

РОЛЬ ГЕНОТИПА ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА В РАЗВИТИИ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ДИСПЛАЗИЙ И ПРЕИНВАЗИВНОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ У ЖЕНЩИН В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Кафедра онкологии с курсом лучевой диагностики и лучевой терапии
(зав. — канд. мед. наук В. Н. Беляковский) УО Гомельский государственный медицинский университет,
Республика Беларусь

Цель исследования: выявить доминирующие генотипы вирусов папилломы человека высокого онкогенного риска (ВПЧ-ВР) и определить их ассоциацию с эпителиальными дисплазиями и преинвазивным раком шейки матки у женщин в Республике Беларусь.

Учреждение: УО Гомельский государственный медицинский университет.

Методология: проспективное исследование.

Материалы исследования: 97 пациенток с патологией шейки матки: койлоцитозом многослойного плоского эпителия, эпителиальными дисплазиями I—III степени тяжести (CIN I—III), преинвазивным раком (Ca in situ), микроинвазивным раком (Ia1 стадия по FIGO) в возрасте от 18 до 55 лет.

Методы исследования: простая и расширенная кольпоскопия, морфологическое исследование материала, полимеразная цепная реакция.

Результаты исследования: из 97 обследованных пациенток у 86 (88,6%) было выявлено ДНК ВПЧ-ВР, 11 (11,4%) женщины оказались ВПЧ-ВР-негативными. В 31 (40,8%) случае эпителиальные дисплазии и преинвазивный рак шейки матки ассоциирован с ВПЧ 16-го типа, как в виде моноинфекции, так и в сочетании с другими типами ВПЧ-ВР. 2-е и 3-е место по частоте встречаемости занимают ВПЧ 33-го и 31-го типов, составляя 22,4 и 14,5% соответственно. Во многих странах занимающий 2-е место по частоте встречаемости при предраковой патологии и раке шейки матки ВПЧ 18-го типа в нашем исследовании оказался на 8-м месте и составил 6,6%.

Заключение: установлены различия в превалировании ВПЧ-генотипов в развитии дисплазий и рака эпителия шейки матки в Республике Беларусь по сравнению с Северной Америкой и странами Западной Европы. Эта информация дает основания продолжать исследования в данном направлении, чтобы при популяционном анализе можно было получить достоверные значения доминирующих ВПЧ-генотипов в развитии эпителиальных дисплазий и рака шейки матки и разработать оптимально адаптированную панель вирусов для создания профилактической вакцины, удовлетворяющей особенностям эпидемиологии генитальной ВПЧ-инфекции в Республике Беларусь.

Objective: to reveal the dominant genotypes of high cancer risk human papillomaviruses (HCR-HPV) and to determine their association with epithelial dysplasias and cancer in situ of the cervix uteri in the Republic of Belarus.

Setting: Gomel State Medical University.

Design: a prospective study.

Subjects: 97 patients aged 18 to 55 years who had abnormalities of the cervix uteri: stratified squamous epithelial koilocytosis, first-to-third-degree epithelial dysplasias (CIN I-III), cancer in situ (Ca in situ), and microinvasive carcinoma (FIGO Ia1 stage).

Methods: simple and extended colposcopy, morphological study, polymerase chain reaction.

Results: 86 (88.6%) out of the 97 patients, were found to have HCR-HPV DNA and 11 (11.4%) were HCR-HPV negative. In 31 (40.8%) cases, epithelial dysplasias and cancer in situ of the cervix uteri were associated with both HPV type 16 as mono-infection and other HCR-HPV types. HPV-33 and HPV-31 rank second and third in occurrence, amounting to 22.4 and 14.5%, respectively. HPV-18 that fills the second place in occurrence in precancer and cancer of the cervix uteri in many countries has ranked eighth in our study and accounted for 6.6%.

Conclusion: differences have been established in the prevalence of HPV genotypes in the development of epithelial dysplasias and cancer of the cervix uteri in the Republic of Belarus as compared with North America and Western European countries. This information gives grounds to continue studies in this area, so that during population-based studies investigators can obtain reliable values of dominant HPV genotypes in the development of epithelial dysplasias and cancer of the cervix uteri and develop an optimally adapted virus panel for the designing a prophylactic vaccine that will satisfy the specific features of the epidemiology of genital HPV infection in the Republic of Belarus.

Ежегодно в мире регистрируется около 500 000 новых случаев рака шейки матки, который, будучи в большинстве случаев предотвращаемым, является причиной смерти 250 000 женщин в год [2]. В странах Евросоюза заболеваемость раком шейки матки в среднем составляет 7—8 случаев на 100 000 населения, в то время как в странах Восточной Европы (в Сербии и Румынии) достигает 30—35 случаев на 100 000 населения [2]. В Республике Беларусь заболеваемость раком шейки матки в 1990 г. составила 14,7, в 2005 г. — 17,4 на 100 000 населения. При этом изменилась возрастная структура заболевших раком шейки матки. Произошло смещение в сторону пациенток репродуктивного возраста [1]. Повышение заболеваемости раком шейки матки у женщин молодого возраста связано с широким распространением основного этиологического фак-

тора данной патологии — вируса папилломы человека высокого онкогенного риска (ВПЧ-ВР), что обусловлено изменением стереотипов сексуального поведения женщин. Широко известные факторы риска для развития ВПЧ-инфекции включают ранний возраст начала половой жизни, количество сексуальных партнеров, курение, длительную иммуносупрессию. Поскольку ВПЧ-инфекция широко распространена среди здоровых женщин, очевидно, что дополнительные эпидемиологические, иммунологические и генетические факторы также влияют на процессы канцерогенеза в эпителии шейки матки и указывают на то, что ВПЧ-ВР является необходимым, но не единственным фактором развития данного заболевания. Пик генитальной ВПЧ-инфекции приходится на возраст 20—25 лет и снижается после 30 лет. В этом возрасте су-

шественно увеличивается частота дисплазий и рака шейки матки, пик которого приходится на 45–55 лет. Обычно ВПЧ-инфекция носит временный характер и при первичной инфекции самоизлечение может наступить через 6–8 мес [7]. Персистентная инфекция с длительной, активной экспрессией вирусных онкобелков Е6/Е7 является необходимым условием возникновения рака шейки матки. Можно предположить, что роль вирусной инфекции сводится к запуску многостадийного процесса трансформации, который в значительной степени контролируется клеточными факторами.

Известно, что ВПЧ 16-го и 18-го типов достаточно широко распространены в мире и именно им принадлежит основная роль в развитии рака шейки матки в США и странах Западной Европы. В то же время преобладающие типы ВПЧ-ВР различаются географически. Так, исследования, проведенные в Шотландии и Австралии, продемонстрировали, что при эпителиальных дисплазиях и раке шейки матки ВПЧ 16-го генотипа выявлен в 47 и 52,9% случаев, ВПЧ 18-го типа — в 29 и 18,3% случаев соответственно [5, 6]. В то же время исследование, проведенное в большой популяции японских женщин, выявило наиболее высокую частоту встречаемости при патологии шейки матки ВПЧ 52, 16 и 58-го типов [3]. У мексиканских женщин, где заболеваемость раком шейки матки одна из самых высоких в мире, наиболее часто при эпителиальных дисплазиях и раке шейки матки выявляются ДНК ВПЧ 16-го типа (71,6%) и ВПЧ 58-го типа (18,6%), частота встречаемости ВПЧ 18-го типа составляет всего 4,6% [4]. Актуальным является использование вакцины для профилактики рака шейки матки. Для создания вакцины необходимо сформировать оптимальную панель ВПЧ-генотипов, учитывая преобладание и роль ВПЧ-генотипа в развитии дисплазии и рака шейки матки.

Целью исследования явилось выявление доминирующих ВПЧ-генотипов и определение их ассоциации с эпителиальными дисплазиями и преинвазивным раком шейки матки у женщин в Республике Беларусь.

Материал и методы исследования

С 2005 по 2006 г. обследовано 97 пациенток от 18 до 55 лет (средний возраст 29,3 года). У всех женщин диагноз был верифицирован гистологически. У 21 больной диагностировали койлоцитоз многослойного плоского эпителия, у 24 женщин выявлена дисплазия легкой степени, у 22 — дисплазия умеренной степени, у 19 — дисплазия тяжелой степени, у 10 — TisN0M0 — 0 стадия, у 1 пациентки — рак шейки матки T1a1N0M0 — Ia стадия. Были использованы следующие методы исследования: простая и расширенная кольпоскопия, цитологический и гистологический методы исследования. Для обнаружения ВПЧ-ВР использовали полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Был использован набор АмплиСенс-50-F ВПЧ ВКР-скрин для определения суммарного ДНК ВПЧ-ВР и набор АмплиСенс-50-F ВПЧ ВКР-генотип для выявления 14 вирусов высокого онкогенного риска. Метод осно-

ван на одновременной амплификации (мультиплекс-ПЦР) участков ДНК Е1-Е2 генов трех групп ВПЧ и участка ДНК β-глобинового гена, используемого в качестве эндогенного внутреннего контроля. ПЦР-анализ на наличие ДНК 14 типов ВПЧ проводится в одной пробирке. Все амплифицируемые фрагменты имеют сходную длину.

Математическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы Statistica 6.0, Microsoft Excel.

Результаты исследования и обсуждение

Из обследованных 97 больных с различной патологией шейки матки у 86 (88,6%) выявлена ДНК ВПЧ-ВР, у 11 (11,4%) женщин оказались ВПЧ-ВР-негативными. 20 (20,6%) больным была проведена ПЦР на определение только суммарной ДНК ВПЧ-ВР и получен позитивный ответ. Остальным 76 (78,4%) пациенткам провели ВПЧ-генотипирование. Из них у 65 (85,5%) женщин определен генотип ВПЧ-ВР, у 11 (11,4%) больных ВПЧ-ВР определен не был.

Распределение ВПЧ в виде одного или нескольких генотипов ВПЧ-ВР при эпителиальных дисплазиях I–III степени тяжести, преинвазивном, микроинвазивном раке эпителия шейки матки и койлоцитозе многослойного плоского эпителия (эписомальной форме персистенции) представлено в табл. 1.

Необходимо отметить, что при дисплазии легкой степени у 4 (19,1%) пациенток не выявлено ДНК ВПЧ-ВР, в то время как у 17 (80,9%) женщин определили ВПЧ-ВР. В 7 (41%) случаях определен I-й тип ВПЧ-ВР, а в 10 (59%) случаях выявлена ассоциация двух и более типов ВПЧ-ВР, из которых у 6 (60%) пациенток определено сочетание ВПЧ 16, 18-го типов с другими типами ВПЧ. При дисплазии умеренной степени отрицательный ПЦР-тест получен у 1 (5%) больной, у 19 (95%) выявлена ДНК ВПЧ-ВР. В 12 (63,2%) случаях выявлен I тип ВПЧ, у 7 (36,8%) пациенток — ассоциация нескольких типов ВПЧ, из которых у 4 (51,1%) — сочетание с ВПЧ 16, 18-го типов. При дисплазии тяжелой степени ВПЧ-ВР-негативный тест получен у 1 (7%) пациентки, у 13 (93%) в эпителии шейки матки определены ВПЧ-ВР. У 6 (46%) пациенток выявлена моноинфекция, у 7 (54%) ассоциация двух типов ВПЧ-ВР и более. У 6 (85,7%) из них диагностировано сочетание с ВПЧ 16-го типа. У 3 (33%) женщин с преинвазивным раком шейки матки не выявлена ДНК ВПЧ, у 6 (67%) генотипированы ВПЧ. В 4 (67%) случаях определен I тип ВПЧ-ВР, в 2 (33%) — ассоциация нескольких типов ВПЧ-ВР, из них в 1 случае с ВПЧ 16-го типа. Нами была обследована 1 женщина с микроинвазивным раком шейки матки (T1a1N0M0 Ia1 стадия), у которой выявлена ДНК ВПЧ 16-го типа. У 2 (18,2%) пациенток с эписомальной формой персистенции ВПЧ-инфекции ПЦР-тест отрицательный, у 9 (81,8%) — выявлена ДНК ВПЧ-ВР. 8 (89%) женщин инфицированы одним типом ВПЧ-ВР, и лишь у 1 (11%) больной определили сочетание двух типов ВПЧ-ВР.

Распределение генотипов ВПЧ-ВР у пациенток с патологией шейки матки

Тип ВПЧ	Число больных с эпителиальной дисплазией и раком шейки матки, у которых выявлена ДНК ВПЧ-ВР					
	CIN1 (n = 21)	CIN2 (n = 20)	CIN3 (n = 14)	Ca in situ (n = 9)	рак шейки матки T1a1N0M0 Ia1 стадия (n = 1)	койлоцитоз плоского эпителия (n = 11)
ВПЧ-16 (n = 35; 40,8%)	7	9	9	1	1	4
ВПЧ-18 (n = 5; 6,6%)	2	1	1	1	Не выявлен	Не выявлен
ВПЧ-31 (n = 11; 14,5%)	4	3	3	1	Не выявлен	Не выявлен
ВПЧ-33 (n = 17; 22,4%)	7	4	1	2	Не выявлен	3
ВПЧ-35 (n = 9; 11,8%)	2	4	2	1	Не выявлен	Не выявлен
ВПЧ-39 (n = 1; 1,3%)	Не выявлен	1	Не выявлен	Не выявлен	Не выявлен	Не выявлен
ВПЧ-45 (n = 6; 7,8%)	2	2	Не выявлен	1	Не выявлен	1
ВПЧ-52 (n = 6; 7,9%)	2	2	1	Не выявлен	Не выявлен	1
ВПЧ-56 (n = 8; 10,5%)	1	2	3	2	Не выявлен	Не выявлен
ВПЧ-58 (n = 4; 5,3%)	3	Не выявлен	1	Не выявлен	Не выявлен	Не выявлен
ВПЧ-59 (n = 2; 2,6%)	Не выявлен	1	Не выявлен	Не выявлен	Не выявлен	1
ВПЧ-66 (n = 2; 2,6%)	Не выявлен	1	Не выявлен	Не выявлен	Не выявлен	Не выявлен

При койлоцитозе многослойного плоского эпителия, который является маркером эписомальной формы персистенции ВПЧ-инфекции, превалирует инфицирование одним типом вируса (89%). Вероятно, это позволяет иммунной системе длительное время сохранять баланс между вирусом и организмом пациентки и препятствует переходу ВПЧ в интегрированную форму персистенции, которая сопровождается развитием эпителиальных дисплазий.

В результате проведенного исследования следует отметить, что наиболее часто (40,8%), эпителиальные дисплазии и преинвазивный рак шейки матки ассоциированы с ВПЧ 16-го типа, как в виде моноинфекции, так и в сочетании с другими типами ВПЧ-ВР. 2-е и 3-е место по частоте встречаемости занимают ВПЧ 33-го и 31-го типов, составляя 22,4 и 14,5% соответственно. ВПЧ-18, занимающий 2-е место по частоте встречаемости при предраковой патологии и раке шейки матки в других странах мира, в нашем исследовании оказался на 8-м месте и составил 6,6%.

В заключение необходимо обратить внимание на то, что проведенное исследование продемонстрировало различия в превалировании ВПЧ-генотипов в развитии дисплазий и рака эпителия шейки матки в Республике Беларусь по сравнению с Северной Америкой и странами Западной Европы [5, 6]. Для широкого применения профилактической вакцины, особенно в странах с низким уровнем ресурсов, где стоимость в 300 долл. США за вакцинацию одного человека может являться существен-

ным барьером, необходимо выяснить, насколько оправдано использование вакцины, содержащей только ВПЧ 16- и 18-го типов. Поэтому у нас есть основания продолжать исследования в предложенном направлении, чтобы при популяционном анализе можно было получить достоверные значения доминирующих ВПЧ-генотипов в развитии эпителиальных дисплазий и рака шейки матки и разработать оптимально адаптированную панель вирусов для создания профилактической вакцины, удовлетворяющей особенностям эпидемиологии генитальной ВПЧ-инфекции в Республике Беларусь.

ЛИТЕРАТУРА

1. Поляков С. М., Левин Л. Ф., Шебеко Н. Г. Злокачественные новообразования в Беларуси 1996–2005 / Под ред. А. А. Граковича, И. В. Залуцкого. — Минск, 2006.
2. GLOBOCAN 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. IARC CancerBase N 5, version 2.0. — IARC Press. 2004.
3. Inoue M., Sakaguchi J., Sasagawa T., Tango M. // Int. J. Gynecol. Cancer. — 2006. — Vol. 16. — P. 1007–1013.
4. Pina-Sanchez P., Hernandez-Hernandez D. M., Lopez-Romero R. et al. // Int. J. Gynecol. Cancer. — 2006. — Vol. 16. — P. 1041–1047.
5. Stevens M. P., Tabrizi S. N., Quinn M. A., Garland S. M. // Int. J. Gynecol. Cancer. — 2006. — Vol. 16. — P. 1017–1034.
6. Tawfik El-Mansi M., Cuschieri K. S., Morris R. G., Williams A. R. // Int. J. Gynecol. Cancer. — 2006. — Vol. 16. — P. 1025–1031.
7. Tjiong M., Out T., Van Der Vange N. et al. // Int. J. Gynecol. Cancer. — 2001. — Vol. 11. — P. 9–17.

Поступила 12.02.07