

Гормональные факторы вирус-ассоциированного рака шейки матки

О.Н. Чуруксаева, О.Н. Асадчикова, Л.А. Коломиец, С.Л. Стуканов,
И. Г. Видяева, Е.Г. Никитина, Л.Н. Уразова
НИИ онкологии, СО РАМН, Томск

Контакты: Лариса Александровна Коломиец KolomietsLA@oncology.tomsk.ru

Цель исследования – изучение уровня метаболитов эстрогенов в моче у больных раком шейки матки (РШМ) в качестве диагностического критерия, ассоциированного с инфекцией, вызванной вирусом папилломы человека (ВПЧ), для обоснования назначения патогенетической терапии в комбинированном лечении РШМ.

Материалы и методы. В исследование были включены 26 больных РШМ I–IV стадии, проходивших лечение в отделении гинекологии Томского НИИ онкологии. Средний возраст больных составил $45,6 \pm 1,3$ года (24–72 года), причем 50% пациенток были репродуктивного возраста. Стадийность устанавливалась в соответствии с классификацией FIGO. Генотипирование проводилось на 12 онкотропных типах с определением вирусной нагрузки методом полимеразной цепной реакции. У всех больных определялся уровень метаболитов эстрогенов в моче.

Результаты. В моче больных женщин уровень метаболита 2-OHE1, отвечающего за нормальный клеточный рост, составил $8,95 \pm 2,9$ нг/мг, что достоверно ниже уровня 2-OHE1 в моче здоровых женщин ($19,7 \pm 1,2$ нг/мг). Уровень метаболита 16 α -OHE1, играющего ключевую роль в опухолевой трансформации клеток, составил $14,95 \pm 4,4$ нг/мг, что достоверно не отличалось от уровня у здоровых женщин ($15,2 \pm 2,4$ нг/мг). Статистически значимых различий в уровнях метаболитов эстрогенов в зависимости от дифференцировки опухоли выявлено не было, но выявлена обратно пропорциональная зависимость со стадией процесса.

Выводы. Изменение соотношения метаболитов эстрогенов 2-OHE1/16 α -OHE1 в сторону преобладания «агрессивного» метаболита 16 α -OHE1 способствует индуцированию механизмов эстрогензависимого канцерогенеза. В связи с этим целесообразно использование этиопатогенетических препаратов, блокирующих ключевые механизмы канцерогенеза, в комбинированном лечении РШМ.

Ключевые слова: рак шейки матки, вирус папилломы человека, метаболиты эстрогенов, комбинированное лечение

Hormonal factors of virus-associated cancer of the cervix uteri

O.N. Churuksayeva, O.N. Asadchikova, L.A. Kolomiyets, S.L. Stukanov, I.G. Vidyayeva, E.G. Nikitina, L.N. Urazova
Research Institute of Oncology, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk

Objective: to study the urinary levels of estrogen metabolites as a diagnostic criterion in patients with cancer of the cervix uteri (CCU) associated with human papillomavirus (HPV) infection to provide a rationale for the use of pathogenetic therapy in the combination treatment of CCU.

Subjects and methods. The study enrolled 26 patients with Stages I–IV CCU who were treated at the Department of Gynecology, Tomsk Research Institute of Oncology. The patients' mean age was 45.6 ± 1.3 years (range 24 to 72 years), the patients of reproductive age accounted for 50%. Tumor was staged in accordance with the FIGO classification. Genotyping was carried out on 12 oncotropic types, by estimating the viral load by polymerase chain reaction. Urinary estrogen metabolite levels were measured in all patients.

Results. In the female patients, the urinary level of the metabolite 2-OHE1 responsible for normal cell growth was 8.95 ± 2.9 ng/mg, which was significantly below the values in healthy women (19.7 ± 1.2 ng/mg). The level of the metabolite 16 α -OHE1 playing a key role in tumor cell transformation was 14.95 ± 4.4 ng/mg, which did not differ significantly from the level in healthy women (15.2 ± 2.4 ng/mg). There were no statistically significant differences in the levels of estrogen metabolites depending on tumor differentiation; but there was an inversely proportional relation to the stage of the process.

Conclusion. The change in the estrogen metabolite ratio of 2-OHE1/16 α -OHE1 toward a preponderance of the aggressive metabolite 16 α -OHE1 contributes to the induction of the mechanisms of estrogen-dependent carcinogenesis. In this connection, it is expedient to use etiopathogenetic agents to block the key mechanisms of carcinogenesis in the combination treatment of CCU.

Key words: cancer of the cervix uteri, human papillomavirus, estrogen metabolites, combination treatment

Введение

Актуальность. Рак шейки матки (РШМ) остается одной из наиболее распространенных злокачественных опухолей у женщин. В мире ежегодно выявляют около 470 тыс. новых случаев РШМ, при этом от РШМ умирают до 290 тыс. женщин в год [1]. Средний возраст больных с этой патологией составляет 54,6 года [2, 3]. В последние годы прослеживается отчетливая тенденция увеличения заболеваемости РШМ в возрастной категории до 30 лет. Прирост заболеваемости РШМ среди женщин в возрасте до 29 лет с 1993 по 2002 г. составил 150% [4]. Такая тенденция связана с широким распространением основного этиологического фактора РШМ – инфицированием цервикальных тканей онкогенными типами вируса папилломы человека (ВПЧ). Более 50% людей с началом половой жизни инфицируются вирусом папилломы, и распространенность генитальной инфекции в мире, вызываемой ВПЧ, составляет около 440 млн человек [5]. Генитальная ВПЧ-инфекция составляет важнейшую медицинскую и социальную проблему, что обусловлено высокой контагиозностью ВПЧ и развитием предопухоловых состояний и злокачественных новообразований органов репродуктивной системы. Пик генитальной ВПЧ-инфекции приходится на возраст 20–25 лет и снижается после 30 лет [6]. В этом возрасте отмечается увеличение заболеваемости предопухоловой патологией шейки матки и РШМ, пик которого приходится на возраст 45–55 лет [7]. Раннее начало половой жизни в сочетании с ВПЧ-инфекцией увеличивает риск развития РШМ в 22 раза [8]. ДНК ВПЧ обнаруживается в среднем в 94,7% образцов цервикального рака [9, 10]. В 75% случаев инвазивного рака определяются 16-й и 18-й типы ВПЧ-инфекции [11–14].

Инфицирование клеток ВПЧ приводит к нарушению процесса их дифференцировки. Трансформация и малигнизация клеток эпителия контролируются генами ВПЧ. Онкобелки E6 и E7 являются основополагающими в развитии пролиферативных процессов в клетках, инфицированных ВПЧ. В нормальных тканях шейки E7 не синтезируется. Его появление связано с жизненным циклом ВПЧ-инфекции. Поэтому E7 служит онкомаркером развития неопластических процессов, нейтрализуя антипролиферативную и противовирусную активность интерферонов и подавляя иммунный ответ. ВПЧ, инфицируя эпителиальные клетки шейки матки, лишь создает предпосылки для злокачественного перерождения. Для необратимого развития опухолевой трансформации необходимы сопутствующие условия, основное место среди которых отводится гормональным нарушениям [15].

Известна роль эстрогенов в развитии неоплазий в эстрогенчувствительных тканях, к которым в настоящее время, кроме ткани молочной железы, эндометрия, относится и шейка матки. Гормонозависи-

мость опухолей шейки матки установлена на основании исследований, в ходе которых изучали механизмы действия ВПЧ в инфицированных клетках. Давно отмечено, что тканевые изменения в цервикальном канале, вызванные ВПЧ, локализованы в основном эстрогенчувствительных зонах. Эстрадиол, один из наиболее активных женских половых гормонов, обладает высоким сродством к эстрогеновым рецепторам и, взаимодействуя с ними, оказывает существенное влияние на метаболическую и пролиферативную активность клеток. Ферментативная система цитохромов P450 обеспечивает конверсию эстрадиола в 2 основных метаболита: 16 α -гидроксиэстрон (16 α -ОНЕ1) и 2-гидроксиэстрон (2-ОНЕ1). Первый из них относится к категории «агрессивных» гормонов, вызывающих длительный эффект, приводящий к нежелательным последствиям. Второй метаболит (2-ОНЕ1) обладает умеренными функциями, нормализует клеточный рост. Установлено, что там, где наблюдается активная экспрессия белков ВПЧ, отмечен высокий уровень синтеза 16 α -ОНЕ1, сравнимый с аналогичным в клетках рака молочной железы. Следует отметить, что в норме эпителиальные клетки матки неспособны обеспечивать превращение эстрадиола в 16 α -гидроксиэстрон. Следовательно, активная репродукция ВПЧ индуцирует образование агрессивного метаболита в инфицированных клетках [16]. Для формирования необратимой неоплазии необходимы: активная экспрессия генов E6 и E7 вируса, индукция метаболических механизмов конверсии эстрадиола в 16 α -ОНЕ1, индукция множественных повреждений хромосомной ДНК в инфицированной клетке, которая завершает процесс перерождения. Таким образом, инфицирование клетки ВПЧ приводит к изменениям в метаболизме эстрадиола в сторону преимущественного синтеза 16 α -гидроксиэстрона. Это соединение, как уже упоминалось, обладает самостоятельной канцерогенной активностью, что создает дополнительные благоприятные условия для злокачественного перерождения клетки, содержащей ВПЧ. Кроме того, 16 α -гидроксиэстрон способен образовывать необратимые комплексы с эстрадиоловым рецептором и вызывать пролонгированные эффекты. С учетом того, что ген E7 имеет эстрадиолзависимый характер экспрессии, образующийся стабильный комплекс эстрогеновый рецептор – 16 α -гидроксиэстрон (ER16 α) взаимодействует с регуляторной областью гена E7, вызывая усиление его экспрессии. Таким образом, вирус, стимулируя преимущественное образование 16 α -гидроксиэстрона, обеспечивает высокий устойчивый синтез вирусного онкобелка E7, отвечающего как за малигнизацию, так и за подавление системы иммунологического надзора, обеспечивая, благоприятные условия для роста злокачественных клеток. Теория «генотоксического» эстрогениндуцированного канцерогенеза позволяет отнести РШМ к гормонозависимым опухолям. Поэто-

му включение в лечение рака шейки матки препаратов, препятствующих гормонозависимой пролиферации ВПЧ-инфицированных клеток и образованию канцерогенного метаболита 16 α -гидроксистерона, будет способствовать прерыванию «порочного» круга и более благоприятному течению заболевания.

Цель исследования – изучение уровня метаболитов эстрогенов в моче у больных РШМ в качестве диагностического критерия, ассоциированного с развитием ВПЧ-инфекции, для обоснования назначения патогенетической терапии в комбинированном лечении РШМ.

Материалы и методы

В исследование были включены 26 больных РШМ I–IV стадии, проходивших лечение в отделении гинекологии Томского НИИ онкологии. Диагноз у всех пациенток был подтвержден морфологически. Распространение опухоли оценивалось на основании общепринятого клинического обследования, включающего ультразвуковое исследование органов малого таза и брюшной полости, спиральную компьютерную томографию, по показаниям ректороманоскопию и цистоскопию. Стадийность устанавливалась в соответствии с классификацией FIGO.

Определение ДНК папилломавирусной инфекции проводили путем исследования цервикальных соскобов до начала лечения. Генотипирование проводилось на 12 онкотропных типах (16, 18, 31, 35, 33, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) с определением вирусной нагрузки методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме «реального времени» с применением диагностических наборов «RoterGeen 6 000» («CorbetResearch», Австралия).

У всех больных определялся уровень метаболитов эстрогенов в моче с помощью иммуноферментного набора ESTRAMET (Mirax-Pharma). Определялись уровни 2-ОНЕ1, 16 α -ОНЕ1, соотношение метаболитов эстрогенов, а также сумма метаболитов эстрогенов, отражающая величину общего содержания эстрогенов в моче, так как первичные эстрогены метаболизируются в тканях и выводятся с мочой в виде метаболитов.

Средний возраст больных составил 45,6 \pm 1,3 года (24–72 года), причем 50% пациенток были репродуктивного возраста. Основной жалобой больных РШМ были ациклические мажущие выделения из половых путей – 53,3% случаев. Болевой синдром присутствовал у 28% больных. В то же время какие-либо жалобы отсутствовали у 33,3% пациенток. Анализ сексуального анамнеза выявил, что 44,4% пациенток имели 4–5 партнеров, более 5 партнеров было у 11,1% больных. Анализ используемых методов контрацепции выявил, что 55,6% больных контрацепцией не пользовались, Комбинированные оральные контрацептивы применяли 11% женщин, барьерные методы предпочитали 22,2% пациенток. Эрозию шейки матки в анамнезе имели 64% больных, причем в 83,3% случаев какого-либо лечения не проводилось. Урогенитальные инфекции в

анамнезе имела каждая 3-я пациентка, причем такие, как хламидиоз и генитальный герпес, являющийся одним из значимых факторов развития РШМ. Считается, что консолидация именно этих двух инфекций с онкотропными вирусами папилломы усиливает риск развития предопухолевых и опухолевых процессов шейки матки [17, 18].

В 23,1% случаев ($n=6$) установлена I стадия, в 38,5% ($n=10$) – IIb стадия, у 30,8% ($n=8$) больных – IIIb и у 7,7% ($n=2$) диагностирована интраэпителиальная неоплазия IV стадии. Плоскоклеточный РШМ гистологически верифицирован у 88,5% ($n=23$), железисто-плоскоклеточный – у 7,7% ($n=2$) и аденокарцинома – у 3,8% ($n=1$). В 48,8% случаев наблюдалась умеренной степени дифференцировка плоскоклеточного рака, низкодифференцированный рак – в 26,9% случаев. Имеются наблюдения, свидетельствующие о связи ВПЧ-инфекции со степенью дифференцировки. В 59% случаев встречаются высокодифференцированные опухоли, в 11% – низкодифференцированные [19].

ВЧП-инфекция отмечалась у 85% больных, причем в 70% случаев определялся 16-й серотип, в 15% – 18-й серотип. В 77% случаев наблюдалась моноинфекция, у 23% больных определялось 2 и более серотипа ВПЧ. Данные литературы также подтверждают, что частота смешанной инфекции уменьшается по мере увеличения тяжести изменений эпителия шейки матки (41,5% – высокие степени дисплазии и 21,3% – инвазивный рак) [20]. В 23% определялась высокая вирусная нагрузка (5 lg на 105 клеток).

Результаты. В настоящее время считается доказанным, что для поддержания нормального гормонального баланса необходимо, чтобы концентрация 2-ОНЕ1 превышала концентрацию 16 α -ОНЕ1 как минимум в 2 раза. При понижении данного соотношения статистически значимо возрастает риск возникновения рака гормонозависимых органов [21]. В моче больных женщин уровень метаболита 2-ОНЕ1, отвечающего за нормальный клеточный рост, составил 8,95 \pm 2,9 нг/мг, что достоверно ниже уровня 2-ОНЕ1 в моче здоровых женщин (19,7 \pm 1,2 нг/мг). Уровень метаболита 16 α -ОНЕ1, играющего ключевую роль в опухолевой трансформации клеток, составил 14,95 \pm 4,4 нг/мг, что достоверно не отличалось от уровня у здоровых женщин (15,2 \pm 2,4 нг/мг). Сумма метаболитов эстрогенов в моче (2-ОНЕ1+16 α -ОНЕ1) составила 24,5 \pm 7,5 нг/мг, у здоровых женщин – 28,0 нг/мг. Определение соотношения метаболитов эстрогенов 2/16 составило 0,7 \pm 0,15, что было достоверно ниже, чем у здоровых женщин (1,67 \pm 0,24). Полученные данные свидетельствуют о достаточно высоком уровне 16 α -ОНЕ1 по сравнению с 2-ОНЕ1, т.е. наблюдается активная экспрессия белка E7. В норме концентрация 2-гидроксиэстрогена должна превышать 16 α -гидроксиэстрогена минимум в 2 раза, что

не отмечается в исследовании. Очевидно, что повышенный синтез 16 α -ОНЕ1 — «агрессивного» метаболита и возникающий вследствие этого дисбаланс женских половых гормонов служат пусковым механизмом в развитии опухолевых процессов в органах и тканях репродуктивной системы. Статистически значимых различий в уровнях метаболитов эстрогенов в зависимости от дифференцировки опухоли выявлено не было, но выявлена обратная пропорциональная зависимость со стадией процесса. Не отмечалось различий в показателях пациенток репродуктивного и постменопаузального возраста. Инфицированная ВПЧ клетка способна превращать эстрадиол в канцерогенный 16 α -гидроксиэстрон — прямой активатор экспрессии гена *E7*, ответственного за опухолевую трансформацию клеток. В результате формируется порочный круг, при котором вирус через образование агрессивной формы эстрадиола создает благоприятные условия для развития опухоли, стимулируя синтез онкобелка *E7*. *E7* активирует механизмы клеточной пролиферации и малигнизации, а также блокирует механизмы иммунологической защиты.

Выводы

Таким образом, изменение соотношения метаболитов эстрогенов 2-ОНЕ1/16 α -ОНЕ1 в сторону преобладания «агрессивного» метаболита 16 α -ОНЕ1 способствует индуцированию таких механизмов эстрогензависимого канцерогенеза, как

усиление клеточной пролиферации и генотоксические повреждения наследственного аппарата, что позволяет рассматривать РШМ не только как эстрогензависимую опухоль, но и определять целесообразность использования этиопатогенетических препаратов, блокирующих ключевые механизмы канцерогенеза, в комбинированном лечении этой патологии.

В настоящее время для предупреждения развития рака шейки матки большой интерес у специалистов вызывает этиопатогенетический препарат Промисан.

Основными действующими веществами Промисана являются индол-3-карбинол (ИЗС) и эпигаллокатехин-3-галлат (EGCG). Доказано, что Промисан, будучи нетоксичным, а следовательно, безопасным для здоровых органов и тканей, обладает множественной противоопухолевой активностью, воздействуя одновременно на несколько ключевых звеньев процесса канцерогенеза. Уникальность Промисана обусловлена его способностью блокировать молекулярные механизмы патогенеза ВПЧ-инфекции.

Благодаря действию Промисана наблюдаются:

- снижение выработки вирусных онкобелков Е6 и Е7;
- подавление патологической гормонозависимой и гормонезависимой клеточной пролиферации в цервикальных тканях, обусловленной ВПЧ;
- стимуляция апоптоза ВПЧ-инфицированных клеток;
- нормализация соотношения метаболитов эстрогенов.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. GLOBOCAN 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. IARC CancerBase N 5, version 2.0. IARC Press. 2004.
2. Коломиец, Л.А., Чуруксаева О.Н., Уразова Л.Н. и др. Вакцинация против ВПЧ — первичная профилактика рака шейки матки. Томск, 2008. 79 с.
3. GLOBOCAN database. — <http://www-dep.iarc.fr/last access 25.01.2007>.
4. Козаченко В. П. Вакцинопрофилактика рака шейки матки. Вместе против рака 2008;(3):23—5
5. ACS annual statistics: American Cancer Society — Cancer Statistics. http://www.Cancer.Org/docroot/STT/STT_0.Asp.
6. Коломиец Л.А., Уразова Л.Н. Генитальная папилломавирусная инфекция и рак шейки матки. Томск: Изд-во НТЛ, 2002. 100 с.
7. Вергейчик Г.И. Роль генотипа вируса папилломы человека в развитии эпителиальных дисплазий и преинвазивного рака шейки матки у женщин в Республике Беларусь. Акуш и гинекол 2008;(2): 44—6.
8. Сухих Г. Т., Аполихина И. А., Лопатина Т. В. и др. Диагностика, профилактика и лечение папилломавирусной инфекции гениталий у женщин: учебное пособие. М., 2010. 47 с.
9. Munos N. Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. J Clin Virol 2000;19:1—5.
10. Wälboomers J. M., Jacobs M.V., Manos M.M. et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol 1999;189:12—9.
11. Clifford G.M., Smith J.S., Plummer M. et al. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: A meta-analysis. Br J Cancer 2003; 88:66—73.
12. Del Mistro A., Frayle Salamanca H., Trevisan R. et al. Human papillomavirus typing in invasive cervical cancer in Italy. Infect Agent Cancer 2006;1:9.
13. Gargiulo F., De Francesco M.A., Schreiber C. et al. Prevalence and distribution of single and multiple HPV infections in cytologically abnormal cervical samples from Italian women. Virus res 2007;125:176—82.
14. Ricciardi A., Largeron N., Rossi P. G. et al. Incidence of invasive cervical cancer and direct costs associated with its management in Italy. Tumori 2009; 95(2):146—52.
15. Киселев В. И. Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки. М.: Изд-во Димитрейд График Групп, 2004. 184 с.
16. Ашрафян Л. А., Киселев В. И. Опухоли репродуктивных органов (этиология и патогенез). М.: Изд-во Димитрейд График Групп, 2008. 216 с.
17. Ваганова И. Г. Апоптоз и пролиферация эпителиоцитов экзоцервикса у больных папилломавирусным и хламидийным цервицитом. Вопр онкол 2004; 46(5):578—82.
18. Koskela P., Anttila T., Bjorge T. et al. Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for invasive cervical cancer. Int J Cancer 2000;85:35—9.
19. Backe J., Roos T., Mulfinger L., Martius J. Arch Gynecol Obstet 1997; 259:69— 77.
20. Chang D. Y., Chen R. J., Lee S.C., Huang S. C. Prevalence of single and multiple infection with human papillomaviruses in various grades of cervical neoplasia. J Med Microbiol 1997; 46 (1): 54—60.
21. Ашрафян Л.А., Киселев В.И., Муйжнек Е.Л. Патогенетическая профилактика рака репродуктивных органов. М.: Изд-во Димитрейд График Групп, 2009. 176 с.