

Онкобелок E7 – маркер персистенции папилломавирусной инфекции у пациенток с хроническим цервицитом

Т.Ю.Пестрикова¹, Ю.О.Панфилова^{1,2}

¹ГБОУ ВПО Дальневосточный государственный медицинский университет Минздрава России, г. Хабаровск;

²КГБУЗ Городская больница, г. Уссурийск

Резюме

Проведен сравнительный анализ результатов общеклинического, гинекологического, а также лабораторно-диагностических методов обследования у 135 пациенток с хроническим цервицитом. Пациентки были распределены нами на 3 группы. В 1-ю группу вошли 49 женщин с хроническим цервицитом на фоне вируса папилломы человека 16 и 18-го типа в цервикальном канале. У 12 пациенток 1-й группы было выявлено наличие белка E7. Вторую группу составили 32 пациентки с хроническим цервицитом и вирусом папилломы человека 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 6 и 11-го типов в цервикальном канале. В 3-ю группу вошли 54 пациентки с хроническим цервицитом без наличия папилломавирусной инфекции в цервикальном канале.

Ключевые слова: хронический цервицит, вирус папилломы человека, онкобелок E7, кольпоскопия.

E7 oncoprotein as a marker for persistence of human papillomavirus infection in patients with chronic cervicitis

T.Y.Pestrikova, J.O.Panfilova

Summary

A comparative analysis of the results of clinical, gynecological and laboratory diagnostic methods of examination in 135 patients with chronic cervicitis. Patients were divided into 3 groups. Group 1 included 49 women with chronic cervicitis on the background of human papillomavirus types 16 and 18 in the cervical canal. In 12 patients of group 1 revealed the presence of E7 protein. Group 2 consisted of 32 patients with chronic cervicitis and human papillomavirus types 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 6 and 11 in the cervical canal. The group 3 included 54 patients with chronic cervicitis without the presence of human papillomavirus infection in the cervix.

Key words: chronic cervicitis, human papilloma virus E7 oncoprotein colposcopy.

Сведения об авторах

Пестрикова Татьяна Юрьевна – д-р мед. наук, проф., зав. каф. акушерства и гинекологии ГБОУ ВПО ДВГМУ

Панфилова Юлия Олеговна – аспирант каф. акушерства и гинекологии ГБОУ ВПО ДВГМУ, врач акушер-гинеколог КГБУЗ Городская больница. E-mail: ran-love@mail.ru

Важная роль в возникновении предраковых состояний принадлежит инфекционным агентам, среди которых первое место занимает вирус папилломы человека (ВПЧ). Большинство случаев инфицирования ВПЧ заканчиваются спонтанным выздоровлением, однако в некоторых случаях развивается персистирующая инфекция, которая способна запускать процессы клеточной трансформации [1, 2]. Для развития неоплазий необходимо встраивание вирусной ДНК ВПЧ в геном эпителиальной клетки, что сопровождается синтезом ранних белков ВПЧ – E6 и E7. Онкогены E6 и E7 всегда выявляются в опухолевых клетках, зараженных ВПЧ, в то время как другие фрагменты вирусного генома могут быть утеряны в процессе его длительной персистенции [3, 4]. Персистирующее течение папилломавирусной инфекции (ПВИ) урогенитального тракта сопровождается экспрессией онкобелка E7 в 10,4 раза чаще, чем при транзитном течении [5, 6]. Продолжительная продукция этих белков часто сопутствует переходу дисплазии в инвазивный цервикальный рак, что делает E6 и E7 наиболее привлекательными маркерами для определения риска развития рака шейки матки. Таким образом, можно считать, что онкобелок E7 ВПЧ 16 и 18-го типов является важным фактором канцерогенеза. В качестве перспективного метода диагностики ПВИ рассматривают определение онкобелков E6 и E7 в соскобах шейки матки, что позволяет дифференцировать стадию вирусного процесса [7].

Цель работы – проведение анализа и оценка значимости онкобелка E7 в течении ПВИ у женщин с хроническим цервицитом (ХЦ).

Материалы и методы

Данное исследование было проведено в период с 2011 по 2012 г. на базе поликлиники КГБУЗ «Городская больница», г. Уссурийск. Нами были обследованы 135 женщин в возрасте от 18 до 35 лет. У всех женщин имел место ХЦ. Пациентки были распределены нами на 3 группы. В 1-ю группу

вошли 49 женщин с ХЦ и наличием ВПЧ 16 и 18-го типа в цервикальном канале, 2-ю группу составили 32 пациентки с ХЦ и наличием в цервикальном канале ВПЧ 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 6 и 11-го типов, в 3-ю группу вошли 54 пациентки с ХЦ без наличия ПВИ в цервикальном канале.

Для цитологического исследования материала забирали из цервикального канала, переходной зоны и эндоцервикса с помощью одноразовой щеточки. Оценку результатов цитологического исследования производили согласно классификационной системе Папаниколау в соотношении с классификацией Бетесда. Диагностика ПВИ у женщин проводилась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Осуществлялись типирование ВПЧ (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 6 и 11-й типы) и определение клинически значимой концентрации 16 и 18-го типов ВПЧ в режиме реального времени для определения вирусной нагрузки (количество копий генетического материала вирусного патогена в анализируемом объеме). Для определения онкобелка E7 у пациенток с ВПЧ 16 и 18-го типов с чувствительностью порядка 1 нг/мл использовали диагностические тест-системы иммуноферментного анализа (ИФА).

Осмотр шейки матки проводился при помощи зеркал и расширенной кольпоскопии. Расширенную кольпоскопию проводили по общепринятой методике на аппарате Olympus 500. Интерпретация кольпоскопической картины осуществлялась по Международной классификации кольпоскопических терминов Рио-де-Жанейро (2011 г.). Это позволило выявить аномальные кольпоскопические картины (мозаика, пунктация, ацетобелый эпителий, атипичные сосуды) и другие образования (кондиломы, полипы) шейки матки. Гистологическое исследование проводилось по общепринятой методике.

Верификация диагноза у пациенток с ХЦ была основана на данных клинического, лабораторного (цитологического, ПЦР, ИФА-диагностики) обследования, а также данных кольпоскопии и результатах гистологического исследования. Полученные результаты свидетельствовали о том,

Таблица 1. Характеристика клинических симптомов у пациенток групп обследования

Жалобы	1-я группа		2-я группа		3-я группа	
	49	%	32	%	54	%
Нет	17	34,7±6,8***	14	43,75±8,77	41	75,93±5,82
Бели	32	65,31±6,8***	18	56,25±8,77	13	24,07±5,82
Боли	12	24,49±6,14	11	34,38±8,4	8	14,82±4,84
Зуд жжение	24	48,98±7,14***	22	68,75±8,19	7	12,96±4,57
Контактные кровянистые выделения	7	14,29±4,5	3	9,38	–	–

*** $p < 0,001$.

Таблица 2. Параметры лабораторных методов обследования вагинального содержимого у пациенток с ХЦ

Параметры	1-я группа		2-я группа		3-я группа	
	49	%	32	%	54	%
pH 4,5	1	2,04	1	3,13	5	9,26±3,94
<4,5	6	12,25±4,68**	5	15,63±6,42*	19	35,19±6,5
>4,5	42	85,72±5,0***	26	81,25±7,66*	30	55,56±6,76
Лейкорея	30	61,23±6,96**	17	53,13±8,82	18	33,34±6,42
Дрожжеподобные грибы	26	53,07±7,13	18	56,25±8,77	26	48,15±6,8

Здесь и в табл. 3, 4: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Таблица 3. Результаты цитологического исследования у пациенток с ХЦ

Мазки на наличие атипических клеток	1-я группа		2-я группа		3-я группа	
	49	%	32	%	54	%
Норма	6	12,25±4,68***	6	18,75±6,9	24	44,45±6,76
Воспаление	13	26,53±6,31	9	28,13±7,95	20	37,03±6,57
ASCUS	12	24,49±6,14*	10	31,25±8,19*	5	9,26±3,95
LSIL	12	24,49±6,14*	6	18,75±6,9	5	9,26±3,95
HSIL	9	18,37±5,53	1	3,13	–	–
Инвазивная карцинома	2	4,09	–	–	–	–

что у всех пациенток 3 групп имел место ХЦ, который в 1 и 2-й группах протекал на фоне ПВИ.

Результаты проведенных исследований были подвергнуты методике статистической обработки с вычислением средней арифметической величины (M), средней арифметической ошибки (m) и достоверного различия между показателями (P) с учетом достоверной вероятности по критерию Стьюдента–Фишера.

Результаты и обсуждение

Анализ жалоб пациенток с ХЦ (табл. 1) показал, что выделения из половых путей беспокоили 32 (65,31±6,8%) пациентки 1-й группы; 18 (56,25±8,77%) пациенток 2-й группы; 13 (24,07±5,82%) женщин 3-й группы ($p < 0,001$). Зуд и жжение беспокоили 24 (48,98±7,14%) пациентки 1-й группы; 22 (68,75±8,19%) пациентки 2-й группы; 7 (12,96±4,57%) женщин 3-й группы ($p < 0,001$). Отсутствовали жалобы у 17 (34,7±6,8%) пациенток 1-й группы, 14 (43,75±8,77%) пациенток 2-й группы и 41 (75,93±5,82%) женщины 3-й группы ($p < 0,001$).

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что наиболее выраженная клиническая симптоматика (бели, зуд и жжение), подтвержденная достоверными данными, наблюдалась у пациенток с ХЦ и наличием ВПЧ 16 и 18-го типов (1-я группа).

Данные микроскопии мазков (табл. 2) у 30 (61,23±6,96%) пациенток в 1-й группе, у 17 (53,13±8,82%) – во 2-й группе и у 18 (33,34±6,42%) – в 3-й группе выявили наличие лейкории ($p < 0,01$).

Грибы рода кандиды встречались практически с одинаковой частотой в 3 группах и составили в 1-й группе 53,07±7,13%; во 2-й – 56,25±8,77%; в 3-й – 48,15±6,8%.

Величина pH влагалища в 1-й группе была более 4,5 у 42 (85,72±5,0%) пациенток, во 2-й – у 26 (81,25±7,66%); в 3-й – у 30 (55,56±6,76%) женщин ($p < 0,001$; $p < 0,05$).

Таким образом, у пациенток с ВПЧ 16 и 18-го типов достоверно чаще встречались лейкорея и повышение pH среды влагалища (см. табл. 2).

По данным литературных источников, повышение pH способствует плоскоклеточной метаплазии шейки матки и сохраняет эпителий зоны трансформации в состоянии, уязвимом для ВПЧ-инфекции [6, 7].

Анализ данных цитологического исследования (табл. 3) показал наличие у 12 (24,49±6,14%) пациенток 1-й группы, у 10 (31,25±8,19%) пациенток 2-й группы и у 5 (9,26±3,95%) пациенток 3-й группы ASCUS (Atypical squamous cells of undetermined significance – атипичные клетки плоского эпителия неясного значения), что соответствует IIIa классу мазка по системе Папаниколау. LSIL (Low-grade squamous intraepithelial lesion – плоскоклеточное поражение шейки матки низкой степени) достоверно чаще встречалось в 1-й группе – у 12 (24,49±6,14%) женщин. Во 2-й группе LSIL была выявлена у 6 (18,75±6,9%), в 3-й группе – у 5 (9,26±3,95%) пациенток ($p < 0,05$). HSIL (High-grade squamous intraepithelial lesion – плоскоклеточное поражение шейки матки высокой степени) выявлено у 9 пациенток 1-й группы и у 1 пациентки 2-й группы и составило 18,37±5,53% и 3,13% соответственно. Инвазивная карцинома при цитологическом исследовании была выявлена в 1-й группе у 2 (4,09%) пациенток.

Согласно данным обследования ВПЧ 16 и 18-го типов, а также их ассоциации встречались в 60,5±5,43% случаев, что было достоверно чаще ($p < 0,01$), чем ВПЧ 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 6 и 11-го типов, частота распространения которых составила 39,51±5,43%.

В 1-й группе ВПЧ 16-го типа был выявлен у 20 (40,82±7,02%) пациенток, ВПЧ 18-го типа – у 13 (26,53±6,31%), ассоциация 16 и 18-го типов – у 16 (32,66±6,7%).

У пациенток 2-й группы с одинаковой частотой (3,13%) встречались ВПЧ 39, 45, 58, 59-го типов. ВПЧ 33, 35-го типов был выявлен в 6,25% случаев, 56-го типа – в 9,38%, 31 и 52-го – в 12,50±5,84%. ВПЧ 51-го типа был определен у 15,63±6,42% пациенток. ВПЧ 6-го типа встречался у 4 (6,9±3,33%) пациенток, а 11-го – у 3 (5,17%).

Ассоциация нескольких типов ВПЧ составила 25,0±7,66%. Частота выявленного нами у пациенток ВПЧ

Таблица 4. Результаты кольпоскопического исследования у пациенток с ХЦ

	1-я группа		2-я группа		3-я группа	
	49	%	32	%	54	%
*Нормальная кольпоскопическая картина: ЦЭ, ОПЖ, ЗПЖ	5	10,21±4,32***	15	46,88±8,82	34	62,96±6,57
Аномальная кольпоскопическая картина	33	67,35±6,7***	10	31,25±8,19	8	14,81±7,35
Степень поражения CIN I	24	48,98±7,14*(***)	8	25±7,66	8	14,81±7,35
Степень поражения CIN II	9	18,37±5,53*	2	6,25	–	–
Кондиломы	5	10,21±4,32	5	15,63±6,42	–	–
Подозрение на инвазию	4	8,16±3,91	–	–	–	–
Полипы шейки матки	2	4,09	2	6,25	4	7,41±3,56

Примечание. ЦЭ – цервикальная эктопия; ОПЖ – открытые протоки желез; ЗПЖ – закрытые протоки желез.

Таблица 5. Результаты морфологического исследования биопсии шейки матки у пациенток с ХЦ

	1-я группа		2-я группа		3-я группа	
	49	%	32	%	54	%
Эндоцервикоз	30	61,22±6,96	22	68,75±8,19	15	27,78±6,1
Лейкоплакия	3	6,12	2	6,25	3	5,56
Кондиломы	2	4,08	3	9,38	–	–
CIN I	4	8,16±4,01	3	9,38	2	3,7
CIN II	6	12,25±4,68	2	6,25	–	–
CIN III	2	4,08	–	–	–	–
Рак in situ	1	2,04	–	–	–	–
Инвазивный рак	1	2,04	–	–	–	–
Биопсия не проводилась	–	–	–	–	34	62,96±6,57

16, 31, 52, 56-го типов совпадала с данными других исследований [8].

В 1-й группе у 12 (24,49±6,14%) пациенток при обследовании был выявлен онкобелок E7. У всех пациенток 1-й группы с наличием онкобелка E7 клинически значимая концентрация вируса была в пределах (3,6±0,3 до 6,8±0,1 lg копий).

При анализе результатов кольпоскопической картины (табл. 4) нормальная кольпоскопическая картина была выявлена у 5 (10,21±4,32%) пациенток 1-й группы, у 15 (46,88±8,82%) женщин 2-й группы, у 34 (62,96±6,57%) пациенток 3-й группы ($p < 0,001$). Аномальная кольпоскопическая картина была выявлена в 1-й группе у 33 (67,35±6,7%), во 2-й группе – у 10 (31,25±8,19%), в 3-й группе – у 8 (14,81±7,35%) женщин ($p < 0,001$; $p < 0,001$).

В 1-й группе у 24 (48,98±7,14%) пациенток кольпоскопическая картина соответствовала степени поражения I, у 9 (18,37±5,53%) пациенток – степени поражения II ($p < 0,05$). Во 2-й группе у 8 (25±7,66%) пациенток выявлена степень поражения I и у 2 (6,25%) – степень поражения II. В 3-й группе встречалась только кольпоскопическая картина со степенью поражения I у 8 (14,81±7,35%) женщин. Подозрение на инвазию было выявлено у 4 (8,16±3,91%) пациенток 1-й группы.

Анализ результатов гистологического исследования (табл. 5) показал, что CIN (цервикальная интраэпителиальная неоплазия) I имела место у 4 (8,16±4,01%) пациенток 1-й группы, из них у 3 было выявлено наличие белка E7. Во 2-й группе CIN I была выявлена у 3 (9,38%) пациенток и у 2 (3,7%) женщин в 3-й группе. CIN II имела место в 1-й группе у 6 (12,25±4,68%) женщин, из них у 3 женщин определялся белок E7.

CIN II при гистологическом обследовании была выявлена у 2 (6,25%) пациенток 2-й группы.

CIN III была выявлена только у 2 (4,08%) пациенток 1-й группы, рак in situ – у 1 (2,04%) женщины, инвазивный рак – также у 1 (2,04%) пациентки.

У всех женщин с CIN III, внутриэпителиальным инвазивным раком было определено наличие белка E7 при обследовании. Во всех случаях морфологически установленного диагноза CIN II, CIN III, внутриэпителиального и инвазивного рака при ПЦР-диагностике был выявлен ВПЧ 16 и

18-го типов: у 7 (70±14,49%) и у 3 (30±14,49%) пациенток соответственно.

Полученные нами результаты совпадают с литературными данными, где показано, что в 99,6% случаев рака шейки матки и CIN II/III отмечают наличие высокоонкогенных типов ВПЧ, из них в 69,5% превалирует ВПЧ 16-го типа [6].

Выводы

1. У пациенток с ХЦ и наличием белка E7 (24,49±6,14%) концентрация ВПЧ 16 и 18-го типов была клинически значимой и находилась в пределах (3,6±0,3 до 6,8±0,1 lg копий).
2. При гистологическом заключении, свидетельствующем о наличии CIN I, CIN II, CIN III, внутриэпителиального и инвазивного рака, ВПЧ 16 и 18-го типов встречался в 85,71±9,35%, из них в 71,43±12,07% случаев при исследовании выявляется онкобелок E7.

Литература

1. Киселев В.И., Свешников П.Г. Онкобелок E7 вируса папилломы человека – новый маркер ранних стадий канцерогенеза. *Онкология*. 2011; 1: 35–6.
2. *Практическая гинекология. Клинические лекции. Под ред. акад. РАМН В.И.Кулакова, проф. В.Н.Прилепской. 3-е изд., доп. М.: МЕДпресс-информ, 2006.*
3. Шеишуква Н.А., Макаров И.О., Чулкова Е.А. и др. Цервикальные интраэпителиальные неоплазии: вопросы патогенеза и диагностики (обзор литературы). *Гинекология*. 2014; 1: 77–8.
4. Boulet GA, Horvath CA, Berghmans S et al. Human Papillomavirus in cervical cancer screening: important role as biomarker. *Cancer Epidemiol Biomarker Prev* 2008; 17: 810–7.
5. Бестаева Н.В., Назарова Н.М., Прилепская В.Н. и др. Папилломавирусная инфекция: новые взгляды на диагностику и лечение (обзор литературы). *Гинекология*. 2013; 3: 5–6.
6. Роговская С.И. *Практическая кольпоскопия*. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
7. Бакиев С.Н., Руднева О.Д. Распространенность ВПЧ в мире и России. *StatusPresens* 2012; 5: 74.
8. Зуйкова И.Н., Шульженко А.Е. Персистирующая папилломавирусная инфекция: цитокиновый дисбаланс и подходы к терапии. *Акушерство и гинекология*. 2013; 2: 3–5.