

Аляутдина О.С.<sup>1</sup>, Синицына О.В.<sup>2</sup>

## ОПТИМИЗАЦИЯ ДИАГНОСТИКИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

<sup>1</sup>Медицинский центр MedSwiss, Москва; <sup>2</sup>Московская городская онкологическая больница № 62, Москва, Россия

Для корреспонденции: Аляутдина Ольга Сергеевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии. E-mail: olasa@list.ru

♦ Рак шейки матки относится к наиболее распространенным онкологическим заболеваниям. Поскольку вирусы папилломы человека (ВПЧ) играют определяющую роль в развитии этой патологии, важнейшее значение в их диагностике приобретают современные методы лабораторных исследований. При определении алгоритма ведения пациенток с ВПЧ-инфекцией были использованы инновационные диагностические методы — жидкостная цитология и определение онкобелка p16<sup>ink4a</sup>. Показано, что у ВПЧ-инфицированных пациенток клиническая картина часто не соответствовала выраженности патологического процесса при цитологической диагностике. В связи с этим нами был разработан алгоритм ведения пациенток при различных комбинаторных вариантах клинического и цитологического проявления дисплазии шейки матки.

**Ключевые слова:** ВПЧ; жидкостная цитология; белок p16<sup>ink4a</sup>; рак шейки матки.

*Для цитирования:* Российский медицинский журнал. 2015; 21 (6): 25—27.

*Alyautdina O.S.<sup>1</sup>, Sinitsina O.V.<sup>2</sup>*

### THE OPTIMIZATION OF DIAGNOSTIC OF CERVIX CANCER

<sup>1</sup>The medical center MedSwiss, Moscow, Russia; <sup>2</sup>The Moscow municipal oncological hospital № 62, Moscow, Russia

♦ The cervix cancer is one of the most prevalent oncological diseases. so far as viruses of human papilloma play determining role in development of this pathology the most important significance in their diagnostic acquire modern techniques of laboratory analyses. In the process of determination of algorithm of monitoring of female patients infected by virus of human papilloma such innovative diagnostic techniques were implemented as fluid cytology and identification of oncoprotein p16<sup>ink4a</sup>. It is demonstrated that in female patients infected with virus of human papilloma the clinical picture very often had no equivalence to intensity of pathological process under cytological diagnostic. Thereupon, the algorithm was developed related to monitoring of female patients under different combined alternatives of clinical and cytological manifestation of cervix dysplasia.

**Keywords:** virus of human papilloma; fluid cytology; oncoprotein p16<sup>ink4a</sup>, cervix cancer

*Citation:* Rossiiskii meditsinskii zhurnal. 2015; 21 (6): 25—27. (In Russ.)

*For correspondence:* Ol'ga Alyautdina, MD, PhD, DSc, prof. E-mail: olasa@list.ru

Received 19.02.15

Рак шейки матки является третьим по частоте злокачественным заболеванием и четвертым по частоте раком, приводящим к смерти женщин. Введение Pap-теста стало поворотным событием в диагностике рака шейки матки и позволило значительно снизить смертность от этого заболевания [1]. Однако заболеваемость и смертность от рака шейки матки остаются высокими, несмотря на контроль с помощью Pap-теста. Это дает основания считать, что диагностические возможности этой процедуры ограничены. Так, при предраковых состояниях ложнонегативная реакция регистрируется в 15—50% случаев, а ложноположительная — приблизительно в 30% [2]. Действительно, гиперплазия клеток, воспалительная атипия и сквамозная метаплазия часто являются причинами ложных результатов при Pap-тесте. Это приводит к необходимости повторных исследований или проведению более травматичных процедур [3]. Рак шейки матки вызывается 14 типами вируса папилломы человека (ВПЧ), а типы 16 и 18 являются причиной заболевания в 70% случаев. Известно, что ВПЧ-инфекция определяет развитие рака шейки матки, однако иммунная система в большинстве случаев обеспечивает элиминацию вируса в течение одного или двух лет [4,5].

В настоящее время многие программы скрининга основаны на жидкостной цитологии, включающей забор пробы маленькой пластиковой щеткой в питательную жидкую среду для приготовления мазков. Цервикальная цитология зависит от получения хороших образцов и экспертной интерпретации микроскопической картины, что практически невыполнимо без соответствующего оборудования и подготовки.

Одним из наиболее перспективных тестов диагностики дисплазии и рака шейки матки является иммуноцитохимическое определение повышенной экспрессии гена-супрессора p16<sup>INK4a</sup>. В норме кодируемый этим геном белок p16<sup>INK4a</sup> блокирует вызываемую фактором роста стимуляцию деления клетки за счет угнетения циклинзависимой киназы, что приводит к нарушению фосфорилирования белка ретинобластомы (БРБ). В этих условиях БРБ связывается с фактором транскрипции E2F, блокирует его митотическую активность и останавливает деление клетки. Однако при ВПЧ-инфекции встроенная в геном хозяина ДНК вируса начинает синтезировать два онкогена, E6 и E7. Онкоген E7 связывается с белком ретинобластомы, препятствуя ингибированию E2F. Это приводит к неконтролируемому делению клетки и повышенному синтезу белка p16<sup>INK4a</sup>, что может быть зафиксировано с помощью цитоиммунохимической реакции [6]. Определение онкобелка p16<sup>INK4a</sup> позволяет выявить ранние стадии возникновения предрака и рака шейки матки. По эффективности этот тест является более релевантным, чем генотипирование ВПЧ или кольпоскопия.

### Материал и методы

В сети медицинских клиник MedSwiss с 2012 г. программой ДМС предусмотрено скрининговое исследование ранних пролиферативных процессов шейки матки. Эта программа включает:

- ♦ анализ данных жидкостной цитологии с поверхности шейки матки в режиме реального времени с применением компьютеризированной программы BD Focal Point и определение онкопротеина p16<sup>INK4a</sup>;

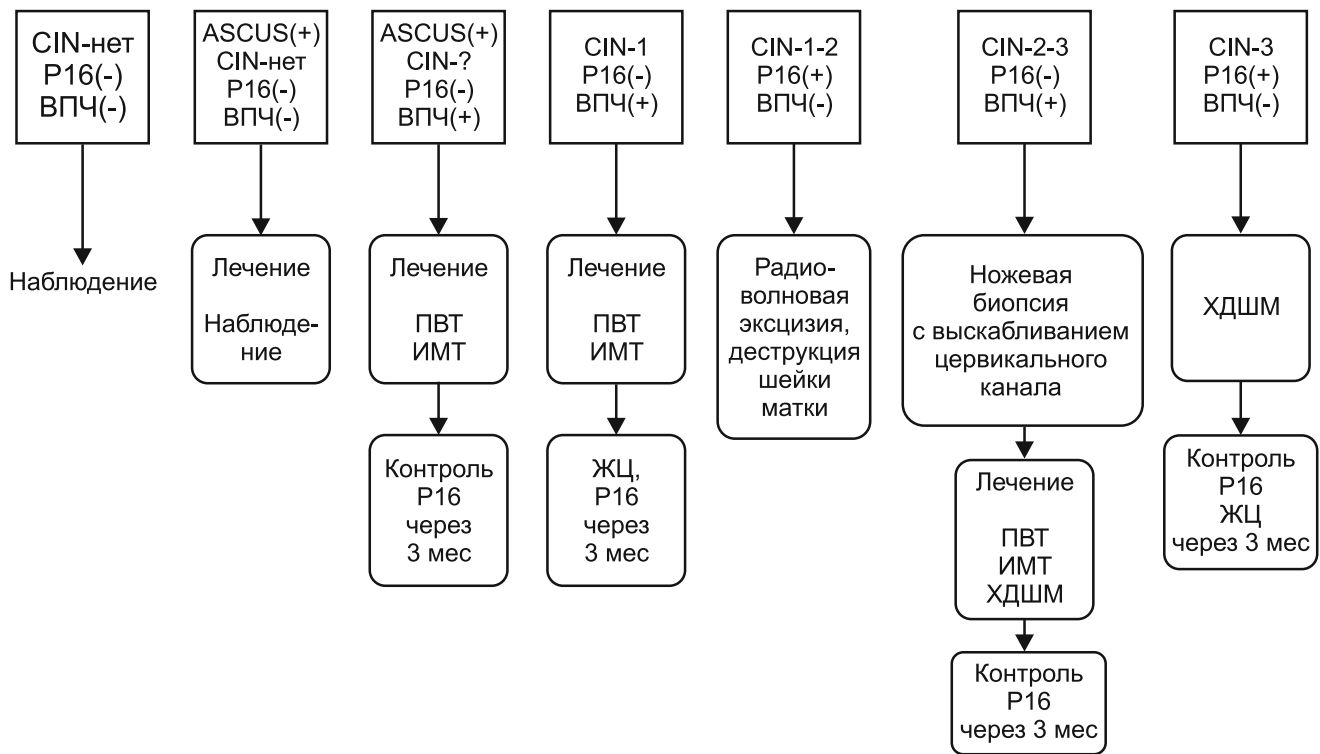


Рис. 1. Взаимосвязь между выраженностью дисплазии шейки матки и наличием онкопротеина p16.

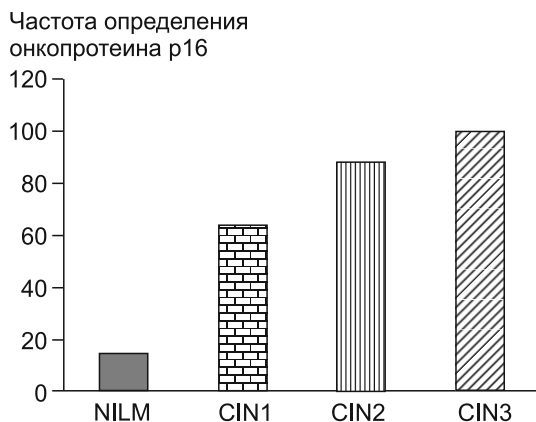


Рис. 2. Тактика ведения пациенток с патологией шейки матки. Лечение – медикаментозные методы лечения; ИМТ – иммуномодулирующая терапия; ПВТ – противовирусная терапия; ХДШМ – хирургическая деструкция шейки матки; ЖЦ – жидкостная цитология.

- ♦ ПЦР — тест на выявление основных 14 типов ВПЧ при первичном обследовании пациентки.
- ♦ расширенное кольпоскопическое исследование на приеме у гинеколога.

В рамках этой программы при первичном осмотре у гинеколога пациенткам проводится Pap-тест в современной модификации, основанной на жидкостной цитологии. С этой целью одновременно из трех зон (поверхность шейки матки, цервикальный канал и зона трансформации) берется биологический материал и помещается в виалу. Клеточный состав пробы обогащается, окрашивается на двух стеклах и анализируется (на первом этапе одна проба) с помощью линейки приборов BD PreMate, BD SurePath, BD Focal Point. Результаты исследования, степень дисплазии клеток, представляются по Цитологической классификации ВОЗ (CIN1, CIN2 и CIN3) и Цитологической классификации Бетесда (ASCUS, LSIL и HSIL). В случае обнаружения патологических изменений проводится исследование второй пробы на экспрессию белка p16<sup>INK4a</sup>. Одновременно всем

пациенткам проводится анализ на выявление ВПЧ методом ПЦР-диагностики (14 типов вируса). Неотъемлемым компонентом первичного обследования гинеколога является расширенная кольпоскопия.

### Результаты и обсуждение

В клиниках MedSwiss с 2012 г. были обследованы 4876 женщин в возрасте от 21 года до 60 лет (средний возраст 37,4 ± 7,1 года). Регулярный менструальный цикл при первичном обращении был у 81,2% женщин. У 7,3% женщин обнаружены нарушения менструальной функции, в менопаузе и постменопаузе находились 11,5% женщин. Все женщины имели сексуальный опыт. Разработан алгоритм наблюдения и ведения пациенток в зависимости от полученных результатов исследования.

Важным компонентом алгоритма является интегрированная оценка анализа жидкостной цитологии, наличия ВПЧ в анализе ПЦР и данных кольпоскопии. Действительно, часто интегративный анализ всех трех компонентов — положительная ПЦР, результаты жидкостной цитологии и кольпоскопии — является определяющим при дальнейшем обследовании и ведении таких пациенток. Так, при положительном результате ПЦР-диагностики на наличие вируса высокого онкогенного риска (типы 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68

#### Анализ данных многофакторного скрининга по результатам обследования пациенток

ВПЧ	Жидкостная цитология	Кольпоскопия	P <sub>16</sub>
-	NILM	N	-
-	HSIL	Цитология изменена	+
+	ASCUS, LSIL		-
+	ASCUS, LSIL	Цитология изменена	+
+	HSIL (CIN II-III)		+

и особенно 16 и 18) и характерных изменениях данных жидкостной цитологии возможно отсутствие визуальных изменений при кольпокопии. Анализ результатов наблюдений пациенток за 2 года позволил выявить комбинации диагностических параметров (см. таблицу). Представленный комбинаторный полиморфизм признаков требует разработки алгоритмов ведения и лечения пациенток.

Среди тех, у кого определен позитивный сигнал на p16<sup>INK4a</sup> в клетках, около 63% составляют пациентки с CIN1. Пациентки с более выраженными изменениями, стадии CIN2 — CIN3, встречаются реже, соответственно в 27 и 10% случаев. Эти данные свидетельствуют о том, что этот белок p16<sup>ink4a</sup> обнаруживается уже на ранних стадиях интраэпителиального поражения шейки матки. По нашим данным, наличие онкопротеина p16<sup>INK4a</sup> достоверно связано со степенью дисплазии шейки матки. Часто инвазивный рак шейки матки развивается у женщин с нормальным результатом цитологического исследования. Как видно на рис. 1, у 16% пациенток с цитологическим заключением NILM определяется белок p16<sup>INK4a</sup>. Частота обнаружения онкобелка увеличивается пропорционально степени дисплазии, достигая 61% при CIN1, 83% при CIN2 и 100% при CIN3.

В зависимости от инфицированности ВПЧ, результатов цитологического исследования и наличия белка p16<sup>INK4a</sup> нами разработаны «дорожные карты» ведения пациенток (рис. 2), предусматривающие схемы от наблюдения до медикаментозного лечения и хирургической деструкции шейки матки [7].

Рар-тест является одним из самых успешных цитологических тестов на злокачественные опухоли среди всех медицинских тестов в гинекологии. Тем не менее, несмотря на успехи, достигнутые в последнее десятилетие, до сих пор отсутствует общепринятая точка зрения на оптимальное ведение женщин с патологией в мазках. Действительно, часть женщин с LSIL может иметь HSIL, также нередко женщины с цитологией HSIL могут иметь CIN1 или даже нормальные результаты гистологического исследования. Наконец, женщины с ASCUS в цитологии могут иметь те же проблемы. Неудивительно, что предпринимались многочисленные попытки использовать различные биомаркеры для дифференциации Рар-тестов с отклонениями от нормы. Использованные методы были либо очень чувствительные, либо очень специфичные, но не было метода, сочетающего оба этих признака одновременно. Этот диссонанс может привести к гипердиагностике. Многие нерожавшие женщины могут ощутить на себе физические и физиологические последствия неоправданного радикального хирургического лечения шейки матки, проявляющиеся перинатальными

расстройствами у женщин в репродуктивном возрасте. С другой стороны, повторные цитологические исследования — это дополнительные психологические нагрузки на пациенток и увеличение финансовых затрат [8].

Применение теста на белок p16<sup>INK4a</sup> позволяет повысить и специфичность, и чувствительность диагностики при дисплазии шейки матки, обеспечивая адекватное ведение пациенток с этой патологией [9].

Таким образом, разработанная нами программа обследования женщин, включающая определение типа вируса, цитологической и клинической картины, обеспечивает комплексный контроль пациенток, составляющих группу риска.

#### ЛИТЕРАТУРА (пп. 1—5, 8—9 см. References)

6. Киселев В.И., Муйжнек Е.Л. *Молекулярные механизмы развития дисплазии шейки матки: Новые знания - новые возможности*. М.: ИльмиксГрупп; 2012.
7. Карахалис Л.Ю., Зуева Т.П., Петренко С.И. Оптимизация терапии дисплазий шейки матки, ассоциированных с ВПЧ-инфекцией. *Проблемы репродукции*. 2012; 5: 1—4.

#### REFERENCES

1. Jemal A., Bray F., Center M.M., Ferlay J., Ward E., Forman D. Global cancer statistics. *CA. Cancer J. Clin.* 2011; 61: 69—90.
2. Jacobs M.V., Snijders P.F., Vooorst F.L., Dillner J., Forslund O., Johansson B. et al. Reliable high risk HPV DNA testing by polymerase chain reaction: an inter-method and intra-method comparison. *J. Clin. Pathol.* 1999; 52: 498—503.
3. Follen M., Richard-Kortum R. Emerging technologies and cervical cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 2000; 92: 363—5.
4. Walboomers J.M., Jacobs M.V., Manos M.M. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J. Pathol.* 1999; 189: 12—9.
5. Moscicki A.B., Shiboski S., Broering J. The natural history of human papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. *J. Pediatr.* 1998; 132: 277—84.
6. Kiselev V.I., Muijzhnek E.L. *Molecular Mechanisms of Cervical Dysplasia Development: New Knowledge - new Opportunities [Molekulyarnye mekhanizmy razvitiya displazii sheyki matki: Novye znaniya — novye vozmozhnosti]*. Moscow: Il'miksGrupp; 2012. (in Russian)
7. Karakhalis L.Yu., Zueva T.P., Petrenko S.I. Optimizing treatment of cervical dysplasia associated with HPV infection. *Problemy reproduktivnoy. 2012; 5: 1—4.* (in Russian)
8. Roelens J., Reuschenbach M., von Knebel Doeberitz M., Wentzensen N., Bergeron C., Arbyn M. p16INK4a immunocytochemistry versus human papillomavirus testing for triage of women with minor cytologic abnormalities: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Cytopathol.* 2012; 120; 294—307.
9. Lesnikova I., Lidang M., Hamilton-Dutoit S., Koch J. p16 as a diagnostic marker of cervical neoplasia: a tissue microarray study of 796 archival specimens. *Diagn. Pathol.* 2009; 4: 22.

Поступила 19.02.15