

На правах рукописи

НЕЧАЕВА ИРИНА АНАТОЛЬЕВНА

**ОПТИМИЗАЦИЯ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ УРОГЕНИТАЛЬНОЙ
ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У НЕСОВЕРШЕННОЛЕТНИХ**

14.00.11 – кожные и венерические болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва, 2009 г.

Работа выполнена в отделе инфекций, передаваемых половым путем, Федерального государственного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи»

Научный руководитель:

Кандидат медицинских наук
доцент

Рахматулина Маргарита Рафиковна

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук,
профессор

Дубенский Валерий Викторович

Доктор медицинских наук,
профессор

Халдин Алексей Анатольевич

Ведущее научное учреждение: Российский Университет Дружбы Народов, Москва

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2009 года в 12 часов на заседании Диссертационного совета Д208.115.01 при Федеральном государственном учреждении «Государственный научный центр дерматовенерологии Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи» по адресу: 107076, г. Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий»

Автореферат разослан «___» _____ 2009 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета,
кандидат медицинских наук

Наталья Константиновна Иванова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Папилломавирусная инфекция (ПВИ) является одной из наиболее распространенных в структуре инфекций, передаваемых половым путем. В последние годы заметно возросло количество детей, страдающих данной патологией (Асламазян Л.К., Мазитова Л.П., 2006). Высокий уровень заболеваемости среди данной популяции и ведущая роль вируса папилломы человека (ВПЧ) в патогенезе развития рака шейки матки определяет актуальность изучения папилломавирусной инфекции аногенитальной области у детей.

В научной литературе до настоящего времени недостаточно освещены вопросы частоты распространенности ПВИ у детей в разные возрастные периоды, особенности путей инфицирования и факторы риска распространения ПВИ в популяции до 18 лет. До настоящего времени отсутствуют сведения об эпидемиологии различных генотипов ВПЧ у детей, а также характере клинических проявлений, кольпоскопических и цитологических особенностях ПВИ аногенитальной области у несовершеннолетних. Известно, что ПВИ нередко ассоциирована с возбудителями инфекций, передаваемых половым путем (ИППП) и условно-патогенными микроорганизмами. Так, по данным исследований А.А. Кубанова (2005 г.), у взрослых пациентов наиболее клинически значимые ассоциации, выразившиеся в высокой частоте сочетаний выявленных возбудителей, наблюдались между вирусом папилломы человека и *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* и *Gardnerella vaginalis*. Однако, у детей частота сочетаний ВПЧ с возбудителями ИППП и условно-патогенной микрофлорой изучена недостаточно.

Известно, что при заражении ВПЧ, как правило, развивается патологический процесс, клинические проявления которого обусловлены типом вируса, а степень их выраженности зависит от особенностей иммунного статуса каждого конкретного пациента (В.И. Киселев, О.И. Киселев, 2003). Рядом исследователей дается разноречивая оценка роли различных звеньев иммунитета, как гуморального, так и клеточно-опосредованного, в развитии данного заболевания (Долгушина В.Ф., 2001, Дубенский В.В. и соавт., 2001, Кубанов А.А., 2005).

Также остается открытым для исследований вопрос тактики лечения папилломавирусной инфекции у детей. Лечение заболеваний, обусловленных ВПЧ, является важным этапом профилактики злокачественных новообразований шейки матки и сохранения репродуктивного здоровья молодежи. В современной научной литературе предлагается множество способов лечения клинических проявлений ПВИ (криодеструкция, электродеструкция, лазерная вапоризация, радиохирургическое удаление), но ни одна из методик не является приоритетной при выборе тактики лечения ребенка в силу высокого риска побочных эффектов и осложнений, технической сложности выполняемых манипуляций (Tuncel A., Gorgu M., Ayhan M., Deren O., Erdogan B., 2002, Коколина В.Ф., Харыбина Е.И., Картелишев А.В., 2005, Асламазян Л.К. и соавт., 2006.).

Цель исследования

Оптимизация диагностики и лечения несовершеннолетних с урогенитальной папилломавирусной инфекцией на основании результатов клинико-лабораторных и инструментальных исследований.

Задачи исследования

1. Изучить пути инфицирования и характер клинических проявлений урогенитальной папилломавирусной инфекции у несовершеннолетних в зависимости от генотипа вируса.
2. Изучить особенности поражения слизистой оболочки шейки матки у девочек-подростков с папилломавирусной инфекцией аногенитальной области на основании результатов кольпоскопического и цитологического исследований.
3. Исследовать частоту выявляемости возбудителей ИППП и нарушения вагинального микроценоза у детей с папилломавирусной инфекцией аногенитальной области.
4. Изучить уровень показателей клеточного иммунитета и цитокинов гамма-интерферона, фактора некроза опухоли альфа, интерлейкинов 4 и 12 у несовершеннолетних с урогенитальной папилломавирусной инфекцией и возможность влияния этих показателей на течение заболевания.
5. Изучить эффективность применения у детей с папилломавирусной инфекцией аногенитальной области препарата мурамилдипептидного ряда – «Ликопида».

Основные положения, выносимые на защиту

1. Основным путем инфицирования ВПЧ у несовершеннолетних является половой путь, реже аутоинокуляция и перинатальная передача, при этом удельный вес детей зараженных при половом контакте составляет 78,4%.

Достоверно чаще клиническими проявлениями папилломавирусной инфекции у несовершеннолетних вне зависимости от пола являются аногенитальные бородавки, у девочек в том числе и в сочетании с «фоновым» поражением слизистой оболочки шейки матки (31,5% и 38,4% соответственно) ($p < 0,05$).

У несовершеннолетних с клиническими проявлениями ПВИ достоверно чаще выявляется ВПЧ «высокого онкогенного риска» (32,6%) по сравнению с ВПЧ «низкого онкогенного риска» (11,3%) ($p < 0,05$).

2. Изменения слизистой оболочки шейки матки, характерные для патологического процесса, достоверно чаще наблюдаются у девочек-подростков, инфицированных ВПЧ, по сравнению с группой здоровых детей ($p < 0,01$). У девочек с ВПЧ «высокого» и «среднего онкогенного риска» при кольпоскопическом исследовании атипическая зона трансформации наблюдается достоверно чаще ($p < 0,05$), по сравнению с

группой девочек, инфицированных ВПЧ «низкого онкогенного риска». Наличие критериев, характеризующих дисплазию легкой степени, выявляются в группе несовершеннолетних, инфицированных ВПЧ «высокого онкогенного риска».

3. У несовершеннолетних папилломавирусная инфекция ассоциируется с другими ИППП и условно-патогенными микроорганизмами в 87% наблюдений, при этом наиболее высокая частота сочетаний наблюдается между ВПЧ и *Ureaplasma urealyticum* ($p < 0,05$), реже *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Candida spp.*
4. Иммунный статус подростков с урогенитальной папилломавирусной инфекцией характеризуется статистически достоверным снижением уровня активированных Т-лимфоцитов и тенденцией к повышению уровня Т-киллеров, что характеризует недостаточную активацию иммунной системы.
5. При лечении препаратом «Ликопид» положительная динамика патологического процесса на слизистой оболочке шейки матки наблюдается у детей с продолжительностью папилломавирусной инфекции не более 6 месяцев, с неотягощенным соматическим анамнезом и площадью поражения слизистой оболочки шейки матки не более 25%. Применение Ликопида при других формах урогенитальной папилломавирусной инфекции неэффективно и не предупреждает возможность рецидивов.

Научная новизна

Впервые установлено, что как латентная, так и манифестная формы ПВИ выявляются достоверно чаще у детей, имеющих в анамнезе половые контакты. Показано, что основным путем инфицирования ВПЧ у несовершеннолетних является половой путь (78,4%), реже наблюдается аутоинокуляция (13,7%) и перинатальная передача (2,8%).

Впервые при клинической оценке поражения аногенитальной области у детей с папилломавирусной инфекцией установлена корреляция клинических проявлений с генотипом вируса. У несовершеннолетних с клиническими проявлениями ПВИ достоверно чаще выявляется ВПЧ «высокого онкогенного риска» (32,6%) по сравнению с ВПЧ «низкого онкогенного риска» (11,3%) ($p < 0,05$).

Впервые при изучении особенностей поражения шейки матки у детей с папилломавирусной инфекцией аногенитальной области продемонстрировано, что у девочек с ВПЧ «высокого» и «среднего онкогенного риска» патологическая кольпоскопическая картина, характеризующая атипическую зону трансформации, наблюдается чаще, по сравнению с другими анализируемыми группами ($p < 0,05$).

Впервые при изучении частоты выявляемости ИППП и условно-патогенных микроорганизмов у детей с папилломавирусной инфекцией показано, что ПВИ ассоциируется с другими урогенитальными инфекциями в 87% наблюдений, при этом наиболее высокая частота сочетаний наблюдается между ВПЧ и *Ureaplasma urealyticum* ($p < 0,05$), реже *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Candida spp.*

Впервые показано, что иммунный статус детей с папилломавирусной инфекцией аногенитальной области характеризуется снижением активированных Т-лимфоцитов и тенденцией к повышению уровня Т-киллеров.

Установлено, что при лечении препаратом «Ликопид» положительная динамика патологического процесса на слизистой оболочке шейки матки наблюдается у детей с небольшой продолжительностью заболевания, с неотягощенным соматическим анамнезом и площадью поражения слизистой оболочки не более 25%.

Практическая значимость.

Установлено, что основным путем инфицирования вирусом папилломы человека у несовершеннолетних является половой путь, реже аутоинокуляция и перинатальная передача.

Ассоциация ВПЧ с другими урогенитальными инфекциями выявляется у 87% несовершеннолетних, при этом наиболее высокая частота сочетаний наблюдается между ВПЧ и *Ureaplasma urealyticum*, реже *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Candida spp.*, что влияет на клиническую картину заболевания и требует комплексного клиничко-лабораторного обследования детей с папилломавирусной инфекцией аногенитальной области.

Включение препарата «Ликопид» в комплексную терапию папилломавирусной инфекции аногенитальной области обосновано у девочек-подростков с продолжительностью заболевания не более 6 месяцев, с неотягощенным соматическим анамнезом и площадью поражения слизистой оболочки шейки матки не более 25%; применение Ликопида при других формах папилломавирусной инфекции неэффективно и не предупреждает возможных рецидивов.

Внедрение результатов в практику

Результаты проведенных исследований внедрены в практику работы отделения урогенитальных инфекционных заболеваний ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», клиники кожных и венерических болезней ГОУ ВПО «Саратовского государственного медицинского университета имени В.И. Разумовского» и специализированных подростковых центров профилактики и лечения ИППП, организованных на базе ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», ГУЗ «Мурманский областной центр специализированных видов медицинской помощи».

Апробация работы

Результаты проведенного исследования доложены на:

1. Заседании Московского отделения Российского общества дерматовенерологов, 2007 год.
2. II Всероссийском конгрессе дерматовенерологов, Санкт-Петербург, 2007 год.

3. Семинаре-тренинге «Организация деятельности подростковых специализированных центров профилактики и лечения ИППП», Иркутск, 2007 год.
4. Научно-практической конференции ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», Москва, 2008 год.

Публикации

По теме настоящей диссертации опубликовано 9 научных работ.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 144 страницах машинописного текста, иллюстрирована 24 рисунками, имеет 18 таблиц. Список литературы включает 38 отечественных и 87 зарубежных источников.

Содержание работы

Материалы и методы исследования.

Клинико-лабораторное обследование детей проводилось в отделе инфекций, передаваемых половым путем, ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий» в период с 2006 года по 2009 год. Под нашим наблюдением находилось 854 ребенка в возрасте от 3 месяцев до 15 лет, из них было 138 (16,2%) мальчиков, 716 (83,8%) девочек. Папилломавирусная инфекция была выявлена у 174 (20,4%) пациентов: у 28 (16,1%) мальчиков и у 146 (83,9%) девочек в возрасте от 2 до 15 лет. Дети были разделены на 2 группы: I группа (дети с латентной формой папилломавирусной инфекции) – 33 человека (19,0%), II группа (дети, имеющие клинические и субклинические проявления папилломавирусной инфекции) – 141 человек (81,0%). Среди детей I группы было 7 мальчиков и 26 девочек, II группы – 21 мальчик и 120 девочек. В качестве группы сравнения были обследованы 30 клинически здоровых детей в возрасте от 2 до 15 лет (III группа). С целью изучения риска перинатальной передачи вируса папилломы человека были обследованы 104 ребенка в возрасте от 3 месяцев до 5 лет, матери которых на момент беременности и родов имели клинически и лабораторно подтвержденную папилломавирусную инфекцию.

При физикальном обследовании оценивали состояние кожных покровов верхних и нижних конечностей, туловища, слизистых оболочек органов мочеполовой системы, аноректальной области и ротовой полости.

Комплекс лабораторных исследований включал в себя: проведение бактериоскопического и культурального исследований клинического материала, полученного со слизистой оболочки уретры, преддверия влагалища, влагалища, цервикального канала для идентификации патогенных (*Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*) и условно-патогенных микроорганизмов.

Серологическое исследование сыворотки крови с помощью иммуноферментного анализа осуществляли для определения антител к ВИЧ, сифилису, вирусным гепатитам В и С.

С целью изучения особенностей поражения слизистой оболочки шейки матки расширенное кольпоскопическое исследование с применением пробы с 3% раствором уксусной кислоты и пробы Шиллера проведено 97 девочкам в возрасте от 10 до 15 лет, которые были разделены на 4 группы в зависимости от степени онкогенности выявленных ВПЧ: 1 группа – 34 (35,1%) девочки с выявленным ВПЧ «высокого онкогенного риска»; 2 группа – 17 (17,5%) девочек с ВПЧ «среднего онкогенного риска»; 3 группа – 16 (16,5%) девочек с ВПЧ «низкого онкогенного риска»; 4 группа – 30 (30,9%) здоровых девочек составили группу сравнения.

Методом слепой выборки 30 детям, принимавшим в качестве лечения препарат «Ликопид», проводилось иммунологическое исследование сыворотки крови методом ИФА для определения уровня цитокинов IL-4, IL-12, TNF, IFN- γ , а также определялись показатели клеточного иммунитета методом лазерной проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител («Beckman Coulter») к дифференцировочным антигенам лимфоцитов периферической крови. Критериями включения для участия в данном исследовании были: отсутствие противопоказаний для применения иммуностимулирующей терапии, отсутствие острых воспалительных заболеваний в течение 1 месяца, возраст детей от 14 до 15 лет, отсутствие приема лекарственных препаратов, витаминов и биологически активных добавок, способных повлиять на изучаемые показатели, в течение последних 6 месяцев. Группу сравнения составили 30 здоровых детей в возрасте от 14 до 15 лет.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программ Microsoft Excel и StatSoft STATISTICA 6.1 с использованием непараметрических тестов (хи-квадрат Макнемара и Q критерий Кохрена). Силу связи между значениями переменных оценивали с помощью коэффициента корреляции.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе исследования пациенты I и II групп были разделены по возрастному составу (таблица 1).

Таблица 1

Распределение пациентов по возрасту

Возрастной период	I группа (n=33)		II группа (n=141)		Всего (n=174)	
	абс	М \pm m	абс	М \pm m	абс	М \pm m
2 - 9 лет	4	12,1 \pm 5,6	3	2,1 \pm 1,2	7	4,0 \pm 1,4
10 – 15 лет*	29	87,9 \pm 5,6	138	97,9 \pm 1,2	167	96,0 \pm 1,4

*p<0,05

Согласно полученным данным, большая часть детей с папилломавирусной инфекцией аногенитальной области находилась в возрасте от 10 до 15 лет: в I группе – 29 (87,9 \pm 5,6%) пациентов, во II группе – 138 (97,9 \pm 1,2%) пациентов (p<0,05). В ходе исследования было продемонстрировано, что у детей в возрасте от 2 до 9 лет чаще наблюдалось

бессимптомное течение заболевания, а в возрасте от 10 до 15 лет преобладала клинически выраженная форма ПВИ.

При анализе социального статуса было показано, что большинство детей с урогенитальной папилломавирусной инфекцией ($66,1 \pm 3,6\%$) находились на воспитании в социально-реабилитационных центрах, приютах и детских домах, и только $33,9 \pm 3,6\%$ детей были социально-адаптированы ($p < 0,05$).

При изучении сексуального анамнеза установлено что, как латентная, так и манифестная формы ПВИ, выявлялась достоверно чаще у детей, имеющих в анамнезе половые контакты ($p < 0,05$). Среди детей I группы половые контакты в анамнезе имели 27 ($81,8 \pm 6,7\%$) детей, из них на начало половой жизни в возрасте до 12 лет указывали 2 ($6,0\%$) ребенка, в возрасте от 12 до 15 лет – 25 ($75,8\%$) детей. Половые контакты во II группе имели 124 ($87,9 \pm 2,7\%$) ребенка, среди детей II группы сексуальный дебют в возрасте от 10 до 12 лет был у 9 ($6,4\%$) человек и в возрасте от 12 до 15 лет – у 115 ($81,6\%$) человек.

Установлено, что у детей, как I, так и II группы количество половых партнеров в течение жизни варьировало от 1 до 13, причем большинство обследованных указывало на наличие от 2 до 5 половых партнеров за период ведения половой жизни. В группе сравнения на наличие одного полового партнера указывали 2 ($6,7\%$) ребенка, остальные дети не имели половых контактов в анамнезе.

При изучении жалоб пациентов было выяснено, что основной причиной обращения за медицинской помощью послужило наличие неспецифических симптомов различных урогенитальных заболеваний. Достоверно чаще на зуд, жжение в аногенитальной области и диспареунию указывали дети II группы ($p < 0,05$). Жалобы на патологические высыпания в области половых органов предъявлял и $51,6 \pm 4,2\%$ обследованных детей II группы.

У пациентов II группы при объективном осмотре кондиломы в аногенитальной области были выявлены у $87,2 \pm 2,8\%$ детей, у $12,3 \pm 2,7\%$ манифестация проявлялась субклинической формой поражения слизистой оболочки шейки матки. Выделения из половых путей и дизурические явления в обеих группах наблюдались с одинаковой частотой (в I группе $63,6\%$ и $12,1\%$ соответственно, во II группе $66,6\%$ и $11,3\%$ соответственно) (таблица 2).

Таблица 2

Объективные симптомы у детей с урогенитальной папилломавирусной инфекцией

Объективные симптомы	I группа n=33		II группа n=141	
	abc	M±m	abc	M±m
Гиперемия в аногенитальной области*	12	$36,4 \pm 8,3$	92	$65,2 \pm 4,0$
Гиперемия в основании аногенитальных бородавок	-	-	21	$14,9 \pm 2,9$
Отечность слизистой оболочки аногенитальной области*	12	$36,4 \pm 8,3$	92	$65,2 \pm 4,0$
Вагинальные и	23	$69,7 \pm 7,9$	107	$75,8 \pm 3,6$

уретральные выделения				
Кровоточивость тканей	3	9,1 \pm 5,0	39	27,6 \pm 3,7
Кондиломы аногенитальной области	-	-	123	87,2 \pm 2,8
Отсутствие клинических проявлений	4	12,1 \pm 5,6	-	-

* p<0,05

При анализе клинических проявлений было показано, что у 25,0 \pm 8,1% мальчиков наблюдалась латентная форма ПВИ, у 75,0 \pm 8,2% - аногенитальные бородавки. Клинические проявления ПВИ аногенитальной области у мальчиков представлены в таблице 3.

Таблица 3

Клинические проявления урогенитальной ПВИ у мальчиков

Клинические проявления	Абс (n=28)	М \pm m
Латентная форма	7	25,0 \pm 8,1
Аногенитальные бородавки ствола и головки полового члена*	20	71,4 \pm 8,5
Эндоуретральные кондиломы наружного отверстия уретры	3	10,7 \pm 5,8
Аногенитальные бородавки перианальной области	1	3,6 \pm 3,5

*p<0,05

У девочек латентная форма ПВИ выявлялась у 17,8 \pm 3,2% пациенток, клинические и субклинические проявления ПВИ – у 82,2 \pm 3,3% пациенток. Аногенитальные бородавки были выявлены у 69,9 \pm 3,8% девочек, из них в качестве моносимптома ПВИ - у 31,5 \pm 3,8%. «Фоновое» поражение слизистой оболочки шейки матки в форме эктопии, как с нормальной, так и с атипической зоной трансформации, диагностировалось у 50,7 \pm 4,1% девочек, из них в сочетании с аногенитальными бородавками – у 38,4 \pm 4,0%, и в качестве моносимптома – у 12,3 \pm 2,7% девочек. Клинические проявления ПВИ аногенитальной области у девочек представлены в таблице 4.

Таблица 4

Клинические проявления урогенитальной ПВИ у девочек

Клинические проявления	Абс (n=146)	М \pm m
Латентная форма	26	17,8 \pm 3,2
Аногенитальные бородавки*	46	31,5 \pm 3,8
Аногенитальные бородавки в сочетании с «фоновым» процессом на шейке матки*	56	38,4 \pm 4,0
«Фоновый» процесс шейки матки	18	12,3 \pm 2,7

*p<0,05

Таким образом, основной формой проявления папилломавирусной инфекции у детей явились аногенитальные бородавки, в том числе и в сочетании с «фоновым» поражением слизистой оболочки шейки матки

($p < 0,05$). Реже наблюдалась латентная форма ПВИ и изолированное поражение слизистой оболочки шейки матки.

Согласно результатам наших исследований методом ПЦР ДНК ВПЧ была выявлена у 144 (82,7%) обследованных детей. Идентифицировать генотипы ВПЧ представилось возможным у 118 (67,8%) детей. Результаты исследования позволили провести дифференциацию типов ВПЧ в зависимости от степени их онкогенного риска (рисунок 1).

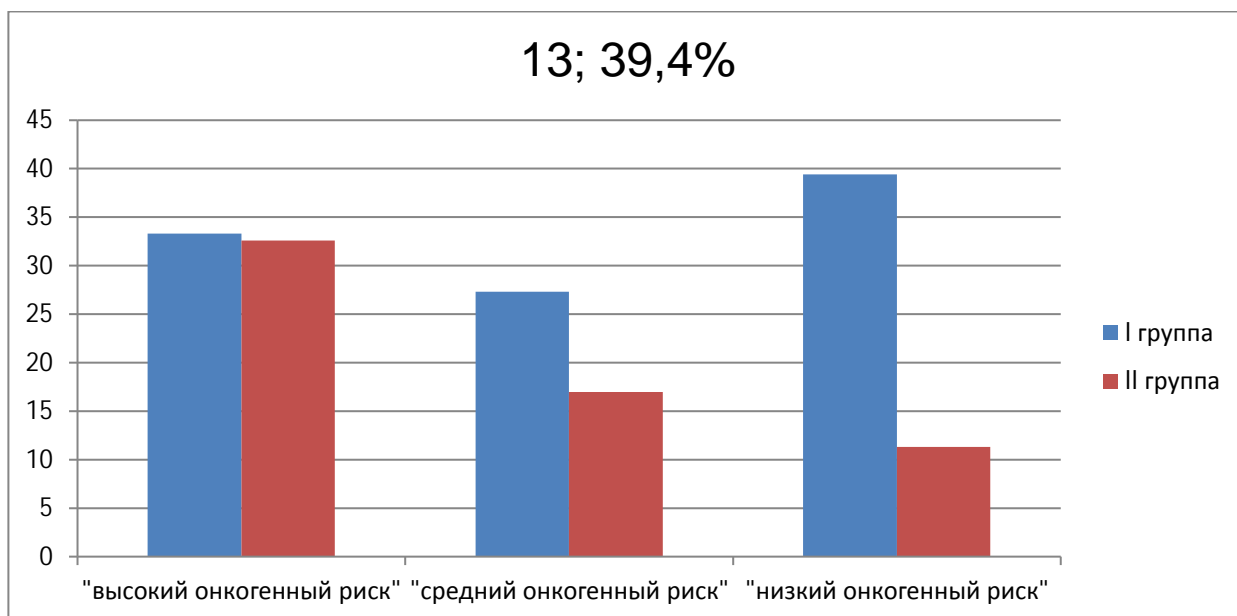
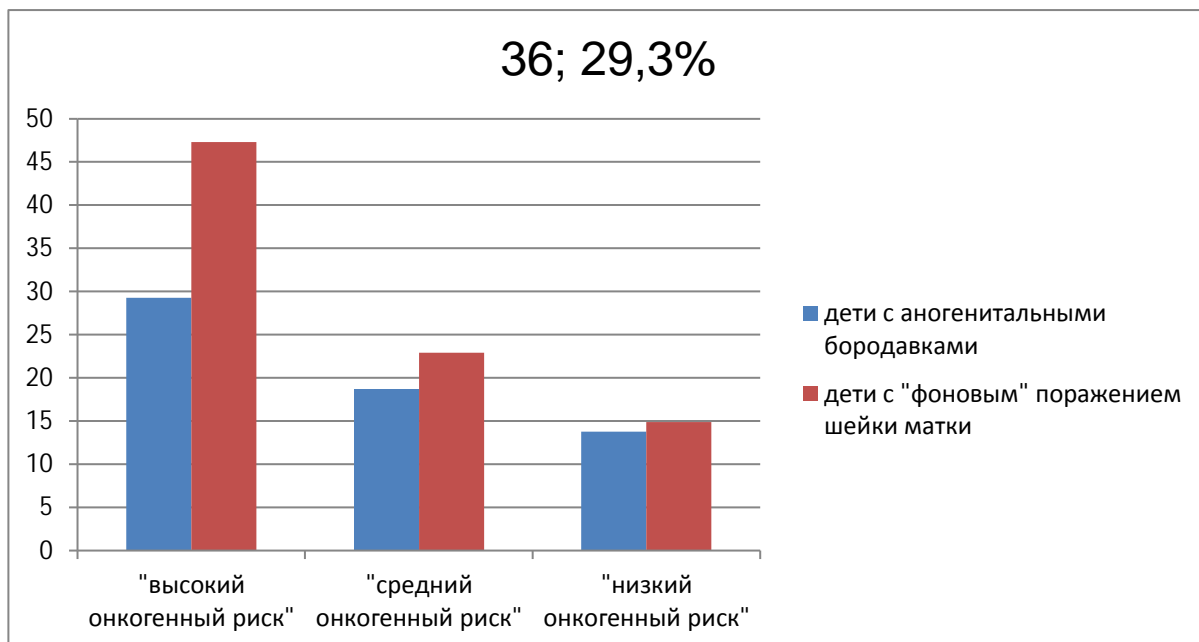


Рисунок 1. Частота выявляемости ВПЧ в зависимости от степени онкогенного риска у детей I и II групп.

Среди детей I группы ВПЧ «высокого онкогенного риска» (16,18 генотипы) были идентифицированы у 11 ($33,3 \pm 8,2\%$) обследованных, ВПЧ «среднего онкогенного риска» (31,33,35,52 типы) – у 9 ($27,3 \pm 7,7\%$) и ВПЧ «низкого онкогенного риска» (6,11,44 типы) – у 13 ($39,4 \pm 8,5\%$) обследованных, у детей II группы ВПЧ «высокого онкогенного риска» были выявлены у 46 ($32,6 \pm 3,9\%$) детей, «среднего онкогенного риска» – у 24 ($17,0 \pm 3,1\%$) и «низкого онкогенного риска» - у 16 ($11,3 \pm 2,6\%$) детей. Показано, что у детей II группы манифестные проявления ПВИ чаще связаны с ВПЧ «высокого онкогенного риска» по сравнению с ВПЧ «низкого онкогенного риска» ($p < 0,05$).

При анализе генотипов ВПЧ, вызвавших рост аногенитальных бородавок установлено, что у 36 ($29,3 \pm 5,2\%$) детей данный вид патологии был ассоциирован с ВПЧ «высокого онкогенного риска», у 23 ($18,7 \pm 4,5\%$) – с ВПЧ «среднего онкогенного риска» и у 17 ($13,8 \pm 3,9\%$) детей – с ВПЧ «низкого онкогенного риска». «Фоновое» поражение слизистой оболочки шейки матки выявлено у 35 ($47,3 \pm 6,2\%$) детей, инфицированных ВПЧ «высокого онкогенного риска», у 17 ($22,9 \pm 5,3\%$) – ВПЧ «среднего онкогенного риска» и у 11 ($14,9 \pm 4,5\%$) детей – ВПЧ «низкого онкогенного риска» (рисунок 2).



$p < 0,05$

Рисунок 2. Частота ассоциации различных генотипов ВПЧ при разных формах ПВИ у несовершеннолетних.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что у детей с клиническими проявлениями ПВИ, как с аногенитальными бородавками, так и с «фоновыми» поражениями слизистой оболочки шейки матки, достоверно чаще выявлялся ВПЧ «высокого онкогенного риска» по сравнению с ВПЧ «низкого онкогенного риска» ($p < 0,05$), что вероятно связано с несовершенством иммунитета у детей и наличием у ВПЧ «высокого онкогенного риска» механизмов ухода из под контроля системы иммунной защиты, и является крайне неблагоприятным фактором для развития процессов канцерогенеза в молодом возрасте.

Одной из задач исследования явилось обследование детей на наличие сопутствующих возбудителей ИППП и условно-патогенных микроорганизмов. Результаты исследования представлены в таблице 5.

Таблица 5

Сочетание ВПЧ с возбудителями ИППП

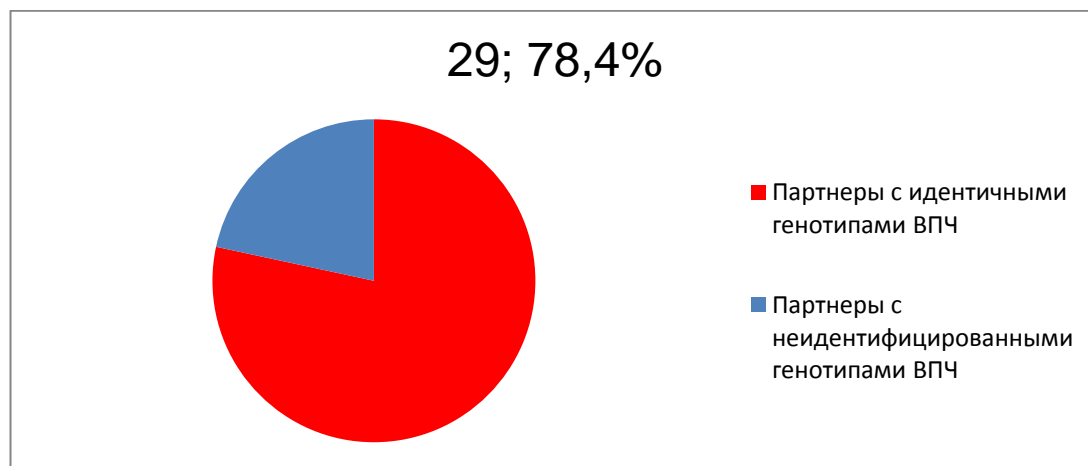
Возбудитель инфекции	I группа (n=33)		II группа (n=141)		Всего (n=174)	
	абс	М±m	абс	М±m	абс	М±m
<i>Ureaplasma urealyticum*</i>	12	36,4±8,3	83	58,9±4,1	95	54,6±3,7
<i>Chlamydia trachomatis</i>	5	15,1±6,2	19	13,5±2,8	24	13,7±2,6
<i>Mycoplasma hominis</i>	4	12,1±5,6	24	17,0±3,1	28	16,1±2,7
<i>Mycoplasma genitalium</i>	-	-	3	2,1±1,2	3	1,7±0,9
<i>Candida spp.</i>	3	9,1±5,0	21	14,9±2,9	24	13,7±2,6

<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	3,0±2,9	11	7,8±2,2	12	6,8±1,9
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-	-	1	0,7±0,6	1	0,6±0,5
<i>Trichomonas vaginalis</i>	-	-	3	2,1±1,2	3	1,7±0,9
<i>Herpes simplex virus II</i>	-	-	3	2,1±1,2	3	1,7±0,9
<i>Treponema pallidum</i>	-	-	2	1,4±0,9	2	1,1±0,7

*p<0,05

По результатам исследования частоты сочетаний ВПЧ с другими агентами, вызывающими урогенитальную патологию, мы выявили, что ПВИ ассоциировалась с другими возбудителями урогенитальных инфекционных заболеваний и ИППП в 87% наблюдений, причем наиболее высокая частота сочетаний наблюдалась между ВПЧ и *Ureaplasma urealyticum* ($p<0,05$), реже *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Candida spp.*

При исследовании вероятности передачи ВПЧ при половом контакте у несовершеннолетних были обследованы 37 пар половых партнеров. Все подростки нерегулярно использовали барьерный метод контрацепции и состояли в половой связи от 2 до 6 месяцев. При анализе данных идентичные генотипы ВПЧ были выявлены у 29 (78,4±6,7%) пар (рисунок 3).



p<0,05

Рисунок 3. Результаты изучения вероятности передачи ВПЧ при половом контакте.

Актуальным вопросом является путь передачи ВПЧ у детей, не имевших половых контактов в анамнезе. С целью изучения возможности аутоинокуляции ВПЧ были проанализированы 29 случаев аногенитальных бородавок у детей с неидентифицированным генотипом ВПЧ и, не имевших в анамнезе половых контактов, на наличие папилломавирусной инфекции другой локализации. При обследовании вирусные бородавки кожи рук были выявлены у 24 (82,7±7,7%) несовершеннолетних, что позволяет предполагать возможность передачи ВПЧ при контакте с участками кожи,

инфицированными ВПЧ, тропными как к эпидермису, так и слизистым оболочкам. Таким образом, в нашем исследовании удельный вес детей с ПВИ аногенитальной области с предполагаемым заражением путем аутоинокуляции составил $13,8 \pm 2,6\%$.

С целью изучения риска перинатальной передачи вируса папилломы человека были обследованы 104 ребенка в возрасте от 3 месяцев до 5 лет, матери которых на момент беременности и родов имели клинически и лабораторно подтвержденную папилломавирусную инфекцию. При изучении риска перинатальной передачи ВПЧ детям, рожденным матерями инфицированными ВПЧ, ПВИ аногенитальной области была диагностирована у $2,8 \pm 1,6\%$ обследованных.

Расширенное кольпоскопическое исследование слизистой оболочки шейки матки с применением пробы с 3% раствором уксусной кислоты и пробы Шиллера, а также цитологическое исследование соскобов слизистой оболочки шейки матки было проведено 97 девочкам в возрасте от 10 до 15 лет, которые были разделены на 4 группы в зависимости от степени онкогенности выявленных ВПЧ: 1 группа – 34 (35,1%) девочки с выявленным ВПЧ «высокого онкогенного риска»; 2 группа – 17 (17,5%) девочек с ВПЧ «среднего онкогенного риска»; 3 группа – 16 (16,5%) девочек с ВПЧ «низкого онкогенного риска»; 4 группа – 30 (30,9%) здоровых девочек (группа сравнения) (таблица 6).

Таблица 6

Результаты кольпоскопического исследования слизистой оболочки шейки матки девочек 1, 2, 3 и 4 групп

Данные кольпоскопического исследования	1 группа n=34		2 группа n=17		3 группа n=16		4 группа n=30	
	abc	M±m	abc	M±m	abc	M±m	abc	M±m
Неизмененный плоский эпителий	8	23,5±7,2	5	29,4±11,0	7	43,7±12,4	29	96,7±3,2
Эктопия с нормальной зоной трансформации	17	50,0±2,7	7	41,2±11,9	6	37,5±12,1	0	0
Нормальная зона трансформации	4	11,7±5,5	3	17,6±9,2	1	6,2±6,0	0	0
Эктопия с атипической зоной трансформации*	4	11,7±5,5	2	11,7±7,7	0	0	0	0
Атипическая зона трансформации	1	2,9±2,8	1	5,8±5,6	0	0	0	0
Ацетобелый эпителий	4	11,7±5,5	2	11,7±7,7	0	0	0	0
Мозаика	2	5,8±4,0	1	5,8±5,6	0	0	0	0
Пунктация	2	5,8±4,0	1	5,8±5,6	0	0	0	0
Йод-негативная зона	21	61,8±8,3	9	52,9±12,1	7	43,7±12,4	1	3,3±3,2
Йод-положительная мозаика	3	8,8±4,8	1	5,8±5,6	1	6,2±6,0	0	0
Кондиломы слизистой оболочки шейки матки	3	8,8±4,8	1	5,8±5,6	1	6,2±6,0	0	0

*p<0,05

По результатам наших исследований, в 55,2±6,7% наблюдений патологические изменения на слизистой оболочке шейки матки у детей были представлены эктопией с зоной трансформации. Изменения слизистой оболочки шейки матки, характерные для патологического процесса, достоверно чаще наблюдались у девочек, инфицированных ВПЧ, по сравнению с группой здоровых детей ($p < 0,05$). При анализе результатов кольпоскопического исследования показано, что у девочек с ВПЧ «высокого» и «среднего» онкогенного риска патологическая кольпоскопическая картина, характеризующаяся атипической зоной трансформации, наблюдалась чаще, по сравнению с другими анализируемыми группами ($p < 0,05$). Наиболее частым изменением слизистой оболочки шейки матки при кольпоскопическом исследовании во всех анализируемых группах была эктопия. Достоверных различий в частоте выявляемости аногенитальных бородавок на шейке матки в зависимости от генотипа вируса выявлено не было. У 5,9% девочек кондиломы слизистой оболочки шейки матки были представлены экзофитными сгруппированными сосочковыми разрастаниями. У 1,5% наблюдений клинические проявления были скрыты под слоем кератина.

Таблица 7

Результаты цитологического исследования соскобов слизистой оболочки шейки матки

Группы	Нормальная цитологическая картина		Элементы воспаления		Дискератоз		Койлоцитоз		CIN I	
	abc	M±m	abc	M±m	abc	M±m	abc	M±m	abc	M±m
1 группа (n=34)	12	35,3±8,1	19	55,9±8,5	7	20,6±6,9	9	26,5±7,2	1	2,9±2,8
2 группа (n=17)	8	47,1±12,1	9	52,9±18,8	4	23,5±10,2	4	23,5±10,2	-	-
3 группа (n=16)	8	50,0±12,5	9	56,3±12,4	2	12,5±8,2	3	18,8±9,7	-	-
4 группа (n=30)	29	96,7±3,2	1	3,3±3,2	-	-	-	-	-	-

Клеточные изменения при цитологическом исследовании достоверно чаще наблюдались у детей, инфицированных ВПЧ, по сравнению с группой сравнения (таблица 7). ПВИ сопровождалась результатами цитологического исследования, соответствующими нормальным показателям, у 35,3±8,1% детей с ВПЧ «высокого онкогенного риска», у 47,1±12,1% детей с ВПЧ «среднего онкогенного риска» и у 50,0±12,5% детей, инфицированных ВПЧ «низкого онкогенного риска». Достоверных различий в частоте выявляемости дискератоза и койлоцитоза между группами детей, инфицированными ВПЧ «высокого», «среднего» и «низкого онкогенного риска» не выявлено. Однако, явления дискератоза и койлоцитоза при инфицировании ВПЧ «высокого онкогенного риска» и «среднего онкогенного риска» были выявлены в 1,4 и 1,3 раза чаще по сравнению с группой несовершеннолетних, инфицированных ВПЧ «низкого онкогенного риска». Критерии, характеризующие дисплазию легкой степени, обнаруживались только в группе девочек, инфицированных ВПЧ «высокого онкогенного риска». При сопоставлении данных кольпоскопического и цитологического исследований дискератоз и койлоцитоз были выявлены у детей, имеющих фондовый процесс на слизистой оболочке шейки матки.

С целью исследования уровня цитокинов крови у детей с ПВИ аногенитальной области и влияния на их уровень препарата «Ликопид» было обследовано 30 детей. Исследование проводилось до лечения препаратом «Ликопид» и через 3 недели после лечения данным препаратом, группу сравнения составили 30 здоровых детей.

При исследовании уровня цитокинов крови у детей во всех группах показатели IL-4, TNF- α , IL-12 были низкими и определялись на уровне чувствительности тест-системы. У 29 (97,6%) детей наблюдаемой группы уровень IFN- γ был значительно снижен по сравнению с группой здоровых детей ($p < 0,05$) ($7,3 \pm 3,3$ пг/мл и $17,1 \pm 2,4$ пг/мл соответственно), при этом не было зафиксировано достоверных различий в способности лейкоцитов продуцировать IFN- γ после стимуляции препаратом «Ликопид». Уровень IFN- γ после проведенного лечения составил $8,7 \pm 3,7$ пг/мл.

Также оценку иммунного статуса проводили методом лазерной проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител («Beckman Coulter») к дифференцировочным антигенам лимфоцитов периферической крови. Нами были исследованы образцы периферической крови 30 детей с папилломавирусной инфекцией и 30 практически здоровых детей (группа сравнения). У обследуемых пациентов были определены относительное количество Т-популяции (CD3+), В-лимфоцитов (CD19+), Т-хелперов (CD3+CD4+) и Т-цитотоксических (CD3+CD8+), их соотношение, уровень естественных киллеров (CD3-CD16+56+), Т-киллеров (CD3+CD16+56+), а также число лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR-антиген (CD3+HLA-DR+).

По полученным данным, уровень Т-киллеров (CD3+CD16+/56+) превышал норму у 83,3% детей, а уровень активированных Т-лимфоцитов (CD3+HLA-DR+) был ниже нормы у 66,6% детей. Дисбаланс одновременно двух данных показателей наблюдался у 60,0% обследованных.

Через 3 недели после окончания лечения Ликопидом количество активированных Т-лимфоцитов (CD3+HLA-DR+) имело тенденцию к увеличению с $2,98 \pm 1,81\%$ до $6,99 \pm 2,92\%$, а NK-клеток (CD3+CD16+/56-) с $14,86 \pm 5,53\%$ до $18,95 \pm 4,24\%$. Изменений других показателей клеточного иммунитета в периферической крови после применения препарата «Ликопид» выявлено не было.

В результате проведенного лечения нормализация уровня активированных Т-лимфоцитов (CD3+HLA-DR+) произошла у 30,0% детей, повышение уровня данного показателя отмечено у 90,0% детей.

При проведении сравнительного анализа течения папилломавирусной инфекции в зависимости от уровня активированных Т-лимфоцитов установлено, что среди несовершеннолетних, у которых произошла нормализация количества активированных Т-лимфоцитов после проведенной деструкции рецидив наблюдался у 1 ребенка, среди детей, у которых данный показатель остался низким, - у 7 детей. В группе детей с нормальным уровнем активированных Т-лимфоцитов (CD3+HLA-DR+) после проведенной деструкции рецидивов аногенитальных бородавок не наблюдалось. При этом при сравнении данных групп значение χ^2 составило 6,43, что соответствует $p < 0,05$.

С целью оптимизации алгоритма ведения детей с ПВИ аногенитальной области была изучена эффективность различных методик терапии, а так же возможность саморазрешения клинических проявлений ПВИ. Под наблюдением находилось 102 ребенка с аногенитальными бородавками. В зависимости от тактики ведения дети были разделены на 6 групп: группа А – 11 детей, находившиеся под наблюдением и не получавшие лечения; группа В – 13 детей, получавшие препарат «Ликопид» в качестве монотерапии; группа С – 16 детей, которым была проведена криодеструкция аногенитальных бородавок; группа D – 19 детей, которым было проведено только радиохирургическое удаление аногенитальных бородавок; группа Е – 21 ребенок, которым было проведено комбинированное лечение препаратом «Ликопид» в сочетании с криодеструкцией; группа F – 22 детей, которым было проведено комбинированное лечение препаратом «Ликопид» в сочетании с радиохирургическим удалением

аногенитальных бородавок. После проведения лечения пациенты находились на диспансерном наблюдении в течение 12 месяцев. Контрольное обследование проводилось с периодичностью каждые 3 месяца. В группах В, Е и F дети получали препарат «Ликопид» (производитель ЗАО Пептек, Россия) в дозе 1 мг в сутки сублингвально 3 цикла в течение 6 дней с 14-дневным интервалом.

В группе детей, не получавших лечение, саморазрешение аногенитальных бородавок наблюдалось у 2 (18,2±10,7%) пациентов. У 2 (18,2±10,7%) пациентов, не получавших терапию, наблюдалось ухудшение патологического процесса, выразившееся в прогрессивном росте и распространении аногенитальных бородавок на непораженный эпителий, что диктует необходимость непрерывного диспансерного наблюдения за данными пациентами. Отсутствие динамики в течении папилломавирусной инфекции в течение 12 месяцев наблюдалось у 7 (63,6±14,5%) детей.

В группе детей, которым было проведена медикаментозная терапия препаратом «Ликопид», разрешение клинических симптомов наблюдалось у 4 (30,7±12,7%) детей, положительная клиническая динамика в виде уменьшения площади поражения и степени выраженности рельефа патологического процесса - у 3 (23,1±11,7%), изменений в клинической картине в течение 12 месяцев не наблюдалось - у 6 (46,2±13,8%) детей. При применении только криодеструкции в качестве метода терапии рецидивы заболевания наблюдались у 4 (25,0±10,8%) детей, при применении радиохирургического удаления аногенитальных бородавок - у 4 (21,1±9,3%) детей. При сочетании иммуномодулирующей терапии Ликопидом с криодеструкцией рецидивы в период всего этапа наблюдения были зарегистрированы 3 (14,3±7,3%) детей, а в комбинации с радиоволновым методом – у 2 (9,0±6,1%) детей. Таким образом, достоверных различий в эффективности применения деструктивных методов лечения и комбинированных методик в сочетании с применением Ликопида не выявлено.

С целью изучения эффективности препарата «Ликопид» у девочек-подростков с папилломавирусной инфекцией шейки матки отдельно были проанализированы данные обследования 37 девочек с данной патологией: не получавших лечение - 18 девочек и получавших лечение препаратом «Ликопид» – 19 девочек. Согласно результатам обследования, в группе больных, получавших Ликопид, у 22,2% человек наблюдалась положительная клиническая динамика, выразившаяся в исчезновении койлоцитов и дискератоцитов, у 27,8% девочек – положительная клиническая динамика в виде уменьшения площади поражения и степени выраженности рельефа патологического процесса, состояние остальных 50,0% больных осталось без изменения. В группе сравнения при наблюдении в течение 12 месяцев полное выздоровление наблюдалось у 2 (10,5%) девочек, улучшение процесса у 3 (15,8%) пациенток, отсутствие динамики у 14 (73,7%) пациенток.

По результатам исследования было установлено, что терапия Ликопидом оказалась эффективной у больных с небольшой длительностью основного заболевания, практически не имеющих сопутствующих заболеваний, с впервые установленным диагнозом ПВИ, с незначительной площадью поражения шейки матки (до 25%), умеренно выраженной рельефностью, с цитологически легким койлоцитозом. Терапия Ликопидом оказалась менее эффективной у девочек с различными сопутствующими заболеваниями, с длительностью заболевания более 6 месяцев, при наличии рецидивирующего течения ПВИ и низкого показателя уровня активированных Т-лимфоцитов. У данной группы пациенток площадь поражения слизистой оболочки шейки матки составила более 25%, наблюдался более выраженный койлоцитоз, в 1 случае - в сочетании с дисплазией.

ВЫВОДЫ

1. Основным путем инфицирования вирусом папилломы человека у детей является половой (78,4%), реже аутоинокуляция (13,8%) и перинатальная передача (2,8%).
Клиническими проявлениями папилломавирусной инфекции у несовершеннолетних вне зависимости от пола являются аногенитальные бородавки, у девочек, в том числе, и в сочетании с «фоновым» поражением слизистой оболочки шейки матки (31,5% и 38,4% соответственно) ($p < 0,05$).
У несовершеннолетних с клиническими проявлениями ПВИ достоверно чаще выявляется ВПЧ «высокого онкогенного риска» (32,6%) по сравнению с ВПЧ «низкого онкогенного риска» (11,3%) ($p < 0,05$).
2. Изменения слизистой оболочки шейки матки, характерные для патологического процесса, достоверно чаще наблюдаются у девочек-подростков, инфицированных ВПЧ, по сравнению с группой здоровых детей ($p < 0,01$). У девочек с ВПЧ «высокого» и «среднего онкогенного риска» при кольпоскопическом исследовании атипичная зона трансформации наблюдается достоверно чаще, по сравнению с группой девочек, инфицированных ВПЧ «низкого онкогенного риска» ($p < 0,05$). Наличие критериев, характеризующих дисплазию легкой степени, выявляются в группе несовершеннолетних, инфицированных ВПЧ «высокого онкогенного риска».
3. У детей установлена ассоциация папилломавирусной инфекции с другими ИППП и условно-патогенными микроорганизмами в 87% наблюдений, при этом наиболее высокая частота сочетаний наблюдается между ВПЧ и *Ureaplasma urealyticum* ($p < 0,05$), реже *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Candida spp.*
4. Иммунный статус детей с папилломавирусной инфекцией аногенитальной области характеризуется статистически достоверным снижением уровня активированных Т-лимфоцитов и тенденцией к повышению уровня Т-киллеров.
5. При лечении препаратом «Ликопид» положительная динамика патологического процесса на слизистой оболочке шейки матки наблюдается у детей с длительностью течения папилломавирусной инфекции не более 6 месяцев, с неотягощенным соматическим анамнезом и площадью поражения слизистой оболочки шейки матки до 25%. Применение Ликопида при других формах урогенитальной папилломавирусной инфекции у детей неэффективно и не предупреждает возможность рецидивов.

Практические рекомендации

1. Важным этапом диагностики урогенитальной папилломавирусной инфекции у несовершеннолетних, наряду с генотипированием ВПЧ, следует считать проведение расширенного кольпоскопического и цитологического исследований.
2. Лечение детей без клинически выраженных симптомов ПВИ не является обоснованным, однако необходимо проводить диспансерное наблюдение с целью предотвращения возможной манифестации заболевания и развития канцерогенеза.
3. При выборе методики лечения детей с аногенитальными бородавками необходимо учитывать иммунный статус пациентов и назначать иммуностимулирующую терапию с учетом выявленных нарушений.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Рахматулина М.Р. Опыт организации центров профилактики и контроля инфекций, передаваемых половым путем, для социально уязвимых групп населения – детей и подростков в субъектах Российской Федерации / Рахматулина М.Р., Нечаева И.А., Лесная И.Н. – М.: ГУ «ЦНИКВИ Росздрава», 2006.
2. Нечаева И.А. Ассоциация вируса папилломы человека с сопутствующими урогенитальными инфекциями в возрастной популяции до 18 лет / Нечаева И.А. // Всерос. Конгр. дерматовенерологов, 2-й: Тез. науч. раб. - СПб., 2007. - С.141.
3. Нечаева И.А. Папилломавирусная инфекция: современные представления об этиопатогенезе, диагностике и терапии / Нечаева И.А. // Венеролог. - 2007. - №5. - С.6-9.
4. Рахматулина М.Р. Папилломавирусная инфекция как фактор риска патологии шейки матки / Рахматулина М.Р., Нечаева И.А. // Венеролог. – 2007. - № 2 – С.18-22.
5. Рахматулина М.Р. Клинические аспекты папилломавирусной инфекции аногенитальной области у детей / Рахматулина М.Р., Нечаева И.А. // Вестн. дерматол. венерол. - 2007. - № 6. - С.45-47.
6. Нечаева И.А. Частота ассоциации вируса папилломы человека с сопутствующими урогенитальными инфекциями у девочек-подростков / Нечаева И.А. // Вестн. последипл. мед. образования. - 2008. - № 1. - С.47-48.
7. Рахматулина М.Р. Эпидемиологические аспекты аногенитальной папилломавирусной инфекции у девочек / Рахматулина М.П., Нечаева И.А. // Всерос. конгр. дерматовенерологов, 2-й: Тез. науч. раб. - СПб., 2007. - С.143.
8. Рахматулина М.Р. Папилломавирусная инфекция как фактор риска развития патологии шейки матки у девочек-подростков / Рахматулина М.Р., Нечаева И.А. // Всерос. съезд дерматовенерологов, 10-й: Тез. науч. работ. – М., 2008. – С.71.
9. Рахматулина М.Р. Клинические и эпидемиологические особенности поражений шейки матки у девочек, ассоциированные с папилломавирусной инфекцией / М.Р.Рахматулина, И.А.Нечаева // Вестн. последипл. мед. образования. - 2008. - № 1. - С.49-50.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВПЧ – вирус папилломы человека

ВПГ – вирус простого герпеса

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИППП – инфекции, передаваемые половым путем

ИФА – иммуноферментный анализ

КОЕ/мл – колониеобразующих единиц на мл

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПИФ – прямая иммунофлуоресценция

ПВИ – папилломавирусная инфекция

РНК – рибонуклеиновая кислота

CIN – cervical intraepithelial neoplasia (цервикальная интраэпителиальная неоплазия)

IL – интерлейкин

(-INF – гамма-интерферон

TNF – фактор некроза опухолей