

сле двух курсов ПХТ отмечено появление при наличии в материале одного 16 типа еще и 18, 33, 45, 58. Такие канцерогенные штаммы ВПЧ, как 18 (3,8 %), 31 (3,8 %), 33 (3,8 %), встречающиеся крайне редко, после проведения двух курсов ПХТ не исчезли. Число больных с перечисленными выше типами не велико и составляет 15,4 %, в то время как число пациенток с ВПЧ 16 типа (в самостоятельном варианте либо в сочетании с другими) равно 41,6 %. У одной пациентки после двух курсов ПХТ исчез онкогенный штамм 35, но вместо него были диагностированы 33 и 45.

На основании полученных данных установлено, что:

- наиболее часто при нерезектабельном РШМ встречается 16 тип ВПЧ, остальные диагностируются крайне редко;
- использование двух курсов ПХТ, даже если один из них является локальным с введением цитостатика в маточные артерии, не приводит к

эрадикации онкогенных штаммов ВПЧ у больных нерезектабельным РШМ.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Аполихина, И. А. Папилломавирусная инфекция гениталий у женщин / И. А. Аполихина; под ред. В. И. Кулакова. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. — 112 с.
2. Ашрофян, Л. А. Опухоли репродуктивных органов (этиология и патогенез) / Л. А. Ашрофян, В. И. Киселев. — М.: Димитрейд График Групп, 2008. — 216 с.
3. Киселев, В. И. Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки / В. И. Киселев. — М.: Димитрейд График Групп, 2004. — 184 с.
4. Кутушева, Г. Ф. Проблемы вакцинопрофилактики рака шейки матки / Г. Ф. Кутушева, Е. А. Ульрих, А. Ф. Урманчеева // Практическая онкология. — 2009. — Т. 10, № 2. — С. 62–70.
5. Злокачественные новообразования в Беларуси 1999–2008 / С. М. Поляков [и др.]; под ред. И. В. Малаховой, И. В. Залуцкого. — Мн.: РНПЦ МТ, 2009. — 205 с.
6. Трушина, О. И. Противовирусная и противоопухолевая эффективность фотодинамической терапии при предраке и раннем раке шейки матки / О. И. Трушина, В. И. Чиссов, В. В. Соколов // Российский онкологический журнал. — 2009. — № 4. — С. 15–17.
7. IARC Monographs on Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans // Human Papillomaviruses. — 1995. — Vol. 64. — 146 с.

УДК 618.146-006.6:615.277.3

### ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ И ПРОТИВОВИРУСНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ФОТОЛОНОМ У БОЛЬНЫХ ЦЕРВИКАЛЬНОЙ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИЕЙ II–III СТЕПЕНИ

И. А. Косенко, Ю. П. Истомин, Т. П. Лапцевич, В. Н. Чалов, Р. М. Смолякова

Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, г. Минск

Разработан, изучен в эксперименте и апробирован в клинике на 112 больных дисплазией шейки матки II–III степени метод фотодинамической терапии. Он включал в себя два этапа: введение фотосенсибилизатора и облучение лазером с длиной волны, соответствующей пику поглощения препарата. Установлены следующие положения: ФДТ ЦИН шейки матки способствует снижению уровня ВПЧ-инфицированности пациенток (с 81,2 до 56 %), клиническая эффективность ФДТ ЦИН шейки матки соответствует 92,8 % полного излечения пациенток.

Таким образом, ФДТ является альтернативным методом лечения с сохранением анатомической и функциональной целостности органа, что немаловажно для женщин, планирующих роды. Результаты 5-летнего мониторинга больных с умеренной и тяжелой дисплазией и раком *in situ* свидетельствуют о том, что методика ФДТ, выбранные режимы лазерного воздействия и световая доза являются адекватными. ФДТ ведет к улучшению факторов прогноза течения предраковых заболеваний шейки матки.

**Ключевые слова:** цервикальная интраэпителиальная неоплазия, папилломавирусная инфекция, фотодинамическая терапия, фотолон.

### ANTITUMORAL AND ANTIVIRAL EFFECTIVENESS OF PHOTODYNAMIC THERAPY IN PATIENTS WITH CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA II–III SUFFERED FROM PHOTOLON

I. A. Kosenko, Y. P. Istomin, T. P. Laptsevich, V. N. Chalov, R. M. Smolyakova

Republican Scientific Research Centre of Oncology and Medical Radiology named after N. N. Alexandrov, Minsk

The method of photodynamic therapy has been elaborated, studied experimentally and tested in a clinic in 112 patients with CIN II–III. The method of photodynamic therapy included two stages: administration of photosensibilizer and radiation treatment with a laser of long length, corresponding to the peak of the absorption of the medicine. The following theses were established: photodynamic therapy of CIN contributes to the decrease of the number of HPV-positive patients (from 81.2 to 56 %), the clinical effectiveness photodynamic therapy of CIN corresponds to 92,8 % of the completely recovered patients.

Thus, the photodynamic therapy is an alternative treatment method with the preservation of the anatomic and functional integrity of the organ, which is important for women, who plan pregnancy. The results of a-5-year-monitoring of the patients with moderate and severe dysplasia and cancer *in situ* свидетельствуют о том, что методика ФДТ, выбранные режимы лазерного воздействия и световая доза являются адекватными. ФДТ ведет к улучшению факторов прогноза течения предраковых заболеваний шейки матки.

todynamic therapy, chosen regimens of the laser effect and light dose are adequate. The photodynamic therapy leads to the improvement of the prediction factors of the course of precancerous cervical diseases.

**Key words:** cervical intraepithelial neoplasia, human papillomavirus, photodynamic therapy, photolon.

### Введение

Совокупность накопленных сегодня экспериментальных, эпидемиологических и клинических данных позволяет утверждать, что ВПЧ — один из этиологических факторов ЦИН, которая рассматривается, как предшественник рака. РШМ остается первым среди злокачественных опухолей, в отношении которого установлена вирусная этиология [1–5]. Причем многие специалисты полагают, что по мере того, как тесты на ВПЧ станут более чувствительными, все случаи РШМ будут ассоциироваться с ВПЧ [6, 7, 8].

В настоящее время идентифицировано около 100 серотипов ВПЧ, 30 из которых играют важную роль при поражениях половых органов. Показано, что риск злокачественного перерождения тканей связан с несколькими из них. Они обозначаются как вирусы высокого онкогенного риска. Это ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 45 генотипа. К вирусам низкого онкогенного риска относят 6, 11, 42 и 43 типы ВПЧ [9, 10].

Одним из перспективных направлений лечения ЦИН II–III является фотодинамическая терапия (ФДТ), которая основана на применении фотосенсибилизаторов (ФС), избирательно накапливающихся в пораженной ткани. При воздействии на патологически измененную область лазерным излучением с определенной длиной волны, специфичной для каждого ФС, цитотоксичность препарата многократно возрастает, что

приводит к образованию фотохимического некроза тканей в облученной зоне [11, 12, 13, 14, 15]. По литературным данным, преимуществами ФДТ являются избирательность поражения, отсутствие риска хирургического вмешательства и тяжелых системных осложнений, относительно низкая стоимость лечения [16, 17, 18].

Учитывая малоинформативность литературных данных о противовирусной эффективности фотодинамической терапии, *целью* данной работы явилась оценка не только противоопухолевого воздействия на пораженные ткани шейки матки, но и оценка возможности эрадикации папилломавирусной инфекции.

### Материалы и методы

В основу исследований положен анализ клинико-морфологических результатов фотодинамической терапии с фотолоном шейки матки у 112 женщин. Средний возраст женщин был относительно молодым и составил  $35,2 \pm 1,6$  лет.

Обследование пациенток проводили по двум направлениями: определение тяжести и локализации патологического процесса и идентификация папилломавирусной инфекции.

При комплексном обследовании у 24 пациенток диагностирована дисплазия умеренной степени, у 88 — дисплазия тяжелой степени и рак *in situ*. В большинстве случаев патологические изменения были локализованы в эктоцервиксе (таблица 1).

Таблица 1 — Распределение больных по возрасту и степени тяжести

Степень тяжести	18–25 лет	26–35 лет	36–45 лет	46–55 лет	56–65 лет	Старше 65 лет
Дисплазия II степени	2	10	11	—	—	1
Дисплазия III степени	18	44	17	5	1	3
ВСЕГО:	20	54	28	5	1	4

У всех больных до лечения и при контрольных обследованиях методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией проводилась идентификация и дифференцировка 12 онкогенных генотипов ВПЧ (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) с использованием комплекта реагентов «АмплиСенс ВПЧ ВКР скрин-титр-RTF 4х» (ФГУН ЦНИИ эпидемиологии МЗ РФ, г. Москва) на приборе «Mx3000P» (фирма «Stratagene»).

Контроль за состоянием больных и эффективностью лечения осуществляли спустя 3 месяца и в сроки от 1 до 5 лет после лечения. Выполняли обзорную и расширенную кольпоскопию, проводили бимануальное обследование, взятие мазков для цитологического исследования, ДНК-диагностику ме-

тодом ПЦР. Гистологическое исследование биоптатов шейки матки проводили спустя год после сеанса ФДТ под контролем кольпоскопа в участке, где ранее была диагностирована патология. В последующем биопсию выполняли по показаниям.

Сеанс фотодинамической терапии проводили в два этапа однократно с применением лазерной установки «ЛД680-2000» (Биоспек, Москва) с длиной волны излучения 670 нм. Независимо от локализации патологического процесса облучению подвергались как влагиалищная часть шейки матки, так и цервикальный канал.

На первом этапе внутривенно вводили раствор фотосенсибилизатора. На втором проводили непосредственно сеанс фотооблучения.

В качестве фотосенсибилизатора использовали фотолон, производства РУП «Белмедпрепараты» (Минск), раствор которого вводили внутривенно в диапазоне доз от 1,0 до 2,5 мг на кг массы тела больного. Сеанс локального фотооблучения проводили через 3–4 часа после введения препарата. В течение 3–4 дней после проведенного лечения пациенты соблюдали специальный световой режим.

### Результаты

Во время внутривенной инфузии фотолон состояние больных было удовлетворительным. Аллергических реакций, которые потребовали бы прекращения введения препарата, не отмечалось. В течение последующих трех суток, соответствующих периоду полураспада фотосенсибилизатора в тканях и органах, выраженных побочных реакций не наблюдали. 12 пациенток отметили учащенное мочеиспускание, 1 — диспепсические расстройства и у 7 пациенток в первые 5 суток отмечалась субфебрильная температурная реакция. Во время проведения лечения пациентки отмечали болевую реакцию при

воздействии на цервикальный канал, выраженность которой была различна и требовала медикаментозного вмешательства.

Сразу после окончания сеанса ФДТ у всех больных четко определялась зона на шейке матки в виде отека и гиперемии в области светового воздействия с последующим, в течение 3–4 дней, формированием некротического струпа и образованием фибриновых пленок в цервикальном канале. Контроль за образованием некроза осуществлялся путем получения флуоресцентных изображений с помощью кольпоскопа. Границы области снижения содержания фотолон в результате фотооблучения, определяемые по флуоресцентным изображениям, коррелировали с границами образующегося впоследствии некроза. Полная эпителизация шейки матки происходила спустя 8–12 недель после лечения.

К настоящему времени сроки наблюдения после ФДТ составили от 3 мес до 5 лет. Эффективность метода по критериям ВОЗ приведена в таблице 2.

Таблица 2 — Эффективность ФДТ с фотолоном

Степень тяжести	Число больных	Полная регрессия	Частичная регрессия	Стабилизация	Прогрессирование
ЦИН II	24 (21,4 %)	23 (20,5 %)	—	1 (0,9 %)	—
ЦИН III	88 (78,6 %)	81 (72,3 %)	3 (2,7 %)	4 (3,6 %)	—
ВСЕГО	112 (100 %)	104 (92,8 %)	3 (2,7 %)	5 (4,5 %)	—

Всем пациентам с неполной регрессией (3 наблюдения) проведен повторный сеанс ФДТ с положительным эффектом. Случаев прогрессирования заболевания выявлено не было.

Особенно следует обратить внимание на полученные результаты эрадикации папилломавирусной инфекции по данным неоднократных вирусологических исследований.

У 91 из 112 пациенток (81,2 %) до начала лечения в соскобах эпителия и биоптатах шейки матки были выявлены генотипы ВПЧ высокого канцерогенного риска. При ДНК-диагностике методом ПЦР спустя 3 месяца после ФДТ полная эрадикация ВПЧ установлена у 51 (56 %) из 91 пациенток, имеющих до лечения генотипы ВПЧ высокого канцерогенного риска. При последующих контрольных обследованиях процент женщин с ВПЧ увеличился до 78,2 % (71 пациентка). Причина этого, по нашему мнению, реинфицирование женщин и наличие персистентных форм ВПЧ у данных больных, при отсутствии морфологических изменений в мазках и биоптатах. Локальное воздействие не избавляло пациенток от ВПЧ из-за значительного числа мультифокальных поражений, наличия скрытого компонента инфекции или реинфекции.

### Выводы

Таким образом, проведенный клинический анализ ФДТ предрака и начальных форм рака с

отечественным фотосенсибилизатором фотолон позволяет сделать следующие выводы.

— ЦИН имеет место у больных относительно молодого возраста (средний возраст 35,2) с преимущественной локализацией в экзоцервиксе (87,5 %);

— эпителизация слизистой шейки матки наступает через 8 недель, что отличает данный метод лечения от других;

— полная регрессия заболевания соответствует 92,8 %, частичная регрессия патологического очага имеет место в 2,7 %, а стабилизация — в 4,5 % случаев, что подчеркивает клиническую эффективность метода ФДТ;

— в случае частичной регрессии или стабилизации ЦИН эффективны повторные сеансы ФДТ, проводимые при тех же технических условиях, что и первый;

— ФДТ ЦИН шейки матки способствует снижению уровня ВПЧ-инфицированности пациенток (с 81,2 до 56 %), однако в последующем он повышается до 78,2 %, что свидетельствует о локальном действии метода, наличии скрытого компонента инфекции и возможной реинфекции.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Детекция ДНК вируса папилломы человека при фотодинамической терапии предрака и начального рака шейки матки / О. И. Трушина [и др.] // Рос. онкологический журнал. — 2007. — № 2. — С. 24–26.

2. Киселев, В. И. Этиологическая роль вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки: генетические и патогенетические механизмы / В. И. Киселев, О. И. Киселев // Цитокины и воспаление. — 2003. — Т. 2, № 4. — С. 313–318.
3. Прилепская, В. Н. Значение вируса папилломы человека в развитии диспластических процессов шейки матки / В. Н. Прилепская, Н. И. Кондриков, Т. Н. Бебнева // Гинекология. — 2000. — Т. 2, № 3. — С. 80–82.
4. Современные диагностические возможности в определении предрока и рака шейки матки (обзор литературы) / Ю. И. Подистов [и др.] // Цитология. — 2003. — № 3. — С. 15–24.
5. Странадко, Е. Ф. Исторический очерк развития фотодинамической терапии / Е. Ф. Странадко // Лазерная медицина. — 2002. — Т. 6, № 1. — С. 4–8.
6. A randomised, double-blind, placebo-controlled trial of photodynamic therapy using 5-aminolevulinic acid for the treatment of cervical intraepithelial neoplasia / A. A. Barnett [et. al.] // Int. J. Cancer. — 2003. — Vol. 103, № 6. — P. 829–832.
7. Clinical pharmacokinetics of the PDT photosensitizers porfimer sodium (Photofrin), 2-[1-hexyloxyethyl]-2-devinyl pyrropheophorbide-a (Photochlor) and 5-ALA-induced protoporphyrin IX / D.A. Bellnier [et. al.] // Lasers Surg. Med. — 2006. — № 38. — P. 439–444.
8. Cold-knife conization versus photodynamic therapy with topical 5-aminolevulinic acid (5-ALA) in cervical intraepithelial neoplasia (CIN) II with associated human papillomavirus infection: a comparison of preliminary results / K. Bodner [et. al.] // Anticancer Res. — 2003. — № 23. — P. 1785–1788.
9. High grade cervical intraepithelial neoplasia and viral load of high-risk human papillomavirus: significant correlations in patients of 22 years old or younger / Y. Xu [et al.] // Int. J. Clin. Exp. Pathol. — 2009. — Vol. 2, № 2. — P. 169–175.
10. Human papillomavirus infection and the primary and secondary prevention of cervical cancer / D. R. Lowy [et al.] // Cancer. — 2008. — Vol. 113, № 7. — P. 1980–1993.
11. High-grade cervical disease in adolescents with HIV / L. S. Massad [et al.] // J. Low. Genit. Tract. Dis. — 2008. — Vol. 12, № 3. — P. 199–203.
12. Kiseljov, F. Cellular and molecular biological aspects of cervical intraepithelial neoplasia / F. Kiseljov, O. Sakharova, T. Kondratjeva // Int. Rev. Cell. Mol. Biol. — 2008. — Vol. 271. — P. 35–95.
13. Krishnan, A. Malignancies in women with HIV infection / A. Krishnan, A. M. Levine // Womens Health (Lond Engl). — 2008. — Vol. 4, № 4. — P. 357–368.
14. Photodynamic therapy / T. J. Dougherty [et. al.] // J. Natl. Cancer Inst. — 1998. — № 90. — P. 889–905.
15. Hillemanns, P. Photodynamic therapy in women with cervical intraepithelial neoplasia using topically applied 5-aminolevulinic acid / P. Hillemanns // Int. J. Cancer. — 1999. — Vol. 81, № 1. — P. 34–38.
16. Negative cone biopsies. A reappraisal / E. Diakomanolis [et. al.] // J. Reprod. Med. — 2003. — Vol. 48, № 8. — P. 617–621.
17. Sasieni, P. How many cervical cancers are prevented by treatment of screen-detected disease in young women / P. Sasieni, A. Castanon, D. M. Parkin // Int. J. Cancer. — 2009. — Vol. 124, № 2. — P. 461–464.
18. Wheeler, C. M. Natural history of human papillomavirus infections, cytologic and histologic abnormalities and cancer / C. M. Wheeler // Obstet. Gynecol. Clin. North Am. — 2008. — Vol. 4, № 4. — P. 519–536.

УДК 616-006.6-07-084

## ПЕРВЫЙ ОПЫТ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ОНКОБЕЛКОВ E6/E7 ВПЧ 16 ТИПА ПРИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ОСМОТРЕ

Г. В. Костевич, И. А. Косенко

Республиканский научно-практический центр онкологии  
и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, г. Минск

В статье приведены результаты исследования онкобелков E6/E7 ВПЧ 16 типа в образцах эпителия шейки матки, полученных у 82 пациенток в результате выявленной кольпоскопически патологии шейки матки при проведении профилактического осмотра. Установлено, что 39,0 % обследованных инфицированы вирусом папилломы, причем 78,1 % из них имеют ВПЧ в клинически значимой концентрации и у каждой второй — доминирующим является ВПЧ 16 типа. Экспрессия онкобелков E6/E7 ВПЧ 16 типа обнаружена в 66,7 ± 12,2 % случаев, что составило 12,2 % всей группы исследования. В связи с этим сделаны выводы, что при проведении профилактических осмотров с целью диагностики субклинических форм ВПЧ-инфекции шейки матки целесообразно применение кольпоскопии с последующим ВПЧ-исследованием (генотипирование ВПЧ, оценка уровня вирусной нагрузки, определение экспрессии онкобелков) по показаниям, т.к. каждая десятая практически здоровая женщина, имеющая кольпоскопические признаки вирусного поражения эпителия шейки матки, входит в группу высокого риска по развитию РШМ в связи с наличием ВПЧ 16 типа и синтезом в клетках эпителия шейки матки вирусных белков, обладающих канцерогенной активностью.

**Ключевые слова:** профилактический осмотр, ВПЧ, онкобелки E6/E7.

## FIRST EXPERIENCE OF THE DETECTION OF THE HPV E6/E7 ONCOPROTEINS EXPRESSION IN A PROPHYLACTIC EXAMINATION

G. V. Kostevich, I. A. Kosenko

Republican Scientific Research Centre of Oncology and Medical Radiology  
named after N. N. Alexandrov, Minsk

In the article there are investigation results of the HPV 16 E6/E7 oncoproteins, detected by means of colposcopy in the pathological samples of cervical epithelium, taken from 82 patients during prophylactic examinations. It has been ascertained, that of the examined women, 39,0 % are HPV positive, and 78,1 % reveal HPV in the clinically significant concentration, the HPV 16 predominates in each second. The HPV 16 E6/E7 oncoproteins expression was detected in 66,7 ± 12,2 % cases, which made up 12,2 % of the whole investigation group. In connection with this, the conclusions have been made, that it is reasonable to use colposcopy with the subsequent HPV investigation (HPV genotyping, evaluation of viral load level, detection of oncoproteins expression) during prophylactic examinations for diagnostics of subclinical forms of the HPV infection of the cervix. As each tenth of practically healthy women, having colposcopic features of the viral lesion of the cervical epithelium, due to the presence of the HPV 16 and synthesis of viral proteins in the cervical epithelium cells, possessing carcinogenic activity, is in the high risk group of the development of cervical cancer.

**Key words:** prophylactic examination, HPV, E6/E7 oncoproteins.