

Діагностика стану шийки матки за наявності папіломавірусного інфікування

Н.Д. Коблош, В.К. Кондратюк, О.І. Пустовалова, А.О. Калюта

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України», м. Київ

Проведено комплексне обстеження 90 жінок репродуктивного віку, інфікованих вірусом папіломи людини з використанням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР-діагностики), рідинної цитології, імуноцитохімічного методу визначення капсидного білка L1 в цервікальних мазках та кольпоскопічного дослідження. Отримані результати дозволяють оцінити ризик прогресування визначених диспластичних змін епітелію шийки матки.

Ключові слова: вірус папіломи людини, рідинна цитологія, капсидний білок L1, диспластичні зміни епітелія шийки матки.

Проблема папіломавірусної інфекції (ПВІ) привертає все більшу увагу акушерів-гінекологів у зв'язку з високою поширеністю, труднощами в діагностиці та лікуванні. Так, згідно з даними Центрів з контролю і профілактики захворювань до 50 років життя вірусом папіломи людини (ВПЛ) інфікуються близько 80% жінок [1, 2].

Найбільша частота ВПЛ-інфікування визначається серед жінок раннього репродуктивного віку. ВПЛ, котрий передається статевим шляхом, є пусковим механізмом розвитку дисплазії епітелію шийки матки та основна причина розвитку раку шийки матки (РШМ) [3, 4].

Поряд із цим, численні дослідження свідчать про можливість імовірної мимовільної елімінації вірусу. Тривалість інфікування пов'язують з типом ВПЛ, віком, наявністю полігів в анамнезі, курінням і вживанням оральних контрацептивів [4, 5].

У процесі мимовільної елімінації вірусу з організму провідна роль належить імунологічним механізмам. Капсидний білок L, один з восьми відомих білків, специфічних для ВПЛ, є основним стимулювальним фактором розвитку протівірусного імунітету. Саме під час продуктивної фази життєвого циклу вірусу в цитоплазмі клітин епітелію шийки матки продукується білок L1, котрий потім проникає в ядро клітини, де і може бути виявлений за допомогою імуноцитохімічних методів [4–6].

Оптимізація програм обстеження шийки матки з метою виявлення її преінвазивних новоутворень призвела б до зменшення кількості випадків інвазивного РШМ [1, 3]. Для визначення тактики ведення ВПЛ інфікованих жінок, необхідними є розроблення та впровадження в клінічну практику прогностичних маркерів прогресування диспластичних змін епітелію шийки матки [7].

Наявність білка L1 в диспластичних клітинах це підтвердження завершеного життєвого циклу ВПЛ. Дані сучасних наукових досліджень свідчать про те, що імуноцитохімічне виявлення капсидного білка L1 є високоефективним маркером прогнозування регресу (70–85%) плоскоклітинних інтраепітеліальних уражень низького (LSIL) і високого (HSIL) ступенів. Швидка прогресія від легких і помірних уражень епітелію шийки матки до важких дисплазій (CIN III) свідчить про порушення імунологічного контролю над ВПЛ, неконтрольовану регуляцію клітинного циклу на транскрипційному, трансляційному і геномному рівнях [6–9].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Під спостереженням перебували 90 жінок з доброякісною патологією шийки матки та інфікуванням ВПЛ. Усі пацієнтки були репродуктивного віку, середній вік склав $28,34 \pm 4,9$ року. Постановку ПЛР виконували згідно з рекомендацією виробника діагностичних наборів – фірми «Лабораторія ІЗОГЕН» (Москва, Росія). Цитологічні дослідження виконували традиційно та за методикою рідинної цитології. Кольпоскопічні дослідження проводили за стандартними методиками. Для інтерпретації кольпоскопічних картин використовували Міжнародну класифікацію кольпоскопічних термінів [10]. З метою детальної характеристики результатів кольпоскопічного дослідження застосовано кольпоскопічний індекс, модифікований Reid (RCI), для якісної характеристики кольпоскопічних картин – систему Coppelson (M. Coppelson Grading System) [11].

Капсидний тест (імуногістохімічну ідентифікацію білка L1) проводили з використанням полімерної методики EnVision FLEX (Dako Denmark A/S). Специфічною позитивною реакцією, що свідчила про активність продуктивної фази інфекції вважалась ядерна реакція.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При цитологічному дослідженні мазків з каналу шийки матки обстежених жінок виявлялись характерні для вірусного інфікування цитологічні ознаки, зумовлені цитопатогенною дією ДНК-вмісних ВПЛ: койлоцити, двоядерні клітини та багатоядерні симпласти, кератиноцити. Цитологічні ознаки, характерні для CIN I, відзначені у 45 (50,0%) пацієнток з інфікуванням ВПЛ, а для CIN II – у 22 (24,4%) обстежених.

Відомо [6–9], що при імуноцитохімічному дослідженні цервікальних мазків пацієнток без ПВІ, капсидний білок L1 в диспластично змінених клітинах сквамозного епітелію не визначається (мал. 1)

При дослідженні цервікальних мазків позитивна реакція на капсидний білок L1 в ядрах клітин сквамозного епітелію була маркером продуктивної фази вірусу, для якої характерна презентація вірусного антигену в імунній системі жінки, тобто є висока вірогідність (70–85%) мимовільної елімінації ВПЛ та регресії диспластичних змін епітелію шийки матки [6–9] (мал. 2).

Виражена цитоплазматична експресія капсидного білка L1 в епітеліюцитах є ознакою ПВІ [6–9]. Поряд із цим відсутність білка L1 в ядрах епітеліюцитів є негативною прогностичною ознакою, оскільки свідчить про інтеграцію ВПЛ в геном клітини внаслідок уникнення вірусом контролю з боку імунної системи (мал. 3).

При проведенні розширеного кольпоскопічного дослідження у обстежених жінок були визначені зміни, що характерні для доброякісних (фонових) процесів та диспластичних змін епітелію шийки матки, а саме: ектопія та ектопіон, нормальна та атипова зона трансформації, оц-



Мал. 1. Цервікальний мазок. Негативна реакція на капсидний білок в диспластично змінених клітинах сквамозного епітелію за відсутності інфікування ВПЛ. Імуноцитохімічне фарбування з антитілом до білка L1 (Dako Denmark A/S). Збільшення x20

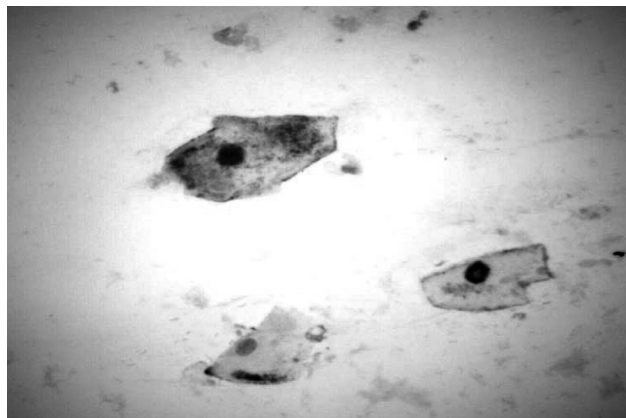
тобілий епітелій, пунктуация, мозаїка, залози з ознаками зроговіння, лейкоплакія, йоднегативні ділянки, ендометріоз шийки матки, рубцева деформація шийки матки, кондилома та запалення.

Нормальну зону трансформації (плоскоклітинна метаплазія, відкриті, закриті залози) спостерігали у 14 (15,6%) обстежених. Ектопію циліндричного епітелію визначали як ділянку яскраво-рожевого кольору з сосочковою поверхнею. Визначали дану ознаку у 40 (44,4%) жінок. Посттравматичні зміни шийки матки у вигляді деформації зовнішнього вічка, старих розривів та рубців, нерівної межі між багатошаровим плоским та циліндричним епітеліями призводять до розвитку та персистенції патології шийки матки відзначали у 15 (16,7%) пацієнток. Ендометріоз шийки матки діагностований у 12 (13,3%) обстежених, при розширенні кольпоскопії та візуальному огляді мав вигляд кровоточивих ділянок розмірами 0,1–0,5 см та субепітеліальних кіст синюшного кольору.

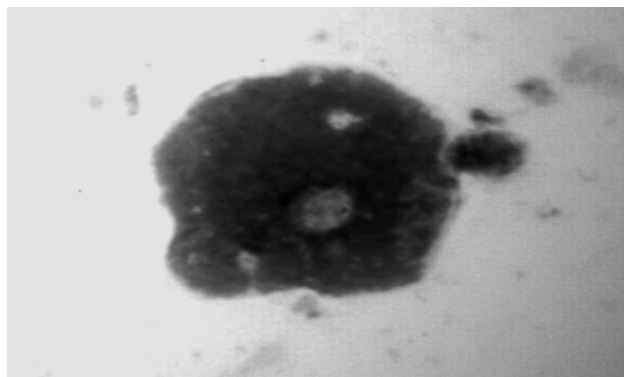
Досить часто спостерігали такі ознаки, як оцетобілий епітелій та мозаїка (у вигляді полігональних фігур з межами рожевого кольору на тлі оцетобілого епітелію) відповідно у 51 (56,7%) та 43 (47,8%) пацієнток. Пунктацію визначали у 22 (24,4%) випадках у вигляді багаточисленних червоних крапок на ділянках епітелію (судинні петлі). Лейкоплакію спостерігали у 18 (20,0%) жінок з інфікуванням ВПЛ. Йоднегативні ділянки при проведенні проби з розчином Люголя мали місце у 39 (43,3%) обстежених.

На особливу увагу заслуговували випадки кондиломатозного цервіциту та вагініту, що відзначали у 12 (13,3%) пацієнток з ВПЛ. Кольпоскопічна картина дифузного ураження плоского епітелію статевих органів при цьому мала вигляд дрібних шилоподібних виростів, які після проби з розчином оцтової кислоти набували білого кольору, а при пробі Шиллера – йоднегативних вкраплень на тлі незмінного епітелію темно-коричневого кольору.

Ознаки атипової зони трансформації (залози з ознаками зроговіння та атипові судини (судини зі зміненою структурою у вигляді штопору, шпильки, коми, котрі не реагують на оброблення розчином оцтової кислоти) спостерігали відповідно у 25 (27,8%) та 21 (23,3%) випадках та свідчили про наявність інтраепітеліальних уражень високого ступеня тяжкості. Слід зазначити, що кольпоскопічні прояви ПВІ шийки матки у 57 (63,3%) хворих поєднувалась з ознаками хронічного екзоцервіциту. У 6 (6,7%) жінок з ПВІ результати кольпоскопії були незадовільними внаслідок відсутності



Мал. 2. Цервікальний мазок. Позитивна реакція на капсидний білок в ядрах клітин сквамозного епітелію при інфікуванні ВПЛ. Імуноцитохімічне фарбування з антитілом до білка L1 (Dako Denmark A/S). Збільшення x20



Мал. 3. Цервікальний мазок. Виражена цитоплазматична експресія капсидного білка в епітеліоциті за відсутності ядерної реакції. Імуноцитохімічне фарбування з антитілом до білка L1 (Dako Denmark A/S). Збільшення x40

візуалізації перехідної зони (стику багатошарового плоского та циліндричного епітелію).

З метою детальної характеристики результатів кольпоскопічного дослідження застосовували кількісний аналіз кольпоскопічних результатів за Reid. При цьому у 34 (37,8%) пацієнток кольпоскопічний індекс складав від 0 до 2 балів, що свідчило про ймовірність CIN I, оцінка в 3 бали визначалась найчастіше, а саме у 46 (51,1%) обстежених, що свідчило про ймовірність CIN II. Оцінка в 4 і більше балів відзначали досить рідко, а саме у 10 (11,1%) пацієнток, оскільки відповідні їй кольпоскопічні ознаки спостерігаються переважно при CIN II–III.

Під час якісного аналізу кольпоскопічних картин із застосуванням системи Colposon у пацієнток з інфікуванням ВПЛ спостерігались як визначальні кольпоскопічні ознаки у 41 (45,6%) жінки, зокрема, щільний оцетобілий та непрозорий епітелій, нерівномірність та збільшення розмірів судин, груба пунктуация та мозаїка, так і невизначальні (прозорий та напівпрозорий оцетобілий епітелій з нечіткими межами, з короткими між капілярними проміжками, відсутністю атипових судин) у 49 (54,4%) обстежених.

Слід рекомендувати широке використання проби Шиллера, за допомогою якої виявляється багато прихованих форм ПВІ на шийці матки, котрі неможливо побачити неозброєним оком та під час простої кольпоскопії. Аналіз даних

розширеної кольпоскопії свідчить, що у жінок з інфікуванням ВПЛ за наявності патологічних змін на шийці матки переважала аномальна кольпоскопічна картина.

ВИСНОВКИ

Метод рідинної цитології покращує якість цитологічного дослідження за рахунок стандартизації способу приготування тонкошарового препарату, що підвищує ефективність мікроскопування.

Імуногістохімічна ідентифікація капсидного вірусного білка L1 дозволяє оцінити ризик прогресування зумовлених ВПЛ змін сквамозного епітелію і розвитку раку шийки матки.

Диагностика состояния шейки матки при наличии папилломавирусного инфицирования Н.Д. Коблош, В.К. Кондратюк, О.И. Пустовалова, А.А. Калюта

Проведено комплексное обследование 90 женщин репродуктивного возраста с инфицированием вирусом папилломы человека с использованием полимеразной цепной реакции для диагностики, кольпоскопического исследования, жидкостной цитологии и иммуноцитохимического метода определения капсидного белка L1 в цервикальных мазках. Полученные результаты позволяют со значительной степенью достоверности оценить риск прогрессирования диспластических изменений эпителия шейки матки.

Ключевые слова: вирус папилломы человека, жидкостная цитология, капсидный белок L1, диспластические изменения эпителия шейки матки.

Наявність експресії білка L1 при диспластичних змінах епітелію шийки матки свідчить про високу вірогідність регресії змін сквамозного епітелію та елімінації вірусу папіломи людини з організму.

Диспластичні зміни з негативною експресією білка L1 несуть у собі ризик прогресування процесу з вірогідністю злоякісної трансформації епітеліальних клітин шийки матки.

Аналіз кольпоскопічних ознак за системою Reid та Coppersley підвищує якість діагностики захворювань шийки матки (доброякісних фонових процесів та диспластичних змін епітелію шийки матки), що має важливе значення для вибору адекватного методу лікування даної патології.

Diagnosis of the condition of the cervix with human papillomavirus infection N.D. Koblosh, V.K. Kondratyuk, O.I. Pustovalova, A.A. Kaliuta

Complex examination of 90 women of reproductive age with infection of human papilloma virus of the person with use of the PCR of diagnostics, colposcopic research, liquid-based cytology and an immunocytochemical method of definition of L1 capsid protein in the cervical smears is conducted. The received results allow to estimate with considerable degree of reliability risk of progressing the dysplastic changes of epithelium of the cervix of uterus.

Key words: human papilloma virus, liquid-based cytology, L1 capsid protein, dysplastic changes of epithelial cells of the cervix of uterus.

Сведения об авторах

Коблош Наталья Дмитриевна – ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8; тел.: (044) 483-91-76

Кондратюк Валентина Константиновна – ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8; тел.: (044) 483-91-76

Пустовалова Ольга Ивановна – ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8; тел.: (044) 483-16-13

Калюта Алина Александровна – ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8; тел.: (044) 483-38-61

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Киселев В.И. Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки / Киселев В.И. – М.: Компания «Димитрейд График Групп», 2004. – 184 с.
2. Мазуренко М.М. Роль вирусов папилломы в канцерогенезе шейки матки / М.М. Мазуренко // Современная онкология. – 2003. – № 1. – С. 7–10.
3. Кувва Д.А. Современная концепция диагностики папилломавирусной инфекции: материалы Межрегиональной науч.-практ. конф. «Дерматовенерология в период реформирования здравоохранения и реализации национальных проектов», 22–23 мая 2007, Екатеринбург. – С. 112–113.
4. Перламутров Ю.Н. Современные подходы в терапии пациентов с папилломавирусной инфекцией гениталий / Ю.Н. Перламутров, Н.И. Чернова // Эффективная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии. – 2007. – № 2. – С. 15–19.
5. Scott M. Cell-mediated immune response to human papillomavirus infection / M. Scott, M. Nakagawa, A. B. Moscicki // Clin. Diagn. Lab. Immunol. – 2001. – № 8. – P. 209–220.
6. Yang R. Papillomavirus capsid mutation to escape dendritic cell-dependent innate immunity in cervical cancer / R. Yang, C.M. Wheeler, X. Chen [et al.] // J. Virology. – 2005. – № 79. – P. 6741–6750.
7. Griesser H. Correlation of immunocytochemical detection of HPV L1 capsid protein in pap smears with regression of high-risk HPV positive mild / moderate dysplasia / H. Griesser, H. Sander, R. Hilfrich [et al.] // Anal Quant Cytol Histol. – 2004. – № 26. – P. 241–245.
8. Griesser H. Immunchemische Untersuchungen mit Antikörpern gegen das humane Papillomavirus (HPV) an Routineabstrichen der Zervix uteri / H. Griesser, S. Zeck, W. Kayser-Schmidt // Verh. Dtsch. Ges. Zyt. // 2001. – № 22. – P. 97–98.
9. Turan T. Methylation of the human papillomavirus-18 L1 gene: A biomarker of neoplastic progression? / T. Turan, M. Kalantari, I.E. Calleja-Macias [et al.] // Virology. – 2006. – № 349. – P. 175–183.
10. Подзолкова Н.М. Новые международные стандарты и классификации в кольпоскопии / Н.М. Подзолкова, С.И. Роговская, Е.С. Аколова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2011. – № 6. – С. 79–83.
11. Sellor John W. Colposcopy and treatment of cervical intraepithelial neoplasia: a beginners manual / W. Sellor John, R. Sankaranarayanan // International Agency for Research on Cancer. – 2003. – P. 67.

Статья поступила в редакцию 09.12.2013