background of papillomavirus infection. Perinatology and pediatric. Ukraine. 2 (74):31–34.
10. Munoz N et al. (2010). Impact of human papillomavirus (HPV)-6/11/16/18 vaccine on all HPV-associated genital diseases in young women. J Natl Cancer. 102(5):325–39.

Сведения об авторах:

Грищенко Ольга Валентиновна — д.мед.н., проф., академик ТАН Украины, зав. каф. перинатологии, акушерства и гинекологии Харьковской МАПО.
Адрес: г. Харьков, Салтивское шоссе, 264; тел. (057)711-95-42.

Бобрицкая Виктория Владимировна — к.мед.н., доц. каф. перинатологии, акушерства и гинекологии Харьковской МАПО.
Адрес: г. Харьков, Салтивское шоссе, 264; тел. (057)711-95-42.

Статья поступила в редакцию 23.06.2018 г.; принята в печать 02.09.2018 г.

ВНИМАНИЕ!

Изменения в оформлении списка литературы

Согласно Приказу МОН Украины № 40 от 12.01.2017 г. «Об утверждении требований к оформлению диссертаций» вносятся изменения в оформление списка литературы в журнале. Теперь оформление осуществляется в соответствии со стилем APA (American Psychological Association style), используемым в диссертационных работах.

Примеры оформления литературных источников

Журнальная публикация

Автор АА, Автор ВВ, Автор СС. (2005). Название статьи. Название журнала. 10(2); 3: 49-53.

Книга

Автор АА, Автор ВВ, Автор СС. (2006). Название книги. Город: Издательство: 256.

Глава в книге

Автор АА, Автор ВВ, Автор СС. (2006). Название раздела (главы). В кн. Автор книги. Название книги. Под ред. Фамилия СС. Город: Издательство: 256.

Интернет-ресурс

Автор АА, Автор ВВ, Автор СС. (2006). Название статьи. Название журнала/книги (если есть). URL-адрес публикации.

Оформление литеры по новым требованиям повысит возможности поисковых ресурсов в интернете, и, как следствие, цитируемость авторов.