

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В ПРОФИЛАКТИКЕ ВПЧ-АССОЦИИРОВАННЫХ РЕЦИДИВОВ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Е.Г. Новикова, О.И. Трушина

ФГБУ МНИОИ им. П.А. Герцена Минздрава РФ, Москва

Цель исследования: Разработать методологические подходы к профилактике рецидивов ВПЧ-ассоциированного рака шейки матки.

Материалы и методы: ФДТ выполнена 40 больным в возрасте от 22 до 46 лет (медиана 33 года) с начальным раком шейки матки (РШМ) после хирургического лечения в органосберегающем объеме — высокая конусовидная ампутация шейки матки: *carcinoma in situ* ($n=18$) и РШМ 1A1ст. ($n=22$). Идентификация и дифференциация ДНК ВПЧ выполнена полимеразой цепной реакцией (ПЦР). Доза Аласенса (20% мазь) составила 0,1 мг/см², время экспозиции 6 ч. Источник светового излучения — диодный лазер «ЛФТ-630-01-БИОСПЕК».

Результаты: Полная эрадикация ДНК ВПЧ после ФДТ культуры шейки матки достигнута у 38 (95%) женщин, у остальных двух — после второго сеанса ФДТ. Стойкий противовирусный эффект в течение всего периода наблюдения сохранился у 39 женщин (97,5%).

Выводы: ФДТ может быть рекомендована с противовирусной целью на втором этапе лечения после ножжевой ампутации, лазерной, электро- и радиоволновой конусовидной эксцизии шейки матки, а также как альтернативный диатермо- и радиокоагуляции, криодеструкции, лазерной вапоризации метод лечения цервикальной ПВИ.

Заключение: Полученные данные противовирусной эффективности ФДТ представляют большой интерес в свете доказанной этиологической роли ВПЧ в развитии рака шейки матки.

Ключевые слова: ФДТ — фотодинамическая терапия [PDT — photodynamic therapy]; РШМ — рак шейки матки [CC — cervical cancer]; CIN I — цервикальная интраэпителиальная неоплазия I [CIN I — cervical intraepithelial neoplasia I]; CIN II — цервикальная интраэпителиальная неоплазия II [CIN II — cervical intraepithelial neoplasia II]; CIN III — цервикальная интраэпителиальная неоплазия III [CIN III — cervical intraepithelial neoplasia III]; ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота [DNA — deoxyribonucleic acid]; ВПЧ — вирус папилломы человека [HPV — human papillomavirus]; ПЦР — полимеразная цепная реакция [PCR — polymerase chain reaction]; ПВИ — папилломавирусная инфекция [PVI — papilloma virus infection]; 5АЛА — 5-аминолевулиновая кислота [5-aminolevulinic acid]; ПП IX — протопорфирин IX [PP IX — protoporphyrin IX].

PHOTODYNAMIC THERAPY IN THE PREVENTION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS (HPV) — ASSOCIATED RECURRENCE OF CERVICAL CANCER

E.G. Novikova, O.I. Trushina

Federal State Budgetary Institution «P.A. Gertsen Moscow Research Oncological Institute»
of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Russia, Moscow

Objective of the study: to develop methodological approaches to the prevention of recurrence of HPV-associated cervical cancer.

Materials and methods: photodynamic therapy is performed in 40 patients aged from 22 to 46 years old (median 33 years) with an early cervical cancer after organ-preserving surgery — high conization and trachelectomy (cervicectomy): *carcinoma in situ* ($n = 18$) and cervical cancer stage 1A1 ($n = 22$). Identification and differentiation of HPV DNA is performed using polymerase chain reaction technique. Alasens dose (20% ointment) was 0,1 mg/cm², exposure time — 6 hours. Light source — laser diode «LFT-630-01-BIOSPEC».

Results: complete eradication of human papillomavirus (HPV) DNA after photodynamic therapy for cervical stump was achieved in 38 (95%) women, in two remaining patients — after the second session of photodynamic therapy. Persistent antiviral effect during the whole period of observation was preserved in 39 women (97,5%).

Findings: photodynamic therapy can be recommended for antiviral treatment on the second stage of treatment following a surgical knife trachelectomy, laser, electrical- and radiowave cone excision of the cervix, as well as a method of treatment of cervical human papillomavirus infection alternative to diathermo- and radiocoagulation, cryodestruction, laser vaporization.

Conclusion: the data on antiviral efficiency of photodynamic therapy obtained are of the utmost interest in the light of the proven etiological role of human papillomavirus (HPV) in the incidence of cervical cancer.

Key words: photodynamic therapy (PDT), cervical cancer (CC), cervical intraepithelial neoplasia I (CIN I), cervical intraepithelial neoplasia II (CIN II), cervical intraepithelial neoplasia III (CIN III), DNA (deoxyribonucleic acid), human papillomavirus (HPV), polymerase chain reaction (PCR), papillomavirus infection (PVI), 5-aminolevulinic acid, Protoporphyrin IX (PP IX).

Введение

Проблема рака шейки матки (РШМ) в течение многих десятилетий продолжает оставаться в центре внимания ведущих отечественных и зарубежных онкологов, так как выбор эффективного метода лечения заболеваний этой локализации был и остается одним из актуальных вопросов. Не менее важное направление современной онкогинекологии — поиск, разработка и внедрение методов профилактики рецидивов цервикальных интраэпителиальных неоплазий (CIN) и РШМ после первичного лечения.

На основании доказанной этиологической роли вируса папилломы человека (ВПЧ) в цервикальном канцерогенезе начальные этапы развития РШМ расцениваются как ВПЧ-ассоциированные заболевания: ДНК ВПЧ определяется в 25% случаев CIN I, в 80% — CIN II и в 88–96% — CIN III [11]. Аналогичные изменения в цервикальном эпителии у женщин, неинфицированных ВПЧ, возникают только в 10–20% случаев [8].

Все методы лечения CIN и раннего РШМ, согласно Я.В. Бохману (1989), можно условно разделить на два вида: хирургические, удаляющие шейку матки в форме конуса (ножевая, лазерная, электро- и радиоволновая эксцизия) и деструктивные, разрушающие патологическую ткань шейки матки (диатермо- и радиокоагуляция, криодеструкция, лазерная вапоризация). Однако с появлением вирусной концепции цервикального канцерогенеза на первое место выходит этиопатогенетическая терапия, направленная

не только на патологический эпителий, но и на ключевой фактор цервикального канцерогенеза — ВПЧ.

В практической медицине принято различать три формы генитальной папилломавирусной инфекции: клиническая, субклиническая и латентная. Удельный вес клинической формы ПВИ, представленной экзофитными кондиломами, невысок и представляет «верхушку» айсберга, тогда как значительная часть приходится на субклиническую и латентные формы, что значительно затрудняет диагностику ВПЧ. Субклиническая форма инфекции хорошо различима в условиях расширенной кольпоскопии, а также посредством цитологического и гистологического исследований. Латентная инфекция характеризуется отсутствием клинически выраженной патологии, практических морфологических изменений в гистологических и цитологических препаратах и регистрацией паповавирусов только с помощью молекулярно-биологических исследований на этапе репликации в клетке [2].

Все патологические процессы, связанные с генитальной ПВИ, имеют широкий спектр кольпоскопических проявлений: ацето-белый эпителий, лейкоплакия, пунктация, мозаика, атипическая зона трансформации, белые выросты, «жемчужная» поверхность после обработки 3% уксусной кислотой. Неравномерное поглощение 3% йодного раствора Люголя — специфический кольпоскопический признак ПВИ [3].

Методы физического и хирургического лечения наряду с удалением и разрушением

патологической ткани локально воздействуют и на клинические, и субклинические формы инфекции, приводя к эрадикации ВПЧ. Латентная форма, ввиду невозможности противовирусной терапии обеспечить «точечные» воздействия на паповавирусы, сохраняется в мультифокальных очагах, местах первичных поражений, зоне некроза, слизистых, прилежащих к краю резекции или деструктивных воздействий. О наличии данной формы инфекции свидетельствуют положительные результаты ВПЧ тестирования при отсутствии клинических, кольпоскопических и морфологических признаков ПВИ. Персистенция паповавирусов ведет к развитию в короткие сроки после монотерапии ВПЧ-ассоциированным рецидивам CIN и РШМ [7]. Именно пациентки с латентной формой инфекции представляют группу риска по развитию цервикальных предопухоловых состояний и рецидивов.

Персистенция ПВИ может быть следствием следующих причин: оседания ВПЧ на шейку матки вместе с дымом в зоне физических методов воздействия; отсутствия санации резервуара активно размножающихся вирусов в базальной мембране в виду недостаточной глубины деструкции эпителиального пласта; наличия дополнительных очагов ВПЧ во влагалище и промежности у каждой четвертой женщины с CIN; неэффективности противовирусной терапии; реинфицирования при контакте с ВПЧ-положительным половым партнером [1, 5]. В совокупности все представленные факторы ведут к реактивации вирусного генома (от 15 до 70%), что обуславливает достаточно высокий риск рецидивов CIN [4, 7].

Следовательно, назрела необходимость поиска новых эффективных патогенетически обоснованных подходов к элиминации вирусного генома после первичного лечения ВПЧ-ассоциированной цервикальной патологии доброкачественного, предопухолового и злокачественного характера, что снизит риск ВПЧ-ассоциированных рецидивов.

Одним из перспективных методов противовирусной терапии и, соответственно, профи-

лактики цервикальных ВПЧ-ассоциированных рецидивов можно рассматривать фотодинамическую терапию (ФДТ). Этот метод за счет избирательного накопления в злокачественных клетках фотосенсибилизатора (ФС) и взаимодействия этого лекарственного препарата с излучением света определенной длины волны инициирует серию фотофизических процессов повреждения и/или разрушения структур опухоли [9].

Противовирусный эффект ФДТ связан с селективным накоплением ФС в клетках, инфицированных ВПЧ, с последующим их прямым фототоксическим разрушением до базальных и парабазальных слоев, в которых происходит репликация вируса. Помимо прямого деструктивного механизма полной эрадикации ВПЧ выделяют и вирусостатическое действие ФДТ за счет ингибирования ФС ранней фазы вирусного процесса.

Материалы и методы

В основу работы положены результаты обследования и лечения 40 больных в возрасте от 22 до 46 лет (медиана 33 года) с ВПЧ-ассоциированным начальным РШМ после хирургического лечения в органосохраняющем объеме — высокая конусовидная ампутация шейки матки: carcinoma in situ (n = 18) и РШМ 1A1ст. (n = 22). Этот лечебный подход у женщин репродуктивного возраста органосохраняющий, позволяет сохранить менструальную и детородную функции.

Тестирование цервикальных соскобов на ДНК ВПЧ выполнялось качественным методом молекулярно-биологической детекции — полимеразной цепной реакцией (ПЦР). Диагностический соскоб на идентификацию и типирование вирусного генома производился с шейки матки, слизистых свода и верхней трети стенок влагалища перед конусовидной ампутацией шейки матки. Папилломавирусные поражения, определяемые визуально и под увеличением, были локализованы на шейке матки и имели в основном мультифокальный характер.

Удельный вес клинической формы ПВИ, представленной экзофитными кондиломами,

был невысок и составил 8%. В остальных наблюдениях имела место субклиническая форма инфекции в виде ацето-белого эпителия, жемчужной поверхности, атипической зоны трансформации, пунктации и мозаики, а также гистологических и цитологических признаков ПВИ. Эти изменения неравномерно поглощали 3% йодный раствор Люголя. Случаи только с латентной формой инфекции отсутствовали. Однако положительные тесты детекции ВПЧ после хирургической конизации шейки матки, когда отсутствовали клинические, морфологические и кольпоскопические признаки ПВИ, свидетельствовали о наличии латентной формы до лечения в сочетании с клиническими и субклиническими проявлениями ПВИ.

Обнаружение в цервикальном соскобе высокоонкогенных генотипов ДНК ВПЧ до и после хирургического лечения было показанием к ФДТ культи шейки матки. Фотодинамическое воздействие с противовирусной целью выполнялось отечественным препаратом Аласенс на 6–8 день менструального цикла, 40 ВПЧ-позитивным пациенткам, у 18 из которых органосохраняющее лечение осуществлено по поводу *carcinoma in situ* и у 22 — по поводу РШМ 1А1ст. Действующим веществом препарата Аласенс является 5-аминолевуленовая кислота (5АЛА), в присутствии которой наблюдается повышенное накопление индуктора

синтеза эндогенного фотосенсибилизатора — протопорфирина IX (PP IX).

Аласенс в виде 20% мази в дозе 0,1 мг/см² наносился аппликационно на культю шейки матки с захватом сводов и верхней трети влагалища за 6 ч до лечения (время экспозиции). В качестве источника светового излучения использовали диодный лазер «ЛФТ-630–01-БИОСПЕК». Длина волны излучения соответствовала 635 нм, плотность энергии — 150 Дж/см², плотность мощности — 150–250 мВт/см².

При разработке методики ФДТ культи шейки матки учитывалась необходимость облучения не только покровного эпителия культи шейки матки, но и оставшейся после высокой конусовидной ампутации шейки матки части цервикального канала, а также сводов и верхней трети влагалища. Такой подход обеспечивает воздействие на папилломавирусы, персистирующие не только в крае резекции, но и во внешне неизмененных прилежащих и окружающих тканях.

ФДТ цервикального канала осуществляли гибким моноволоконным кварцевым световодом с цилиндрическим диффузором, дающим матрицу света на 360°, и длиной, соответствующей протяженности эндоцервикса — 1 см. Фотодинамическое воздействие на влагалищную порцию культи шейки матки проводили дистанционно с использованием световода с линзой диаметром 1,5–2 см, перпендикулярно подведенной к органу. Использовали полипозиционную методику облучения, начиная с области маточного зева с последовательным перемещением светового пятна вдоль всей поверхности культи шейки матки с обязательным перекрытием края каждого предыдущего светового пятна и широким захватом сводов и верхней трети стенок влагалища (рис. 1).

Противовирусная эффективность ФДТ оценивали методом ПЦР у всех пациенток в течение первого года наблюдения каждые три месяца, второго года — шесть месяцев и в последующие годы — 12 мес. Были использованы следующие критерии эффективности противовирусной терапии:

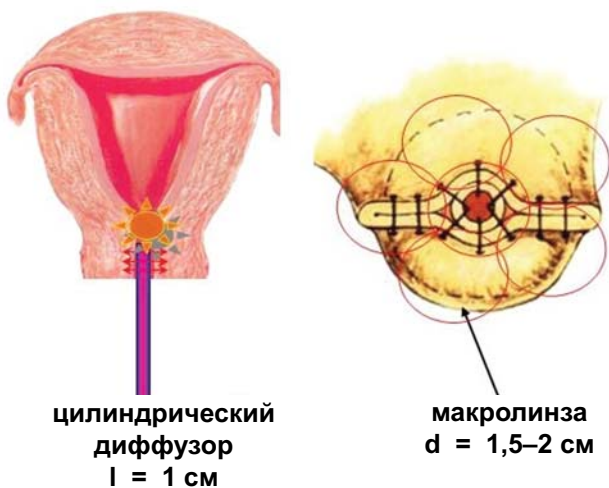


Рис. 1. Методика ФДТ культи шейки матки

- полный эффект — полная эрадикация ДНК ВПЧ;
- без эффекта — отсутствие эрадикации ДНК ВПЧ.

Сроки наблюдения составили от одного года до семи лет, медиана составила 4,9 лет. Результаты исследования использовались в качестве критериев оценки противовирусной и противорецидивной эффективности ФДТ культуры шейки матки с препаратом Аласенс.

Повторное тестирование на ДНК ВПЧ выполнялось через 4–5 недель с культуры шейки матки, прилежащих к ней и окружающих ее слизистых при завершении процессов эпителизации в зоне хирургической резекции.

Результаты лечения

Исследование общей распространенности типов ВПЧ, складываемой из суммы частоты встречаемости вируса в виде монотипа и ассоциации с другими типами, выявило значительную долю женщин, инфицированных 16 (59%) типом ($p < 0,05$). Остальные типы по частоте распространенности распределились следующим образом: 18 — 12,7%, 31 — 10%, 45 — 7%, 33 — 4,5%, 35 — 3,8%, 56 — 2,6%, 58 — 0,2%. В незначительном количестве случаев идентифицированы 39, 48, 51, 52 типы (0,1%).

После лечения реакция цервикального эпителия в зоне фотодинамического воздействия представляла собой незначительный отек и легкую гиперемию тканей с развитием на 2–3 сутки пленчатого некроза без существенного нарастания этих явлений в последующие дни (рис. 2). Процессы эпителизации завершались к 13–15 дню лечения.

При этом ни клинически, ни кольпоскопически цервикальные изменения папилломавирусного характера не были выявлены, что указывает на радикальность выполненного оперативного вмешательства. О латентной ПВИ свидетельствовали положительные результаты ПЦР.

Локальное введение Аласенса ни в одном клиническом наблюдении не вызвало побочных и местных аллергических реакций, пере-

носимость фармпрепарата была удовлетворительной. Сеанс ФДТ культуры шейки матки с Аласенсом был безболезненным, в первые минуты лазерного облучения наблюдалось легкое жжение, обусловленное фотобликингом — фотохимическая реакция между локально введенным препаратом и лазерным облучением, ведущая к снижению уровня фотосенсибилизатора, и, соответственно, фотохимическому потреблению кислорода.

Кожная фототоксичность в виде фотодерматоза не имела место ни в одном наблюдении. Больным рекомендовали соблюдать световой режим в течение 48 ч, т.е. избегать контакта открытых участков тела с солнечным или электрическим светом, пользоваться солнцезащитными кремами и применять антиоксидантные препараты в течение 2–3 суток.

Результаты

Полная эрадикация ДНК ВПЧ после ФДТ культуры шейки матки достигнута у 38 (95%) женщин, у остальных двух — после двух сеансов ФДТ с аналогичным препаратом. Противорецидивный и противовирусный эффект лечения в течение всего периода наблюдения сохранился у 39 женщин (97,5%), о чем

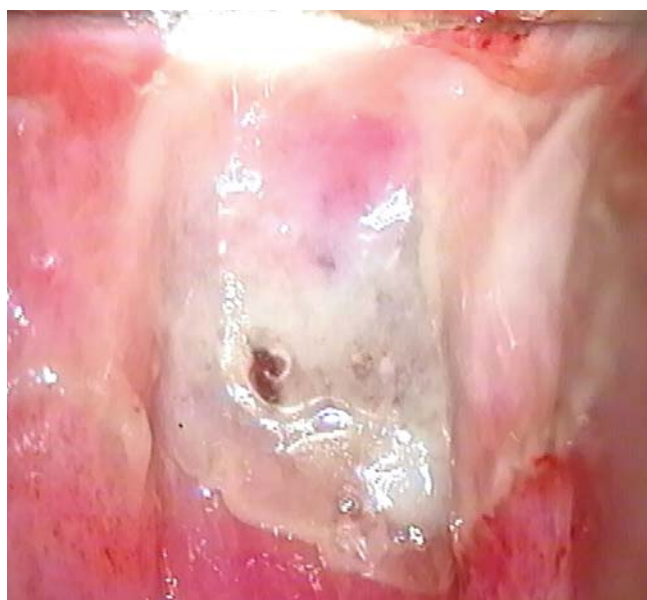


Рис. 2. Реакция эпителия культуры шейки матки в зоне ФДТ (2-е сутки после лечения)

свидетельствуют результаты цитологического, кольпоскопического и вирусологического исследований. И только в одном наблюдении (2,5%) в результате реинфицирования ВПЧ 16 от полового партнера развился через три года рецидив заболевания — CIN II.

Клинический пример

Пациентка 37 лет. Клинический диагноз: РШМ 1A1 ст. В июне 2009 г. в цервикальных мазках выявлена *carcinoma in situ*, идентифицированы высокоонкогенные генотипы ВПЧ — 16 и 18. Выполнено раздельное диагностическое выскабливание матки, биопсия шейки матки. При гистологическом исследовании соскоба из цервикального канала выявлена *carcinoma in situ* с микроинвазией опухолевого процесса до 0,1 мм на фоне признаков вирусной инфекции. Учитывая стадию заболевания, локализацию опухолевого процесса в цервикальном канале и репродуктивный возраст женщины, выполнен органосохраняющий объем лечения — высокая конусовидная ампутация шейки матки. Через 1 месяц при вирусологическом исследовании цервикальных мазков, взятых с культы шейки матки, идентифицированы 16 и 18 типы ВПЧ.

На втором этапе лечения с целью эрадикации ВПЧ и профилактики рецидива заболевания выполнена ФДТ культы шейки матки с препаратом Аласенс (20% мазь, время экспозиции 6 ч). Достигнуты положительные результаты лечения. Через три года в цервикальных мазках с культы шейки матки выявлена CIN II стадии, кольпоскопическая картина соответствовала ацето-белому эпителию до 0,3 см в диаметре у маточного зева в виде «жемчужной» поверхности, неоднородно йоднегативной. При типировании ДНК ВПЧ методом ПЦР идентифицирован 16-й тип, что расценено как реинфицирование в результате несоблюдения мер индивидуальной защиты от инфекций, передающихся половым путем. При гистологическом исследовании биоптата культы шейки матки диагностирована CIN II. Этот клинический случай подтверждает ключевую роль персистирующей ПВИ в разви-

тии рецидивов заболевания и свидетельствует о необходимости на втором этапе лечения у вирус-инфицированных больных противовирусной терапии.

Полученные результаты противовирусной эффективности ФДТ с препаратом Аласенс согласуются с мнением некоторых авторов об аккумуляции ПП IX ВПЧ-инфицированными клетками, воздействие на которые светового излучения определенной волны, ведет к фотохимическому разрушению латентных и субклинических форм ВПЧ с невидимой пролиферацией клеток. По всей вероятности, именно такой механизм противовирусного воздействия ведет к стойкой эрадикации ВПЧ и соответственно профилактике рецидивов [4, 7].

Заключение

Таким образом, ФДТ культы шейки матки обеспечивает выраженный противовирусный эффект у вирус-позитивных пациенток на втором этапе лечения, что является одновременно и профилактикой развития вирус-ассоциированных рецидивов заболевания после первичного лечения. Методика лечения с облучением цервикального канала и полипозиционного воздействия световой энергии на зону резекции шейки матки с захватом сводов влагалища позволяет подвергать деструкции субклинические и латентные формы ПВИ, что ведет к полной эрадикации ВПЧ и опосредованно — профилактике рецидивов. Методика лечения с использованием локальной аппликации Аласенса (20% мазь) в дозе 0,1 мг/см², времени экспозиции 6 ч и дозы световой энергии 150 Дж/см² оптимальна для достижения положительных результатов эрадикации ВПЧ.

ФДТ может быть рекомендована с противовирусной целью на втором этапе лечения после ножевой ампутации, лазерной, электро- и радиоволновой конусовидной эксцизии шейки матки, а также как альтернативный диатермо- и радиокоагуляции, криодеструкции, лазерной вапоризации метод лечения цервикальной ПВИ.

ФДТ не является профилактикой реинфицирования ПВИ, так как не вызывает стойкой активации клеточного иммунитета и, соответственно, выработку специфических антител. С этой целью после достижения противоопухолевого и противовирусного эффектов хирургического и фотодинамического воздействий показана вакцинация против ВПЧ. Одновременное обследование на инфицирование генитальными штаммами папилломавирусов половых партнеров женщин с ВПЧ-ассоциированной предопухоловой и начальной опухолевой патологией шейки матки позволяет значительно снизить риск полового пути передачи ПВИ

от мужчины к женщине и, следовательно, реинфицирования.

Такой многоэтапный подход к лечению ВПЧ-ассоциированного предрака и неинвазивного рака шейки матки, профилактике рецидивов заболевания дает возможность не только излечить женщин от такого грозного заболевания на ранних этапах развития, но и осуществить в будущем репродуктивную функцию и избежать во время беременности инфицирования плода и развития респираторного папилломатоза у детей.

Полученные данные противовирусной эффективности ФДТ представляют большой интерес в свете доказанной этиологической роли ВПЧ в развитии рака шейки матки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богатырева И.И. Современные подходы к лечению папилломавирусной инфекции уrogenитального тракта // Лечащий Врач. — 2009. — С. 48–54.
2. Кулаков В.И., Прилепская В.И., Минкина Г.Н., Роговская С.И. Профилактика рака шейки матки: Руководство для врачей. — М., 2007.
3. Кулаков В.И., Лопатин Т.В., Аполихина И.А., Денисова Е.Д. Папилломавирусная инфекция гениталий у женщин: Учеб. пос. — М., 2007.
4. Поделихин С.А. Савичева С.Р., Комаров Л.Т. Эпидемиологические аспекты распространения ВПЧ // Гинекология для практических врачей. — 2008; 3(3). — С. 86–89. [Podelihin S.A. Savicheva S.R., Komarov L.T. Epidemiological aspects of the spread of HPV. Gynecology for practitioners. 2008; 3 (3): 86–89.]
5. Сухих Г.Т., Прилепская В.Н. Профилактика рака шейки матки: Руководство для врачей. — М., 2012. — 190 с.
6. Abdel-Hady E.S., Martin-Hirsch P., Duggan-Keen M. Immunological and viral factors associated with the response of vulval intraepithelial neoplasia to photodynamic therapy. Cancer Res. 2010; 61(1): 192–196.
7. Bedford S. Cervical cancer: physiology, risk factors and treatment // Br. J. Nurs. 2009; 18(20): p. 80. J. Med. Virology. 2010; 78(8): S. 331–33.
8. Hillemanns P., Wang X., Hertel H., Andikyan V., Hillemanns M., Stepp H., Soergel P. Pharmacokinetics and selectivity of porphyrin synthesis after topical application of hexaminolevulinat in patients with cervical intraepithelial neoplasia. Am. J. Obstet Gynecol. 2008; 198 (3): S300–06.
9. Huang Z.A. A Review of Progress in Clinical Photodynamic Therapy // Technol. Cancer Res. Treat. — 2005. — Vol.4. N 3. — P. 283–293.
10. Samoylova T.V., Shalkhalev G.O., Petrov S.V., Kisseleva N.P., Kisselev F.L. // HPV infection in cervical cancer cases in Russia. Int. J. Cancer. 2007; 61 (3): S. 337–41.
11. Saslov D., Rinowicz C., Solomon D. American cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer / CA Cancer J. Clin. 2010; 52: S 342–62.