

ВЫЯВЛЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА ВЫСОКОГО ОНКОГЕННОГО РИСКА У ЖЕНЩИН ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ

В ходе исследования выявлена инфицированность разными типами вируса папилломы человека в группах обследованных женщин. Показаны региональные особенности инфицирования папилломавирусом женского населения Томской области. Частота встречаемости клинически значимой вирусной нагрузки у больных с фоновой патологией, дисплазиями и раком шейки матки достоверно превышает аналогичный показатель у здоровых лиц.

Ключевые слова: папилломавирус; вирусная нагрузка; рак шейки матки.

Рак шейки матки (РШМ) является тяжелым быстро прогрессирующим заболеванием, которое занимает второе место в мире по частоте встречаемости среди злокачественных новообразований у женщин. По данным ВОЗ, каждый второй зарегистрированный случай данной патологии в течение года заканчивается летальным исходом в связи с поздней диагностикой.

В Российской Федерации заболеваемость РШМ составляет 12 человек на 100 000 женского населения, а летальность – 4,6% от всех смертей от онкологической патологии у женщин, что несколько выше, чем в развитых европейских странах [1]. Наиболее высокие показатели заболеваемости регистрируются на Дальнем Востоке и в Сибири (Читинская область – 33,1%, Республика Тыва – 25,5%, Томская область – 22,7%) (стандартизированный показатель на 100 000 населения) [2].

После открытия Гарольдом зур Хаузенем в начале 70-х гг. прошлого века этиологического фактора РШМ – вируса папилломы человека (ВПЧ) (Нобелевская премия, 2008 г.) – ученые всего мира направили свои усилия на исследование этой инфекции и ее роли в этиопатогенезе заболеваний шейки матки.

В настоящее время идентифицировано более 100 типов папилломавируса, которые по действию на эпителиальные клетки были разделены на группы низкого и высокого онкогенного риска. К первой группе относятся 4, 6, 11, 42, 43-й типы, вызывающие доброкачественные разрастания – бородавки, кондиломы, папилломы. Представители же второй группы – 16, 18, 31, 35, 45-й и другие типы – способны индуцировать развитие неопластических изменений клеток и инвазивного рака [3].

Известно, что развитие тяжелых дисплазий является процессом длительным и многостадийным. Причем персистентная инфекция с длительной экспрессией онкобелков является необходимым условием возникновения атипических изменений эпителия шейки матки. От момента инфицирования до развития неопластических изменений может проходить от 10 до 15 лет [4]. В связи с этим возникает возможность предотвращения данного процесса при выявлении ВПЧ у женщин на стадиях персистенции вируса и легких диспластических изменений эпителия шейки матки. В настоящее время активно ведутся работы по разработке программ ранней диагностики и профилактики предраковых патологий и рака шейки матки, которые основываются на информации об общей инфицированности и распространенности генотипов вируса папилломы в отдельных регионах.

Для повышения чувствительности и сохранения специфичности исследования, в дополнение к цитоло-

гическому анализу, ряд международных организаций (ASCCP, EUROGIN, IARC WHO) рекомендует использовать тесты, которые позволяют установить носительство вируса, генотипировать отдельные типы и определять концентрацию ДНК ВПЧ в образце. В исследованиях, проведенных во многих странах мира, в том числе в России, показана прямая связь между повышенной вирусной нагрузкой и риском развития дисплазий и РШМ. Было обосновано введение такого понятия, как «клинически значимый» порог (3 lg ВПЧ на 100 000 клеток хозяина): вирусная нагрузка ниже этого значения редко встречается в образцах тяжелой дисплазии и рака и ассоциирована с регрессией инфекции. Также выделяется «порог прогрессии» (5 lg ВПЧ на 100 000 клеток хозяина): вирусная нагрузка выше данного значения обозначается как повышенная и ассоциирована с большей вероятностью наличия или прогрессии тяжелой цервикальной дисплазии [5–7].

Цель исследования – выявление и определение концентрации ДНК различных типов папилломавируса высокого онкогенного риска методом ПЦР в режиме «реального времени» у женщин Томской области.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 491 женщина, прошедшая обследование и лечение в НИИ акушерства, гинекологии и перинатологии СО РАМН и НИИ онкологии СО РАМН (средний возраст – 35,9±0,6 лет). В зависимости от патологических изменений шейки матки было выделено 4 группы женщин: здоровые (n=152), с фоновой патологией (ФПШМ; n=257), дисплазиями I–III степени (n=23) и раком шейки матки I–IV стадий (n=59). В группу здоровых вошли женщины, не имеющие цитологических и кольпоскопических изменений эпителия шейки матки. В группу пациенток с ФПШМ включены женщины с хроническими воспалительными заболеваниями шейки матки. Диспластические изменения и рак шейки матки верифицированы гистологически. Материалом для выделения ДНК послужили соскобы эпителия цервикального канала и шейки матки. Работа проведена с использованием мультиплексной ПЦР в режиме «реального времени», позволяющей выявлять, генотипировать каждый из 12 типов папилломавируса высокого канцерогенного риска (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и определять концентрацию ДНК вируса (вирусную нагрузку). Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрического критерия χ^2 для анализа качественных признаков в программе STATISTICA 6.0 (StatSoft, 2007).

Результаты и обсуждение

ДНК ВПЧ выявлена у 184 из 491 обследованной женщины, что составило 37,4%. Согласно показателям инфицированности в группах частота выявления ДНК папилломавируса увеличивается пропорционально степени морфологических изменений эпителия шейки матки. Так, среди здоровых лиц ДНК вируса выявлена в 18% случаев, среди женщин с ФПШМ этот показатель составил 38%, а в группах больных дисплазиями и раком шейки матки – 65 и 75% соответственно (рис. 1). Эти результаты согласуются с клинико-экспериментальными данными, приведенными в литературе, относительно роли ВПЧ в формировании пролиферативной патологии шейки матки и клинической значимости обнаружения папилломавируса в качестве маркера предопухолевого состояния эпителия на ранних этапах канцерогенеза [8]. Согласно данным эпидемиологических исследований, встречаемость ВПЧ значительно варьирует в различных этнико-географических регионах [9]. Полученные результаты об инфицированности здоровых женщин не противоречат данным мировой литературы, согласно которым показатель общей инфицированности в этой группе в различных популя-

циях не превышает 17–20% [10–11]. Обращает на себя внимание тот факт, что частота встречаемости ДНК вируса в группе с ФПШМ достаточно высока – 38% (против 18% среди здоровых лиц). Вероятно, это связано с тем, что хронический воспалительный процесс является патологическим состоянием, в результате которого происходит снижение местного иммунитета, а это облегчает проникновение вируса через микротрещины в эпителии и длительное его персистирование.

Таким образом, женщинам с ФПШМ, инфицированным папилломавирусом, необходимо рекомендовать тщательное динамическое наблюдение, что предполагает включение их в группу повышенного онкологического риска.

Не стоит упускать из виду и тот факт, что около 7 из 10 сексуально активных женщин когда-либо в течение жизни инфицируются ВПЧ, но развитие инвазивного цервикального рака происходит лишь в небольшом проценте случаев. Ранняя сексуальная активность, количество половых партнеров, сопутствующие урогенитальные инфекции, снижение иммунитета, стрессы, курение, а также этнические особенности являются дополнительными факторами риска для данной патологии [3].

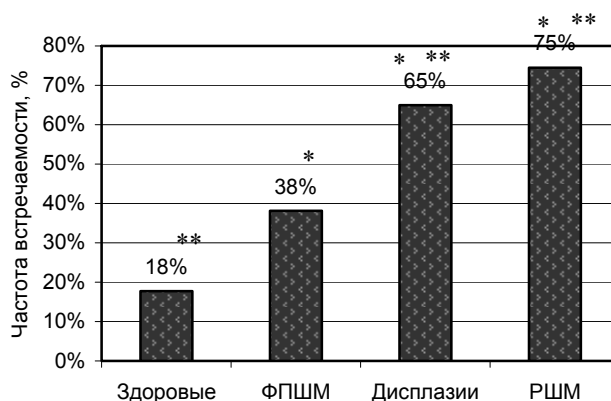


Рис. 1. Инфицированность вирусом папилломы человека женщин обследованных групп.

* Статистически значимые различия с группой здоровых ($p \leq 0,05$).

** Статистически значимые различия с группой ФПШМ ($p \leq 0,05$)

При определении частоты встречаемости 12 генотипов ВПЧ высокого канцерогенного риска показаны региональные особенности инфицирования женского населения Томской области. Выявлено, что наиболее часто среди обследованных женщин встречается ВПЧ16 (38,1% случаев). Данные относительно встречаемости остальных одиннадцати типов представлены на рис. 2. Эпидемиологические исследования, проведенные как в России, так и в других странах, показали, что лидирующую позицию по частоте встречаемости во всем мире занимает ВПЧ 16-го типа (от 24 до 70% в разных популяциях) [9, 12–13].

В группе здоровых женщин наиболее часто встречаются ВПЧ31 и ВПЧ16 (22,2 и 18,5% соответственно), а среди женщин с ФПШМ – ВПЧ16 (25,5%) и ВПЧ52 (15,3%).

Следует отметить, что в группе женщин с фоновой патологией и раком шейки матки выявлены все иссле-

дуемые типы вируса, в то время как в группе здоровых лиц и больных дисплазиями некоторые варианты папилломавируса не обнаружены (ВПЧ33, 51, 59 и ВПЧ18, 52 соответственно).

Согласно литературным данным, частота встречаемости ВПЧ16 и 18 типов, с которыми связывают около 70–72% случаев РШМ, составляет около 45% от общего числа всех генитальных типов папилломавируса в мире [13]. Полученные нами данные показали, что на долю 16-го и 18-го типов ВПЧ в Томской области приходится 46% случаев, на долю других исследованных генотипов ВПЧ высокого онкогенного риска – 54% (рис. 2). Эти результаты подтверждают целесообразность определения широкого спектра генотипов с целью повышения чувствительности ДНК-теста.

Известно, что выявление нескольких типов ВПЧ ассоциировано с менее благоприятным прогнозом течения заболевания и более высоким риском персистен-

ции вируса в организме [14]. Нами показано, что около 50% женщин с фоновой патологией и диспластическими изменениями шейки матки инфицированы несколькими типами ВПЧ, в то время как в группе здоровых лиц смешанная инфекция наблюдается только в 19% случаев.

Использованная нами в работе технология ПЦР в режиме «реального времени» дает возможность не только выявлять присутствие вируса в образце и проводить типирование, но и определять концентрацию ДНК вируса в клетках.

Взаимосвязь между вирусной нагрузкой и степенью неопластических повреждений активно обсуждается в мировой литературе. Авторы подтверждают наличие корреляции между различными уровнями концентрации ДНК вируса и стадиями предраковой патологии и инвазивного рака [15–16], а также положительной ассоциации высокой нагрузки ВПЧ16 и тяжестью цервикальных повреждений [11, 17]. В нескольких работах показана связь не только с тяжестью повреждений, но и с прогнозом развития тяжелых цервикальных неоплазий [17–18].

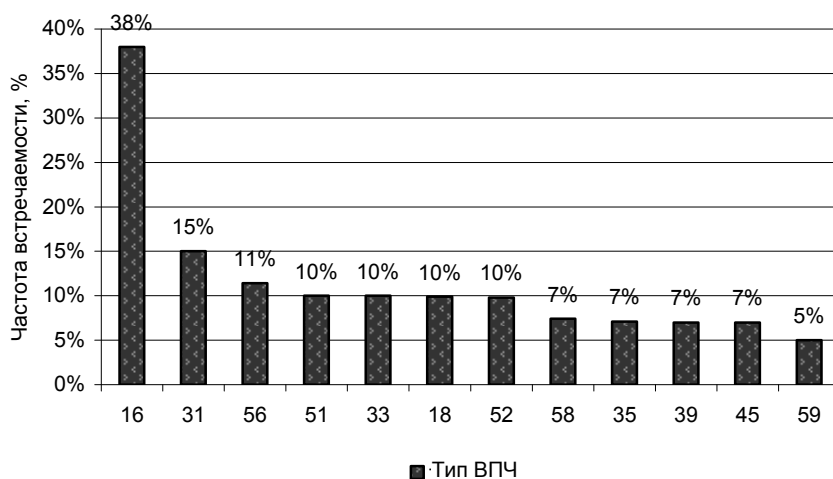


Рис. 2. Распределение типов ВПЧ среди инфицированных женщин

Длительное присутствие ВПЧ в ткани с активной экспрессией онкогенов вируса многократно увеличивает риск развития неопластических изменений. Женщины, у которых выявляется высокая вирусная нагрузка, особенно в сочетании с несколькими типами вируса и хроническими воспалительными заболеваниями шейки матки, имеют повышенный риск развития тяжелой дисплазии [19]. Таким образом, вирусная нагрузка может отражать тяжесть течения папилломавирусной инфекции, и определение концентрации ДНК вируса является дополнительным параметром, который позволяет с большей точностью прогнозировать вероятность развития неопластических состояний.

Согласно полученным нами результатам, в группе больных фоновой патологией, дисплазиями и раком шейки матки частота встречаемости клинически значимой вирусной нагрузки достоверно превышает ана-

логичный показатель у здоровых лиц. Количество случаев со значимой, т.е. $> 3\lg$, концентрацией ДНК вируса среди обследованных здоровых жительниц Томской области составило 14,5%, в группе больных ФПШМ – 27,6%, среди женщин с дисплазиями – 56,5% (таблица). В группе больных РШМ со впервые установленным диагнозом клинически значимая вирусная нагрузка была выявлена у 56,4% женщин, в группе пациенток, прошедших комбинированное противоопухолевое лечение, высокие концентрации ДНК ВПЧ встречались в 25,0% случаев.

Следует отметить, что при выявлении у пациентки малозначимой концентрации ДНК вируса вероятность возникновения у нее тяжелых диспластических изменений минимальна [6–7]. Более вероятно, что в течение полутора лет произойдет спонтанная элиминация инфекции.

Распределение вирусной нагрузки среди женщин по группам

Диагноз	ВПЧ(–)	ВПЧ(+)	
		Клинически значимая вирусная нагрузка, %	Малозначимая вирусная нагрузка, %
Здоровые (n=152)	125	22 (14,5%)	5 (3,2%)
ФПШМ (n=257)	159	71 (27,6%)*	28 (10,9%)
Дисплазии (n=23)	8	13 (56,5%)*	2 (8,9%)
Первичный диагноз РШМ (n=39)	8	22 (56,4%)**	9 (23,1%)
РШМ после ПКИ (n=20)	7	5 (25,0%)	8 (40,0%)

Примечание. Процент рассчитывался внутри группы от общего числа обследованных в этой группе. * Статистически значимые различия с группой здоровых ($p \leq 0,05$). ** Статистически значимые различия с группой женщин с ФПШМ ($p \leq 0,05$); n – число обследованных в группе.

Проведение тестирования на наличие высокоонкогенных типов вируса папилломы с использованием технологии ПЦР в режиме «реального времени» дает возможность выделения группы риска развития злокачественной патологии. Полученные результаты отражают рост частоты встречаемости клинически значимой вирусной нагрузки в группах больных дисплазиями и раком шейки матки, в сравнении с группой здоровых и больных ФПШМ женщин. То есть выявление и количественное определение ВПЧ,

наряду с цитологическим скринингом, является целесообразным мероприятием, позволяющим проводить профилактику персистенции вируса, формирование групп риска, т.е. успешно использоваться как фактор ранней диагностики и прогноза риска развития патологии шейки матки.

Работа выполнена на базе лаборатории онковирусологии НИИ онкологии СО РАМН под руководством д-ра биол. наук, проф. Л.Н. Уразовой, д-ра биол. наук, проф. В.Н. Стегния.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель Е.М., Давыдов М.И. Состояние онкологической помощи населению России и стран СНГ 2004 г. // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2006. № 17. С. 15–37.
2. Салчак Ч.Т., Сиразетдинова А.К., Рассеник Т.И. Анализ состояния онкологической помощи больным раком шейки матки в Республике Тыва // Сибирский онкологический журнал. 2008. № 3. С. 58–60.
3. Новик В.И. Эпидемиология РШМ, факторы риска, скрининг // Практическая онкология. 2002. Т. 3, № 3. С. 156–165.
4. Мазуренко Н.Н. Роль вирусов папиллом в канцерогенезе шейки матки // Актуальные вопросы в клинической онкологии. 2003. Т. 5, № 1. С. 67–74.
5. Josefsson A.M., Magnusson P.K., Ylitalo N. Viral load of human papilloma virus 16 as a determinant for development of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study // Lancet. 2000. № 355(9222). P. 2189–2193.
6. Snijders P.J., van den Brule A.J., Meijer C.J. The clinical relevance of human papillomavirus testing: relationship between analytical and clinical sensitivity // J. Pathol. 2003. № 201(1). P. 11–16.
7. Dalstein V., Riethmuller D., Pretet J.L. et al. Persistence and load of high-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions: a longitudinal French cohort study // Int. J. Cancer. 2003. № 106. P. 396–403.
8. Zur Hausen H. Human pathogenic papillomaviruses, topics in microbiology and immunology // Berlin. 1994. № 186. P. 131–157.
9. Евстигнеева Н.П. Папилломавирусная инфекция уrogenитального тракта женщин: эпидемиология, факторы персистенции, оптимизация ранней диагностики и профилактики онкогенеза: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2007. 42 с.
10. Steben M., Duarte-Franco E. Human papillomavirus infection: epidemiology and pathophysiology // Gynecol. Oncol. 2007. № 107. P. 2–5.
11. Syrjänen K., Kulmala S.M., Shabalova I. et al. Epidemiological, clinical and viral determinants of the increased prevalence of high-risk human papillomavirus (HPV) infections in elderly women // Eur. J. Gynaecol. Oncol. 2008. № 29 (2). P. 114–122.
12. Bosch F.X., Lorincz A., Munoz N. The casual relation between human papillomavirus and cervical cancer // J. Clin. Pathol. 2002. № 55. P. 244–265.
13. Имянитов Е.Н., Хансон К.П. Молекулярная онкология: клинические аспекты. СПб.: СПбМАПО, 2007. 215 с.
14. Куведва Д.А., Шунгулина О.Ю. Количественный подход в диагностике папилломавирусной инфекции // Практическая онкология. 2006. № 3. С. 135–141.
15. Sun C.A., Lai H.C., Chang C.C. et al. The significance of human papillomavirus viral load in prediction of histologic severity and size of squamous Intraepithelial Lesions of Uterine Cervix // Gynecol. Oncol. 2001. № 83. P. 95–99.
16. Einstein M.H., Studentov Y.Y., Ho G.Y. et al. Combined human papillomavirus DNA and human papillomavirus-like particle serologic assay to identify women at risk for high-grade cervical intraepithelial Neoplasia // Int. J. Cancer. 2007. № 120. P. 55–59.
17. Moberg M., Gustavsson I., Gyllenstein U. Type-specific associations of human papillomavirus load with risk of developing cervical carcinoma in situ // Int. J. Cancer. 2004. № 12 (5). P. 854–859.
18. Xu Y., Dotto J., Hui Y. et al. High grade CIN and viral load of high-risk human papillomavirus: significant correlations in patients of 22years old or younger // Int. O. Clin. Exp. Pathol. 2009. № 2. P. 169–175.
19. Moberg M., Gustavsson I., Wilander E., Gyllenstein U. High viral loads of human papillomavirus predict risk of invasive cervical carcinoma // Br. J. Cancer. 2005. № 92. P. 891–894.

Статья представлена научной редакцией «Биология» 1 февраля 2011 г.