

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФАЗЫ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В АЛГОРИТМЕ НАБЛЮДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ЦЕРВИКАЛЬНОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ

Папилломавирусы человека (ПВЧ) 16 и 18 типов — основная причина развития цервикальных дисплазий и рака шейки матки.

При этом степень активности вируса в значительной степени определяет длительность его персистенции в организме и, соответственно, риск развития и прогрессирования дисплазии. Целью данной работы явилось не только подтверждение присутствия

ДНК ПВЧ в эпителии цервикального канала, но и определение степени его активности с помощью

иммуноцитохимического (ИЦХ) анализа и обратнотранскриптазной ПЦР (ОТ ПЦР).

При обследовании 181 женщины с различной патологией шейки

матки было определено, что уровень инфицирования ПВЧ, включая онкогенные и неонкогенные типы, составил в среднем 55,8%. Активная фаза

ПВЧ-инфекции была подтверждена у 27,5% ПВЧ-инфицированных женщин,

преимущественно со слабо выраженной дисплазией.

Доказательство репродуктивной фазы для рода

ПВЧ в целом оказалось более информативным с помощью

ОТ ПЦР, в то время как для ПВЧ

16 и 18 типов данные ИЦХ и ОТ ПЦР дополняли друг друга.

Введение

Известно, что папилломавирусы человека (ПВЧ) 16 и 18 типов являются основной причиной развития цервикальных дисплазий и рака шейки матки (РШМ). ДНК ПВЧ обнаруживается в 95% случаев РШМ [1,8].

Однако эпидемиологические исследования показывают, что не у всех ВПЧ-инфицированных женщин развивается дисплазия, и далеко не у всех женщин дисплазия прогрессирует в РШМ [4, 7]. У большинства вирус самопроизвольно элиминируется из организма, и только у 10–15% женщин он персистирует достаточно долгое время, приводя к формированию дисплазии [2,3]. Аналогичная тенденция наблюдается и в динамике развития дисплазий: лишь около 10–15% из них прогрессируют в более тяжелые степени вплоть до развития РШМ [5, 6].

В настоящее время представляют интерес факторы, помогающие прогнозировать течение ПВЧ-инфекции и, соответственно, развитие дисплазии. Немаловажно определить не только присутствие самого вируса, но и подтвердить, находится он в активной (репликативной) или латентной стадии. Доказательство активной фазы инфекции, сопровождающейся размножением ПВЧ, является важным фактором в прогнозировании течения заболевания, выборе метода лечения и контроле его качества, а также получении эпидемиологических данных.

Целью данной работы явилось определение активности ПВЧ-инфекции у женщин с различной степенью дисплазии с помощью

иммуноцитохимического (ИЦХ) исследования цервикальных мазков и обратнотранскриптазной ПЦР (ОТ ПЦР), а также сравнение эффективности 2-х вышеупомянутых методов.

Методика

Была обследована 181 женщина с различной патологией шейки матки. Средний возраст обследованных женщин составил 32,6 года. Все женщины прошли кольпоскопическое и онкоцитологическое обследование по Папаниколау. Присутствие ДНК ПВЧ подтверждали методом ПЦР с помощью скрининговых тест-систем для определения общих генов ПВЧ и отдельно для определения генов ПВЧ высокой степени онкогенности 16 и 18 типов «ДНК-технология», Москва). Одновременно активную фазу ПВЧ-инфекции подтверждали у ПВЧ-инфицированных женщин с помощью (ИЦХ) цервикальных мазков (Viroactiv[®], Virofem Diagnostica GmbH, Germany) и ОТ ПЦР.

ИЦХ исследование основывается на определении капсидных белков ПВЧ с помощью моноклональных антител S33 и T16. Капсидопротеин L1 синтезируется в различных видах эпителиальных клеток исключительно в поздней фазе продуктивной инфекции и является необходимым для образования вирусных частиц. Таким образом, его выявление является важным признаком активного вирусного процесса

Распознаваемым моноклональным скрининговым антителом S33 эпиген консервативен и дает возможность подтверждения наличия почти всех субтипов ПВЧ. Исключение составляют субтипы

1, 40 и 63, эпитопы которых подвержены сильным изменениям.

Эпитоп, распознаваемый моноклональным антителом T16, напротив, консервативен для генитальных субтипов 16 и 18, имеющих склонность к злокачественной трансформации эпителия.

Результаты

Данные онкоцитологического исследования женщин, а также уровень инфицирования женщин ПВЧ в зависимости от степени выявленной патологии представлены в табл. 1.

По данным онкоцитологического исследования у 35 (19,3%) женщин мазки были без атипии, у 78 (43,1%) – CIN I, у 36 (19,9%) – CIN II, у 20 (11,0%) – CIN III, у 12 (6,6%) – Ca in situ.

Частота инфицирования ПВЧ, обнаруженная при использовании скрининговых праймеров, составила в среднем 55,8%. Однако внутри различных групп пациентов уро-

вень выявления ДНК ВПЧ значительно различался: от 42,9% при нормальных мазках до 83,3% при Ca in situ.

Аналогичный уровень распределения частоты наблюдался при инфицировании ВПЧ 16 и/или 18 типов. ДНК ПВЧ 16 и/или 18 типов была обнаружена в среднем у 46,4% женщин. Минимальный уровень частоты выявления ДНК ВПЧ составил 28,6% среди женщин без атипии и оказался максимальным (75,0%) при Ca in situ.

У 101 ПВЧ-инфицированной женщины было проведено ИЦХ обследование с целью выявления репродуктивной фазы ПВЧ-инфекции в цервикальных соскобах. Исследование проводилось как с помощью скрининговых антител, позволяющих определять всю группу ПВЧ, так и с помощью антител, позволяющих определять ПВЧ 16 и 18 типов. Данные по результатам ИЦХ исследования представлены в табл. 2.

Результаты ИЦХ исследования оказались положительными у 17 (16,8%) из 101 ПВЧ-инфицированной женщины. Наиболее высокая частота выявления активной фазы ПВЧ-инфекции оказалась при CIN I и составила 27,5%. По мере нарастания степени тяжести дисплазии активность ПВЧ-инфекции уменьшалась и уже не наблюдалась при Ca in situ, что свидетельствует о переходе продуктивной фазы инфекции в интегративную, характерную для неопластических процессов.

Те же пробы оказались положительными и при исследовании на ПВЧ 16/18 типов. При Ca in situ также не было получено положительных результатов ИЦХ исследования.

Кроме того, были проведены исследования для сравнения двух различных методов определения активности ПВЧ-инфекции – ИЦХ и ОТ ПЦР. Данные по сравнению эффективности 2-х вышеперечисленных методов представлены в табл. 3.

Активная фаза инфекции с помощью ИЦХ была подтверждена у 6 (15,0%) женщин, а с помощью ОТ ПЦР – еще у 5, что говорит о ее более высокой чувствительности.

Репродуктивная фаза ПВЧ 16 или 18 типов была подтверждена у 6 (18,75%) человек с помощью ИЦХ, а с помощью ОТ ПЦР – у 7 (21,9%). Однако здесь необходимо отметить, что данные ИЦХ не всегда совпадали с данными ОТ ПЦР. В 4-х случаях результаты ИЦХ и ОТ ПЦР подтвердили друг друга, в 2-х – были положительными только ИЦХ, в 3-х – только ОТ ПЦР.

Обсуждение результатов

Активная фаза ПВЧ-инфекции была подтверждена у 27,5% ПВЧ-инфицированных женщин, преимущественно со слабо выраженной дисплазией. Доказательство репродуктивной фазы для рода ПВЧ в целом оказалось более информативным с помощью ОТ ПЦР, в то время как для ПВЧ

Таблица 1

Частота выявления ДНК ПВЧ в цервикальном эпителии по данным ПЦР в зависимости от степени CIN			
Группы пациентов	Данные онкоцитологии (N/%)	Частота выявления ДНК ПВЧ	
		Screen (N/%)	HPV 16/18 (N/%)
Без атипии	35 (19,3%)	15 (42,9%)	10 (28,6%)
CIN I	78 (43,1%)	40 (51,3%)	35 (44,9%)
CIN II	36 (19,9%)	26 (72,2%)	16 (44,4%)
CIN III	20 (11,0%)	10 (50,0%)	14 (70,0%)
Ca in situ	12 (6,6%)	10 (83,3%)	9 (75,0%)
Всего:	181 (100%)	101 (55,8%)	84 (46,4%)

Таблица 2

Частота выявления репродуктивной фазы ПВЧ-инфекции в цервикальных соскобах с помощью иммуноцитохимического (ИЦХ) исследования				
Группы пациентов	Screen		HPV 16/18	
	ПЦР (+) (N/%)	ИЦХ (+) (N/%)	ПЦР (+) (N/%)	ИЦХ (+) (N/%)
Без атипии	15 (14,9%)	1 (6,7%)	10 (11,9%)	1 (10,0%)
CIN I	40 (39,6%)	11 (27,5%)	35 (41,7%)	8 (22,9%)
CIN II	26 (25,7%)	4 (15,4%)	16 (19,0%)	1 (6,25%)
CIN III	10 (9,9%)	1 (10%)	14 (16,7%)	1 (7,1%)
Ca in situ	10 (9,9%)	–	9 (10,7%)	–
Всего:	101 (100%)	17 (16,8%)	84 (100%)	11 (13,1%)

Оценка эффективности ИЦХ и ОТ ПЦР при определении репродуктивной фазы ПВЧ-инфекции

Группы пациентов	Screen (N/%)			HPV 16/18 (N/%)		
	ПЦР (+)	ИЦХ (+)	ОТ ПЦР (+)	ПЦР (+)	ИЦХ (+)	ОТ ПЦР (+)
Без атипии	3(7,5%)	1(33,3%)	2(66,7%)	2(28,6%)	1(50,0%)	1(50,0%)
CIN I	17(42,5%)	5(29,4%)	9(53,0%)	15(45,5%)	5(33,3%)	6(40,0%)
CIN II	8(20,0%)	—	—	5(45,5%)	—	—
CIN III	4(10,0%)	—	—	3(37,5%)	—	—
Ca in situ	8(20,0%)	—	—	7(70,0%)	—	—
Всего:	40(100,0%)	6(15,0%)	11(27,5%)	32(46,4%)	6(18,75%)	7(21,9%)

16 и 18 типов данные ИЦХ и ОТ ПЦР дополняли друг друга.

Для таких больных прогрессия CIN более вероятна, чем элиминация ПВЧ и регрессия дисплазии. Определение активной фазы ПВЧ-инфекции может служить дополнительным критерием обследования женщин с дисплазиями, а ее положительные результаты — поводом для более тщательного наблюдения и интенсивного лечения, что, в свою очередь, приведет к снижению заболеваемости и смертности от рака шейки матки. Определение репликативной фазы инфекции с помощью использован-

ных методов может иметь и определенное эпидемиологическое значение, делая желательным обследование партнеров и проведение соответствующей разъяснительной работы.

Литература

1. Киселёв Ф. Л., Мазуренко Н. Н., Киселева Н. П. и др. // Вестн. Росс. Акад. Мед. Наук. — 2002. — № 1. — С. 8–14.
2. Duggan M. A., McGregor S. E., Stuart G. C. // Eur. J. of Gynaec. Oncol. — 1998. — Vol. 19 (4). — P. 338–344.
3. Ferenczy A., Mitao M., Nagai N. et al. // N. Engl. J. Med. — 1985. — Vol. 313. — P. 784.
4. Hildesheim A, Schiffman M. H., Gravitt P. E. et al. // J. Infectious Dis. — 1994. — Vol. 169. — P. 235–240.
5. Moscicki A. B., Shiboski S., Broering J. et al. // J. of Pediatrics. — 1998. — Vol. 132 (2). — P. 277–284.
6. Nuovo G. J., Pedemonte B. M. // Am. Me. Assoc. — 1990. — Vol. 263. — P. 1223–1226.
7. Velasco J., Blanco C. F., Carrascosa I. L. et al. // Eur. J. Gynaec. Oncol. — 1996. — Vol. XVII, N 5. — P. 372–377.
8. Zur Hausen H. // European J. Cancer. — 1999. — Vol. 35. — P. 1878–1885.