

РОЛЬ ЭКСПРЕССИИ ОНКОБЕЛКА E7 В РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Л. Д. Белоцерковцева¹, Л. В. Коваленко¹, С. В. Лескова^{1,2}

¹*Медицинский институт ГБОУ ВПО «Сургутский государственный университет»
(г. Сургут)*

²*МБУЗ «Клиническая городская поликлиника № 1» (г. Сургут)*

Проведено определение уровня онкобелка E7 у 95-ти пациенток с патологией шейки матки. При обследовании использовали количественное измерение онкобелка E7 в цервикальных пробах с использованием иммуноферментной тест-системы. Результаты исследования показали, что при патологии шейки матки, осложненной папилломавирусной инфекцией высокого канцерогенного риска, повышенное содержание онкобелка E7 выявляется в 1,27 раза чаще, чем в группе без инфицирования ВПЧ. Уровень E7 указывает на агрессивность зарождающегося опухолевого процесса и может рассматриваться как неблагоприятный прогностический признак.

Ключевые слова: папилломавирусная инфекция, онкобелок E7, рак шейки матки.

Белоцерковцева Лариса Дмитриевна — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии медицинского института ГБОУ ВПО «Сургутский государственный университет», заслуженный врач Российской Федерации, e-mail: ag_kpc@admsurgut.ru

Коваленко Людмила Васильевна — доктор медицинских наук, профессор, ректор медицинского института ГБОУ ВПО «Сургутский государственный университет», e-mail: svleskova@rambler.ru

Лескова Светлана Владимировна — преподаватель кафедры акушерства и гинекологии медицинского института ГБОУ ВПО «Сургутский государственный университет», заведующий женской консультацией МБУЗ «Клиническая городская поликлиника № 1», e-mail: svleskova@rambler.ru

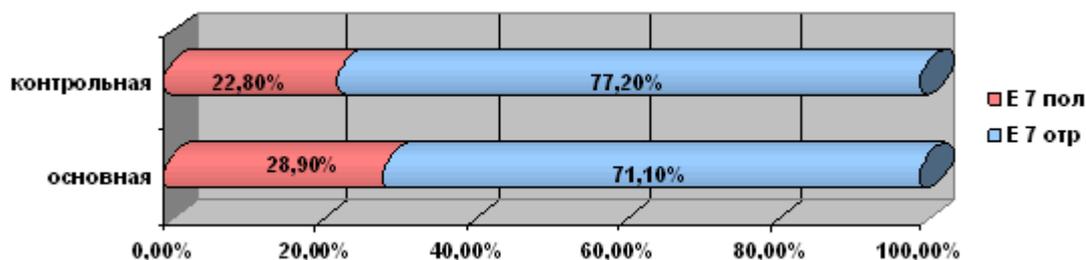
Введение. Инфекция, вызванная вирусом папилломы человека (ВПЧ), встречается у 50–80 % населения и в 99,7 % случаев подтвержденного рака шейки матки. На фоне персистирующей папилломавирусной инфекции урогенитального тракта развивается большинство цервикальных интраэпителиальных неоплазий, которые в 15–20 % случаев могут заканчиваться онкологической патологией (carcinoma in situ и инвазивный рак) [2, 5]. Для профилактики предопухолевых процессов шейки матки имеют значение методы, не только направленные на детекцию ВПЧ, но и позволяющие установить форму течения

папилломавирусной инфекции, наряду с маркерами, контролирующими клеточный цикл и пролиферацию эпителия экзоцервикса (E7, p16 и Ki-67) [1, 3, 4, 6]. Взаимосвязь маркеров с объективной клинической картиной у больных с неоплазиями имеет существенное значение, но мало изучена в публикациях последних лет [3, 7].

Цель исследования: оценить экспрессию онкобелка E7 у пациенток с патологией шейки матки, ассоциированной с папилломавирусной инфекцией и при её отсутствии.

Материалы и методы исследования. Группу исследования составили 95 пациенток с патологией шейки матки с разделением на группы по результатам обследования на ВПЧ (см. рис.). В I группу (контрольную) вошли 57 человек — женщин с патологией шейки матки, ВПЧ-отрицательными, которая была разделена на подгруппы по результатам экспрессии онкобелка E7: 1-я (13 человек) имела E7 положительный результат (I E7 пол¹), 2-я (44 человека), имела E7 отрицательный результат (I E7 отр²). Во II группу (основную) вошли 38 человек — женщины с патологией шейки матки, инфицированные ВПЧ высокого канцерогенного риска. II группа была разделена на две подгруппы: 1-я — 11 человек (II E7 пол³), имела E7 положительный результат, 2-я — 27 человек, имела E7 отрицательный результат (II E7 отр⁴).

При обследовании использовались традиционные методы: цитологическое и кольпоскопическое исследования, гистология цервикальных биоптатов и адьювантные методы: ВПЧ-тестирование проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Количественное измерение онкобелка E7 в цервикальных пробах проводили с использованием иммуноферментной тест-системы НПФ «Миракс-Фарма» (Москва).



Группы исследования

Сравнение проводили на основании выборочных средних значений (M), медиан (Me) и стандартного отклонения (Q₂₅—Q₇₅). Статистический анализ произведен с помощью непараметрического критерия Манни-Уитни (U) для независимых групп; достоверность различий между процентными долями двух выборок оценивалась по значению критерия углового распределения Фишера (?). Достоверными считались значения при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Средний возраст пациенток, начало менструальной функции, проживание на Севере, начало половой жизни, количество родов и аборт были сопоставимы во всех группах и не имели статистической значимости ($p > 0,05$).

При изучении соматического анамнеза в основной группе E7 пол³ заболевания почек составили 27,27%, эндокринные заболевания — 27,27% и имели статистическую значимость с контрольной E7 отр² ($*p < 0,05$) соответственно.

При изучении гинекологического анамнеза обращалось внимание на заболевания, которые могли служить дополнительными факторами в развитии неоплазии и рака шейки матки. Среди гинекологической патологии увеличение воспалительных заболеваний встречалось

в основной E7 пол³ группе: эндометрит (27,27 %) (³⁻²*p < 0,05), вульвовагинит (90,90 %) (*p < 0,05) и аднексит (36,36 %); (³⁻⁴*p < 0,05), что способствовало снижению иммунитета и соответственно стимулировало опухолевый процесс. Инфицирование мочеполовых органов возбудителями инфекций, передающихся половым путем (ИППП), преобладали также в основной E7 пол³ группе: уреаплазменная (27,27 %), микоплазменная (18,18 %) и хламидийная инфекции (18,18 %) (⁴⁻²*p < 0,05), что свидетельствует о необходимости углубленного изучения анамнеза и обследования полового партнера.

При проведении расширенной кольпоскопии (табл. 1) установлено увеличение частоты регистрации аномальных кольпоскопических картин в основной E7 пол³ и E7 отр⁴ подгруппах: эктопия шейки матки, которая составила 90,90 % (³⁻¹**p < 0,01; ³⁻¹*p < 0,05) и 59,26 % (⁴⁻³*p < 0,05) соответственно, признаки CIN (45,45 %) (³⁻²*p < 0,05) и 55,55 % (⁴⁻²**p < 0,01; ⁴⁻¹*p < 0,05) соответственно, рак шейки матки составил 9,09 % (³⁻²*p < 0,05) и 3,70 % (p > 0,05). Атипичная сосудистая сеть определялась в 63,63 % (³⁻²**p < 0,01; ³⁻¹*p < 0,05) и 59,26 % (⁴⁻²**p < 0,01; ⁴⁻¹*p < 0,05) соответственно, мозаика в подгруппах составила 54,54 % (³⁻²**p < 0,01; ³⁻¹*p < 0,05) и 44,44 % (⁴⁻²**p < 0,01; ⁴⁻¹*p < 0,05) соответственно. Это подтверждает повреждающее действие ВПЧ на состояние эпителия шейки матки и осложняет течение патологических процессов в сторону канцерогенеза.

Таблица 1

Кольпоскопическое исследование

Признаки	Группы			
	Контрольная (патология ВПЧ ⁻)		Основная (патология ВПЧ ⁺)	
	I E7 пол ¹ (n = 13)	I E7 отр ² (n = 44)	II E7 пол ³ (n = 11)	II E7 отр ⁴ (n = 27)
Эктопия шейки матки	61,54 % (8) ^{*3}	77,27 % (34)	90,90 % (10) ^{*4}	59,26 % (16)
Простая основа лейкоплакии	30,77 % (4)	13,64 % (6) ^{*4}	18,18 % (2)	33,33 % (9)
Признаки CIN	23,08 % (3) ^{*4}	13,64 % (6) ^{*3**4}	45,45 % (5)	55,55 % (15)
Рак шейки матки	0,00 % (0)	0,00 % (0) ³	9,09 % (1)	3,70 % (1)
АСС	23,08 % (3) ^{*3,4}	18,18 % (8) ^{**3,4}	63,63 % (7)	59,26 % (16)
Мозаика	15,38 % (2) ^{*3,4}	11,36 % (5) ^{**3,4}	54,54 % (6)	44,44 % (12)
Пунктуация	0,00 % (0)	4,54 % (2)	9,09 % (1)	7,40 % (2)

Примечание: φ *p < 0,05 I E7 пол¹ к II E7 пол³; II E7 отр⁴; *p < 0,05 II E7 пол³ к II E7 отр⁴; φ **p < 0,01; *p < 0,05 I E7 отр² к II E7 пол³; II E7 отр⁴

Все патологические кольпоскопические результаты являлись показаниями для биопсии (табл. 2). Признаки хронического воспалительного процесса в виде цервицита сопровождали патологические изменения в контрольной группе в 61,54 и 56,82 % соответственно (^{2-1,3-1}**p < 0,01). Стационарный эндоцервикоз выявлен в контрольной группе (30,77 и 38,63 % соответственно), и в основной группе (18,18 и 33,33 % соответственно), что не имело статистической значимости (p > 0,05). Эпидермизирующий эндоцервикоз преобладал в основной E7 пол³ и составил 45,45 % (^{2-4,3-4}*p < 0,05 соответственно).

CIN I, II, III преобладал в основной группе, причем по результатам гистологического

заключения CIN I составил в подгруппах E7 пол³ 36,36 % (³⁻¹*p < 0,05) и E7 отр⁴ 40,74 % (⁴⁻¹**p < 0,01) соответственно. CIN II составила в группе патология ВПЧ⁺ 27,27 и 29,63 % (⁴⁻²*p < 0,05) соответственно. CIN III отмечена в группе патологии ВПЧ⁺ в 27,27 % (³⁻²**p < 0,01) и 22,22 % (³⁻²**p < 0,01) соответственно. Рак шейки матки 0 степени был диагностирован в подгруппах основной группы в 9,09 % (³⁻²*p < 0,05) и 7,40 % (⁴⁻²*p < 0,05) соответственно, что свидетельствует о роли ВПЧ в канцерогенезе рака шейки матки.

Признаки койлоцитоза определялись в группах в 7,69; 2,27; 54,54 и 51,85 % соответственно. В основной II группе эти показатели были максимальные и имели статистическую значимость с основной I группой (^{3,4-1,2}**p < 0,01). Метаплазированный эпителий выявлен в обеих группах и составил 38,46; 9,10; 54,54 и 37,04 % соответственно, что имело статистическую значимость (^{2-3,4}**p < 0,01, ¹⁻²*p < 0,05). Следует отметить, что максимальные показатели имели подгруппы с повышенной экспрессией онкобелка E7.

Таблица 2

Гистологическое исследование

Признаки	Группы			
	Контрольная (патология ВПЧ ⁻)		Основная (патология ВПЧ ⁺)	
	I E7 пол ¹ (n = 13)	I E7 отр ² (n = 44)	II E7 пол ³ (n = 11)	II E7 отр ⁴ (n = 27)
Хронический цервицит	61,54 % (8)	56,82 % (25)	45,45 % (5)	55,55 % (15)
Стационарный эндоцервикоз	30,77 % (4)	38,63 % (17)	18,18 % (2)	33,33 % (9)
Эпидермизирующий эндоцервикоз	38,46 % (5)	38,63 % (17)* ⁴	45,45 % (5)* ⁴	18,52 % (5)
Лейкоплакия	23,08 % (3)	9,09 % (4)	18,18 % (2)	18,52 % (5)
CIN I	7,69 % (1)* ^{3,4}	22,72 % (10)	36,36 % (4)	40,74 % (11)
CIN II	15,38 % (2)	9,09 % (4) * ⁴	27,27 % (3)	29,63 % (8)
CIN III	7,69 % (1)* ²	0,00 % (0)** ^{3,4}	27,27 % (3)	22,22 % (6)
Рак шейки матки	0,00 % (0)	0,00 % (0)* ⁴	9,09 % (1)	7,40 % (2)
Койлоцитоз	7,69 % (1)** ^{3,4}	2,27 % (1)** ^{3,4}	54,54 % (6)	51,85 % (14)
Метаплазия эпителия	38,46 % (5)* ²	9,1 % (4)** ^{3,4}	54,54 % (6)	37,04 % (10)

Примечание: **p < 0,01; *p < 0,05 контрольная группа по сравнению к основной группе E7 пол³

В основной группе по результатам гистологического исследования чаще встречались цервикальные интраэпителиальные неоплазии средней и тяжелой степени, а также рак шейки матки. Причем в подгруппе E7 пол³ CIN III и рак шейки матки, а также койлоцитоз и метаплазия эпителия, по заключению морфологов, определялся чаще, чем в E7 отр⁴.

Количественное измерение онкобелка E7 в цервикальных пробах проводили с использованием иммуноферментной тест-системы НПФ «Миракс-Фарма» (Москва).

При исследовании уровень экспрессии онкобелка E7 в группах составил (табл. 3): 0,190 (0,18–0,39); 0,074 (0,06–0,10); 0,200 (0,17–0,31) и 0,081 (0,07–0,10) соответственно (**p <

0,01). Нами было установлено достоверное повышение в основной группе (Е7 пол³), в сравнении с контрольной (Е7 отр¹) и основной (Е7 отр⁴) (**p < 0,01). Контрольная группа Е7 пол¹ также имела статистическую значимость в сравнении с контрольной Е7 отр² и основной Е7 отр⁴ (**p < 0,01).

Таблица 3

Экспрессия онкобелка Е7

Признаки	Группы				Статистика
	Контрольная (патология ВПЧ ⁻)		Основная (патология ВПЧ ⁺)		
	I Е7 пол ¹ (n = 13)	I Е7 отр ² (n = 44)	II Е7 пол ³ (n = 11)	II Е7 отр ⁴ (n = 27)	Краскелла-Уоллиса
	Me (Q ₂₅ —Q ₇₅)	Me (Q ₂₅ —Q ₇₅)	Me (Q ₂₅ —Q ₇₅)	Me (Q ₂₅ —Q ₇₅)	χ^2
Е7	0,190 (0,18–0,39) U** ^{2,4}	0,074 (0,06–0,10) U** ^{2,4}	0,200 (0,17–0,31) U** ⁴	0,081 (0,07–0,10)	33,116 p < 0,001
ОП крит.	0,145 (0,145–0,196)	0,145 (0,145–0,196)	0,145 (0,145–0,196)	0,145 (0,145–0,196)	—

Примечание: Краскелла-Уоллиса: χ^2 ; p (**p < 0,01; *p < 0,05 внутри всех пяти групп), Манна-Уитни (U) U**p < 0,01 I Е7 пол¹ к I Е7 отр² и II Е7 отр⁴; I Е7 отр² к II Е7 пол³ и II Е7 отр⁴; II Е7 пол³ к II Е7 отр⁴

Повышенная экспрессия онкобелка Е7 в основной группе Е7 пол³ была максимальной в сравнении с Е7 отр² и Е7 отр⁴ группами (**p < 0,01), что является показателем агрессивности опухолевого процесса и критерием неблагоприятного прогноза. В контрольной группе Е7 пол¹ также выявлена повышенная экспрессия онкобелка Е7 в сравнении с Е7 отр² и Е7 отр⁴ группами (**p < 0,01).

Выводы

1. Результаты исследования показали, что при патологии шейки матки, осложненной папилломавирусной инфекцией высокого канцерогенного риска, повышенное содержание онкобелка Е7 выявляется в 1,27 раза чаще, чем в группе без инфицирования ВПЧ. Уровень Е7 указывает на агрессивность зарождающегося опухолевого процесса и может рассматриваться как неблагоприятный прогностический признак.
2. Лабораторный тест онкогенной трансформации в комплексе с другими методами диагностики позволяет определить группы повышенного онкогенного риска среди пациентов с гинекологическими заболеваниями.

Список литературы

1. Онкобелок Е7 вируса папилломы человека — новый маркер ранних стадий канцерогенеза / В. И. Киселев, П. Г. Свешников, П. М. Барановский [и др.] // Terra Medica. — 2011. — Vol. 1. — P. 35–9.

2. Минкина Г. М. Предрак шейки матки / Г. М. Минкина, И. Б. Манухин, Г. А. Франк. — М. : Аэрограф-медиа, 2001. — 200 с.
3. Использование онкопротеина p16INK4A и ПЦР-анализа вирусов папилломы человека в диагностике дисплазий и рака шейки матки / О. В. Михалева, Л. Д. Андосова, К. Н. Конторщикова [и др.] // Мед. альманах. — 2010. — № 4. — С. 143–5.
4. Прилепская В. Н. Профилактика рака шейки матки : методы ранней диагностики и новые скрининговые технологии / В. Н. Прилепская // Гинекология. — 2007. — № 1. — С. 12–5.
5. Профилактика рака шейки матки : руководство для врачей. — М. : МЕДпресс-информ, 2007. — 56 с.
6. Клиническое значение молекулярных маркеров при папилломавирусной инфекции / С. И. Роговская, Д. Ю. Трофимов, Е. А. Коган, Э. Х. Сабдулаева // Акушерство и гинекология. — 2011. — № 4. — С. 4–10.
7. Ki-67 quantitative evaluation as a marker of cervical intraepithelial neoplasia and human papillomavirus infection / M. Mimica [et al.] // Int. J. Gynecol. Cancer. — 2010. — Vol. 20 (1). — P. 116–9.

ROLE OF THE EXPRESSION OF E7 ONCOPROTEIN IN EARLY DIAGNOSTICS OF CERVICAL CANCER

L. D. Belotserkovtseva¹, L. B. Kovalenko¹, S. V. Leskova^{1,2}

¹*Medical Institute SBEI HPE «Surgut state university» (Surgut c.)*

²*MBHE «Clinical city polyclinic № 1» (Surgut c.)*

E7 oncoprotein level at 95 patients with pathology of cervical cancer is determined. Quantitative measurement of E7 oncoprotein in cervical analysis with usage of immunoenzymatic test system is used at examination. Results of research showed that, the raised contents of the E7 oncoprotein is registered in 1,27 times more often at cervical cancer pathology complicated with Papilloma Viral infection of high cancerogenic risk than in group without HPV. The E7 level indicates aggression of arising tumoral process and can be considered as an adverse prognostic sign.

Keywords: Papilloma Viral Infection, E7 oncoprotein, cervical cancer.

About authors:

Belotserkovtseva Larisa Dmitriyevna — doctor of medical sciences, professor, head of obstetrics and gynecology chair at Medical Institute SBEI HPE «Surgut state university», honored doctor of the Russian Federation, e-mail: ag_kpc@admsurgut.ru

Kovalenko Lyudmila Vasilyevna — doctor of medical sciences, professor, rector of Medical Institute SBEI HPE «Surgut state university», e-mail: svleskova@rambler.ru

Leskova Svetlana Vladimirovna — teacher of obstetrics and gynecology chair at Medical Institute SBEI HPE «Surgut state university», head of women's health clinic of MBHE «Clinical city polyclinic № 1», e-mail: svleskova@rambler.ru

List of the Literature:

1. E7Oncoprotein of human papilloma virus as new marker of early stages of carcinogenesis / V. I. Kiselyov, P. G. Sveshnikov, P. M. Baranovsky [etc.] // Terra Medica. — 2011 . — Vol. 1 . — P. 35–9.
2. Minkina G. M. Cervical precancer / G. M. Minkina, I. B. Manukhin, G. A. Frank. — M: Air brush media, 2001. — 200 P.
3. Usage p16INK4A oncoprotein and PCR-analysis of HPV in diagnostics of dysplasias and cervical cancer O. V. Mikhaleva, L. D. Andosova, K. N. Kontorshchikova [etc.] // Medical almanac. — 2010. — № 4. — P. 143-5.
4. Prilepsy V. N. Prevention of cervical cancer: methods of early diagnostics and new screening technologies / V. N Prilepsy // Gynecology. — 2007. — № 1. — P. 12-5.
5. Prophylaxis of cervical cancer: guidance for doctors. — M: Medical press inform, 2007. — 56 P.
6. Clinical value of molecular markers at Papilloma Viral Infection / S. I. Rogovskaya, D. Y. Trofimov, E. A. Kogan, E. H. Sabdulayeva // Obstetrics and gynecology. — 2011. — № 4. — P. 4-10.
7. Ki-67 quantitative evaluation as a marker of cervical intraepithelial neoplasia and human papillomavirus infection / M. Mimica [et al.] // Int. J. Gynecol. Cancer. — 2010. — Vol. 20 (1). — P. 116–9.