

Фотодинамическая терапия в профилактике ВПЧ-ассоциированных рецидивов рака шейки матки

О.И.Трушина¹, Е.Г.Новикова¹, А.А.Костин¹, А.Т.Асратов², Ж.Б.Муминов², А.А.Трушин¹

¹ФГБУ Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А.Герцена Минздрава России, Москва;

²ФГБОУ ВПО Российский университет дружбы народов, Москва

Резюме

Цель исследования – разработать методологические подходы к профилактике рецидивов рака шейки матки (РШМ), ассоциированного с вирусом папилломы человека (ВПЧ).

Материалы и методы. Фотодинамическая терапия (ФДТ) выполнена 40 больным в возрасте от 22 до 46 лет (медиана 33 года) с начальным РШМ после хирургического лечения в органосохраняющем объеме – высокая конусовидная ампутация шейки матки: *cancer in situ* (n=18) и РШМ 1A1 ст. (n=22). Идентификация и дифференциация ДНК ВПЧ выполнены с помощью метода полимеразой цепной реакции. Доза Аласенса (20% мазь) составила 0,1 мг/см², время экспозиции – 6 ч. Источник светового излучения – диодный лазер ЛФТ-630-01-БИОСПЕК.

Результаты. Полная эрадикация ДНК ВПЧ после ФДТ культи шейки матки достигнута у 38 (95%) женщин, у 2 остальных – после 2-го сеанса ФДТ. Стойкий противовирусный эффект в течение всего периода наблюдения сохранился у 39 (97,5%) женщин.

Выводы. ФДТ может быть рекомендована с противовирусной целью на втором этапе лечения после ножевой ампутации, лазерной, электро- и радиоволновой конусовидной эксцизии шейки матки, а также как альтернативный диатермо- и радиокоагуляции, криодеструкции, лазерной вазоризации метод лечения цервикальной папилломавирусной инфекции.

Заключение. Полученные данные противовирусной эффективности ФДТ представляют большой интерес в свете доказанной этиологической роли ВПЧ в развитии рака шейки матки.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, рак шейки матки, цервикальная интраэпителиальная неоплазия, вирус папилломы человека, полимеразная цепная реакция, 5-аминолевуленовая кислота, протопорфирин IX.

Photodynamic therapy in the prevention of HPV-associated cervical cancer recurrence

O.I.Trushina, E.G.Novikova, A.A.Kostin, A.T.Asratov, Zh.B.Muminov, A.A.Trushin

Summary

Objective. To develop methodological approaches to relapse prevention of HPV-associated cervical cancer.

Materials and methods. 40 patients with PDT performed in age from 22 to 46 years (median 33 years) with primary cervical cancer after surgical treatment of organ volume - high conical cervicectomy: carcinoma in situ (n=18) and cervical cancer 1A1st. (n=22). Identification and differentiation of HPV DNA polymerase made chain reaction. Alasens dose (20% ointment) was 0,1 mg/cm², Exposure time 6 hours light source – diode laser LFT-630-01-BIOSPEC.

Results. Complete eradication of HPV DNA after PDT cervical stump was achieved in 38 (95%) of the women in the other two – after the 2nd PDT. Resistant antiviral effect during the whole observation period is preserved in 39 (97,5%) women.

Findings. Photodynamic therapy can be recommended with the aim of antiviral treatment in the second stage after amputation knife, laser, electro- and radio-wave cone excision of the cervix, as well as alternative and radiokoagulyatsii diathermy, cryosurgery, laser vaporization method of treatment of cervical PVI.

Conclusion. These data antiviral efficacy of PDT are of great interest in the light of proven etiologic role of HPV in cervical cancer development.

Key words: photodynamic therapy, cervical cancer, cervical intraepithelial neoplasia, human papillomavirus, polymerase chain reaction, 5-aminolevulinic acid, protoporphyrin IX.

Сведения об авторах

Трушина Ольга Ивановна – д-р. мед. наук, ст. науч. сотр. гинекологического отд-ния отд. опухолей репродуктивных и мочевыводящих органов ФГБУ МНИОИ им. П.А.Герцена. E-mail: o.trushina@mail.ru

Новикова Елена Григорьевна – д-р. мед. наук, проф., рук. гинекологического отд-ния отд. опухолей репродуктивных и мочевыводящих органов ФГБУ МНИОИ им. П.А.Герцена

Костин Андрей Александрович – д-р. мед. наук, проф., зам. дир. по науч. работе ФГБУ МНИОИ им. П.А.Герцена. E-mail: andocrey@mail.ru

Асратов Асатулло Турсунович – аспирант каф. урологии с курсом онкоурологии ФПК МР РУДН. E-mail: rudn@rudn.ru

Муминов Жахонгир Баходирович – аспирант каф. урологии с курсом онкоурологии ФПК МР РУДН

Трушин Алексей Андреевич – ординатор ФГБУ МНИОИ им. П.А.Герцена. E-mail: mniio@mail.ru

Введение

Проблема рака шейки матки (РШМ) в течение многих десятилетий продолжает оставаться в центре внимания ведущих отечественных и зарубежных онкологов, так как выбор эффективного метода лечения заболеваний этой локализации был и остается одним из актуальных вопросов. Не менее важным направлением современной онкогинекологии также является поиск, разработка и внедрение методов профилактики рецидивов РШМ после первичного лечения.

На основании доказанной этиологической роли вируса папилломы человека (ВПЧ) в цервикальном канцерогенезе начальные этапы развития РШМ расцениваются как ВПЧ-ассоциированные заболевания: ДНК ВПЧ определяется в 25% случаев цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) I, в 80% – CIN II и 88–96% – CIN III [1]. Аналогичные изменения в цервикальном эпителии у женщин, неинфицированных ВПЧ, возникают только в 10–20% случаев [1].

Все методы лечения CIN и раннего РШМ можно условно разделить на 2 вида:

- хирургические – удаляющие шейку матки в форме конуса (ножевая, лазерная, электро- и радиоволновая эксцизия);
- деструктивные – разрушающие патологическую ткань шейки матки (диатермо- и радиокоагуляция, криодеструкция, лазерная вазоризация).

Однако с появлением вирусной концепции цервикального канцерогенеза на первое место выходит этиопатоген-

етическая терапия, направленная не только на патологический эпителий, но и на ключевой фактор цервикального канцерогенеза – ВПЧ. Необходимость в таком лечебном подходе вызвана тем, что удаление и разрушение первичного клинически выраженного поражения в виде монотерапии недостаточно эффективно для элиминации папилломавирусов, тем самым увеличивается риск возобновления ВПЧ-ассоциированных рецидивов.

Одними из причин развития рецидивов заболевания в короткий срок после удаления первичного патологического очага являются сохранение и персистенция ДНК ВПЧ в мультифокальных очагах с латентной и субклинической формой папилломавирусной инфекции (ПВИ), местах первичных поражений, зоне некроза, слизистых, прилежащих к краю резекции или деструктивных воздействий, а также невозможность обеспечения точечных противовирусных воздействий, остановки экспрессии вирионов и элиминации скрытой вирусной инфекции [2].

Реинфицирование при контакте с ВПЧ-позитивным половым партнером, оседание ДНК ВПЧ вместе с дымом на слизистой шейки матки и влагалища при электрохирургических методах лечения, удаление поверхностного слоя покровного эпителия шейки матки с персистирующей формой жизнедеятельности вируса без санации клеток базального слоя с активно размножающимися вирусами, наличие дополнительных очагов ВПЧ-инфекции во влага-

лице и промежности у каждой четвертой женщины с CIN и неэффективность противовирусных препаратов при интегрированной форме жизнедеятельности ВПЧ ведут к неудачам лечения ВПЧ-поражений шейки матки [3, 4]. В совокупности все представленные факторы ведут к реактивации вирусного генома (от 15 до 70%), что обуславливает достаточно высокий риск рецидивов CIN [5, 6]. С этой целью необходим поиск новых эффективных путей лечения вирус-ассоциированной онкопатологии шейки матки.

Одним из перспективных направлений для решения вопросов профилактики рецидивов ВПЧ-ассоциированных цервикальных поражений является разработка и внедрение фотодинамической терапии (ФДТ), основанной на способности ряда лекарственных препаратов – фотосенсибилизаторов – накапливаться в опухолевой ткани и при взаимодействии с излучением света определенной длины волны инициировать за счет серии фотофизических процессов повреждение и/или разрушение структур опухоли.

Материалы и методы

В основу работы положены результаты обследования и лечения 40 больных в возрасте от 22 до 46 лет (медиана 33 года) с начальным РШМ после хирургического лечения в органосохраняющем объеме – высокая конусовидная ампутация шейки матки: carcinoma in situ (n=18) и РШМ 1A1ст. (n=22). Данный метод лечения позволяет у женщин молодого возраста сохранить менструальную и репродуктивную функции.

Выбор метода лечения основывался на соблюдении двух основных принципов:

- 1) обеспечения надежного излечения, что позволяет избежать возникновения рецидивов заболевания и прогрессирование патологического процесса;
- 2) применения органосохраняющих и щадящих методов лечения у женщин молодого возраста с целью сохранения менструальной и репродуктивной функций.

Идентификацию и дифференциацию ДНК ВПЧ выполняли перед хирургическим лечением и через 3–4 нед после полной эпителизации в зоне оперативного лечения с использованием качественного метода молекулярно-биологической детекции – полимеразной цепной реакции (ПЦР). При этом диагностический соскоб на вирусологическое исследование брали не только из цервикального канала и зоны резекции, но и из прилежащих и окружающих слизистых, в которых также может персистировать сильнейший канцероген – ДНК ВПЧ. Исследование общей распространенности типов ВПЧ, которая складывается из суммы частоты встречаемости вируса в виде монотипа и ассоциации его с другими типами, выявило значительную долю женщин, инфицированных 16-м типом (59%; $p < 0,05$). Остальные типы по частоте распространенности распределились следующим образом: 18-й – 12,7%, 31-й – 10%, 45-й – 7%, 33-й – 4,5%, 35-й – 3,8%, 56-й – 2,6%, 58-й – 0,2%. В незначительном количестве случаев идентифицированы 39, 48, 51, 52-й типы (0,1%).

Критериями включения пациенток для выполнения ФДТ культы шейки матки после органосохраняющего лечения являлись: возраст пациенток старше 18 лет; морфологическая верификация carcinoma in situ, РШМ 1A1 ст. в удаленном конусе шейки матки; гистологический вариант – плоскоклеточный рак, молекулярно-биологическая и морфологическая идентификация ВПЧ; сохраненная функция печени и почек.

Обнаружение в цервикальном соскобе высокоонкогенных генотипов ДНК ВПЧ до хирургического лечения и после такового являлось показанием к ФДТ культы шейки матки. Интервал времени между оперативным лечением и ФДТ культы шейки матки зависел от сроков эпителизации и составил 4–5 нед. Фотодинамическое воздействие с противовирусной целью выполнено отечественным препаратом Аласенс на 6–8-й день менструального цикла 40 ВПЧ-позитивным пациенткам, у 18 из которых органосохраняющее лечение осуществлено по поводу carcinoma in situ и у 22 – РШМ 1A1ст. Действующим веществом препарата Аласенс является 5-аминолевуленовая кислота – индуктор синтеза эндогенного фотоактивного протопорфирина IX. Механизм ФДТ основан на способности опухолевых клеток к повышенному накоплению протопорфирина IX в присут-



ствии экзогенной 5-аминолевуленовой кислоты. Доза препарата составила 0,1 мг/см². Аласенс в виде 20% мази наносили аппликационно на культю шейки матки с захватом сводов и верхней трети влагалища за 6 ч до лечения (время экспозиции). В качестве источника светового излучения использовали диодный лазер «ЛФТ-630-01-БИОСПЕК». Длина волны излучения соответствовала 635 нм, плотность энергии – 150 Дж/см², плотность мощности – 150–250 мВт/см².

При разработке методики ФДТ культы шейки матки учитывали необходимость облучения не только покровной эпителии культы шейки матки, но и оставшейся после высокой конусовидной ампутации шейки матки части цервикального канала, а также сводов влагалища. Такой подход обеспечивает воздействие на латентные и субклинические формы ПВИ, локализирующиеся не только в крае резекции, но и во внешне не измененных прилежащих и окружающих тканях.

ФДТ цервикального канала осуществляли гибким моноволоконным кварцевым световодом с цилиндрическим диффузором, дающим матрицу света на 360%, и длиной, соответствующей протяженности эндоцервикса, – 1 см. Фотодинамическое воздействие на влагалищную порцию культы шейки матки проводили дистанционно с использованием световода с линзой диаметром 1,5–2 см, перпендикулярно подведенной к органу. Использовали полипозиционную методику облучения, начиная с области маточного зева с последовательным перемещением светового пятна вдоль всей поверхности культы шейки матки с обязательным перекрытием края каждого предыдущего светового пятна и широким захватом сводов и стенок влагалища (рис. 1).

Противовирусная эффективность ФДТ оценена методом ПЦР у всех пациенток в течение 1-го года наблюдения каждые 3 мес, 2-го года – 6 мес и в последующие годы – 12 мес. Были использованы следующие критерии эффективности противовирусной терапии:

- полный эффект – полная эрадикация ДНК ВПЧ;
- частичный эффект – частичная эрадикация ДНК ВПЧ;
- без эффекта – отсутствие эрадикации всех типов ДНК ВПЧ.

Сроки наблюдения составили от 1 года до 7 лет, медиана – 4,9 года. Результаты исследования использованы в качестве критериев оценки противовирусной эффективности ФДТ культы шейки матки с Аласенсом.

Результаты лечения

После терапии реакция цервикального эпителия в зоне фотодинамического воздействия представляла собой незначительный отек и легкую гиперемию тканей (рис. 2) с развитием на 2–3-и сутки пленчатого некроза без существенного нарастания этих явлений в последующие дни (рис. 2, а). Процессы эпителизации завершались к 13–15-му дню лечения (рис. 2, б).

Локальное введение Аласенса ни в одном клиническом наблюдении не вызвало побочных и местных аллергических реакций, переносимость фармпрепарата была удовлетворительной. Сеанс ФДТ культуры шейки матки с Аласенсом был безболезненным, при этом в первые минуты лазерного облучения наблюдалось легкое жжение, обусловленное фотобличингом – фотохимической реакцией между локально введенным препаратом и лазерным облучением, – что ведет к снижению уровня фотосенсибилизатора и, соответственно, фотохимическому потреблению кислорода.

Кожная фототоксичность в виде фотодерматоза не имела место ни в одном наблюдении. Больным рекомендовали соблюдение светового режима в течение 48 ч, т.е. избегать контакта открытых участков тела с солнечным или электрическим светом, пользоваться солнцезащитными кремами и применять антиоксидантные препараты в течение 2–3 сут.

Результаты

Полная эрадикация ДНК ВПЧ после ФДТ культуры шейки матки достигнута у 38 (95%) женщин, у 2 остальных – после 2-го сеанса ФДТ с аналогичным препаратом. Стойкий противовирусный эффект в течение всего периода наблюдения сохранился у 39 (97,5%) женщин, рецидивы заболевания у которых не зарегистрированы. У 1 (2,5%) пациентки через 3 года после завершения комплексного лечения (операция + ФДТ) вирус-ассоциированного микроинвазивного РШМ (операция+ФДТ) развился рецидив заболевания.

Клинический пример

Пациентка 37 лет. Клинический диагноз: РШМ 1A1 ст. В июне 2009 г. в цервикальных мазках выявлена сапсег *in situ*, идентифицированы высокоонкогенные генотипы ВПЧ-16 и 18. Выполнено раздельное диагностическое выскабливание матки, биопсия шейки матки. При гистологическом исследовании соскоба из цервикального канала выявлен сапсег *in situ* с микроинвазией опухолевого процесса до 0,1 мм на фоне признаков вирусной инфекции. Учитывая стадию заболевания, локализацию опухолевого процесса в цервикальном канале и репродуктивный возраст женщины, выполнен органосохраняющий объем лечения – высокая конусовидная ампутиация шейки матки. Через 1 мес при вирусологическом исследовании цервикальных мазков, взятых с культуры шейки матки, идентифицированы 16 и 18-й типы ВПЧ. С противовирусной целью на втором этапе лечения выполнена ФДТ культуры шейки матки с препаратом Аласенс (20% мазь, время экспозиции 6 ч) с последующей полной эрадикацией ВПЧ, установленной через 3–6–12 мес. Через 3 года после лечения в цервикальных мазках с культуры шейки матки выявлена дисплазия II ст., при расширенной кольпоскопии – у маточного зева визуализирован ацетобелый эпителий диаметром 0,3 см в виде «жемчужной» поверхности, неоднородно йоднегативный. При типировании ДНК ВПЧ методом ПЦР идентифицирован 16-й тип. В результате несоблюдения мер индивидуальной защиты против инфекций, передаваемых половым путем, произошло реинфицирование высокоонкогенным генотипом ВПЧ. При гистологическом исследовании биоптата диагностирована умеренная дисплазия, расцениваемая как начальный этап рецидива заболевания. Этот клинический случай подтверждает ключевую роль персистирующей ПВИ в развитии рецидива заболевания при реинфицировании высокоонкогенными генотипами ВПЧ и наглядно показывает необходимость выполнения на втором этапе лечения у вирус-инфицированных больных противовирусной терапии.

Полученные результаты противовирусной эффективности ФДТ с препаратом Аласенс – индуктором синтеза эндогенного протопорфирина IX согласуются с мнением некоторых авторов об аккумуляровании протопорфирина IX

ВПЧ-инфицированными клетками, что ведет к фотохимическому разрушению субклинических форм ВПЧ с невидимой пролиферацией клеток, а это, в свою очередь, препятствует рецидивированию заболевания [7, 8].

Заключение

Таким образом, ФДТ культуры шейки матки обеспечивает выраженный противовирусный эффект у вирус-позитивных пациенток на втором этапе лечения, что является одновременно профилактикой развития вирус-ассоциированных рецидивов заболевания первичного лечения. Методика лечения с облучением цервикального канала и полипозиционным воздействием световой энергии на зону резекции шейки матки с захватом сводов влагалища позволяет подвергать деструкции субклинические и латентные формы ПВИ, что ведет к полной эрадикации ВПЧ и опосредованно – к профилактике рецидивов заболевания. Методика лечения с использованием локальной аппликации Аласенса (20% мазь) в дозе 0,1 мг/см², времени экспозиции 6 ч и дозы световой энергии 150 Дж/см² является оптимальной для достижения положительных результатов эрадикации ВПЧ.

ФДТ может быть рекомендована с противовирусной целью на втором этапе лечения после ножевой ампутиации, лазерной, электро- и радиоволновой конусовидной эксцизии шейки матки, а также как альтернативный диатермо- и радиокоагуляции, криодеструкции, лазерной вапоризации метод лечения цервикальной ПВИ.

ФДТ не является профилактикой реинфицирования ПВИ, так как не вызывает стойкой активации клеточного иммунитета и, соответственно, выработку специфических антител. С этой целью после достижения противоопухолевого и противовирусного эффектов хирургического и фотодинамического воздействий показана вакцинация против ВПЧ (Гардасил, Церварикс). Одновременное обследование на инфицирование генитальными штаммами папилломавирусов половых партнеров женщин с ВПЧ-ассоциированной предопухолевой и начальной опухолевой патологией шейки матки позволяет значительно снизить риск полового пути передачи ПВИ от мужчины к женщине и, следовательно, реинфицирования. Такой многоэтапный подход к лечению ВПЧ-ассоциированного предрака и неинвазивного РШМ, профилактике рецидивов заболевания дает возможность не только излечить женщин от этого грозного заболевания на ранних этапах развития, но и обеспечить в будущем репродуктивную функцию и избежать во время беременности инфицирования плода и развития респираторного папилломатоза у детей.

Полученные данные противовирусной эффективности ФДТ представляют большой интерес в свете доказанной этиологической роли ВПЧ в развитии РШМ.

Литература

- Hillemanns P, Wang X, Hertel H et al. Pharmacokinetics and selectivity of porphyrin synthesis after topical application of hexaminolevulinate in patients with cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198 (3): S300–06.
- Samoylova TV, Shalkbalev GO, Petrov SV et al. HPV infection in cervical cancer cases in Russia. *Int J Cancer* 2007; 61 (3): S337–41.
- Богатырева ИИ. Современные подходы к лечению папилломавирусной инфекции урогенитального тракта. *Лечащий врач*. 2009; 48–54.
- Сухих ГТ, Прилепская ВН. Профилактика рака шейки матки. *Руководство для врачей*. М., 2012.
- Поделихин СА, Савичева СР, Комаров ЛТ. Эпидемиологические аспекты распространения ВПЧ. *Гинекология для практических врачей*. 2008; 3 (3): 86–9.
- Bedford S. Cervical cancer: physiology, risk factors and treatment. *Br J Nurs* 2009; 18 (20): 80. *J Med Virology* 2010; 78 (8): S331–3.
- Saslov D, Rinowicz C, Solomon D. American cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. *CA Cancer J Clin* 2010; 52: S342–62.
- Abdel-Hady ES, Martin-Hirsch P, Duggan-Keen M. Immunological and viral factors associated with the response of vulvar intraepithelial neoplasia to photodynamic therapy. *Cancer Res* 2010; 61 (1): 192–6.

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.