

Л.И. Мальцева, д.м.н., Л.Н. Фаррахова, А.В. Ахметзянова, Н.А. Нигматуллина, Казанская государственная медицинская академия

Оценка риска злокачественной трансформации эпителия шейки матки при ВПЧ-ассоциированном цервиците

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 нетипичного течения инфекционного процесса, отличающегося «стертостью» клинических симптомов даже в острой стадии. Это нередко обуславливает несвоевременную терапию и переход заболевания в хронический рецидивирующий процесс, который трудно поддается медикаментозному лечению.

В последние годы обозначились тенденции роста заболеваемости раком шейки матки у женщин в возрастной группе до 29 лет.

В генезе хронических цервицитов важную роль играет неспецифическая условно-патогенная флора. Частота цервицитов, обусловленных бактериальным инфицированием, составляет 40-50%, кандидозом – 20-25%, у 15-20% наблюдается смешанная инфекция. Цервицит при хламидийной инфекции обнаруживается в 40-49% случаев, при трихомонаде – у 5-25% женщин, гонорее – у 2%. Около 86% женщин с хроническим цервицитом инфицированы папилломавирусной инфекцией. Риск рака шейки матки, связанный с высокоонкогенными типами вируса папилломы человека (ВПЧ), и отсутствие эффективных этиотропных средств для лечения этой инфекции требуют поиска наиболее оптимального выбора препарата или их комбинаций при проведении терапии. В этом ракурсе очень важно определение онкогенного потенциала вируса, так как именно это определяет необходимость консервативной или оперативной тактики лечения.

При взаимодействии ВПЧ 16 и 18 серотипов с эпителиальной клеткой происходит слияние их геномов, что приводит к выработке вирусных белков E6 и E7. Существует киназа E2P, которая обеспечивает прохождение клетки из G1 в фазу S клеточного цикла. В норме она неактивна, находясь в связанном состоянии с белком-супрессором ретинобластомы (Rb). Белок E7 ВПЧ при своем взаимодействии с продуктом гена ретинобластомы приводит к разобщению комплекса E2P-Rb. Контроль разобщения комплекса E2P-Rb осуществляет белок p16ink4a, не допускающая безудержной пролиферации клетки, что приводит к постоянному его синтезу. Известно, что белок p16ink4a появляется в процессе метилирования генов-супрессоров и отражает генетическую нестабильность, что предшествует раковой трансформации. Сверхэкспрессия p16ink4a и его накопление в цитоплазме позволяют выявить предраковые состояния и самые ранние формы рака шейки матки, которые установить другим способом невозможно.

В настоящее время общепризнано участие метаболитов эстрогенов в развитии неопластических процессов в тканях шейки матки и в повреждении ДНК. Установлено, что при персистенции ВПЧ-инфекции образование агрессивного метаболита эстрогена 16α-OHE1 происходит в 200 раз чаще, чем 2-OHE1. В результате образуются прочные ковалентные связи с эстрогеновыми рецепторами и, как следствие, усиливается клеточная пролиферация. Многочисленные экспериментально-клинические исследования доказали необходимость в поддержании баланса между этими метаболитами, при этом концентрация 2-OHE1 должна превышать концентрацию 16α-OHE1 как минимум в 2 раза. Отсюда соотношение 2-OHE1 к 16α-OHE1 является универсальным биомаркером и надежным диагностическим критерием для определения риска и прогноза развития эстрогензависимых опухолей.

Цель исследования – оценка риска раковой трансформации эпителия шейки матки у женщин с хроническим цервицитом путем определения белка p16ink4a, степени нарушения метаболитов 2-OHE1 и 16α-OHE1 и определения путей совершенствования лечения ВПЧ-ассоциированного цервицита.

Пациенты 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 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 полимеразной цепной реакции (ПЦР): хламидий, микоплазм, уреаплазм, вируса простого герпеса (ВПГ), цитомегаловируса (ЦМВ), высокоонкогенных и низкоонкогенных типов ВПЧ, традиционная и жидкостная цитология мазков из экзо- и эндоцервикса, бактериоскопическое и бактериологическое исследование отделяемого из цервикального канала и заднего свода влагалища, морфологическое исследование прицельно взятого биоптата, иммуноцитохимическое исследование белка p16ink4a в мазках из экзо- и эндоцервикса на основе жидкостной цитологии и определение соотношения метаболитов 2-OHE1/16α-OHE1 в моче с использованием тест-системы ESTRAMET 2/16 ELISA (конкурентный метод твердофазного иммуноферментного анализа).

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 (неоплазия интраэпителиальная цервикальная) 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 обнаружена в 46% наблюдений. У 22% женщин было диагностировано 2 типа ВПЧ, у 15% – 3 типа, у 9% – 4 и более. Наиболее часто был обнаружен 16-й тип – в 26,3% случаев, 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, уреаплазмы, 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, уреаплазмы, трихомонады, ВПГ, наблюдалось 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, у 64 – CIN II, у 50 – CIN III), из них у 169 пациенток

с наличием ВПЧ и у 19 – с отсутствием. Сравнительный анализ данных традиционной и жидкостной цитологии выявил, что результаты чрезвычайно варьируют между собой. Для подтверждения диагнозов использовали гистологическую экспертизу. Ложноположительные заключения традиционных цервикальных мазков выявлены в 5% случаев, то есть была диагностирована дисплазия там, где ее на самом деле нет. 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 атипичная кольпоскопическая картина в виде азотобелого 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 кровотокающими сосудами, у 318 из них – в сочетании с йоднегативными участками, нежной пунктацией и/или мозаикой. Таким образом, у большинства числа пациенток с хроническим цервицитом кольпоскопическая картина характеризуется атипичными изменениями на шейке матки, что нередко приводит к необоснованному использованию деструктивных методов лечения.

Имуноцитохимическое 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). Остальные 123 пациентки с дисплазией имели негативную реакцию на p16ink4a.

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. Морфологические результаты 15 пациенток с CIN II показали у 12 наличие CIN III. У всех женщин с CIN III подтвердился диагноз.

Наряду с гиперэкспрессией онкобелка p16ink4a показательным фактом неблагоприятного влияния персистирующей ВПЧ-инфекции на экзо- и эндоцервикс оказался нарушенный обмен метаболитов эстрогена 2-OHE1 и 16α-OHE1. Анализ соотношения метаболитов эстрогена 2-OHE1/16α-OHE1, проведенный у 120 женщин с персистирующей ВПЧ (высокоонкогенные типы у 104, низкоонкогенные – у 56), показал, что у 41,8% показатель соответствует уровню здоровых женщин – 2,35±0,10. У 58,2% больных баланс метаболитов эстрогена оказался измененным, при этом уровень 16α-OHE1 превышал 2-OHE1 в 2 и более раз, что выразилось в снижении значений до 0,2. У женщин с персистирующей ВПЧ-инфекцией и при сочетании ВПЧ с хламидийной инфекцией соотношение составило 1,51±0,34 (отличия от здоровых статистически значимы – p<0,05), у пациенток с положительным результатом по p16ink4a – 56±0,23, что достоверно отличалось от значений в других группах больных (p<0,01 и p<0,05 соответственно).

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 жидкостный метод является более надежным лабораторным тестом, что позволяет рекомендовать его для обследования женщин с патологией шейки матки. Но настораживает, что даже при использовании этой усовершенствованной цитологической технологии у p16-позитивных женщин не были диагностированы 18 (27,7%) тяжелых интраэпителиальных поражений шейки матки, 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, и проведенные исследования подтвердили это: у 6 из 12 женщин с CIN I оказалась CIN III.

Известно, что длительное нарушение баланса метаболитов эстрогена 2-OHE1 и 16α-OHE1 у женщин с ВПЧ-ассоциированным хроническим цервицитом в сторону повышения синтеза «агрессивного» метаболита 16α-OHE1 увеличивает риск развития дисплазии и рака шейки матки. Метаболит 2-OHE1 обладает слабым эстрогеновым действием (примерно 48% активности эстрадиола – основного эстрогена) и не оказывает пролиферативного действия, а, напротив, нормализует процессы апоптоза. 16α-OHE1 – метаболит с пролиферативным потенциалом обладает в 4 раза большей биологической активностью, чем свободные фракции эстрогенов, блокирует апоптоз и индуцирует пролиферацию клеток. Исследование соотношения метаболитов эстрогена чрезвычайно важно проводить при иммуноцитохимически p16-негативном ответе, когда планируется консервативная терапия.

Заключение

Таким образом, самыми распространенными типами ВПЧ, вызывающими развитие хронического цервицита, являются 16, 58, 18. ВПЧ-ассоциированный хронический цервицит часто сопровождается атипичными 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.

Планирование консервативной терапии определяет необходимость исследования метаболитов эстрогена 2-OHE1/16α-OHE1 для составления протокола лечения с учетом выявленных нарушений.

С помощью оценки биологического маркера онкотрансформации белка p16ink4a и степени нарушения метаболитов эстрогена 2-OHE1/16α-OHE1 возможен дифференцированный и патогенетически обоснованный подход к терапии ВПЧ-ассоциированного хронического цервицита.

Статья напечатана в сокращении.

«Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии», т. 11, № 4, 2012 г.