

УДК 618.146-006.6-07

## ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ ПРЕДРАКА И РАКА ШЕЙКИ МАТКИ У ЖЕНЩИН С ВПЧ-АССОЦИИРОВАННЫМ ЦЕРВИЦИТОМ

Л.И. Мальцева, Л.Н. Фаррахова, М.А. Нюхнин

*Казанская государственная медицинская академия МЗ РФ*

Хронический цервицит составляет значительную долю в структуре воспалительных заболеваний органов малого таза и играет важную роль в формировании дисплазии и рака шейки матки. Рост заболеваемости раком шейки матки у молодых женщин, инфицированных высокоонкогенными типами ВПЧ, и отсутствие эффективных этиотропных средств для лечения этой инфекции обуславливают важность определения онкогенного потенциала вируса для выбора консервативной или оперативной тактики лечения. С целью оценки риска раковой трансформации эпителия шейки матки использовано определение экспрессии белка p16ink4a у 771 женщины с хроническим цервицитом, из которых 547 пациенток – с наличием ВПЧ-инфекции и 224 – с отсутствием ВПЧ. Результаты исследования показали, что ВПЧ-ассоциированный хронический цервицит часто сопровождается атипическими кольпоскопическими изменениями, и для оценки истинного риска канцерогенеза следует использовать онкобелок p16ink4a, обнаружение которого требует радикального подхода к лечению с использованием электроэксцизии шейки матки.

**Ключевые слова:** цервицит, цервикальная интраэпителиальная неоплазия (CIN), вирус папилломы человека (ВПЧ), рак шейки матки, онкобелок p16ink4a.

**Введение.** Воспалительные заболевания органов малого таза занимают лидирующее положение в структуре гинекологических заболеваний и являются наиболее частой причиной нарушения репродуктивного здоровья женщин. Значительную долю среди них составляют воспалительные процессы шейки матки – эндо- и экзоцервициты. Рост распространенности цервицитов связан с увеличением числа случаев атипического течения инфекционного процесса, а также с мало- и бессимптомностью даже в острой стадии.

Хронический цервицит наряду с воспалительными осложнениями может обуславливать развитие бесплодия, невынашивание беременности, преждевременные роды, внутриутробное инфицирование плода, послеродовые гнойно-септические осложнения, играет важную роль в формировании дисплазии и рака шейки матки. В последние годы обозначились тенденции роста заболеваемости раком шейки матки у женщин в возрастной группе до 29 лет [6]. Риск рака шейки матки, связанный с высокоонкогенными типами ВПЧ, и отсутствие эффективных этиотропных средств для лечения этой инфекции требуют

поиска наиболее оптимального выбора препаратов или их комбинаций при проведении терапии. В этом ракурсе очень важно выявить онкогенный потенциал вируса, так как именно это определяет необходимость консервативной или оперативной тактики лечения.

При взаимодействии вируса папилломы человека 16-го и 18-го серотипов с эпителиальной клеткой происходит слияние их геномов, что приводит к выработке вирусных белков E6 и E7. Существует киназа E2F, которая обеспечивает прохождение клетки из G1- в S-фазу клеточного цикла. В норме она неактивна и находится в связанном состоянии с белком – супрессором ретинобластомы (Rb). Белок E7 вируса папилломы человека при взаимодействии с продуктом гена ретинобластомы приводит к разобщению комплекса E2F–Rb. Контроль разобщения комплекса E2F–Rb осуществляет белок p16ink4a, не допуская безудержной пролиферации клетки, что приводит к постоянному его синтезу [1, 2, 4]. Известно, что белок p16ink4a появляется в процессе метилирования генов-супрессоров и отражает генетическую нестабильность, что предшествует раковой транс-

формации. Сверхэкспрессия p16ink4a и его накопление в цитоплазме позволяют выявить предраковые состояния и самые ранние формы рака шейки матки, которые установить другим способом зачастую невозможно [3, 5].

**Цель исследования.** Оценка риска раковой трансформации эпителия шейки матки у женщин с хроническим цервицитом путем определения белка p16ink4a.

**Материалы и методы.** Было проведено обследование 771 женщины в возрасте 18–52 лет с признаками хронического экзо- и эндоцервицита: основную группу составили 547 пациенток с наличием ВПЧ-инфекции, группу сравнения – 224 женщины с отсутствием ВПЧ. Всем больным было проведено комплексное обследование, включающее общеклинические методы: изучение анамнестических и эпидемиологических данных, общий и гинекологический осмотр – и специальные методы: расширенная кольпоскопия, определение инфекций, передаваемых половым путем, методом ПЦР (хламидий, микоплазм, уреоплазм, ВПГ, ЦМВ, высокоонкогенных (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и низкоонкогенных (6, 11, 42, 44, 54) типов ВПЧ, традиционная и жидкостная цитология мазков из экто- и эндоцервикса, бактериоскопическое и бактериологическое исследования отделяемого из цервикального канала и заднего свода влагалища, морфологическое исследование прицельно взятого биоптата, иммуноцитохимическое исследование белка p16ink4a в мазках из экто- и эндоцервикса на основе жидкостной цитологии.

**Результаты и обсуждение.** В результате обследования пациенток обеих групп оказалось, что у 61 % из них выявлены инфекции, передаваемые половым путем: у каждой третьей отмечена ассоциация с условно-патогенной микрофлорой, а у каждой второй – сочетание от 2 до 4 инфекционных агентов.

По результатам ПЦР-диагностики инфицированность высокоонкогенными типами ВПЧ женщин основной группы без признаков дисплазии шейки матки составила 67,8 %, низкоонкогенными – 49,6 %. При наличии CIN частота выделения ВПЧ высокоонкогенных серотипов значительно превалирует над низкоонкогенными и составляет 84,2 и 27,4 %

соответственно, что подтверждает роль ВПЧ в формировании пролиферативной патологии шейки матки. Смешанная инфекция различными типами ВПЧ была зафиксирована в 46 % случаев. У 22 % женщин было выявлено 2 типа ВПЧ, у 15 % – 3 типа, у 9 % – 4 и более. Наиболее часто был обнаружен 16-й тип – в 26,3 % случаях, 58-й тип – в 10,6 %, 18-й тип – в 8,4 %, 31-й – в 7,8 %, 33-й – в 6,1 %.

Анализ сопутствующей флоры цервикального канала показал, что чаще папилломавирусную инфекцию сопровождали хламидии, уреоплазмы, микоплазмы, грибы рода *Candida*, гарднереллы, грамположительные кокки и грамотрицательные палочки на фоне отсутствия или резкого снижения содержания лактобактерий. Следует отметить, что у пациенток с наличием ВПЧ-инфекции инфицирование цервикального канала такими возбудителями, как хламидии, микоплазмы, уреоплазмы, трихомонады, ВПГ, наблюдается значительно чаще, чем при отсутствии ВПЧ.

По итогам жидкостного цитологического исследования у 188 женщин с хроническим цервицитом выявлена дисплазия эпителия шейки матки (у 74 – CIN I, 64 – CIN II, 50 – CIN III), из них 169 пациенток – с наличием ВПЧ и 19 – с отсутствием. Сравнительный анализ данных традиционной и жидкостной цитологии показал, что результаты чрезвычайно варьируют между собой. Для подтверждения диагнозов использовали гистологическую экспертизу. Ложноположительные заключения традиционных цервикальных мазков выявлены в 5 % случаев, т.е. была диагностирована дисплазия там, где ее нет на самом деле. По результатам жидкостного цитологического исследования наличие дисплазии шейки матки обнаружено в 100 % случаев, что подтверждает ценность этой методики.

Следует отметить, что у женщин с дисплазией, как правило, наблюдалась атипическая кольпоскопическая картина в виде ацетобелого эпителия, лейкоплакии, пунктации, мозаики и их сочетаний. У 583 больных с хроническим цервицитом без признаков дисплазии кольпоскопическая картина проявлялась в виде диффузной гиперемии и отежности экзоцервикса с выраженными и легко кровоточащими сосудами, у 318 из них – в сочетании с йоднегатив-

ными участками, нежной пунктацией и/или мозаикой. Таким образом, у большего числа пациенток с хроническим цервицитом кольпоскопическая картина характеризуется атипическими изменениями на шейке матки, что нередко приводит к необоснованному использованию деструктивных методов лечения.

Иммуноцитохимическое определение белка p16ink4a показало положительные результаты у 65 (8,4 %) женщин и только у больных с наличием CIN (у 12 – с CIN I, у 15 – CIN II, у 38 – CIN III) (табл. 1). Остальные 123 пациентки с дисплазией имели негативную реакцию на p16ink4a.

Таблица 1

**Результаты анализа экспрессии белка p16ink4a  
у больных с хроническим экзо- и эндоцервицитом (n=771)**

| Цитологические изменения<br>Изучаемый статус | Без дисплазии<br>(n=583) | CIN I<br>(n=74) | CIN II<br>(n=64) | CIN III<br>(n=50) |
|--|--------------------------|-----------------|------------------|-------------------|
| Позитивные на p16ink4a (n=65)                | 0 % (0)                  | 16,2 % (12)     | 23,4 % (15)      | 76,9 % (38)       |

Всем больным с позитивной реакцией на p16ink4a независимо от степени дисплазии была проведена электроэксцизия шейки матки с целью расширенной биопсии и лечения. Последующее гистологическое исследование

биоптатов шейки матки 12 женщин с CIN I выявило у 6 из них CIN III (табл. 2). Морфологические результаты 15 пациенток с CIN II показали у 12 наличие CIN III. У всех женщин с CIN III подтвердился диагноз.

Таблица 2

**Сопоставление цитологических и морфологических результатов  
у p16-позитивных женщин (n=65)**

| Цитологические изменения |         |    | Морфологическое исследование биоптатов |                     |    |
|--------------------------|---------|----|--|---------------------|----|
| До лечения               | CIN I   | 12 | После электроэксцизии шейки матки      | CIN III             | 6  |
|                          | CIN II  | 15 |  | CIN III             | 12 |
|                          | CIN III | 38 |  | CIN III             | 35 |
|                          |         |    |  | Микроинвазивный рак | 3  |

Проведенное обследование и клиническое наблюдение женщин обеих групп показали неоднозначные результаты. Совершенно очевидно, что хронический цервицит на фоне ВПЧ-инфекции носит полимикробный характер, тогда как при отсутствии вируса обсемененность цервикального канала различной микробной и вирусной флорой значительно меньше. В связи с этим всем пациенткам с ВПЧ-ассоциированным хроническим цервицитом необходимо тщательное обследование для обнаружения сопутствующей инфекции с последующим проведением комплексного и поэтапного лечения.

Важными оказались результаты сравнительного анализа традиционной и жидкостной цитологии мазков с экзо- и эндоцервикса.

С учетом того что информативность цитологического метода определяется уровнем подготовки специалистов и качеством забора материала, очевидны преимущества жидкостного цитологического исследования над традиционным: последнее ассоциировалось с высоким уровнем как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов. В связи с этим жидкостной метод является более надежным лабораторным тестом, что позволяет рекомендовать его для обследования женщин с патологией шейки матки. Однако настораживает тот факт, что даже при использовании этой усовершенствованной цитологической технологии у p16-позитивных женщин не были диагностированы 18 (27,7 %) тяжелых интраэпителиальных поражений

шейки матки (табл. 2), что определяет необходимость проведения иммуноцитохимического исследования экспрессии белка p16ink4a, являющегося биологическим маркером инициации канцерогенеза в эпителии. Белок p16ink4a является надежным тестом для ранней диагностики рака шейки матки, позволяющим достоверно оценивать потенциал дисплазии в отношении развития рака шейки матки и выбирать консервативную или оперативную тактику лечения. Появление белка определяет более радикальный подход к терапии. Даже легкая дисплазия в сочетании с p16-позитивной реакцией требует электроэксцизии шейки матки, что и подтвердили проведенные исследования: у 6 из 12 женщин с CIN I оказалась CIN III.

#### Выводы:

1. Самыми распространенными типами ВПЧ, вызывающих развитие хронического цервицита, являются 16, 58, 18.

2. ВПЧ-ассоциированный хронический цервицит часто сопровождается атипическими кольпоскопическими изменениями, и для оценки истинного риска канцерогенеза следует использовать онкобелок p16ink4a. Позитивная реакция на p16ink4a требует радикального подхода в лечении с использованием электроэксцизии шейки матки, а при наличии показаний – конизации шейки матки.

3. С помощью оценки биологического маркера онкотрансформации белка p16ink4a разрабатывается дифференцированный подход к терапии ВПЧ-ассоциированного хронического цервицита.

1. Онкобелок E7 вируса папилломы человека – новый маркер ранних стадий канцерогенеза / В. И. Киселев [и др.] // TERRA MEDICA. – 2011. – № 1. – С. 35–39.

2. Этиологическая роль вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки, генетические и патогенетические механизмы, возможности терапии и профилактики / В. И. Киселев [и др.] // Гинекология. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 174–180.

3. Эффективность использования жидкостной цитологии в сочетании с иммуноцитохимическим исследованием p16ink4a в сравнении с традиционной цитологией и ПЦР-анализом ВПЧ высокого онкогенного риска в диагностике дисплазий и рака шейки матки / Г. А. Раскин [и др.] // Вопросы онкологии. – 2009. – Т. 55, № 2. – С. 192–195.

4. Evaluation of p16INK4a expression in ThinPrep cervical specimens with the CINtec p16INK4a assay: correlation with biopsy follow-up results / J. L. Meyer [et al.] // Cancer. – 2007. – P. 83–92.

5. Rocco J. W. P16 (MTS1/CDKN2/INK4a) in cancer progression / J. W. Rocco, D. Sidransky // Exp Cell Res. – 2001. – P. 42–55.

6. Up-regulation of expression and lack of 5' CpG island hypermethylation of p16INK4a in HPV-positive cervical carcinomas / T. A. Ivanova [et al.] // BMC Cancer. – 2007. – P. 47.

## INNOVATIVE APPROACHES TO THE DIAGNOSIS PRE-CANCER AND CERVICAL CANCER IN WOMEN SINCE HPV-ASSOCIATED CERVICITIS

L.I. Maltseva, L.N. Farrakhova, M.A. Nyuhnin

*Kazan State Medical Academy, Ministry of Health*

Chronic cervicitis is a significant share in the structure of the inflammatory diseases of the pelvic organs and plays an important role in the formation of dysplasia and cervical cancer. Increase in the incidence of cervical cancer in young women infected with high risk HPV types, and the lack of effective etiologic agents for the treatment of this infection are responsible for the importance of determining the oncogenic potential of the virus to select a conservative or operative treatment strategies. In order to assess the risk of cancerous transformation of the epithelium of the cervix used the definition of the expression of the protein p16ink4a in 771 women with chronic cervicitis, of which 547 patients – with the presence of HPV infection and 224 – with the absence of HPV. The results showed that HPV-associated chronic cervicitis is often accompanied by atypical colposcopic changes and to assess the true risk of carcinogenesis should be used oncoprotein p16ink4a detection of which requires a radical approach to the treatment with the Electroexcision cervix.

**Keywords:** cervicitis, cervical intraepithelial neoplasia (CIN), human papilloma virus (HPV), cervical cancer, oncoprotein p16ink4a.