

УДК 618 – 146 – 006.6:578.825.11

ВИРУС ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА И РАК ШЕЙКИ МАТКИ*М.Г. Зубрицкий, к.м.н.; М.И. Яколевич; Е.Р. Тингаева;**А.А. Анискевич; Н.А. Лазаревич; В.А. Басинский, д.м.н., доцент**Гродненское областное патологоанатомическое бюро,**женская консультация № 5 г. Гродно,**Борисовская центральная районная больница,**Борисовская поликлиника №1,**УО «Гродненский государственный медицинский университет»*

Вирус папилломы человека имеет высокую тропность к многослойному плоскому эпителию. У 15 типов этого вируса доказаны канцерогенные свойства. К факторам риска развития поражения слизистой оболочки шейки матки папилломавирусом относятся раннее начало половой жизни, частая смена половых партнёров, курение, многолетнее применение гормональных контрацептивов. Развитие дисплазии шейки матки, а за ней и рака происходит при достаточно долгом персистировании вируса внутри клеток эпителия шейки матки. Морфологические изменения, вызванные папилломавирусом, имеют некоторое сходство с изменениями при дисплазии и раке. Знание различий этих процессов имеет первостепенное значение при диагностике дисплазии и рака.

Ключевые слова: вирус папилломы человека, дисплазия шейки матки, рак шейки матки.

Papillomavirus has high tropism to the epithelium planum. 15 types of this virus have been proved to have cancerogenous features. The risk factors of the mucosal injuries development are: early beginning of sexual life, frequent change of sexual partners, smoking, use of hormonal contraceptives for a long time. The development of dysplasia and carcinoma cervix uteri can be seen after the viruses having persisted inside epithelial cells of cervix uteri for a long time. Morphological changes induced by papillomaviruses have common features with the changes in dysplasia and cancer. The knowledge of the differences between these processes is very important in the diagnosis of dysplasia and cancer.

Key words: human papillomavirus, dysplasia of cervix uteri, carcinoma cervix uteri.

Вирус папилломы человека (ВПЧ) является причиной одного из наиболее часто встречаемых заболеваний, передающихся половым путём. Считается, что более 50% женщин, ведущих активную половую жизнь, столкнулись с одним, а чаще с несколькими типами ВПЧ. На данный момент признаётся, что среди нескольких десятков описанных в литературе типов ВПЧ, 40 из них вызывают поражения так называемой анально-генитальной области. Исходя из онкогенного потенциала, выделено 15 типов ВПЧ (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82), которые с высокой степенью вероятности инициируют процесс новообразования в клетках многослойного плоского неороговевающего эпителия шейки матки [6]. Наиболее опасным, с точки зрения развития предракового состояния – дисплазии шеечного эпителия, – является длительное заражение, вызванное 16 типом ВПЧ. Многолетнее инфицирование ВПЧ18 ведёт к развитию рака в эндоцервиксе.

Заражение 16 типом папилломавируса наиболее часто встречается среди всех типов ВПЧ онкогенного характера. Он обнаружен более чем у 20% женщин, заражённых папилломавирусами. Для сравнения, ВПЧ18 отмечен у 7% обследованных женщин с вирусной инфекцией [4]. Такая эпидемиологическая ситуация является проявлением тенденции, которая вырисовывается на протяже-

нии последних двадцати лет, основанная на стабильном росте частоты заражений, вызванных ВПЧ16 при неизменном проценте инфекции, связанной с неонкогенными типами ВПЧ (ВПЧ6, ВПЧ11). Это тем более вызывает беспокойство, так как данное явление касается молодых женщин, между 20-30 годами жизни. Частота инфицирования ВПЧ наиболее высока в возрастной группе 15-19 лет: около 40% положительных тестов, сигнализирующих о наличии ДНК ВПЧ в материале, взятом из шейки матки.

Вместе с увеличением возраста обследованных женщин процент положительных результатов, соответственно, снижается: 20-24 года – более 30%, 25-29 лет – меньше 30%. В группе женщин, которые перешагнули за 30-летний рубеж, отмечается дальнейшее снижение частоты заражений ВПЧ до 15-17% популяции. У женщин после менопаузы папилломавирусная инфекция встречается очень редко, но имеет важное прогностическое значение в связи с риском развития патологии шейки матки. У молодых женщин в большинстве случаев заражение ВПЧ носит преходящий характер. В то время как заражение вирусами папилломы человека у женщин в постменопаузальном периоде, как правило, имеет характер длительно персистирующей инфекции. Это весьма опасно, с точки зрения возникновения молекулярных изменений, ведущих к

инициации процесса канцерогенеза [3].

К наиболее существенным показателям развития ВПЧ-инфекции, а, тем самым, рака шейки матки, относится раннее начало половой жизни и частая смена половых партнёров. Это в равной степени касается как самих женщин, так и их половых партнёров. В настоящее время всё настойчивее подчёркивается значение длительного заражения онкогенными типами ВПЧ у мужчин как важнейший фактор риска развития рака шейки матки у женщин, с которыми они имеют регулярные половые контакты.

Наличие в анамнезе нескольких беременностей как фактора риска возникновения рака шейки матки находит своё подтверждение в строении генома папилломавируса. В регуляторном участке ВПЧ16 имеется элемент (ГРЭ), связывающий рецепторы к глюкокортикоидам (ГР). Эти рецепторы в случае отсутствия лиганда действуют в комплексе с белками термического шока (Бтш90) (Hsp90). Присоединение лиганда (гормона) к ГР вызывает отключение Бтш90 и связывание активного рецептора с элементом ГРЭ в вирусной ДНК, что приводит к активации вышеуказанных генов. Этот механизм иллюстрирует причины активации вируса у женщин с длительно протекающим заражением ВПЧ, проистекающее из изменений в метаболизме стероидных гормонов, которые происходят, например, во время беременности. Многолетнее применение гормональной контрацепции может влиять на возрастание риска заражения папилломавирусом на основании описанного выше механизма, также следует учитывать тот факт, что женщины, применяющие в течение многих лет гормональные контрацептивы, отличаются значительно более высокой половой активностью. Курение увеличивает риск развития заражения путём нарушения механизмов местного иммунного ответа, прежде всего, за счёт уменьшения количества клеток Лангерганса, относящихся к так называемым АПК-клеткам (антигенпредставляющие клетки).

Увеличению риска заражения ВПЧ способствует также недостаток антиоксидантов в диете. Для правильного функционирования клеток слизистой оболочки, в том числе кератиноцитов, из которых состоит многослойный плоский неороговевающий эпителий шейки матки, необходимы ретиноиды. Их недостаток значительно увеличивает риск ВПЧ-инфекции и развития предракового состояния, что в значительной мере является следствием наличия онкогенного типа вируса и, как следствие этого, возникновением дисплазии шейки матки. Ключом к пониманию влияния нехватки ретиноидов на биологию ВПЧ и его роль в онкогенезе является клеточный рецептор к эпидермальному фактору роста (РЭФР). РЭФР является оболочечным гликопротеидом, который после связывания лиганда (белка эпидермального фактора роста) подвергается

аутофосфорилляции. Далее этот сигнал передаётся в клеточное ядро, в результате чего инициируется синтез ряда клеточных белков. Эпидермальный фактор роста является важным мутагеном для клеток многослойного плоского неороговевающего эпителия шейки матки. Суперэкспрессия эпидермального фактора роста всегда отмечается в раковых клетках. В клетках, поражённых ВПЧ16, наблюдается суперэкспрессия рецептора к белку эпидермального фактора роста. За этот рост экспрессии отвечают два важнейших онкопротеина ВПЧ – Е6 и Е7 [10]. Онкопротеин Е6 построен из 150 аминокислот. Онкопротеин Е7 является небольшим ядерным белком, состоящим из 100 аминокислот. Он содержит 3 домена. Экспрессия обоих вирусных белков в клетках слизистой в 3 – 5 раз повышает активность транскрипции РЭФР. Витамин А тормозит образование РЭФР. Механизм действия ретиноидов осуществляется через специфические ядерные рецепторы, к которым также относятся рецепторы к стероидным гормонам, витамин D, тиреотропному гормону и глюкокортикоидам. Их потенциальное влияние на активность вирусных генов ещё не известно.

После проникновения вируса в глубокие слои многослойного плоского неороговевающего эпителия шейки матки и истечения инкубационного периода (вероятнее всего, от 3-х недель до нескольких месяцев) проявляется экспрессия вирусных белков. На первом этапе синтезируются так называемые ранние вирусные белки, на втором – поздние структурные вирусные белки. Образование конкретных вирусных белков происходит в строго определённых слоях эпителия. Гены, кодирующие ранние белки, экспрессируются в клетках базального слоя слизистой оболочки. Экспрессия протеинов Е4 и Е5 совершается в парабазальном слое эпителия. Этот этап жизненного цикла ВПЧ происходит в течение нескольких первых недель от начала заражения. Чем ближе к поверхности эпителия шейки матки, тем сильнее выражена экспрессия поздних вирусных белков.

В жизненном цикле вируса выделяют три фазы: скрытую, субклиническую и клинических проявлений. На любом из этих этапов инфекция может подвергнуться самопроизвольной регрессии, прогрессированию, либо перейти в латентную форму. Клиническая фаза заражения ВПЧ манифестирует характерными проявлениями, такими как остроконечные и плоские кондиломы. В субклинической фазе макроскопически преобладают плоские кондиломы. При скрытой форме протекания вирусного заражения отсутствуют какие либо клинические проявления. При субклиническом и клиническом протекании заболевания происходит рост содержания вирусной ДНК в клетках поверхностных слоёв эпителия.

Заражение ВПЧ происходит в абсолютном боль-

шинстве случаев половым путём. С этим тесно связан тот факт, что наибольший процент положительных результатов тестов на наличие ДНК ВПЧ в материале, взятом из шейки матки, отмечается у молодых женщин с высокой сексуальной активностью, часто меняющих половых партнёров. Считается, что примерно у 70% молодых женщин ВПЧ-инфекция самопроизвольно исчезает по истечении 12 месяцев с момента обнаружения вирусной ДНК. В течение 6 последующих месяцев инфекция элиминируется у 80% заражённых. Длительное сохранение вирусной ДНК связано, в основном, с инфицированием высокоонкогенными типами ВПЧ (преимущественно ВПЧ16). Чтобы выявить латентное заражение, рекомендуется повторное тестирование на ДНК ВПЧ через 6-12 месяцев. Два положительных результата дают основание отнести женщину к группе повышенного риска в отношении повышенного риска развития рака шейки матки.

Для того, чтобы произошло заражение ВПЧ, необходимо выполнение определённых условий, к которым относится микроповреждение слизистой оболочки. Клетки шеечного эпителия имеют рецепторы к РЭФР, а также интегрины б-6, которые считаются рецепторами к ВПЧ. После проникновения вглубь кератиноцита репликация вирусной ДНК и экспрессия вирусных белков тесно связаны со степенью зрелости клетки хозяина и состояния генома вируса. Вирус может находиться в двух состояниях: эписомальном и интегрированном.

Имеется ряд факторов, которые имеют решающее влияние на характер протекания ВПЧ-инфекции. Одним из них является состояние иммунной системы человека. Доказательством этому является то, что у ВИЧ-положительных женщин частота развития ВПЧ-инфекции значительно выше, чем у ВИЧ-отрицательных. Многочисленные авторы указывают, что у ВИЧ-положительных женщин, по сравнению с популяцией здоровых женщин, заражение онкогенными типами ВПЧ в три раза выше [3, 4, 5]. Наиболее высок этот показатель у носителей ВИЧ, у которых отмечается низкий уровень лимфоцитов CD4. У этих женщин достоверно выше показатель развития дисплазии шейки матки.

У здоровых женщин решающую роль в эффективности иммунного ответа играют биологические особенности самого вируса. ВПЧ не воздействует литически на клетки, в отличие от вирусов гриппа или герпеса. Такой механизм развития ВПЧ-инфекции является причиной более медленной манифестации вирусных антигенов. В нём принимают участие клетки Лангерганса. В многослойном плоском эпителии шейки матки они составляют 3-8% клеток. Они модулируют ответ Т-лимфоцитов на присутствие антигена, например, вирусного, с помощью белка S-100, который в клетках Лангерганса связывает ионы Са. Механизм этот отвечает за

контроль ответа Т-лимфоцитов, что выражается изменениями в синтезе γ -интерферона. Существует множество доказательств, свидетельствующих о том, что латентному течению поражения ВПЧ, а также возникающей в результате этого дисплазии шейки матки, сопутствует значительное уменьшение популяции клеток Лангерганса в шеечном эпителии. Это связано с нарушенной дифференцировкой клеток эпителия шейки матки, что значительно затрудняет синтез в них цитокинов, ответственных за дифференцировку клеток Лангерганса [5].

У женщин после первичного заражения ВПЧ сероконверсия происходит в среднем через 12-16 месяцев и касается примерно половины обследованных. Антитела класса IgG обнаруживаются у 90% женщин с латентным течением вирусного заражения [3].

Развитие новообразования является многоэтапным процессом, началом которого являются мутации в генах, контролирующих деление клеток и их дифференцировку. Для развития рака недостаточно одиночной точечной мутации. Онкогенное воздействие канцерогенов кумулируется во времени, вызывая нарушение правильного функционирования 3–5 генов. Существует мнение, что после интеграции вирусной ДНК в геном хозяина происходит неконтролируемый синтез вирусных онкопротеинов Е6 и Е7. Они могут вступать в реакцию с регулятором клеточного цикла р53, который является продуктом генов супрессии опухолевой трансформации. Белок р53 участвует в регуляции клеточного цикла, апоптозе, а также починке ДНК. В правильно развивающихся клетках его уровень низок, а экспрессия жёстко контролируется. В клетках, заражённых ВПЧ, происходит деградация р53 при участии вирусного белка Е6 [9]. Это достигается путём протеолиза комплекса онкопротеина Е6 ВПЧ и белка р53. Для того, чтобы это произошло, обязательным является участие ассоциированного белка AP (associated protein).

Способность образования комплекса Е6-AP-р53 является исключительной способностью ВПЧ высокого онкогенного риска [9]. Клетка, поражённая вирусом, таким путём теряет основной регулятор клеточного цикла, отвечающий за процесс опухолевой трансформации, апоптоз и исправление ошибок в ДНК. Интеграция вирусного генетического материала в геном клетки хозяина также может быть причиной активации клеточного протоонкогена, а также инактивации супрессорных генов. В клетках рака шейки матки обнаружены мутации в протоонкогенах с-тус, Н-ras, приводящие к суперэкспрессии белков и амплификации генома. Вирусное влияние на хроматин приводит к перемещению нуклеосом. Это, в свою очередь, ведёт к изменению доступности ДНК для РНК-полимеразы. Вирусные белки могут непосредственно включаться в регуляцию транскрипции ряда клеточных ге-

нов. Очередным примером канцерогенного влияния заражения ВПЧ является дезориентация биологических часов и замедление процесса старения. Нормальная клетка способна к 50 – 100 делениям. Онкопротеин Е6 активизирует теломеразу, которая отстраивает теломеры после каждого клеточного деления, что даёт клетке неограниченную и неконтролируемую возможность деления [2].

Важное влияние на развитие опухолевого процесса оказывают также сопутствующие инфекции, например, хламидиоз, герпетическая инфекция. Они оказывают дополнительное дестабилизирующее влияние на ДНК.

Дисплазия шейки матки является предраковым состоянием. В соответствии с классификацией Международной федерации гинекологов 1988 года выделяют три уровня развития дисплазии: слабая, умеренная, выраженная, называемые, соответственно, I, II, III степени, или, по западной классификации CIN I, CIN II, CIN III. В настоящее время установлено, что слабая дисплазия шейки матки неразрывно связана с заражением женщин ВПЧ. Эти изменения имеют преходящий характер и являются результатом интеграции генетического материала ВПЧ в геном клетки хозяина. Связь между слабой дисплазией и заражением ВПЧ настолько тесная, что в течение 12 – 24 месяцев наблюдения отмечается самопроизвольное излечение 80% дисплазий I степени, что характерно и для исчезновения такого же процента случаев заражения ВПЧ [1]. Однако нельзя ставить знак равенства между морфологическими изменениями, типичными для ВПЧ, и внутриклеточными изменениями, характерными для слабой дисплазии. Это следует из результатов цитоморфометрических исследований, которые неоспоримо доказывают, что направленность внутриклеточных изменений зависит от уровня изменений в генетическом материале клетки. Заметно чаще самопроизвольной регрессии подвергаются диспластические клетки, ядра которых характеризует эуплоидная полиплоидия. Ситуация приобретает диаметрально противоположный характер, если анализируемая дисплазия характеризуется анеуплоидией. Дисплазия с анеуплоидией в 80% случаев приобретает долговременный характер, а в 12% случаев прогрессирует в направлении более высоких степеней дисплазии, вплоть до рака *in situ* [3].

Когда речь идёт о морфологических признаках дисплазии, то доминирующими являются изменения в строении ядер, в первую очередь, их полиморфизм, гиперхроматоз, а также увеличение количества ядер в клетке. Отмечается также увеличение ядерно-цитоплазматического соотношения, а также различное количество цитоплазмы в расположенных рядом клетках. Повреждения в клеточных структурах могут проявляться в различной степени – от единичных изменений, характерных

для дисплазии I степени, до резко выраженного ядерного и клеточного полиморфизма, отмечаемого при высоких степенях дисплазии.

Следующим показателем морфологических изменений, происходящих при дисплазии, является нарушение архитектоники эпителия. По мере роста степени диспластических изменений происходит стирание границ слоёв многослойного плоского неороговевающего эпителия. Это является результатом нарушенного созревания эпителиальных клеток. При выраженной дисплазии так же, как и при раке на месте, все слои эпителия представляют собой мономорфную картинку. При морфологической оценке степени дисплазии следует обращать пристальное внимание на фигуры митоза в клетках, которые при этом процессе обнаруживаются по всей толще эпителия [5].

Около 60% дисплазий I степени подвергается самопроизвольному самоизлечению. Прогрессирование в сторону высоких степеней дисплазии и рака имеет место лишь в 10% случаев слабой дисплазии. Процент дисплазий I и II степени, подвергающийся самопроизвольному регрессированию, составляет уже 10-30%. В абсолютном большинстве случаев выраженная дисплазия прогрессирует в направлении развития рака [1]. Время, которое необходимо для развития рака, отличается в зависимости от выраженности клеточных изменений и степени выраженности дисплазии. Наиболее быстро рак возникает на основе дисплазии III степени. При заражении ВПЧ16 опухолевая прогрессия возникает в 5 раз чаще и протекает более динамично, чем в случаях, когда изменения в клетках вызваны типами вируса с низким онкогенным потенциалом.

ВПЧ16 является ответственным за 54% случаев рака шейки матки. В то время как ВПЧ18 признан одной из причин возникновения 17% плоскоклеточного рака шейки матки. Прогрессирование в направлении дисплазии определяется у 80% женщин с латентно протекающей инфекцией, вызванной ВПЧ16. Время, протекающее с момента развития латентного заражения до развития слабой дисплазии, составляет 4-5 лет. Для развития выраженной дисплазии или рака на месте требуется 9-15 лет. Средний возраст женщин, у которых обнаруживается дисплазия III степени, составляет 23-30 лет, а средний возраст женщин с наличием рака на месте – 40-50 лет [2].

Гистологически раки составляют 85-95% злокачественных опухолей шейки матки. Другие злокачественные новообразования – это аденокарцинома, саркома и карциносаркома, несущая в себе элементы злокачественной мезенхимальной опухоли и аденокарциномы. 60-80% инвазивных раков шейки матки представлены плоскоклеточным раком, аденокарцинома встречается значительно реже – в 15-35% случаев. Крайне редко встречается

ся мелкоклеточный рак, имеющий нейроэндокринное происхождение. Плоскоклеточный рак чаще всего имеет строение неороговевающего, но может быть и ороговевающим.

До начала инвазии рак шейки матки протекает бессимптомно. Инвазивный рак клинически может иметь черты эндофитного, экзофитного роста. Основой диагностирования опухоли на ранней стадии её развития является гистологическое исследование кусочков ткани шейки матки, взятых прицельно, под контролем кольпоскопа из макроскопически изменённых участков слизистой шейки. При необходимости биопсия берётся повторно. Параллельно необходимо проводить неоднократное цитологическое исследование материала.

На современном этапе знаний о возникновении рака шейки матки можно смело утверждать, что длительно протекающее заражение ВПЧ16/18 является важнейшим фактором риска развития этой опухоли. В настоящее время идут активные поиски способов прогноза развития вирусного поражения. Несомненный интерес представляют серологические исследования антител к отдельным эпитомам ВПЧ, а также иммуно-цитохимическая диагностика [7]. Применение моноклональных антител направлено на обнаружение маркерных белков на ранних этапах канцерогенеза. Определение иммуногистохимического индекса таких белков позволило бы достаточно корректно оценивать проявления опухолевой прогрессии на этапе молекулярных изменений. Это привело бы при скрининговых обследованиях к значительному опережению во времени прогнозирования ранних этапов развития дисплазии. Поняв процесс развития рака шей-

ки матки, как «болезнь генов», мы приблизимся к диагностике первичных изменений, происходящих на молекулярном уровне, приводящих к развитию рака [7, 8].

Литература

1. Cronje, H.S. Screening for cervical cancer in developing countries / H.S. Cronje // J. of Gynecol. and Obstetrics. – 2004. – Vol. 84. – P. 101 – 108.
2. Jarboe, E. Telomerase and Human Papillomavirus as Diagnostic Adjuncts for cervical Dysplasia and Carcinoma / E. Jarboe [et al.] // Human Pathology. – 2004. – Vol. 35. – P. 369 – 402.
3. Kedzja, W. Analiza czynników komorkowych i ustrojowych w procesie kancerogenezy komorek nablonka paraepidermalnego szyjki macicy zakazonych wirusem brodawczaka ludzkiego / W. Kedzja. – Poznań: Wydawnictwo Naukowe, 2003. – 234 P.
4. Kedzja, W. Mechanizmy molekularne prowadzące do rozwoju raka szyjki macicy / W. Kedzja. // Magazyn medyczny – Ginekologia. – 2003. – Vol. 113. – P. 25 – 27.
5. Molijn, A. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections / A. Molijn [et al.] // J. Clin. Virol. – 2005. – Vol. 32. – P. 43 – 51.
6. Richart, R.M. A sea change in diagnosis and managing HPV and cervical disease / R.M. Richart [et al.] // Obstetrics and Gynecol. – 2002. – Vol. 47. – P. 84 – 91.
7. Riethdorf, L. Human papillomaviruses expression of p16 and early endocervical glandular neoplasia / L. Riethdorf [et al.] // Human Pathology. – 2002. – Vol. 33. – P. 899 – 904.
8. Schmidt, M. Intratype HPV16 sequence variation within LCR of isolates from asymptomatic carriers and cervical cancers / M. Schmidt, W. Kedzja, A. Gozdzicka-Jozefiak // J. Clin. Virol. – 2001. – Vol. 23. – P. 65 – 77.
9. Scheffner, M. The HPV16 E6 AP complex functions as a ubiquitin protein ligase in the ubiquitination of p53 / M. Scheffner [et al.] // Cell. – 1993. – Vol. 75. – P. 495 – 505.
10. Scheffner, M. The E6 encoded by human papillomaviruses types 16 and 18 promotes the degradation of p53 / M. Scheffner [et al.] // Cell. – 1990. – Vol. 63. – P. 1129 – 1136.

Поступила 19.03.08