

УДК: 618.146-006.6-007.17(476)

Г.И. Вергейчик

**РОЛЬ ГЕНОТИПА ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА В
РАЗВИТИИ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ДИСПЛАЗИЙ И
ПРЕИНВАЗИВНОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ У ЖЕНЩИН В
РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ**

Кафедра онкологии с курсом лучевой диагностики и лучевой терапии Учреждение
Образования «Гомельский государственный медицинский университет», Республика Беларусь

Ректор УО «Гомельский государственный медицинский университет» –

д. м. н., профессор Жаворонок С.В.

Заведующий кафедрой онкологии – к. м. н., доцент Беляковский В.Н.

В мире ежегодно регистрируется около 500 000 новых случаев рака шейки матки, будучи в большинстве случаев предотвращаемым, он является причиной смерти 250 000 женщин в год [2]. Учитывая территориальную принадлежность Республики Беларусь к Европе, необходимо остановиться на различиях в заболеваемости раком шейки матки в Европейских странах. В странах Евросоюза заболеваемость в среднем составляет 7-8 случаев на 100 000 населения, в то время как в странах Восточной Европы заболеваемость достигает 30-35 случаев на 100 000 населения (в Сербии и Румынии) [2]. В Республике Беларусь заболеваемость раком шейки матки в 1990 году была 14,7 на 100 000, в 2005 году заболеваемость составила 17,4 на 100 000 населения, изменилась возрастная структура заболевших раком шейки матки, смещение произошло в сторону пациенток репродуктивного возраста [1]. Повышение заболеваемости раком шейки матки у женщин молодого возраста связано с широким распространением основного этиологического фактора рака шейки матки - вируса папилломы человека высокого онкогенного риска (ВПЧ-ВР), что обусловлено изменением стереотипов сексуального поведения женщин. Широко известные факторы риска для развития ВПЧ-инфекции включают ранний возраст начала сексуальных отношений, количество сексуальных партнёров, промискуитет сексуальных партнёров женщин, курение, длительную иммуносупрессию.

Поскольку ВПЧ-инфекция широко распространена среди здоровых женщин, очевидно, что дополнительные эпидемиологические, иммунологические и генетические факторы влияют на процессы канцерогенеза в эпителии шейки матки и указывают на то, что ВПЧ высокого риска являются необходимым, но не единственным фактором развития рака шейки матки. Пик генитальной ВПЧ-инфекции приходится на возраст 20–25 лет и снижается после 30 лет, когда существенно возрастает частота дисплазий и рака шейки матки, пик которого приходится на 45-55 лет. Обычно ВПЧ-инфекция носит временный характер и при первичной инфекции самоизлечение может наступить через 6–8 месяцев [7]. Персистентная инфекция с длительной, активной экспрессией вирусных онкобелков Е6/Е7 является необходимым условием возникновения рака шейки матки. Можно полагать, что роль вирусной инфекции сводится к запуску многостадийного процесса трансформации, который в значительной степени контролируется клеточными факторами.

Известно, что ВПЧ-16, 18 достаточно широко распространены в мире и именно этим типам вируса принадлежит основное значение в развитии рака шейки матки в США и странах Западной Европы, однако преобладающие типы ВПЧ-ВР различаются географически. Так исследования, проведенные в Шотландии и Австралии, продемонстрировали, что при эпителиальных дисплазиях и раке шейки матки ВПЧ-16 генотип выявлен в 47% и в 52,9% случаев, а ВПЧ-18 – в 29% и 18,3% случаев соответственно [5, 6]. В то время как исследование в большой популяции японских женщин выявило наиболее высокую частоту встречаемости ВПЧ-52, 16 и 58 типов при патологии шейки матки [3]. У мексиканских женщин, где заболеваемость раком шейки матки одна из самых высоких в мире, наиболее часто при эпителиальных дисплазиях и раке шейки матки выявлена ДНК ВПЧ-16 типа (71,6%), и ВПЧ-58 типа (18,6%), а частота встречаемости ВПЧ-18 типа составляет всего 4,6% [4]. Актуальным является использование вакцины для профилактики рака шейки матки. Для создания вакцины необходимо сформировать

оптимальную панель ВПЧ-генотипов, учитывая превалентность и роль ВПЧ-генотипа в развитии дисплазии и рака шейки матки.

Целью исследования явилось – выявить доминирующие ВПЧ генотипы и определить их ассоциацию с эпителиальными дисплазиями и преинвазивным раком шейки матки у женщин в Республике Беларусь.

Материал и методы исследования

С 2005 по 2006 год обследовано 97 пациенток от 18 до 55 лет (средний возраст 29,3 года). У всех женщин диагноз был верифицирован гистологически. У 21 больной диагностировали койлоцитоз многослойного плоского эпителия, у 24 женщин выявлена дисплазия лёгкой степени, у 22 – дисплазия умеренной степени, у 19 – дисплазия тяжёлой степени, у 10 – TisNoMo 0 стадия, у 1 пациентки – рак шейки матки T1a1NoM0 Ia1 стадия. Были использованы следующие методы исследования: простая и расширенная кольпоскопия, цитологический и гистологический методы исследования. Для обнаружения папилломавирусов высокого онкогенного риска (ВПЧ-ВР) использовали полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Был использован набор «АмплиСенс-50-F ВПЧ ВКР-скрин» для определения суммарного ДНК ВПЧ-ВР и набор «АмплиСенс-50-F ВПЧ ВКР-генотип» для выявления 14 вирусов высокого онкогенного риска. Метод основан на одновременной амплификации (мультиплекс-ПЦР) участков ДНК E1-E2 генов трёх групп ВПЧ и участка ДНК β-глобинового гена, используемого в качестве эндогенного внутреннего контроля. ПЦР-анализ на наличие ДНК 14 типов ВПЧ проводится в одной пробирке. Все амплифицируемые фрагменты имеют сходную длину.

Математическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы Statistica 6,0, Microsoft Excel.

Результаты исследования и обсуждение

Из обследованных 97 больных с различной патологией шейки матки, у 86 (88,6%) пациенток была выявлена ДНК папилломавирусов высокого риска, 11 (11,4%) женщин - ВПЧ-ВР негативны. Двадцати (20,6%) больным

была проведена ПЦР на определение только суммарной ДНК ВПЧ-ВР и получен позитивный тест. Остальным 76 (78,4%) пациенткам провели ВПЧ-генотипирование. Из них, у 65 (85,5%) женщин определён генотип ВПЧ-ВР, у 11 (11,4%) больных ВПЧ-ВР определён не был.

Распределение папилломавирусов в виде одного или нескольких генотипов вирусов высокого онкогенного риска при эпителиальных дисплазиях 1-3 степени тяжести, преинвазивном, микроинвазивном раке эпителия шейки матки и койлоцитозе многослойного плоского эпителия (эписомальной форме персистенции) представлены в табл. 1.

Необходимо отметить, что при дисплазии лёгкой степени у 4 (19,1%) пациенток не выявлено ДНК ВПЧ-ВР, в то время как у 17 (80,9%) женщин определили вирусы высокого онкогенного риска. В 7 (41%) случаях определен 1 тип ВПЧ-ВР, а в 10 (59%) случаях выявлена ассоциация 2 и более типов вирусов высокого риска, из которых, у 6 (60%) пациенток определено сочетание ВПЧ-16, 18 с другими типами ВПЧ. При дисплазии умеренной степени отрицательный ПЦР тест у 1 (5%) больной, у 19 (95%) выявлена ДНК ВПЧ-ВР. В 12 случаях (63,2%) выявлен один тип вируса, у 7 (36,8%) пациенток - ассоциация нескольких типов папилломавирусов, из которых в 4 (51,1%) случаях - сочетание с ВПЧ-16, 18. При дисплазии тяжёлой степени ВПЧ-ВР негативный тест у 1 (7%) пациентки, у 13 (93%) в эпителии шейки матки определены папилломавирусы высокого онкогенного риска. В 6 (46%) случаях – моноинфекция, у 7 (54%) больных выявлена ассоциация 2 и более типов ВПЧ-ВР. Из них, у 6 (85,7%) пациенток - сочетание с ВПЧ-16 типа. У 3 (33%) женщин с преинвазивным раком шейки матки не выявлена ДНК папилломавирусов, у 6 (67%) пациенток были генотипированы папилломавирусы. В 4 (67%) случаях определён один тип ВПЧ-ВР, в 2 (33%) случаях ассоциация нескольких типов ВПЧ-ВР, из них, в 1 случае с ВПЧ-16. Нами была обследована 1 женщина с микроинвазивным раком шейки матки (T1a1N0M0 Ia1 стадия) у которой выявлена ДНК ВПЧ-16 типа. У 2 (18,2%) пациенток с эписомальной формой персистенции ВПЧ-

инфекции ПЦР тест отрицательный, у 9 (81,8%) женщин выявлена ДНК ВПЧ-ВР. Восемь (89%) женщин инфицированы одним типом ВПЧ-ВР, и лишь у 1 (11%) больной определили сочетание двух типов папилломавирусов высокого онкогенного риска.

При койлоцитозе многослойного плоского эпителия, который является маркером эписомальной формы персистенции ВПЧ-инфекции, превалирует инфицирование одним типом вируса, в 89% случаев. Вероятно, это позволяет иммунной системе длительное время сохранять баланс между вирусом и организмом пациентки и препятствует переходу ВПЧ в интегрированную форму персистенции, которая сопровождается развитием эпителиальных дисплазий.

В результате проведенного исследования следует отметить, что наиболее часто, в 40,8% случаев, эпителиальные дисплазии и преинвазивный рак шейки матки ассоциированы с ВПЧ-16 типа, как в виде моноинфекции, так и в сочетании с другими типами ВПЧ-ВР. Второе и третье место по частоте встречаемости занимают ВПЧ-33 и ВПЧ-31 типов, составляя 22,4% и 14,5% соответственно. Во многих странах занимающий второе место по частоте встречаемости при предраковой патологии и раке шейки матки ВПЧ-18 типа в нашем исследовании оказался на восьмом месте и составил 6,6%.

В заключение необходимо обратить внимание на то, что проведенное исследование продемонстрировало различия в превалентности ВПЧ генотипов в развитии дисплазий и рака эпителия шейки матки в Республике Беларусь по сравнению с Северной Америкой и странами Западной Европы [5, 6]. Для широкого применения профилактической вакцины, особенно, в странах с низким уровнем ресурсов, где стоимость в US\$300 за вакцинацию одного человека, может являться существенным барьером, необходимо выяснить, насколько оправдано использование вакцины, содержащей только ВПЧ 16 и 18 типов. Поэтому у нас есть основания продолжать исследования в предложенном направлении, чтобы при популяционном анализе можно было получить достоверные значения доминирующих ВПЧ-генотипов в

развитии эпителиальных дисплазий и рака шейки матки и разработать оптимально адаптированную панель вирусов для создания профилактической вакцины, удовлетворяющей особенностям эпидемиологии генитальной ВПЧ-инфекции в Республике Беларусь.

ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в Беларуси 1996-2005 / С.М. Поляков, Л.Ф. Левин, Н.Г. Шебеко; под ред. А.А. Граковича, И.В. Залуцкого. – Минск: БелЦМТ, 2006. – 194 с.
2. GLOBOCAN 2002: Cancer incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. IARC CancerBase No. 5, version 2.0. IARC Press, 2004.
3. Inoue M., Sakaguchi J., Sasagawa T., Tango M. // International Journal of Gynecological Cancer. – 2006. – Vol. 16, I. 3. – P. 1007-1013.
4. Pina-Sanchez P., Hernandez-Hernandez D.M., Lopez-Romero R. et al. // International Journal of Gynecological Cancer. – 2006. – Vol. 16, I. 3. – P. 1041-1047.
5. Stevens M.P., Tabrizi S.N., Quinn M.A., Garland S.M. // International Journal of Gynecological Cancer. – 2006. – Vol. 16, I. 3. – P. 1017-1024.
6. Tawfik El-Mansi M., Cuschieri K.S., Morris R.G., Williams A.R. // International Journal of Gynecological Cancer. – 2006. – Vol. 16, I. 3. – P. 1025-1031.
7. Tjiong M., Out T., Van Der Vange N. et al. // International Journal of Gynecological Cancer. – 2001. – Vol. 11, I. 1. – P. 9-17.

Таблица 1

Распределение генотипов ВПЧ-ВР у пациенток с патологией шейки матки

Тип ВПЧ /число случаев, %	Число больных с эпителиальной дисплазией и раком шейки матки, у которых выявлена ДНК ВПЧ-ВР					
	CIN 1 21 случай	CIN 2 20 случаев	CIN 3 16 случаев	Ca in situ 9 случаев	Рак шейки матки T1a1N0M0 Ia1 стадия 1 случай	Койлоци- тоз плоского эпителия 11 случаев
ВПЧ-16 в 31 случае 40,8%	7	9	9	1	1	4
ВПЧ-18 в 5 случаях 6,6%	2	1	1	1	Не выявлен	Не выявлен
ВПЧ-31 в 11 случаях 14,5%	4	3	3	1	Не выявлен	Не выявлен
ВПЧ - 33 в 17 случаях 22,4%	7	4	1	2	Не выявлен	3
ВПЧ - 35 в 9 случаях, 11,8%	2	4	2	1	Не выявлен	Не выявлен
ВПЧ - 39 в 1 случае, 1,3%	Не выявлен	1	Не выявлен	Не выявлен	Не выявлен	Не выявлен
ВПЧ - 45 в 6 случаях, 7,8%	2	2	Не выявлен	1	Не выявлен	1
ВПЧ - 52 в 6 случаях, 7,9%	2	2	1	Не выявлен	Не выявлен	1
ВПЧ - 56 в 8 случаях, 10,5%	1	2	3	2	Не выявлен	Не выявлен
ВПЧ - 58 в 4 случаях, 5,3%	3	Не выявлен	1	Не выявлен	Не выявлен	Не выявлен
ВПЧ - 59 в 2 случаях, 2,6%	Не выявлен	1	Не выявлен	Не выявлен	Не выявлен	1
ВПЧ - 66 в 2 случаях, 2,6%	Не выявлен	1	Не выявлен	Не выявлен	Не выявлен	Не выявлен

STATUS of HPV INFECTION by HISTOLOGIC DIAGNOSIS

HISTOLOGY	n	HPV- negative	STATUS of HPV INFECTION			
			Single type	Two types	Three types	More than three types
Koilocytosis	11		8	3	0	0
CIN I	20		10	7	2	1
CIN II	19		12	4	2	1
CIN III	15		6	7	1	0
Ca in situ	6		4	1	1	0
Cervical cancer T1a1N0M0 Ost	1		1	0	0	0

**The INCIDENCE RANKING of HPV TYPES DETECTED with DNA
PCR in WOMEN in BELARUS**

HPV types	N	With single type	With multiple types
16	36	17	19
18	5	2	3
31	11	1	10
33	17	9	9
35	9	4	5
39	1	0	1
45	6	3	3
52	6	1	5
56	9	1	8
58	5	2	3
59	2	1	1
66	2	0	2
Total number of cases	109		

N – число позитивных случаев

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СЛУЧАЕВ ПО ГЕНОТИПАМ HPV-HR

Г.И. Вергейчик

**РОЛЬ ГЕНОТИПА ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА В
РАЗВИТИИ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ДИСПЛАЗИЙ И
ПРЕИНВАЗИВНОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ У ЖЕНЩИН В
РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ**

Кафедра онкологии с курсом лучевой диагностики и лучевой терапии
Учреждение Образования «Гомельский государственный медицинский
университет», Республика Беларусь

Цель исследования: выявить доминирующие генотипы вирусов папилломы человека высокого онкогенного риска (ВПЧ-ВР) и определить их ассоциацию с эпителиальными дисплазиями и преинвазивным раком шейки матки у женщин в Республике Беларусь.

Методология: проспективное исследование

Учреждение: Учреждение Образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Материалы исследования: 97 пациенток с патологией шейки матки: койлоцитозом многослойного плоского эпителия, эпителиальными дисплазиями I-III степени тяжести (CIN I-III), преинвазивным раком (Ca in situ), микроинвазивным раком (Ia1 стадия по FIGO) в возрасте от 18 до 55 лет.

Методы исследования: простая и расширенная кольпоскопия, морфологическое исследование материала, полимеразная цепная реакция.

Результаты исследования: из 97 обследованных пациенток у 86 (88,6%) было выявлено ДНК папилломавирусов высокого риска, 11 (11,4%) женщин оказались ВПЧ-ВР негативны. В 31 (40,8%) случае эпителиальные дисплазии и преинвазивный рак шейки матки ассоциирован с ВПЧ-16 типа, как в виде моноинфекции, так и в сочетании с другими типами ВПЧ-ВР. Второе и третье место по частоте встречаемости занимают ВПЧ-33 и ВПЧ-31 типов, составляя 22,4% и 14,5% соответственно. Во многих странах занимающий второе место по частоте встречаемости при предраковой

патологии и раке шейки матки ВПЧ-18 типа в нашем исследовании оказался на восьмом месте и составил 6,6%.

Заключение: проведённое исследование продемонстрировало различия в превалентности ВПЧ генотипов в развитии дисплазий и рака эпителия шейки матки в Республике Беларусь по сравнению с Северной Америкой и странами Западной Европы. Эта информация даёт основания продолжать исследования в данном направлении, чтобы при популяционном анализе можно было получить достоверные значения доминирующих ВПЧ-генотипов в развитии эпителиальных дисплазий и рака шейки матки и разработать оптимально адаптированную панель вирусов для создания профилактической вакцины, удовлетворяющей особенностям эпидемиологии генитальной ВПЧ-инфекции в Республике Беларусь.

Prevalence of Human Papillomavirus Types in Women with Cervical Intraepithelial Neoplasia or Cervical Cancer in Belarus

H. Viarheichyk

Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

Cervical cancer incidence was 14,7 cases per 100 000 women in 1990 but it increased up to 17,4 per 100 000 in 2005 in Belarus. We have to note that the age structure of cervical cancer patients has changed. It has shifted to the reproductive age patients. Type-specific human papillomavirus (HPV) distribution was investigated in this study including 116 women with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) I-III and cervical cancer in Belarus. The women aged 18 to 55 years old. We use the polimerase chain reaction test-system «Amplisense-50-F HPV-HR-genotypes» (Russia) for detection of 14 types of HPV-HR.

We have detected HPV-HR in 88,6% women with cervical lesions and 11,4% women have been HPV-HR-negative. We have detected HPV-16 in 40,8% cases. HPV-33 and HPV-31 were detected in 22,4% and 14,5% women. HPV-18 was detected only in 6,6% cases in our research group unlike many other countries where this type was one of the most frequent causes of cervical cancer.

Among women with histologically confirmed CIN I-III (including cancer in situ) and cervical cancer Ia1 stage HPV-16, 33, 31, 35, 45, 56, 52, 18 were the predominant types. These results give the basis to continue the investigation of prevalence of HPV-types among women in Belarus. It will be useful for receiving reliable evidence of the prevalence of HPV-types and creating the optimal HPV-panel for the multivalent prevention vaccine for Belarusian women. And it might happen so that besides HPV-16, 18 some other HPV-genotypes will have to be included in the vaccine.