

Т. Д. Алиева, д.м.н., С. Б. Шатабаева

Казахский медицинский университет непрерывного образования

Городская поликлиника № 20

г. Алматы, Казахстан

РОЛЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОНКОМАРКЕРОВ В РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ

АННОТАЦИЯ

Проведено комплексное обследование пациенток с различной патологией шейки матки с включением молекулярных методов диагностики в общий комплекс диагностических мероприятий. Оценка экспрессии белка p16ink4 α в тканях шейки матки может свидетельствовать о наличии потенциального риска развития предраковых изменений и РШМ и позволяет выявить пациенток с повышенным риском предраковых заболеваний шейки матки. Определение молекулярно-генетических онкологических маркеров может быть рекомендовано как одна из эффективных методик в диагностике заболеваний шейки матки, в том числе и в скрининговых программах.

Ключевые слова: шейка матки, патология, диагностика, онкологические маркеры, p16ink4 α , ВПЧ.

Проблема заболеваний шейки матки (ШМ) является одной из наиболее актуальных в современной гинекологии и имеет большое значение для предотвращения возникновения и развития злокачественных новообразований. Среди гинекологических заболеваний, встречающихся у женщин репродуктивного возраста, патология ШМ составляет 10-15 % и является фоном для развития предраковых изменений и рака ШМ (РШМ) [2].

Диагностика и лечение заболеваний шейки матки представляет до настоящего времени большой интерес вследствие не снижающейся частоты этой патологии, в том числе и роста заболеваемости раком шейки матки [4].

С учетом постоянного роста заболеваемости и уменьшения возраста манифестации все большее значение приобретает проведение проспективной диагностики РШМ в рамках ежегодных диспансеризаций и в группах риска [3, 5].

Наряду с прямыми методами, такими, как детекция вируса папилломы человека (ВПЧ), определенную прогностическую ценность имеют косвенные методы, к которым относятся оценка экспрессии белка p16ink4 α , осуществляющего контроль клеточного цикла, и метаболитов эстрадиола, активирующих клеточную про-

лиферацию и синтез онкобелков ВПЧ в инфицированных клетках на фоне 16 α ОНЕ1 [8]. Мнение о p16ink4 α как о маркере опухолевой и предопухолевой патологии шейки матки подтверждает взаимосвязь интенсивности его экспрессии с синтезом онкобелка E7 ВПЧ. С другой стороны, лишь 22,7 – 60 % образцов, позитивных к p16, содержат ВПЧ высокого онкогенного риска [6]. Подтверждение значимости этого маркера при LSIL нуждается в детализации его использования при HSIL [7]. Установлено, что усиление экспрессии p16ink4 α в экзоцервиксе имеет однонаправленный характер относительно степени поражения CIN при папиллома-вирусной инфекции.

Отсутствие экспрессии белка p16 или его инактивация приводит к тому, что клетка теряет контроль над клеточным циклом. Повреждения или делеции этого гена так часто регистрируются в опухолях самого разного происхождения, что возникло представление о нем, как о наиболее часто поражаемом при канцерогенезе гене-супрессоре. Кроме того, экспрессия p16 стимулируется ВПЧ. Определение p16 способствует выявлению подозрительных на наличие дис- или неопластических изменений участков в визуально не измененном эпителии и установ-

лению отличия диспластических изменений клетки от дистрофических [3].

Мониторинг молекулярных маркеров, которые обнаруживаются задолго до клинических признаков, позволяет вовремя начать проведение более тщательной диагностики и превентивной терапии, а также выявить группу риска развития предраковых заболеваний и РШМ [1].

Цель исследования: совершенствование диагностического подхода у женщин с фоновыми и предраковыми заболеваниями шейки матки.

Материал и методы исследования. На базе поликлиники № 20 г. Алматы нами было проведено обследование 51 пациентки с различной патологией шейки матки в возрасте 23-69 лет. На каждую пациентку заполнялась карта обследования, которая позволяла учитывать данные анамнеза, объективного исследования, дополнительных методов исследования. Проводилось клиническое обследование (анализ жалоб, анамнеза заболевания, данных объективного обследования), простая и расширенная кольпоскопия, цитологическое исследование мазков-отпечатков с экзо- и эндоцервикса, морфологическое исследование биоптатов шейки матки и соскобов эндоцервикса, молекулярное исследование биоптатов шейки матки и соскобов эндоцервикса с определением аномального метилирования гена p16ink4 α , ПЦР диагностика ВПЧ, ультразвуковое исследование внутренних половых органов.

В зависимости от наличия молекулярно-генетических онкологических маркеров в биоптатах шейки матки пациентки были разделены на 2 группы:

I группа (21 чел.) – с патологией шейки матки, у которой в биоптатах шейки матки обнаружен молекулярно-генетический онкологический маркер – p16ink4 α . Средний возраст пациенток 36,4 \pm 0,9 лет.

II группа (30 чел.) – с патологией шейки матки, но у которых не были выявлены онкомаркеры. Средний возраст больных 37,5 \pm 1,0 лет.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась на персональном компьютере с использованием программ Statistica 6.0 и Microsoft Excel 7.0 (США).

Результаты исследования и их обсуждение. При изучении репродуктивной функции обследованных было выявлено (табл. 1), что с одинаковой частотой беременность встречалась как в I, так и во II группе пациенток (90,5 и 80,0 %

соответственно). Однако несколько чаще в I группе женщины имели в анамнезе 3-4 родов, но эти показатели не имели статистически значимых различий (42,9 и 20,0 % соответственно, $P \geq 0,05$). При этом разрывы шейки матки в родах встречались с одинаковой частотой (33,3 и 36,7 % соответственно, $P \geq 0,05$).

Таблица 1

Особенности репродуктивной функции обследованных пациенток

Нозология	I группа n=21		II группа n=30	
	абс.	%	абс.	%
Наличие беременности	19	90,5	24	80,0
Наличие 1-2 родов	11	52,4	18	60,0
Наличие 3-4 родов	9	42,9	6	20,0
Наличие разрывов шейки матки в родах	7	33,3	11	36,7
Аборты	17	80,9*	16	53,3
Заболевания шейки матки при отсутствии беременности	12	57,1*	5	16,7

* Достоверность различий составляет $P \leq 0,05$.

К факторам риска развития патологии шейки матки следует отнести аборты, которые имели место достоверно чаще среди женщин I группы (80,9 и 53,3 % соответственно, $P \leq 0,05$).

Интересным является указание на наличие заболеваний шейки матки до наступления беременности, которые встречались у женщин I группы достоверно чаще (57,1 и 16,7 % соответственно, $P \leq 0,05$).

Нами проведен тщательный анализ перенесенных в прошлом гинекологических заболеваний, относящихся к факторам, влияющим на морфофункциональное состояние шейки матки, а также на различные звенья репродуктивной системы женщины (табл. 2).

Среди гинекологических заболеваний в прошлом были воспалительные заболевания различной этиологии, из которых с одинаковой частотой встречались сальпингоофориты и вульвовагиниты. Следует обратить внимание на то, что в I группе миома матки наблюдалась у женщин достоверно чаще (23,8 и 66 % соответственно, $P \leq 0,05$). Более того, урогенитальные инфекции диагностировались с высокой частотой – 61,9 и 63,3 % соответственно, $P \geq 0,05$. Среди этиоло-

гических факторов воспалительных заболеваний наиболее часто встречались указания на анаэробную микрофлору, уреоплазму, микоплазму, хламидии, грибы рода *Candida*. Ранее ни одна женщина не была обследована на ВПЧ.

Таблица 2

Нозология	Гинекологические заболевания у обследованных пациенток			
	I группа n=21		II группа n=30	
	абс.	%	абс.	%
Хронический сальпинго-офорит	5	23,8	5	16,7
Миома матки	5	23,8*	2	6,6
Урогенитальные инфекции	13	61,9	19	63,3
Гиперпластические процессы эндометрия	3	14,3	4	13,3
Генитальный эндометриоз	2	9,5	3	10,0
Бесплодие первичное	1	4,8	1	3,3
Бесплодие вторичное	2	9,5	3	10,0
СПКЯ	-	-	1	3,3
Кисты яичников (этиология не ясна)	6	28,6	5	16,7
Внематочная беременность	3	14,3	5	16,7
Апоплексия яичника	1	4,8	-	-
Нарушения менструального цикла	6	28,6	7	23,3

* Достоверность различий составляет $P \leq 0,05$.

Обследование показало (табл. 3), что в I группе носительство ВПЧ встречалось в 3,2 раза чаще, что подтверждает существующую в настоящее время ключевую концепцию этиопатогенеза рака шейки матки – вирусную гипотезу, в которой ведущая роль отдается папиллома-вирусной инфекции. ДНК вируса папилломы человека выявляется практически у всех больных с предраковыми состояниями и РШМ (85,7 %).

Таблица 3

ВПЧ	Носительство ВПЧ у обследованных пациенток			
	I группа n=21		II группа n=30	
	абс.	%	абс.	%
Носительство ВПЧ	18	85,7*	8	26,7
Носительство ВПЧ не обнаружено	3	14,3	22	73,3
Аномальное метилирование гена p16ink4 α	17	80,9	-	-

* Достоверность различий составляет $P \leq 0,05$.

По результатам проведенной цитологической диагностики (табл. 4), в мазках с шейки матки у пациенток I группы достоверно в 2 раза чаще диагностированы LSIL (38,1 против 16,7 % соответственно, $P \leq 0,05$) и HSIL (57,1 и 23,3 % соответственно, $P \leq 0,05$).

Таблица 4

Показатель	Результаты цитологической диагностики пациенток (Bethesda 2001 г.)			
	I группа n=21		II группа n=30	
	абс.	%	абс.	%
Норма/реактивные изменения	1	4,8	18	60,0*
LSIL	8	38,1	5	16,7*
HSIL	12	57,1	7	23,3*

* Достоверность различий составляет $P \leq 0,05$.

По результатам гистологического исследования шейки матки у пациенток выявлены следующие изменения (табл. 5).

Таблица 5

Показатель	Результаты гистологического исследования шейки матки пациенток			
	I группа n=21		II группа n=30	
	абс.	%	абс.	%
LSIL + HSIL (дисплазия шейки матки)	12	57,1*	7	23,3
Лейкоплакия шейки матки	4	19,0	5	16,8
Хронический цервицит	4	19,0	8	26,8
Эктопия цилиндрического эпителия	-	-	10	33,3
Плоскоклеточный рак шейки матки	1	4,8	-	-

Сравнительный анализ показал, что среди пациенток I группы достоверно в 2 раза чаще диагностировались LSIL и HSIL (57,1 и 23,3 % соответственно, $P \leq 0,05$). Лейкоплакия шейки матки диагностировалась с одинаковой частотой (19,0 и 16,8 % соответственно), а хронический цервицит встречался во II группе чаще, но этот показатель не имел достоверной разницы (19,0 и 26,8 % соответственно, $P \geq 0,05$). Эктопия цилиндрического эпителия отмечена только у каждой третьей женщины II группы (33 %). В I группе в одном случае был диагностирован плоскоклеточный рак шейки матки, что составило 4,8 %.

По результатам проведенного молекулярно-генетического исследования биоптатов шейки матки установлено (табл. 6), что у пациенток II группы не было обнаружено аномального метилирования гена p16ink4 α , но при этом только у 3 из них подтверждены предраковые изменения (дисплазия).

Таблица 6

Частота определения аномального метилирования гена p16ink4 α в образцах тканей ШМ в зависимости от результатов цитологической диагностики

Данные цитологической диагностики	Численность пациенток, чел.				
	всего	аномальное метилирование гена p16ink4 α			
		есть n=21		нет n=30	
		абс.	%	абс.	%
Нормальные клетки цилиндрического эпителия	21	1	4,8	20	95,2
Признаки дисплазии	15	12	80,0	3	20,0
Признаки лейкоплакии	12	8	66,8	4	33,3
Нормальные клетки многослойного плоского эпителия	3	-	-	3	100
Всего	51	21	41,2	30	58,8

В I группе пациенток с установленным аномальным метилированием гена клетки цилиндрического эпителия обнаружены у 1 чел., признаки лейкоплакии – у 8 и дисплазии – у 12.

Следует отметить, что при наличии цитологических признаков дисплазии ШМ метилирование генов было зарегистрировано в 80,0 % случаев, при лейкоплакии – в 66,8 %. В то же время при цервикальной эктопии аномальное метилирование генов не было определено в 95,2 % наблюдений.

Выводы

Проведено комплексное обследование пациенток с различной патологией шейки матки с включением молекулярного метода диагностики в общий комплекс диагностических мероприятий. Оценка экспрессии белка p16ink4 α в тканях шейки матки может свидетельствовать о наличии потенциального риска развития предраковых изменений и РШМ и позволяет выявить пациенток с повышенным риском предраковых заболеваний шейки матки. Исследование пока-

зало, что определение молекулярно-генетических онкологических маркеров может быть рекомендовано в качестве одной из эффективных методик в диагностике заболеваний шейки матки, в том числе и в скрининговых программах.

ЛИТЕРАТУРА

1 Джигладзе Т. А., Сви́динская Е. А. Роль выявления гиперметилирования генов p16, N33 и MLH1 при лечении заболеваний шейки матки // Матер. XI Всерос. науч. форума «Мать и дитя». – М., 2010. – 357 с.

2 Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы: клинические лекции / под ред. В. Н. Прилепской / 3-е изд. – М.: Медпрессинформ, 2003.

3 Ке́ева Т. В., Же́лова А. И., Подистов Ю. И. и др. Аномальное метилирование генов-супрессоров опухолевого роста и микросателлитная нестабильность в предраковых состояниях шейки матки // Молекул. биол. – 2006. – № 2.

4 Подистов Ю. И., Лактионов К. П., Петровичев Н. Н., Брюзгин В. В. Эпителиальные дисплазии шейки матки: руковод. для врачей // Диагностика и лечение. – М.: «Гэотар», 2006.

5 Сви́динская Е. А., Джигладзе Т. А., Зуев В. М. Роль определения молекулярно-генетических маркеров в диагностике и прогнозировании течения заболеваний шейки матки // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2010. – № 2. – С. 93-98.

6 Семенова Л. А., Киселев Ф. Л., Петренко А. А., Иванова Т. А., Ешилев Э. М., Киселева Н. П., Беляков И. С., Блиев А. Ю., Кобзева В. К., Мазуренко Н. Н., Павлова Л. С. Молекулярные маркеры рака шейки матки // Вестн. Рос. акад. мед. наук. – 2002. – № 1. – С. 8-14.

7 Трубникова Л. И., Вознесенская Н. В., Албутова Л. М., Баратюк Н. Ю. Использование индол-3-карбинола в комплексной прегравидажной подготовке женщин с гиперпластическими процессами репродуктивных органов и молочных желез // Вестн. Рос. ун-та Дружбы народов. – 2009. – № 6. – С. 76-84.

8 Dalstein V., Riethmuller D., Prétet J.L., Le Bail Carval K., Sautière J. L., Carbillet J. P., Kantelip B., Schaal J.P., Mougin C. Persistence and load of high-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions: a longitudinal French cohort study // Int J Cancer. – 2003 Sep 1; 106 (3): 396-403.

SUMMARY

A comprehensive survey of patients with different pathology of the cervix with the inclusion of molecular diagnostic methods in General complex diagnostic procedures on the basis of city hospital № 20, Almaty. Evaluation of protein expression p16ink4 α in the tissues of the cervix may indicate the potential risk of development of pre-cancerous lesions and cervical cancer and helps to identify patients with an increased risk of precancerous conditions of the cervix. Determination of molecular-genetic cancer markers can be recommended as one of the effective methods in the diagnosis of cervical cancer, including screening programs.

Key words: cervix, pathology, diagnostics, Oncology markers, p16ink4 α , HPV.

ТҮЙІН

Жатыр мойны ауруларының ерте диагностикасында онкомаркерлерді анықтаудың рөлі.

Алматы қаласы № 20 қалалық емханада жатыр мойнының әртүрлі патологиясы бар әйелдерге молекулалық әдіспен бірге жалпы кешенді әдіспен зерттеулер жүргізілген. Жатыр мойны тіндерінде белок экспрессиясын бағалау жатыр мойнының қатерлі ісігі және қатерлі ісік алды өзгерістердің даму қаупі бар екенін және жатыр мойнының ісік алды аурулары бар әйелдерді анықтауға септігін тигізеді. Молекулалық-генетикалық онкологиялық маркерлерді анықтау жатыр мойны ауруларын диагностикалауда скрининг бағдарламалармен бірге тиімді әдіс ретінде ұсынылуы мүмкін.

Түйін сөздер: жатыр мойны, патология, диагностика, онкологиялық маркерлер, ВПЧ.

АМДБЖИ ХАБАРШЫСЫ

Тоған сайын шығатын ғылыми-тәжірибелік журнал

№ 4, 2014

**ВЕСТНИК АГИУВ**

Ежеквартальный научно-практический журнал

№ 4, 2014

Редактор *А. А. Козлова*
Компьютерная верстка *С. А. Дерксен, Л. П. Кадциной*

Подписано в печать 17.12.2014. Формат 60x84/8.
Печать офсетная. Бум. офсетная. Усл. печ. л. 9,3.
Тираж 500 экз. Заказ 22.

Редакционно-издательский отдел НЦ НТИ.
050026, г. Алматы, ул. Богенбай батыра, 221