

*На правах рукописи*

**Марочко Кристина Владимировна**

**ОПТИМИЗАЦИЯ ВТОРИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ПРЕДРАКА И РАКА  
ШЕЙКИ МАТКИ**

14.01.01 - акушерство и гинекология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Томск - 2017

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

**Артымук Наталья Владимировна** - доктор медицинских наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Белокриницкая Татьяна Евгеньевна** - доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии педиатрического факультета, ФПК и ППС федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Соколова Татьяна Михайловна** - доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущая организация:** Научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2017г. в \_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.03 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и на сайте <http://www.ssmu.ru>

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2017г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Герасимов Александр Владимирович

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Несмотря на разработку и внедрение профилактических мероприятий, рак шейки матки (РШМ) занимает лидирующие позиции по заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований среди женского населения во всем мире [Bruni L., 2016]. В России за период 2005-2015 гг. доля больных РШМ, выявленных активно, увеличилась только на 10 % (средний показатель по России - 37,4%) [Каприн А.Д., 2016]. Скрининг в России остается оппортунистическим, и в нем участвуют не более 30% женщин [Коломиец Л.А., 2011; Роговская С.И., 2016]. В рамках программы правительства РФ «Репродуктивное здоровье» одним из приоритетных направлений названа разработка эффективной программы скрининга РШМ [Кузьмицкая Е.В., 2015].

Применение организованного цитологического скрининга позволило снизить заболеваемость и смертность от РШМ во многих развитых странах [Бибнева Т.Н., 2016]. Однако из-за большого количества неадекватных результатов данный метод обладает низкой чувствительностью (23,5 - 76%) [Cobucci R., 2016]. Установлено, что каждому четвертому случаю РШМ предшествовал нормальный цитологический результат [Аполихина И.А., 2016]. Применение технологии жидкостного цитологического исследования позволяет снизить количество неадекватных результатов, но чувствительность данного метода сопоставима с традиционной цитологией [Wright T.C., 2007; ACOG, 2016].

Установлено, что РШМ почти в 100% случаев ассоциирован с вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска (ВПЧ-ВР), а наиболее канцерогенными признаны 16 и 18 генотипы [Коломиец Л.А., 2012; Gross G., 2014; Johnson D.C., 2014]. Выявление ДНК ВПЧ-ВР обладает большей чувствительностью, но меньшей специфичностью по сравнению с другими скрининговыми тестами, и в некоторых странах используется в качестве основного теста либо в сочетании с цитологическим методом [Castle P.E., 2014; Blatt A.J., 2015]. Для увеличения охвата женского населения предлагается распространение и применение комплектов для самостоятельного взятия материала на ВПЧ-тестирование, чувствительность при этом сопоставима с взятием материала врачом, а процент участия повышается в несколько раз [Verdoodt F., 2015; Белокриницкая Т.Е., 2017].

Учитывая первостепенную роль ВПЧ в развитии РШМ, многие исследователи посвящают свои работы изучению причин элиминации/персистенции вируса, поскольку персистенция ВПЧ-ВР более 2 лет может привести к развитию цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) и РШМ [Gross G., 2014; Arbyn M., 2015]. Дальнейшее течение инфекции во многом зависит от выраженности иммунного ответа в момент проникновения вируса [Ледина А.В., 2016]. В настоящее время отсутствует препарат, действующий целенаправленно против ВПЧ, но использование модулирующей иммунной терапии может снизить вирусную нагрузку и увеличить частоту элиминации ВПЧ-ВР [Неймарк А.И., 2012; Кедрова А.Г., 2014].

Таким образом, установлено, что скрининг, основанный на выявлении ВПЧ-ВР, обладает большей чувствительностью, однако остается недостаточно изученной эффективность такого подхода у российских женщин, особенно у лиц высокого социального риска. Недостаточно данных об особенностях ВПЧ-инфекции у женщин, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). В России не проводились исследования по возможности альтернативного скрининга с применением системы самозабора материала для ВПЧ-тестирования у женщин высокого социального риска. Незначительное количество работ проведено в отношении выявления соответствующих режимов и доз интерферона альфа-2b для профилактики прогрессирования ВПЧ-инфекции.

**Цель исследования** - оптимизировать систему скрининга и профилактики предрака и рака шейки матки путем внедрения системы самотестирования на вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска и применения интерферона альфа-2b.

**Задачи исследования:**

1. Изучить факторы риска и частоту инфицирования вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска, а также частоту встречаемости плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки у пациенток амбулаторного приёма и женщин, находящихся в местах лишения свободы.

2. Установить особенности папилломавирусной инфекции у женщин, инфицированных ВИЧ.

3. Определить прогностическую ценность рутинного цитологического метода, жидкостной цитологии, расширенной кольпоскопии и тестирования на вирус папилломы человека в выявлении плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки у пациенток амбулаторного приёма и женщин высокого социального риска.

4. Сравнить результаты тестирования на вирус папилломы человека материала, взятого исследователем и устройством для самостоятельного забора.

5. Оценить эффективность препарата интерферона альфа-2b в снижении вирусной нагрузки у женщин репродуктивного возраста, инфицированных вирусом папилломы человека.

### **Научная новизна**

Впервые была изучена частота встречаемости различных генотипов ВПЧ-ВР в Кемеровской области у женщин, находящихся в местах лишения свободы, в сравнении с пациентками амбулаторного приёма. Установлено, что заключенные женщины чаще инфицированы ВПЧ-ВР, у них чаще встречаются 16, 33 и 52-й генотипы и сочетанная инфекция.

Впервые показано, что более половины ВИЧ-инфицированных женщин, находящихся в местах лишения свободы, инфицированы ВПЧ. У этого контингента женщин достоверно чаще выявляется 39 генотип и сочетание 4-х и более генотипов ВПЧ-ВР, наиболее значимым фактором риска ВПЧ является длительность ВИЧ-инфекции, а адекватное проведение антиретровирусной терапии (АРВТ) статистически значимо снижает риск инфицирования ВПЧ.

Впервые у различных контингентов женщин определена прогностическая ценность различных методов исследования: ВПЧ-тестирования, цитологического метода, жидкостной цитологии и кольпоскопии в выявлении плоскоклеточного интраэпителиального поражения низкой (LSIL) и высокой (HSIL) степени. Установлено, что комбинация выявления ДНК ВПЧ-ВР с другими методами не повышает чувствительность изолированного применения ВПЧ-теста.

Впервые в Российской Федерации проведен сравнительный анализ двух методик забора материала для ВПЧ-тестирования: с помощью устройства для самостоятельного забора материала - Qvintip и взятия материала врачом

урогенитальным зондом (УЗ). Установлено, что оба метода имеют сопоставимую прогностическую ценность у пациенток амбулаторного приёма, а у заключенных женщин - значительную долю разногласий.

Впервые в рандомизированном открытом исследовании проведена оценка краткосрочной эффективности ректального применения препарата интерферона - альфа-2b в дозе 2 млн. МЕ в сутки в снижении вирусной нагрузки у ВПЧ-инфицированных женщин репродуктивного возраста.

### **Практическая значимость**

В результате проведенного исследования установлена высокая частота встречаемости ВПЧ-ВР как среди женщин амбулаторного приёма (26,0%), так и среди женщин, находящихся в местах лишения свободы (36,7%). Установлено, что факторами риска инфицирования ВПЧ-ВР являются: низкий уровень образования (OR=1,62), курение (OR=1,89), семейное положение - не замужем (OR=2,13), отсутствие беременностей в анамнезе (OR=2,15), возраст  $\leq 29$  лет (OR=2,13), олигоменорея (OR=2,43), высокий промискуитет (OR=2,53), хламидиоз (OR=2,40) и трихомониаз в анамнезе (OR=2,91), наркотическая зависимость (OR=2,73), начало половой жизни  $\leq 16$  лет (OR=2,93), спринцевание (OR=2,93), ВИЧ-инфекция (OR=4,23). Фактором устойчивости инфицирования ВПЧ является прекращение курения (OR=0,49).

Показано, что ВИЧ-инфицированные женщины достоверно чаще инфицированы 39 генотипом ВПЧ, а также имеют сочетание 4-х и более генотипов. Применение препаратов АРВТ способствует снижению риска инфицирования ВПЧ-ВР (OR=0,13).

В целом выявлена сходная прогностическая ценность ВПЧ-тестирования при самозаборе и взятии материала врачом. Коэффициент согласованности (k) между обоими методами забора материала для ВПЧ-тестирования составляет 0,93 в группе женщин амбулаторного приёма (почти идеальное соглашение) и 0,70 в группе женщин, находящихся в местах лишения свободы (существенное соглашение). Обнаружено, что более 2/3 зафиксированных разногласий выявлено у заключенных женщин.

Показано, что все методы обладают низкой чувствительностью в выявлении LSIL: цитологические методы - 21%, ВПЧ-тестирование и кольпоскопия - 57,9%. В выявлении HSIL наибольшая чувствительность установлена для ВПЧ-тестирования как при заборе материала врачом (91,3%), так и при самостоятельном взятии устройством Qvintip (87,0%), наименьшая - у цитологических методов: рутинная цитология - 43,5%, жидкостная цитология - 34,8%. Наиболее специфичным (100%) является метод жидкостной цитологии. Оптимальную чувствительность имеет только изолированное применение ВПЧ-теста, а сочетание с другими методами позволяет повысить специфичность.

В рандомизированном открытом плацебо-неконтролируемом исследовании доказано, что ректальное применение препарата интерферона альфа-2b в дозе 2 млн. МЕ в сутки в течение 10 дней у ВПЧ-инфицированных женщин репродуктивного возраста через 1 месяц после завершения лечения, способствует снижению вирусной нагрузки от значимого ( $Me=3,6$  Lg) до малозначимого количества ( $Me=2,6$  Lg). Количественная концентрация ВПЧ снизилась на 45,5% у женщин, применявших препарат, и на 18,3% - у женщин без лечения ( $p=0,013$ ).

### **Методология и методы исследования**

Для определения частоты встречаемости ВПЧ-ВР среди женщин, находящихся в местах лишения свободы, и пациенток амбулаторного приёма проведено проспективное когортное исследование. В поперечном исследовании определена эффективность различных методов исследования (традиционная и жидкостная цитология, ВПЧ-тестирование и расширенная кольпоскопия) в выявлении предрака и рака шейки матки. В ретроспективном исследовании «случай-контроль» выявлены факторы риска инфицирования ВПЧ-ВР. В рандомизированном открытом плацебо-неконтролируемом исследовании проведена оценка эффективности применения интерферона альфа-2b в снижении вирусной нагрузки у ВПЧ-инфицированных женщин репродуктивного возраста.

### **Внедрение результатов в практику**

На основании проведенного исследования разработаны методические рекомендации «Современные подходы к скринингу рака шейки матки», которые утверждены ДОЗН Кемеровской области и внедрены в работу женских консультаций

(акт внедрения от 4 мая 2017 года) и в учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии №2 ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России (акт внедрения от 4 мая 2017 года).

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Частота встречаемости ВПЧ-ВР среди женщин, находящихся в местах лишения свободы, выше, чем у женщин амбулаторного приёма, и составляет 36,7% и 26% соответственно. В 1/3 случаев в обеих группах ВПЧ выявляется в возрастной подгруппе 25-39 лет, чаще регистрируются генотипы из А7 и А9 филогенетических групп. Женщины, находящиеся в местах лишения свободы, чаще инфицированы несколькими генотипами ВПЧ-ВР, среди которых преобладают 16, 33 и 52 генотипы. ВИЧ-инфицированные женщины в половине случаев инфицированы ВПЧ, чаще имеют 39 генотип и сочетание 4-х и более генотипов, а продолжительность ВИЧ-инфекции и проведение АРВТ влияют на частоту инфицирования ВПЧ.

2. Результаты ВПЧ-тестирования материала, взятого врачом, и материала, забранного самостоятельно при помощи устройства Qvintip, сопоставимы у женщин амбулаторного приёма. Применение данного метода у заключенных женщин является неподходящим, так как 82,6% разногласий было зафиксировано в данной группе. Все изученные методы исследования обладают низкой чувствительностью в выявлении LSIL (традиционная и жидкостная цитология - 21%, расширенная кольпоскопия и ВПЧ-тест - 57,9%), 100% специфичность установлена для метода жидкостной цитологии. В выявлении HSIL и рака шейки матки наибольшей чувствительностью обладает ВПЧ-тестирование (при заборе материала врачом - 91,3%, при самостоятельном взятии - 87%), а специфичностью - жидкостное цитологическое исследование (100%). При сочетании ВПЧ-теста с жидкостной цитологией специфичность достигает 100%.

3. Применение препарата интерферона альфа-2b в форме ректальных суппозиторий в дозе 2.000.000 МЕ в сутки течение 10 дней способствует через месяц после окончания лечения более значимому снижению вирусной нагрузки ВПЧ-ВР у женщин репродуктивного возраста.

**Апробация диссертационного материала.** Основные положения работы были доложены на III Междисциплинарном форуме с международным участием



«Шейка матки и вульвовагинальные болезни» (Россия, Новосибирск, 2015), XX Региональной научно-практической конференции с международным участием «Беременность – окно в будущую жизнь» (Россия, Кемерово, 2016), XIV Congress ESC «Contraception from molecular biology to social science and politics» (Basel, Switherland, 2016), IV Междисциплинарном форуме с международным участием «Шейка матки и вульвовагинальные болезни. Эстетическая гинекология» (Россия, Москва, 2016), XXIV World Congress COGI «All about women's health» (Amsterdam, The Netherlands, 2016), XI Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Россия, Москва, 2016), XVII World Congress of the Academy of Human Reproduction (Rome, Italy, 2017), XXI Международной научно - практической конференции «Перинатология в Сибири: достижения и проблемы» (Россия, Кемерово, 2017), Российской конференции молодых ученых «Мультидисциплинарный подход к репродуктивному здоровью женщин. Возрастные аспекты» (Россия, Москва, 2017). Аprobация диссертации состоялась на межкафедральном совещании кафедр акушерства и гинекологии №1, №2 ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России (Кемерово, 2017).

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 154 листах машинописного текста и состоит из 5 глав, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа иллюстрирована 34 рисунками и 56 таблицами. Библиографический список состоит из 275 источников (81 отечественного и 194 зарубежных).

### **Публикации по теме диссертации**

По материалам выполненных исследований опубликовано 10 печатных работ, из них 4 - в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации, и 1 методические рекомендации, утвержденные ДОЗН Кемеровской области (акт внедрения от 4 мая 2017г.).

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Дизайн, материалы и методы исследования**

Всего было обследовано 560 женщин в возрасте 18-59 лет, в том числе 150 женщин, находящихся в местах лишения свободы (ФКУ ИК № 35). Работа одобрена

локальным комитетом по этике ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Минздрава России. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

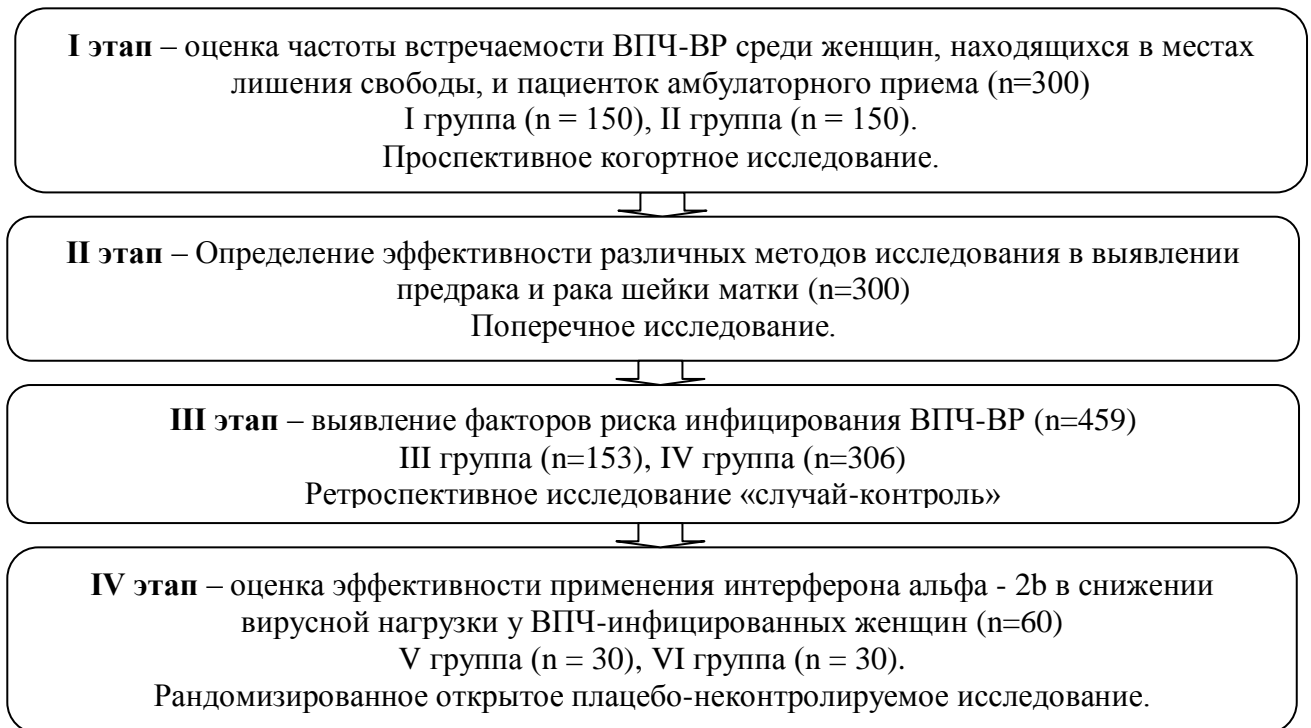


Рисунок 1 - Схема дизайна исследования

### **Методы исследования.**

Клинический. Проведен сбор клинико-анамнестических данных, общий и гинекологический осмотры.

Цитологическое исследование образцов выполняли методом традиционной и жидкостной цитологии, результаты оценивались согласно классификации TBS (The Bethesda system, 2001г.).

Молекулярно-биологический метод. Выявление, дифференциация и определение количественной концентрации ДНК ВПЧ-ВР 12 генотипов (16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59-й) проведены с помощью тест-системы производства ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ» - РеалБест ДНК ВПЧ ВКР скрин и генотип (комплект № 1) с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на регистрирующем планшетном амплификаторе "CFX-96" производства фирмы "Bio-RaD", США.

Эндоскопический метод. Расширенная кольпоскопия проведена с помощью бинокулярного кольпоскопа «ЭКС-1М» с цифровой видеосистемой (Белоруссия). Интерпретация кольпоскопической картины проводилась согласно международной классификации кольпоскопических терминов (Рио-де-Жанейро, 2011).

Гистологическое исследование. Материал, полученный в ходе прицельной биопсии шейки матки, был фиксирован в 10% формалине, проведен через ксилолы и спирты восходящей плотности в соответствии с требованиями гистологической техники и залит в парафиновые блоки. Для морфологической диагностики использовались две стандартные гистологические окраски (гематоксилин-эозин и по Ван-Гизону) и микроскопия полученных объектов. Исследование проводилось на базе ГБУЗ «Кемеровское областное патологоанатомическое бюро».

Всего методом ПЦР исследованы образцы, полученные от 560 пациенток, традиционным и жидкостным цитологическими методами – 300 образцов, расширенная кольпоскопия проведена 300 пациенткам, гистологическим методом исследованы 82 образца.

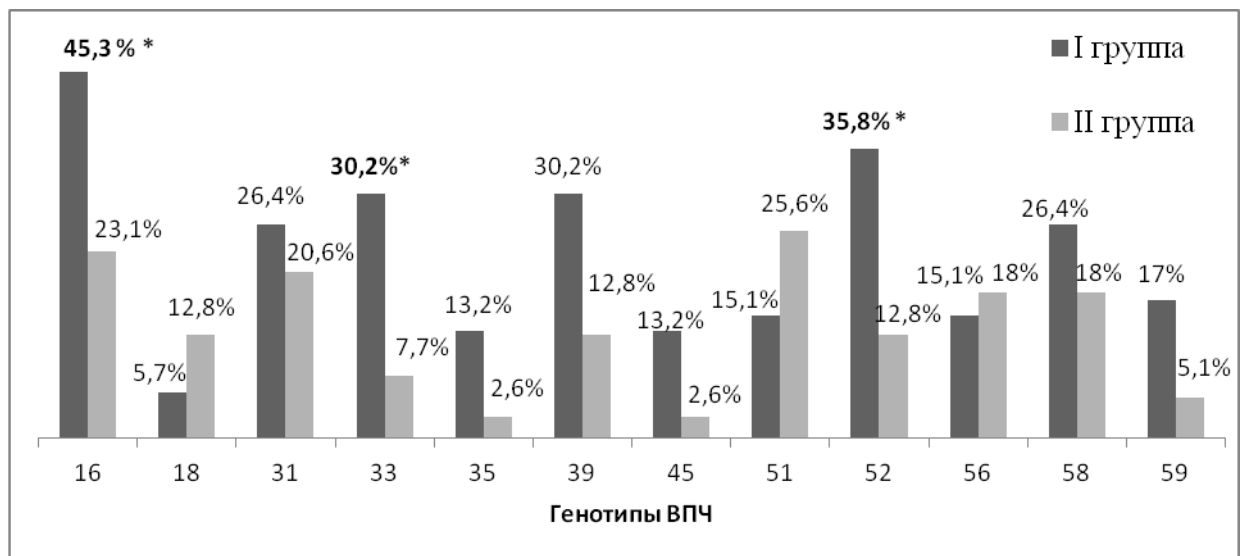
Статистическая обработка данных проведена с использованием программы Microsoft Office Excel 2013 для работы с электронными таблицами и программы IBM SPSS v. 24. Для изучения изменения данных в динамике (на сопряженных совокупностях) и определения статистической значимости различий использовался критерий Вилкоксона. Для оценки статистической значимости в группах сравнения (на несопряженных совокупностях) применялся критерий Манна-Уитни. Проверка статистических гипотез проводилась по методу  $\chi^2$ . Определение эффективности различных методов исследования проводилось по стандартным формулам определения чувствительности (Se), специфичности (Sp), прогностической ценности и отношения правдоподобия для положительного и отрицательного результатов теста (PPV, NPV, ОП+, ОП-). Согласованность между результатами тестов проводилась по коэффициенту k (каппа Коэна) и проценту согласия. Эффект воздействия каждого фактора риска инфицирования ВПЧ оценивался по величине отношения шансов (OR), а также с помощью логистического регрессионного анализа. Различия считались статистически значимыми при уровне  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Частота встречаемости и особенности ВПЧ высокого канцерогенного риска у женщин, находящихся в местах лишения свободы, и пациенток амбулаторного приёма

Для выявления частоты встречаемости ВПЧ-ВР обследованы 300 женщин в возрасте 25–59 лет (I группа – 150 женщин, находящихся в местах лишения свободы, II группа – 150 пациенток амбулаторного приёма). Средний возраст в I группе составил  $37,3 \pm 8,0$  лет, во II группе –  $36,7 \pm 9,8$  лет ( $p=0,242$ ).

Частота инфицирования ВПЧ-ВР была выше в I группе (36,7% против 26,0% во II группе),  $\chi^2 = 3,97$ ,  $p=0,046$ . Моноинфекция выявлена в 36% случаев в I группе и в 56% во II группе, сочетанная инфекция в 64% и 44% соответственно ( $\chi^2=3,84$ ;  $p=0,050$ ). В I группе 44,1% женщин были инфицированы одновременно  $\geq 4$  генотипами ВПЧ-ВР (у 2,9% женщин обнаружено сочетание 9 генотипов). Во II группе в 64,7% случаев встречалось сочетание двух генотипов, а в 35,3% – сочетание трех генотипов ВПЧ-ВР. В среднем среди заключенных женщин было обнаружено  $2,74 \pm 1,92$  генотипов, а в группе амбулаторного приёма –  $1,59 \pm 0,75$  ( $p=0,004$ ). Как при моноинфекции, так и при сочетанной инфекции чаще встречались генотипы из А7 и А9 филогенетических групп. Частота встречаемости различных генотипов ВПЧ в группах представлена на рисунке 2.



\* $p < 0,05$

Рисунок 2 - Частота встречаемости различных генотипов ВПЧ-ВР у женщин I и II групп

В I группе статистически значимо чаще выявлены: 16 - 45,3% ( $p=0,005$ ), 52 - 35,8% ( $p=0,025$ ), 33 - 30,2% ( $p=0,007$ ) генотипы. В обеих группах доля ВПЧ-инфицированных женщин была выше в возрасте 25-39 лет (69,1% в I группе и 79,4% во II группе). Женщины I группы в анамнезе имели большее количество беременностей ( $p=0,002$ ), раньше начинали половую жизнь ( $p<0,001$ ), чаще страдали инфекциями, передаваемыми половым путем (ИППП;  $p<0,001$ ), курили и употребляли наркотики ( $p<0,001$ ).

### **Особенности ВПЧ-инфекции у женщин, инфицированных ВИЧ**

При изучении особенностей ВПЧ-инфекции у женщин, находящихся в местах лишения свободы, установлено, что 33,3% (50/150) инфицированы ВИЧ. III стадия ВИЧ-инфекции зарегистрирована у 78,1%, IV стадия – у 21,9% пациенток. Из 32 ВПЧ-позитивных ВИЧ-инфицированных женщин наркотики употребляли 87,5%. ВПЧ-ВР выявлен у 58,2% ВИЧ-инфицированных пациенток (32/50), что достоверно выше, чем в группе заключенных женщин без ВИЧ-инфекции ( $\chi^2=24,13$ ,  $p<0,001$ ). В группе ВПЧ-позитивных ВИЧ-инфицированных женщин АРВТ принимали только 3 пациентки (9,4%), остальные отказались от лечения.

У ВИЧ-инфицированных женщин преобладали 16 (51,6%), 39 (41,9%) и 52 (38,7%) генотипы, статистически значимо чаще встречался 39 генотип ВПЧ ( $p = 0,026$ ). Частота моноинфекции и сочетания нескольких генотипов ВПЧ-ВР между ВИЧ-позитивными и ВИЧ-негативными женщинами статистически значимо не отличалась ( $\chi^2=0,13$ ,  $p=0,718$ ). Однако, при анализе количества генотипов у ВИЧ-инфицированных пациенток установлено, что сочетание 4-х и более генотипов статистически значимо выше (12/31), чем в группе ВПЧ-позитивных женщин без ВИЧ-инфекции (3/22),  $p=0,043$ .

Установлено, что длительность течения ВИЧ-инфекции у ВПЧ-позитивных пациенток была статистически значимо выше, чем у ВПЧ-негативных женщин ( $p=0,005$ ). Женщины с ВИЧ-инфекцией, принимающие АРВТ были достоверно реже инфицированы ВПЧ-ВР (OR=0,13; 95%ДИ 0,03-0,58;  $p=0,006$ ). Связи между частотой инфицирования ВПЧ-ВР и стадией ВИЧ-инфекции, наличием наркотической зависимости, стажем наркомании не зарегистрированы ( $p>0,05$ )

### Факторы риска ВПЧ инфицирования

Для оценки факторов риска проведено ретроспективное исследование «случай-контроль» среди 459 обследованных женщин в возрасте 25-59 лет (III группа – 153 пациентки с положительным результатом ВПЧ-тестирования, IV группа – 306 женщин с отрицательным результатом ВПЧ-теста). Средний возраст пациенток III группы составил  $34,6 \pm 8,7$  лет, IV группы -  $37,4 \pm 8,7$  лет ( $p < 0,001$ ). Были изучены основные факторы риска инфицирования ВПЧ-ВР, наиболее значимые занесены в компьютерную программу для проведения логистического регрессионного анализа. Обобщенные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Факторы риска инфицирования ВПЧ-ВР

	OR	95% ДИ	p	B	Стд. Ошибка	Вальд	Знч.
Возраст $\leq 29$ лет	2,13	1,40-3,25	<0,001	-0,012	0,017	0,542	0,462
Отсутствие высшего образования	1,62	1,07-2,46	0,017	-0,339	0,154	4,828	0,028
Семейное положение (не замужем)	2,13	1,40-3,25	<0,001	0,205	0,215	0,903	0,342
Курение	1,89	1,25-2,85	0,001	0,264	0,199	1,765	0,184
Наркотическая зависимость	2,73	1,54-4,85	<0,001	-1,294	1,200	1,164	0,281
Начало половой жизни $\leq 16$ лет	2,93	1,73-4,98	<0,001	0,167	0,074	5,098	0,024
$\geq 3$ половых партнеров за всё время	2,75	1,77-4,28	<0,001	-0,083	0,061	1,883	0,170
$\geq 2$ половых партнеров за последние 3 года	2,53	1,41-4,52	<0,001	0,492	0,242	4,147	0,042
ВИЧ	4,23	2,20-8,20	<0,001	-19,491	6,511	0,001	0,998
ИППП	2,58	1,53-4,35	<0,001	- 1,815	0,419	18,761	<0,001
Константа				4,862	1,302	0,001	0,997

Риск инфицирования ВПЧ-ВР по данным исследования не был связан с применением различных методов контрацепции, количеством родов и аборт, предшествующими хирургическими манипуляциями на шейке матки, наличием соматических заболеваний и онкологического анамнеза у близких родственников ( $p > 0,05$ ). Установлено, что факторами риска инфицирования ВПЧ являются: молодой возраст, семейное положение (не замужем), низкий уровень образования, олигоменорея, спринцевание, отсутствие беременностей в анамнезе, высокий промискуитет, раннее начало половой жизни, ИППП в анамнезе, курение и наркотическая зависимость. Факторами устойчивости являются: наличие миомы

(OR=0,53), эндометриоза (OR=0,4) и прекращение курения (OR=0,49; 95%ДИ 0,26-0,92).

### Частота встречаемости LSIL, HSIL и рака шейки матки у пациенток амбулаторного приёма и женщин высокого социального риска

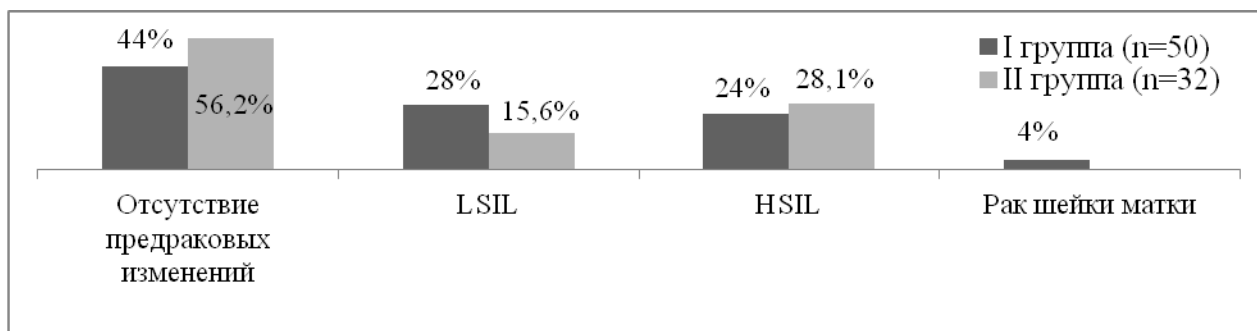
По результатам всех методов исследования патологические изменения диагностированы у 74 женщин (49,3%) I группы и 43 женщин (28,7%) II группы ( $\chi^2 = 13,47$ ;  $p < 0,001$ ). Согласие на проведение прицельной биопсии получено у 50 женщин, находящихся в местах лишения свободы, и 32 женщины амбулаторного приёма. Результаты всех методов исследования у данных групп представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Результаты различных методов исследования в группах

Методы исследования	I группа (n=50)		II группа (n=32)	
	LSIL, n (%)	HSIL, n (%)	LSIL, n (%)	HSIL, n (%)
Цитология	9 (18,0)	5 (10,0)	4 (12,5)	1 (3,1)
Жидкостная цитология	7 (14,0)	2 (4,0)	3 (9,4)	-
Кольпоскопия*	9 (18,0)	12 (24,0)	11 (34,4)	14 (43,7)
ВПЧ (УЗ)	34 (64,0)		26 (81,2)	
ВПЧ (Qvintip)	32 (68,0)		27 (84,4)	
Всего женщин с ВПЧ-ВР	40 (80,0)		28 (87,5)	

\*Аномальная кольпоскопическая картина I степени (подозрение на LSIL); II степени (подозрение на HSIL)

Группы не имели статистически значимых отличий по числу патологических результатов исследований ( $p > 0,05$ ). У женщин, находящихся в местах лишения свободы, предраковые поражения и РШМ встречались в 2 раза чаще, чем в группе амбулаторного приёма (18,7% и 9,3% соответственно,  $p = 0,019$ ). Результаты гистологического исследования представлены на рисунке 3.



\* $p < 0,05$

Рисунок 3 - Результаты гистологического исследования в I и II группах

В структуре HSIL в I группе CIN2 и CIN3 верифицированы в 9 случаях (18%), CIS - в 3 случаях (6%). В IV группе - CIN2 и CIN3 был подтвержден в 7 случаях (21,9%), CIS - в 2 (6,2%), РШМ - у 2 пациенток (4%). При предраковых поражениях и РШМ достоверно чаще встречался ВПЧ 16-го типа ( $\chi^2=5,04$ ;  $p=0,025$ ).

### **Прогностическая ценность цитологического метода, кольпоскопии и ВПЧ-тестирования в выявлении LSIL, HSIL и рака шейки матки**

Расчет прогностической ценности каждого из методов произведен среди женщин с гистологически верифицированным диагнозом (n=82). Эффективность методов при выявлении LSIL представлена в таблице 3.

Таблица 3 - Прогностическая ценность методов исследования в выявлении LSIL (n=82)

Метод исследования	Se,%	Sp,%	PPV,%	NPV,%	ОП+	ОП-
Цитология	21,0	87,5	44,4	70,0	1,68	0,90
Жидкостная цитология	21,0	100	100	72,7	$\infty$	0,79
Выявление ДНК ВПЧ-ВР (Qvintip)	57,9	30,0	28,2	60,0	0,83	1,40
Выявление ДНК ВПЧ-ВР (УЗ)	57,9	30,0	28,2	60,0	0,83	1,40
Кольпоскопия	57,9	57,5	39,3	74,2	1,36	0,73

Оба цитологических метода показали одинаковую чувствительность - 21%, однако и наибольшую специфичность среди всех тестов (традиционная цитология - 87,5%, жидкостная цитология - 100,0%). ВПЧ-тестирование (независимо от метода забора материала) и расширенная кольпоскопия характеризуются одинаковой чувствительностью - 57,9% и значительным количеством ложноположительных результатов. Эффективность в выявлении HSIL и РШМ продемонстрирована в таблице 4.

Таблица 4 - Прогностическая ценность методов исследования в выявлении HSIL и РШМ (n=82)

Метод исследования	Se,%	Sp,%	PPV,%	NPV,%	ОП+	ОП-
Цитология	43,5	87,5	66,7	72,9	3,48	0,65
Жидкостная цитология	34,8	100	100	72,7	$\infty$	0,65



Выявление ДНК ВПЧ-ВР (Qvintip)	87,0	30,0	41,7	80,0	1,24	0,43
Выявление ДНК ВПЧ-ВР (УЗ)	91,3	30,0	42,9	85,7	1,30	0,29
Кольпоскопия	78,3	57,5	51,4	82,1	1,84	0,38

В выявлении HSIL наиболее чувствительным методом оказалось выявление ДНК ВПЧ-ВР при взятии материала врачом (91,3%), сопоставимый показатель при взятии материала с помощью Qvintip (87,0%), однако большое количество ложноположительных результатов привело к низкой специфичности тестов (30,0%). В отличие от ВПЧ-тестирования, цитологические методы продемонстрировали большую специфичность (цитология – 87,5%, жидкостная цитология - 100,0%), но меньшую чувствительность (43,5% и 34,8% соответственно).

Наиболее высокий показатель ОП+ как при выявлении LSIL, так и HSIL продемонстрировало жидкостное цитологическое исследование (с учетом 100 % специфичности значение ОП+ стремится к бесконечности). Также высокий показатель ОП+ у традиционной цитологии (3,48). Интерпретировать полученные данные в отношении HSIL можно следующим образом: если по данным цитологического исследования выявлен предрак то вероятность того, что он есть в 3,5 раза выше вероятности его отсутствия. Более низким показателем ОП- обладает выявление ВПЧ-ВР при взятии материала врачом (0,29). Таким образом, при отрицательном результате ВПЧ-тестирования вероятность наличия SIL и РШМ в 3,4 раза (1/0,29) меньше вероятности того, что у женщины таких изменений нет.

Кластерный анализ показал, что между тестами имеется высокий процент несогласия (до 67%). Между цитологическими методами - 17%, между двумя методиками забора материала для ВПЧ-теста - 14%. Проведение логистической регрессии позволило установить, что сочетание ВПЧ-теста с жидкостным цитологическим исследованием повышает специфичность до 100%. При сочетании с кольпоскопией чувствительность составила 73,9%, специфичность - 72,5%.

### **Сравнительная оценка прогностической ценности определения ВПЧ-ВР с помощью системы самозабора и ВПЧ-теста материала, взятого исследователем**

Для оценки согласованности между тестами проведен расчет процента согласия и коэффициента согласованности среди женщин I и II групп (таблица 5).

Таблица 5 - Выявление ВПЧ-ВР при взятии материала врачом и при самостоятельном взятии мазка в исследуемых группах

	Оба метода «+» n (%)	Оба метода «-» n (%)	Выявил только УЗ	Выявил только Qvintip	% согласия	k	95% ДИ
I группа (n=150)	36 (24,0)	95 (63,3)	10 (6,7)	9 (6,0)	87,3	0,70	0,54-0,82
II группа (n=150)	35 (23,3)	111 (74,0)	1 (0,7)	3 (2,0)	97,3	0,93	0,80-0,96

Во II группе показатели были выше, чем в I (97,3%; k=0,93 и 87,3%; k =0,70 соответственно). Сравнительная оценка определения генотипов ВПЧ-ВР между двумя методиками забора материала проведена у пациенток I и II групп. Наибольший процент согласия установлен в выявлении 35-го генотипа (100%; k=1,0), наименьший - в выявлении 16-го генотипа (95,8%, k=0,8). Для остальных генотипов соглашение между тестами почти идеальное (97,8%-99,5%; k 0,85-0,96). Более чем в 2/3 случаев расхождение по результатам было зарегистрировано у женщин, находящихся в местах лишения свободы (19/23 случаев - 82,6%). При анализе согласованности в группах III (женщины с положительным результатом ВПЧ-теста, n=153) и IV (женщины с отрицательным результатом ВПЧ-теста, n=306) установлено почти идеальное соглашение (k=0,81), а процент согласия составил 92,2.

#### **Эффективность лечения ВПЧ с применением интерферона альфа-2b**

Были обследованы 60 женщин репродуктивного возраста (18-45 лет), инфицированных ВПЧ-ВР. Рандомизация проведена методом конвертов, сформировано 2 группы: V группа - 30 женщин, которым был назначен препарат интерферона альфа – 2b «Виферон». Способ применения – по 1 суппозиторию ректально (1.000.000 МЕ) 2 раза в день. Длительность лечения - 10 дней. VI группа - 30 женщин, которым лечение не проводилось. Контрольный визит через 1 месяц. Средний возраст женщин V группы составил 31,7±8,4 года, VI группы - 35,0 ± 8,5 лет (p = 0,081). При анализе выявленных генотипов ВПЧ-ВР установлено, что в V группе моноинфекция была диагностирована у 21/29 женщины (72,4%), в VI группе у 18/28 женщин (64,3 %). Сочетанная инфекция у 27,6 % и 35,7% пациенток соответственно ( $\chi^2=0,140$ ; p=0,708). При моноинфекции в обеих группах чаще

встречался ВПЧ16 (28,6% в V группе и 27,8% в VI группе). В VI группе также часто встречались 18-й и 58-й генотипы (16,7% и 22,2% соответственно), тогда как в V группе - 51-й и 56-й генотипы (14,2%). Различия по частоте встречаемости различных генотипов статистически незначимы ( $p > 0,05$ ).

Количественная концентрация ВПЧ снизилась в общем на 45,5% среди женщин V группы, на 18,3% у женщин VI группы ( $p = 0,013$ ). Сводные данные по уровню вирусной нагрузки при первом визите и контрольном обследовании представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Уровень вирусной нагрузки в группах, Lg (ВПЧ/  $10^5$  клеток)

Визит	Показатели	V группа (n=29)	VI группа (n=28)	p (U критерий Манна-Уитни)
Визит 0	M±σ	3,5±1,6	3,4±1,9	0,473
	Me	3,6	3,0	
	25-й перцентиль	2,4	1,7	
	75-й перцентиль	4,9	4,9	
Контрольное исследование	M±σ	1,9 ± 2,0	2,8 ± 2,5 Lg	0,045*
	Me	2,6	4,1	
	25-й перцентиль	2,1	2,8	
	75-й перцентиль	4,5	5,5	
p (критерий Вилкоксона)		< 0,001*	0,012*	

\* статистически значимые отличия

У пациенток обеих групп зарегистрировано статистически значимое снижение вирусной нагрузки, однако, в V группе снижение произошло от значимого количества (Me=3,6 Lg) до малозначимого (Me=2,6 Lg), тогда как в VI группе вирусная нагрузка осталась клинически значимой (Me=4,1 Lg). Частота элиминации ВПЧ у пациенток, получавших препарат составила 34,5%, в группе без лечения - 28,6% ( $p = 0,841$ ).

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что оптимальной системой цервикального скрининга является первоначальное применение ВПЧ-тестирования с последующим использованием у ВПЧ-позитивных

женщин метода жидкостной цитологии и расширенной кольпоскопии. У пациенток общей лечебной сети альтернативным подходом может быть применение методики самозабора материала для определения ВПЧ, у женщин высокого социального риска целесообразен забор материала подготовленным специалистом. Применение препарата интерферона альфа – 2b в дозе 2 млн. МЕ в сутки в течение 10 дней способствует более значимому снижению вирусной нагрузки ВПЧ-ВР относительно пациенток, не получавших лечения.

## ВЫВОДЫ

1. Частота встречаемости вируса папилломы человека высокого онкогенного риска у женщин, находящихся в местах лишения свободы, выше, чем у пациенток амбулаторного приёма, и составляет 36,7% и 26% соответственно ( $p=0,046$ ). У женщин, находящихся в местах лишения свободы, статистически значимо чаще регистрируются 16, 33 и 52 генотипы и сочетанная инфекция; в 2 раза чаще, чем в группе амбулаторного приёма, выявляются предраковые заболевания и рак шейки матки: 18,7% и 9,3% соответственно ( $p=0,019$ ).

2. Факторами риска инфицирования вирусом папилломы человека являются низкий уровень образования, курение, семейное положение - не замужем, отсутствие беременностей в анамнезе, возраст  $\leq 29$  лет, олигоменорея,  $\geq 2$  половых партнёров за последние 3 года, наличие в анамнезе инфекций, передаваемых половым путем, наркотическая зависимость,  $\geq 3$  половых партнёров в течение жизни, начало половой жизни  $\leq 16$  лет, спринцевание, ВИЧ-инфекция. На снижение риска инфицирования оказывают влияние прекращение курения, наличие эндометриоза и миомы матки.

3. Особенности у ВИЧ-положительных заключенных женщин является высокая частота встречаемости вируса папилломы человека (58,2%), преобладание 39 генотипа и сочетание 4-х и более генотипов. Приём адекватной антиретровирусной терапии и меньшая длительность ВИЧ-инфекции снижают риск инфицирования вирусом папилломы человека ( $OR=0,13$ ).

4. Все методы исследования обладают низкой чувствительностью в выявлении плоскоклеточного интраэпителиального поражения низкой степени (21-57,9%). Наибольшая чувствительность в обнаружении плоскоклеточного

интраэпителиального поражения высокой степени установлена для выявления ДНК вируса папилломы человека как при заборе материала врачом - 91,3%, так и при самостоятельном взятии материала - 87,0%. Сочетание ВПЧ-тестирования с рутинной цитологией позволяет увеличить специфичность диагностики плоскоклеточного интраэпителиального поражения высокой степени до 97,3%, с жидкостной цитологией – до 100%.

5. Выявление вируса папилломы человека высокого онкогенного риска при взятии материала с помощью устройства для самозабора сопоставимо с результатом при взятии материала врачом ( $k = 0,81-1,0$ ; процент согласия составляет 95,8-100%). При использовании методики самозабора у женщин амбулаторного приёма установлено почти идеальное согласие между тестами ( $k=0,93$ ). Основная доля разногласий зафиксирована в группе заключенных женщин (82,6%).

6. Применение препарата интерферона альфа-2b в форме суппозиторий ректальных в дозе 1000000 МЕ по 2 раза в день в течение 10 дней у женщин репродуктивного возраста, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска, способствует более значимому снижению вирусной нагрузки относительно пациенток, не получавших лечения (45,5% и 18,3% соответственно,  $p=0,013$ ), однако частота элиминации вируса папилломы человека у пациенток обеих групп была сопоставима - 34,5% и 28,6% соответственно ( $p=0,841$ ).

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Выявление вируса папилломы человека высокого онкогенного риска необходимо проводить в качестве первичного метода скрининга для формирования группы высокого риска по развитию рака шейки матки.

2. Самозабор материала для ВПЧ-тестирования может являться альтернативным методом скрининга рака шейки матки у пациенток общей лечебной сети. У женщин высокого социального риска целесообразно осуществлять забор материала подготовленным специалистом.

3. При положительном результате ВПЧ-тестирования необходимо проведение цитологического исследования.

4. Женщин, инфицированных ВИЧ, необходимо информировать, что адекватная антиретровирусная терапия способствует снижению риска инфицирования вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска.

5. ВПЧ-позитивным пациенткам целесообразно рекомендовать применение препарата интерферона альфа-2b в форме ректальных суппозиторий в дозе 1000000 МЕ 2 раза в сутки в течение 10 дней.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Марочко, К.В. Проблемы диагностики рака шейки матки в Кемеровской области / К.В. Марочко, Н.В. Артымук, Т.И. Фетисова // **Мать и дитя в Кузбассе**. – 2015. – № 4. – С. 31-35. ИФ РИНЦ - 0,191.

2. Артымук, Н.В. Эффективность выявления вируса папилломы человека при помощи устройства для самостоятельного забора вагинального отделяемого/ Н.В. Артымук, К.В. Марочко // **Акушерство и гинекология**. – 2016. – № 3. – С. 85-91. ИФ РИНЦ - 0,686.

3. Марочко, К.В. Чувствительность методов исследования в выявлении цервикальной интраэпителиальной неоплазии 3 степени и рака шейки матки / К.В. Марочко // **Фундаментальная и клиническая медицина**. – 2016. – № 2. – С. 51-55.

4. Марочко, К.В. Рак шейки матки: проблемы вторичной профилактики в Кемеровской области / К.В. Марочко // **Сборник тезисов XI Международной (XX Всероссийской) Пироговской медицинской конференции студентов и молодых ученых**. – Москва, 2016. – С. 44.

5. Artymuk N. The prevalence of human papillomavirus infection among female prisoners in Siberia / N. Artymuk, K. Marochko // **The Official Journal of the European Society of Contraception and Reproductive Health. Book of Abstracts. The 14th Congress – 2nd Global Conference of the European Society of Contraception and reproductive health Basel, 4-7 May**. – Switzerland, 2016. – P. 133.

6. Артымук, Н.В. Частота встречаемости ВПЧ высокого онкогенного риска среди женщин, находящихся в местах лишения свободы / Н.В. Артымук, К.В. Марочко // **Материалы конгресса «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний»**, 7-10 июня. – Москва, 2016. – С. 80- 81.

7. Artymuk N. The predictive value of the self-sampling of human papillomavirus DNA for the diagnosis of CIN and cervical cancer / N. Artymuk, K. Marochko // **The 24th World Congress on Controversies in Obstetrics Gynecology and Infertility (COGI). Allabout women`s health, 10-13 November. Congress Program**. – Amsterdam. The Netherlands, 2016. – P. 123.

8. Марочко, К.В. Возможности интерферонотерапии в лечении женщин, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска / К.В. Марочко, Н.В. Артымук // **Мать и дитя в Кузбассе**. – 2017. – № 1. – С. 28-33. ИФ РИНЦ - 0,191.

9. Марочко, К.В. Современные подходы к скринингу рака шейки матки: метод. рекомендации / К.В. Марочко, Н.В. Артымук. – Кемерово, 2017. – 18 с.

10. Марочко, К.В. Роль интерферона альфа-2b в снижении вирусной нагрузки у ВПЧ-инфицированных женщин / К.В. Марочко, Н.В. Артымук // **Мать и дитя в Кузбассе**. – 2017. – № 2. – С. 28-33. ИФ РИНЦ - 0,191.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АРВТ - антиретровирусная терапия

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВПЧ - вирус папилломы человека

ВПЧ-ВР – вирус папилломы человека высокого онкогенного риска

ДИ - доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИППП – инфекции, передаваемые половым путем

ОП+/ОП - отношение правдоподобия для положительного/отрицательного результатов теста

OR (odds ratio) – отношение шансов

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РШМ – рак шейки матки

УЗ - урогенитальный зонд

CIN – цервикальная интраэпителиальная неоплазия

CIS - карцинома in situ

HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesions) - плоскоклеточное интраэпителиальное поражение высокой степени

LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesions) - плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени

NPV (negative predictive value) - прогностичность отрицательного результата

PPV (positive predictive value) - прогностичность положительного результата

Qvintip - устройство для самостоятельного забора материала для ВПЧ-тестирования

Se (sensitivity) - чувствительность

Sp (specificity) - специфичность