

ней повышающейся пролиферативной активностью и репрессией апоптоза канкрозных клеток. Следует полагать, что эритропоэтин, в данном случае, может выступать в качестве промотора, то есть стимулятора митогенной активности раковых клеток экзоцервикса.

Полученные нами данные, свидетельствуют о том, что прогрессирующее нарастание уровня эритропоэтина в крови обследованных женщин, сопряжено с возникновением плоскоклеточного рака шейки матки и его прогрессией. Для дальнейшего изучения влияния эритропоэтина на морфогенез и прогрессию сквамозноклеточной цервикальной карциномы, необходимо исследование особенностей клеточного обновления (пролиферация, апоптоз) в экзоцервиксе при карциноме *in situ*, высокодифференцированном, умереннодифференцированном и низкодифференцированном плоскоклеточном раке шейки матки, определяя при этом содержание эритропоэтина в крови и тканях шейки матки.

## Литературы

1. Бохман Я. В. Руководство по онкогинекологии. СПб: ООО «Издательство Фолиант»; 2002. 195-229.
2. Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы. Клинические лекции. Под редакцией проф. В. Н. Прилепской. М.: «МЕДпресс»; 2000. 133-138.
3. Киселев В. И. Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки. М: Компания «Димитрейд График Групп»; 2004. 5-8.
4. Бохман Я. В. Лекции по онкогинекологии. М: Медицинское информационное агентство; 2007.
5. Кулаков В. И., Манухин И. Б., Савельева Г. М. Гинекология. Национальное руководство. М: ГЭОТАР-Медиа; 2007. 890-897.
6. Acs G., Zhang P.J., McGrath C.M. et al. Hypoxia-inducible signaling in squamous dysplasia and squamous cell carcinoma of the uterine cervix and its potential role in cervical carcinogenesis and tumor progression. *American J. of Pathology* 2003; 162(6): 1789-1804.
7. Бауэр Г. Цветной атлас по кольпоскопии. Пер. с немецкого. Под ред. С.И.Роговской. М: ГЭОТАР-МЕД; 2002. 287.
8. Коханевич Е. В., Ганина К. П., Суменко В. В. Кольпоскопия (атлас). Киев: Гидромакс; 2004.
9. Прилепская В. Н., Роговская С. И., Межевитинова Е. А. Кольпоскопия. Практическое руководство. М: Медицинское информационное агентство; 2001

Полный список литературы см. на сайте [www.urmj.ru](http://www.urmj.ru)

## Использование цитологического метода, качественного и количественного определения вируса папилломы человека в прогнозировании развития рака шейки матки

Е. Б. Рудакова, О. Ю. Цыганкова

Омская государственная медицинская академия, Омск

### Резюме

**Цель исследования:** сравнить и оценить диагностическую значимость цитологического метода, метода качественного и количественного определения вирусов папилломы человека (ВПЧ) в комплексной диагностике предрака шейки матки.

**Материал и методы исследования:** был проведен анализ эффективности действующего цитологического скрининга по данным заболеваемости раком шейки матки за период с 1996 по 2006 гг. в Омской области на базе областного онкологического диспансера.

Обследовано 282 женщины с патологически измененной шейкой матки в возрасте от 18 до 60 лет. Проводилось цитологическое исследование мазков с экзо — и эндоцервикса. Для качественного определения ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска использовалась тест-система АмплиСенс ВПЧ ВКР-скрин FEP с флуоресцентной детекцией, а для определения вирусной нагрузки — АмплиСенс R — V12(RG,IQ,M) скрин-титр FRT.

По показаниям проводилась биопсия с проведением морфологического исследования.

**Результаты исследования:** информативность цитологического метода низкая (около 24,18%). Определенная часть женщин (37%) с цервикальной интраэпителиальной неоплазией имеет в анамнезе ложноотрицательные цервикальные мазки. 68% цитологических мазков имеют картину воспаления. У женщин неинфицированных вирусом папилломы человека 16, 18

Е. Б. Рудакова — д. м. н., профессор, зав кафедрой акушерства и гинекологии №2, ГОУ ВПО Омская ГМА Росздрава, г. Омск;

О. Ю. Цыганкова — аспирант кафедры акушерства и гинекологии №2, ГОУ ВПО Омская ГМА Росздрава, г. Омск.

типом не отмечено тяжелых интраэпителиальных поражений. Совместно проведенное цитологическое исследование и ВПЧ тестирование повышает эффективность скрининга. Введение в исследование метода количественного определения ВПЧ позволяет определить риск развития дисплазии.

**Заключение:** продолжающийся рост заболеваемости раком шейки матки определяет необходимость включения в скрининговые программы определение ВПЧ инфекции, особенно высоко онкогенных типов.

**Ключевые слова:** цервикальный скрининг, ВПЧ тестирование, цервикальная интраэпителиальная неоплазия.

## Введение

Рак шейки матки занимает второе место среди злокачественных опухолей репродуктивной системы женщины и уступает только раку молочной железы [1]. В настоящее время отмечается рост заболеваемости раком шейки матки среди молодых женщин в возрасте до 40 лет, особенно у женщин до 29 лет, притом ежегодно его частота увеличивается на 2,1% и составляет 8,5% в структуре смертности женщин моложе 30 лет [2]. Увеличение частоты рака шейки матки в раннем и среднем репродуктивном возрасте является тревожным фактором, так как этот контингент пациенток представляет собой не только репродуктивно значимую часть населения, но и активную в социальном отношении группу [3]. Хотя отмечается некоторое снижение числа больных, умирающих от рака шейки матки уровень смертности остается достаточно высоким [4]. Несмотря на то, что среди всех злокачественных новообразований рак шейки матки является заболеванием, по отношению к которому профилактические мероприятия оказались наиболее успешными, он по-прежнему является важной медицинской и социальной проблемой [5].

Сегодня имеющаяся совокупность эпидемиологических экспериментальных данных позволяет однозначно утверждать, что рак шейки матки относится к заболеваниям, обусловленным вирусной инфекцией, которая передается половым путем [6]. Необходимым условием для развития рака шейки матки является персистирующая папилломавирусная инфекция типами высокого онкогенного риска [7]. Выявление ВПЧ инфекции высокого риска свидетельствуют только о повышенной опасности возникновения рака шейки матки, а не о наличии злокачественной опухоли как таковой. Для возникновения злокачественной опухоли шейки матки требуются воздействия целого ряда дополнительных факторов: особенности сексуального поведения, социально-экономический статус женщин (чаще болеют женщины из бедных семей), наличие сексуально-трансмиссивных заболеваний (генитальный герпес, хламидийная инфекция, кандидоз), дисбаланс иммунной системы на локальном и местном уровне, вредные привычки.

Около 90% инфекций обусловленных папилломавирусной инфекцией, самопроизвольно подавляются иммунной системой молодых женщин, и не выявляются уже приблизительно через 2 года с момента инфицирования. Наличие онкогенных типов ВПЧ у женщин старше 30 лет, как правило, означает стойкую инфекцию с высокой степенью риска развития цервикальной неоплазии [5, 7]. Результаты обследования женщин дают возможность сформировать группы риска, и, наблюдая за ними, определить больных, в отношении которых необходимо проведение профилактических мероприятий [8], выявление и своевременное лечение предраковых изменений шейки матки.

Инфицированность вирусом папилломы человека женщин, а особенно его высокоонкогенными типами (преимущественно 16, 18 тип) и составляет группы риска по развитию неоплазии. Поэтому реальной профилактикой рака шейки матки является ранняя диагностика и своевременное лечение доброкачественной патологии и предраковых процессов шейки матки.

В настоящее время нет единого мнения о самом информативном методе скрининговой диагностики патологии шейки матки. Общепринятым методом является цитологическое исследование мазков с шейки матки и цервикального канала. В нашей стране цитологический метод исследования используется при массовых профилактических гинекологических осмотрах. Критериями оценки эффективности скрининга являются снижение показателей заболеваемости и смертности от рака шейки матки, а также изменение структуры заболеваемости за счет увеличения количества ранних стадий рака и уменьшения запущенных форм [9]. Однако этот рутинный метод имеет низкую эффективность, а с выявлением этиологического фактора в развитии предрака и рака шейки матки еще и низкую специфичность. При цитологическом исследовании виден лишь результат взаимодействия с клеткой вируса, находящегося в эпителиальной форме. Латентные формы инфекции и вирусные формы, интегрированные с геномом клетки при ее малигнизации, цитологически не определяются, также как и нет каких-нибудь цитологических особенностей инфициро-

вания вирусами [9]. Кроме того информативность цитологического метода определяется уровнем подготовки специалистов, неправильным забором материала, высыханием мазка, «загрязненность» его кровью или элементами воспаления [7]. Поэтому доля сомнительных результатов, требующих повторных исследований около 15%. Предсказательная ценность отрицательного результата — низкая, требуются частые повторные исследования.

Учитывая, что рак шейки матки является ВПЧ-ассоциированным заболеванием, значительное место в диагностике папилломавирусных инфекций занимают молекулярно-биологические методы, направленные на обнаружение мельчайших частиц ДНК ВПЧ в материале [8]. В нашей стране распространенным методом диагностики папилломавирусной инфекции является метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Этот метод с типоспецифическими праймерами позволяет выявить вирусные последовательности в геноме клеток опухолей шейки матки почти в 100% случаев. Но ввиду возможной амплификации слишком малых количеств ДНК отмечается большое число ложноположительных результатов, помимо этого, 70% вирусносительства разрешается спонтанно, что ставит под сомнение значимость данного метода для практики.

В связи с этим предлагаются количественные методы определения ДНК ВПЧ, которые позволяют выявить вирусную нагрузку и определить риск наличия или развития в ближайшем будущем неоплазии. Наиболее оправданным методом для изучения различных генов ВПЧ, участвующих в злокачественной трансформации, является ПЦР в реальном времени. Принцип его заключается в количественной оценке экспрессии тех или иных генов, а также позволяет определить типы вируса в исследуемой пробе, что имеет важное прогностическое значение [8].

Внедрение новых технологий открывает новые возможности для профилактики рака шейки матки, что является основой для снижения частоты этого заболевания в целом и открывает новые перспективы в сохранении здоровья женщины [8].

**Цель:** сравнить и оценить диагностическую значимость цитологического метода, метода качественного и количественного определения ВПЧ в комплексной диагностике предрака шейки матки.

## Материалы и методы

Был проведен анализ эффективности действующего цитологического скрининга по данным заболеваемости раком шейки матки за период с 1996 по 2006 гг. в Омской области

на базе областного онкологического диспансера.

Обследовано 282 пациентки с различной патологией шейки матки в возрасте от 18 до 60 лет. Цитологическое исследование соскобов эпителия цервикального канала проводилось в централизованной цитологической лаборатории областного онкологического диспансера. Молекулярно-биологические исследования выполнены в ПЦР-лаборатории ЦНИЛ ОмГМА.

На первом этапе диагностики использовалась тест-система «АмплиСенс ВПЧ ВКР-скрин» (производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора), обладающая максимальной диагностической чувствительностью и выявляющая широкий спектр высокоонкогенных типов ВПЧ. При обнаружении на первом этапе вирусов 16, 18 типов использовалась тест-система «АмплиСенс» вариант скрин-титр-FRT (производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора), предназначенная для ПЦР амплификации и дифференциации ДНК вирусов папилломы человека 16, 18 типов с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». По показаниям проводилась биопсия с проведением морфологического исследования.

## Результаты и их обсуждение

Одной из основных задач в выявлении предрака и рака шейки матки является проведение скрининговых исследований мазков с шейки матки.

В Омской области за период времени с 1996 по 2006 гг. процент выявления рака шейки матки по данным цитологии достаточно низкий на протяжении ряда лет — от 13,36% в 1996 году, 26,6% в 2001 году до 9,8% в 2003 году. В последние 3 года выявляемость раком шейки матки по данным цитологии, хотя и выросла до 47,7% в 2005 году, она по-прежнему остается на низком уровне (таблица).

Столь небольшой процент раков шейки матки выявленных цитологически можно объяснить недостаточной эффективностью оценки состояния шейки матки при проведении рутинного цитологического исследования, недостаточным использованием современных технологий, а также низким уровнем подготовки цитологов [4].

Было обследовано 282 женщины с различной патологией шейки матки в возрасте от 18 до 60 лет. Цервикальные интраэпителиальные поражения (CIN) различных степеней тяжести были выявлены у 60 пациенток (21,3%). При этом CIN I степени были выявлены у 26 женщин (43,3%), CIN II степени у 29 женщин (48,3%), CIN III у 5 женщин (9%).

Всем пациенткам проводилась молекулярно-биологическое исследование для выявления ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска.

Таблица Динамика заболеваемости раком шейки матки, выявляемая по данным цитологии

Годы	Абсолютное число случаев РШМ	Число РШМ, выявленных цитологически	% РШМ, выявленных цитологически
1996	232	31	13,36
1997	191	38	19,89
1998	201	38	18,9
1999	265	39	14,7
2000	241	35	14,5
2001	229	61	26,6
2002	235	31	13,2
2003	224	22	9,8
2004	199	88	46,8
2005	239	114	47,7
2006	210	85	40,5

ВПЧ поражения и цервикальные интраэпителиальные неоплазии были выявлены у 21 женщины (35%). Соответственно без ВПЧ поражения CIN разных степеней тяжести были выявлены у 39 женщин (65%).

Ложноотрицательная цитологическая диагностика (диагноз был подтвержден морфологическим методом) была у 22 женщин (37%). Цитологическая картина воспаления при этом была у 15 женщин (68%), стационарный эндоцервикоз у 2-х женщин (9%). У 5 женщин (23%) цитологическая картина была без особенностей. У 6 женщин (27%) обнаружена ДНК ВПЧ высокоонкогенных типов.

Ложноположительная цитологическая диагностика не подтвержденная гистологией и ПЦР была у 18 пациенток (30 %). Цитологическая картина CIN I была у 5 женщин (28%), CIN II у 13 женщин (72%). Из них морфологическая картина хронического цервицита была у 14 женщин (78%), стационарного эндоцервикоза у 4-х женщин (22%).

Диагноз дисплазий разных степеней тяжести, подтвержденный только морфологическим методом (без выявления ДНК ВПЧ), у 16 женщин (41%). Из них CIN I степени у 13 женщин (81%), CIN II у 3 женщин (19%). И только в 5-ти случаях (13%) диагноз цервикальной интраэпителиальной неоплазии был подтвержден цитологическим и морфологическим методом.

У пациенток, не инфицированных ВПЧ 16,18 типов, не отмечено тяжелых интраэпителиальных неопластических поражений. CIN I была у 20 женщин (51%), CIN II у 19 женщин (49%).

Из 21 женщины с цервикальной интраэпителиальной неоплазией и подтвержденной ПЦР диагностикой ВПЧ, CIN по степеням выраженности распределились следующим образом: CIN I — 6 женщин (28 %), CIN II — 10 женщин (48%), CIN III — 5 женщин (24%).

Цитологически патологические состояния выявлены у 15 женщин (71%):

CIN I — у 2 женщин (13%), CIN II — у 9 женщин (60%), CIN III — у 4 женщин (27%).

У 6 женщин (29%) патологическое состояние было выявлено морфологическим методом. Четыре из них давали цитологически картину воспаления, а две картину хронического эндоцервикоза.

При ПЦР диагностике на ДНК ВПЧ высоко онкогенными типами (16 и 18) доминирующее положение занимает ВПЧ 16 типа — 13 случаев (62%), ВПЧ 18 типа обнаружен в 5 исследованиях (24%), смешанная инфекция (16+18 типы) была зарегистрирована в 3 случаях (14%).

При цервикальной интраэпителиальной неоплазии легкой степени вирус папилломы человека 16 типа был обнаружен в 5 случаях (83%), 18 типа в 1 случае (17%).

При CIN средней тяжести 16 тип обнаружен в 6 случаях (60%), 18 тип в 3-х случаях (30%), а в 1-ом случае (10%) зарегистрирована смешанная инфекция (16+18 тип). При тяжелой CIN частота встречаемости типов 16 и 18 одинаковая, но чаще преобладает смешанная инфекция (16+18 тип), и составляет 50%.

При определении вирусной нагрузки ВПЧ 16/18 типов, установлено, что клинически значимые нагрузки по ВПЧ ВКР были у 12 женщин: с результатом lg (ВПЧ на 100 тыс. клеток) 3-5: CIN I — 1 случай (4,8 %), CIN II — 4 случая (19%), CIN III — 2 случая (9,5%); с результатом lg (ВПЧ на 100 тыс. клеток) >5: CIN II — 2 случая (9,5%), CIN III — 3 случая (14,3%).

Клинически малозначимые у 6 женщин, с результатом lg (ВПЧ на 100 тыс. клеток) < 3: CIN I — 3 случая (14,3%), CIN II — 3 случая (14,3%).

У 3-х женщин результат исследования был даже ниже линейного диапазона измерения данной тест системы: CIN I — 2 случая (9,5%),

CIN II — 1 случай (4,8%). Это расценивалось нами как результат минимального развития инфекции и не требовало в дальнейшем специфической терапии.

Проведенный анализ диагностических методов в прогнозировании развития предрака и рака шейки матки у женщин позволил сделать следующие выводы:

1. Информативность цитологического метода по выявлению предрака и рака шейки матки низкая.

2. Определенная часть женщин (37%) с предраком шейки матки имеет ложноотрицательные цервикальные мазки. Основными причинами ошибочных цитологических заключений является «загрязненность» мазка элементами воспаления (68%).

3. Из числа выявленных цервикальных интраэпителиальных неоплазий — CIN I степени чаще диагностируется морфологическим методом, и составляет 81% (показанием к проведению морфологического исследования явились данные кольпоскопии).

4. У пациенток, неинфицированных вирусом папилломы человека 16/18 типов, не отмечено тяжелых интраэпителиальных неопластических поражений.

5. При ПЦР диагностике на ДНК ВПЧ высокоонкогенными типами доминирующее положение занимает ВПЧ 16 типа (62%). При тяжелой CIN частота встречаемости типов 16 и 18 одинаковая, но чаще преобладает смешанная инфекция, и составляет 50%.

6. Совместно проведенное цитологическое исследование и ВПЧ тестирование позволяет значительно повысить эффективность скринин-

га, так как ВПЧ тест более чувствительный в выявлении дисплазии II-III степени. Качественный метод ПЦР на выявление ДНК ВПЧ остается доступным и информативным методом выявления группы риска по предраковым заболеваниям шейки матки и в дальнейшем определяет тактику последующего лечения и диспансерного наблюдения.

7. Введение в исследования метода количественного определения ВПЧ позволяет определить степень вирусной нагрузки и оценить активность ВПЧ в тканях, что определяет эффективность проводимого лечения, а также риск прогрессирования и рецидивирования процесса.

## Литература

1. Прилепская В. Н., Голубенко А. Е. Эпидемиология, этиология и факторы риска заболеваний шейки матки. Поликлиническая гинекология. М.: 2004; 624.
2. Злокачественные новообразования в России в 2003 г. (забол. и смертн.). Под ред. Чиссова В. И., Старинского Е. С., Петровой Г.В. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена; 2005; 256.
3. Трушина О. И., Новикова Е. Г. Роль папилломавирусной инфекции в генезе рака шейки матки. Российский онкологический журнал 2005; 1: 45-51.
4. Профилактика рака шейки матки: Руководство для врачей. М.: МЕДпресс-информ; 2007; 56.
5. Манухин И. Б., Миякина Г. Н. Проблемы и перспект. цервикального скрининга. Акуш. и гин. 2006; прил., 51-56.
6. Bosch F. X., Lorinz A., Munoz N. et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. J Clin Pathol 2002; 55: 244-65.
7. Минкина Г. Н. Предраковые заболевания шейки матки: диагностика и лечение. Качество жизни. Медицина 2004; 3(6): 32-34.
8. Прилепская В. Н. Профилактика рака шейки матки. Методы ранней диагностики и новые скрининговые технологии. Акушерство и гинекология 2007; 5: 73-76.
9. Новик В. И. Эпидемиология рака шейки матки, факторы риска, скрининг. Практ. онкология 2002; 3(3):156-162.

## Клинические особенности хронического цервицита, ассоциированного с ВПЧ-инфекцией

И. В. Бойко, О. С. Абрамовская, А. Н. Ахматова

Челябинская государственная медицинская академия, МУЗ ГКБ № 8 г. Челябинск

### Резюме

*Среди заболеваний шейки матки наиболее распространенным является хронический цервицит различной этиологии, частота которого не имеет тенденции к снижению.*

*Имеются данные о том, что любая цервикальная инфекция может нарушать процессы пролиферации и апоптоза в тканях, то есть стать инициатором неопластических процессов. В настоящее время ведущую роль в этом отводят вирусу папилломы человека (ВПЧ).*

И. В. Бойко — заочный аспирант кафедры акушерства и гинекологии №2 ГОУ ВПО «ЧелГМА Росздрава», врач акушер-гинеколог МУЗ ГКБ 8 г. Челябинска;

О. С. Абрамовская — к. м. н., научный сотрудник НИИ иммунологии ГОУ ВПО «ЧелГМА Росздрава»;

А. Н. Ахматова — очный аспирант кафедры акушерства и гинекологии №2 ГОУ ВПО «ЧелГМА Росздрава».