



ТЕСТИРОВАНИЕ НА ВИРУС ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА В ЦЕРВИКАЛЬНОМ СКРИНИНГЕ

О.В. РЫКОВА

руководитель клинического направления лабораторной диагностики медицинской лаборатории «Синэво»

Контакты:

Рыкова Ольга Васильевна
Медицинская лаборатория «Синэво»
03142, Киев, пр. Палладина, 46/2
тел.: +38 (044) 20 500 20
e-mail: info@synevo.com.ua

ВВЕДЕНИЕ

Рак шейки матки (РШМ) остается одной из актуальных проблем современного здравоохранения: в разных странах мира он занимает 2–3 место в структуре гинекологических онкологических заболеваний и является ведущей причиной смертности от онкозаболеваний у женщин. Различают два гистологических типа РШМ. Основным является плоскоклеточный тип, который составляет до 84% в структуре этого заболевания, аденокарциномы встречаются реже (16%). В то же время динамика последних лет свидетельствует о росте заболеваемости именно последним типом, что частично связано со сложностями своевременной диагностики на этапе предраковых изменений [4, 5]. Предложенный Г. Папаниколау цитологический тест за многие десятилетия показал свою эффективность, особенно в странах с хорошо организованным цервикальным скринингом, позволив снизить заболеваемость и смертность более чем на 50%. Вместе с тем результаты использования данного метода показали недостаточную диагностическую чувствительность традиционной цитологии, которая в среднем составляет 50–70% [3]. Одним из механизмов ее повышения является увеличение частоты исследований. Однако это не решает вопросы своевременного выявления предраковых стадий аденокарцином, что приводит к росту заболеваемости даже в странах с хорошей организацией цервикального скрининга [5]. Внедрение жидкостной цитологии позволило улучшить качество мазка, но по результатам целого ряда исследований это не дало значительного повышения диагностической чувствительности. Такая ситуация обусловлена сохранением высокой зависимости результата от соблюдения правил подготовки, качества взятия материала для тестирования и доступности полноценного материала, особенно в случаях зоны трансформации 3-го типа [6].

В настоящее время доказана этиологическая роль вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВКР) в развитии РШМ [7]. Впервые серьезные предположения о

возможной роли ВПЧ в развитии этого заболевания были сделаны еще в середине 70-х годов XX века. Биологическим доказательством этиологического фактора ВПЧ является обнаружение вирусного генома в ядрах клеток опухоли, продукции онкобелков E6/E7, которые при взаимодействии с белками p53 и PRB приводят к нарушению процессов апоптоза клетки и обеспечивают неконтролируемый рост опухоли. Это интегрированная стадия вируса, которая наступает после первичной стадии его гиперпродукции (эписомальной стадии).

В среднем от инфицирования вирусом до развития РШМ проходит около 10 лет, поэтому прогностическая значимость отрицательных результатов ВПЧ-тестирования позволяет прогнозировать низкие риски развития РШМ на ближайшие 5–8 лет, что положено в основу увеличения интервалов повторных обследований для данной категории женщин в рамках цервикального скрининга.

Признание этиологической роли ВПЧ в развитии РШМ привело к разработке алгоритмов цервикального скрининга, включающего ВПЧ-тестирование. Результаты различных исследований показали, что по сравнению с цитологией это тестирование на 30% чувствительнее для выявления цервикальной интраэпителиальной неоплазии II стадии, и на 22% – для цервикальной интраэпителиальной неоплазии III стадии. Отрицательные результаты обеспечивают лучшую прогностическую значимость в отношении прогноза развития РШМ по сравнению с нормальными результатами цитологии (традиционной/жидкостной). В то же время включение ВПЧ-тестирования в цервикальный скрининг имеет и свои недостатки: в силу более низкой специфичности (особенно в молодом возрасте) данного теста увеличивается процент необоснованных обследований и вмешательств. Для повышения специфичности сегодня рекомендовано использовать тесты, позволяющие выявлять не просто инфицирование вирусом, но и наличие интегрированной стадии, стадии продукции онкобелков E6/E7. В мире проводятся ис-

Добавляет
ценность диагнозу



ЭКСПЕРТ В ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКЕ



следования по изучению эффективности использования маркеров пролиферации p16/ki67 (иммуноцитохимического окрашивания цитологических мазков), отражающих интегрированную стадию вируса, прямого определения экспрессии онкобелков E6/E7, определение матричной РНК вируса [8]. Перспективным является внедрение тестов, определяющих мутации генов – супрессоров опухолевого роста (CADM и Mal) [10].

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВПЧ-ИНФИЦИРОВАНИЯ

В настоящее время для идентификации вирусной ДНК используются различные методики ее гибридизации и молекулярной диагностики (в первую очередь, метод ПЦР). В Украине наиболее распространенным лабораторным методом обнаружения ВПЧ является ПЦР-диагностика, которая позволяет в короткие сроки выявить факт наличия вируса, провести генотипирование и оценить вирусную нагрузку. Клиницист должен быть осведомлен о различиях в тестах молекулярной диагностики, чтобы выбрать наиболее оптимальный из них для решения конкретной клинической задачи.

Оценка наличия вирусной ДНК методом ПЦР может проводиться в качественном или количественном формате. Качественный метод ПЦР позволяет оценить наличие или отсутствие геномного материала возбудителя, соответственно бланк результата будет содержать отметку «обнаружен/не обнаружен». Необходимо учитывать, что данный метод ВПЧ-тестирования может оценивать наличие нескольких генотипов одновременно (без выявления конкретного генотипа) или наличие конкретных генотипов в качественном формате (генотипирование). Выбор теста в данном случае будет зависеть от диагностических задач: для первичного скрининга достаточно провести тестирование в качественном формате наличия вируса (без генотипирования). Чтобы не только оценить наличие, но и сформировать конкретный алгоритм ведения пациентки, клиницисту необходимо определить конкретный генотип, поскольку, например, наличие 16-го или 18-го генотипов определяет более высокие риски канцерогенеза и необходимость прицельного обследования. На сегодняшний день большинство имеющихся ВПЧ-тестов генотипируют эти типы вируса, ответственные за 70% всех случаев РШМ. В отношении ВПЧ упомянутый вариант ПЦР-анализа позволяет обнаружить инфицирование, выявить конкретный генотип и количество имеющихся генотипов, персистенцию (в том числе и конкретного генотипа), однако не дает возможности оценить вирусную нагрузку, которая играет ключевую роль в реализации канцерогенного потенциала вируса. Эти параметры можно определить при проведении ПЦР-анализа в количественном формате выдачи результата. Наличие вирусной нагрузки свыше 3 Ig, динамика персистенции вируса с нарастанием количества будут свидетельствовать о высоком риске канцерогенеза.

СТРАТЕГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВПЧ В РАМКАХ ЦЕРВИКАЛЬНОГО СКРИНИНГА

Этиологическая роль ВПЧ в канцерогенезе и высокая диагностическая чувствительность (до 98%) ВПЧ-тестирования определили диагностическую значимость и стратегии использования данного метода в цервикальном скрининге и ведении пациенток с патологией шейки матки:

- тест для сортировки результатов цитологического исследования (традиционной или жидкостной цитологии);
- тест первичного скрининга вместе с цитологией (традиционной или жидкостной);
- тест первичного скрининга в рамках цервикального скрининга с последующей цитологией;
- контроль эффективности лечения.

При направлении на ВПЧ-тестирование и во время интерпретации результатов клиницисту необходимо учитывать следующие особенности данного исследования:

- на сегодняшний день 15 генотипов ВКР ВПЧ признаны как этиологические причины развития РШМ;
- генотипы 16 и 18 являются наиболее распространенными генотипами, которые встречаются в 70% плоскоклеточного РШМ и приблизительно в 90% аденокарцином [1, 9];
- при направлении на ВПЧ-тестирование в рамках оценки прогноза развития РШМ (в том числе при отсутствии изменений по данным цитологического исследования) или наличия предраковых стадий необходимо определять только генотипы ВКР. При этом, несмотря на то, что генотипы 16 и 18 составляют 70% всех злокачественных поражений шейки матки, для обеспечения эффективности скрининга оптимальным является направление на тесты, позволяющие выявлять и другие генотипы ВПЧ ВКР. Это обеспечит выявление оставшихся 30% женщин с риском развития онкологического заболевания;
- при наличии изменений по данным визуальных методов обследования, цитологии и отрицательных результатах ВПЧ-тестирования на генотипы ВКР необходимо исключить генотипы низкого канцерогенного риска, в первую очередь генотипы 6 и 11, которые могут вызывать изменения эпителия шейки матки без злокачественного перерождения;
- оптимальным тестом оценки риска канцерогенеза является исследование, позволяющее определить конкретный генотип (один или сочетание нескольких), оценить вирусную нагрузку, выявить интегрированную стадию вируса (стадию продукции онкобелков E6/E7).

Инфицирование ВПЧ ВКР является непрямым, но не единственным условием канцерогенеза, поэтому при интерпретации результатов ВПЧ-тестирования в рамках цервикального скрининга необходимо учитывать возраст женщины, генотип вируса, количество выявляемых генотипов, вирусную нагрузку и ее динамику, персистенцию вируса на протяжении более чем 12 месяцев. Все эти данные сопоставляются с результатами других методов обследования и позволяют определить тактику ведения и лечения пациентки.

Добавляет
ценность диагнозуЭКСПЕРТ В ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКЕ

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ТЕСТИРОВАНИЯ

Обнаружение инфицирования ВПЧ ВКР позволяет отнести женщину к группе высокого риска по возможному развитию РШМ, однако тактика ведения определяется возрастом и характером изменений, которые выявляются по данным других исследований (цитологии, кольпоскопии и диагностических проб).

Наиболее высокий процент инфицированных отмечается среди женщин моложе 30 лет: в возрасте 20–25 лет – 10–15%, в возрасте 30 лет – 7% и 3–5% после 35 лет. В 80% случаев в молодом возрасте вирус самостоятельно элиминируется в течение первого года, в 90% случаев это произойдет на протяжении двух лет. Поэтому в мировых протоколах данный тест используется в программах цервикального исследования в качестве дополнительного к цитологическому исследованию (тест сортировки) при выявлении аномальных мазков для определения тактики ведения женщины (целесообразность кольпоскопии с проведением биопсии, сроки повторного обследования). В случае выявления 16-го и 18-го генотипов, имеющих высокий канцерогенный потенциал, тактика ведения должна быть более агрессивной.

После 30 лет диагностическая значимость выявления положительных результатов возрастает, особенно в перименопаузе и менопаузе. Это определяет место ВПЧ-тестирования в цервикальном скрининге для данной категории женщин согласно современным мировым алгоритмам: оно рассматривается как первоначальный тест, который проводится автономно или в комплексе с цитологическим исследованием. При этом диагностическая значимость положительного результата на ВПЧ имеет большую прогностическую важность, чем цитология: выявление инфицирования ВПЧ требует более углубленного обследования пациентки, особенно при обнаружении 18-го генотипа, который ассоциируется с высокими рисками наличия аденокарциномы.

В случае положительного результата ВПЧ-тестирования при нормальных цитологических мазках или незначительных изменениях повторное обследование необходимо проводить через 6–12 месяцев (в зависимости от данных цитологии и визуальных методов обследования). Персистенция вируса на протяжении более года на фоне проводимого лечения свидетельствует о наличии тяжелой патологии шейки матки или высоких рисках ее развития, определяя необходимость углубленного обследования – биопсии с последующим гистологическим исследованием. Такое сочетание лабораторных тестов особенно важно для женщин старше 30 лет. С одной стороны, это обусловлено изменениями в зоне трансформации, вследствие которых не всегда возможно получить необходимое количество материала из шейки матки для цитологического исследования. С другой стороны, с возрастом процент инфицированных женщин значительно снижается, при этом увеличивается возможность персистенции вируса и существенно возрастает диагностическая значимость положительного результата ВПЧ-теста. В случае выявления 18-го генотипа необходимо исключить аденокарциному.

Отрицательные результаты ВПЧ-тестирования позволяют отнести женщину к группе низкого риска развития РШМ в ближайшие 5 лет. В то же время при наличии патологических изменений со стороны цитологического исследования следует провести дополнительное тестирование на поиск других возможных факторов развития цервикальной патологии.

Кроме того, учитывая высокую диагностическую чувствительность ВПЧ-тестирования, данный тест нашел свое место в алгоритме оценки эффективности лечения имеющейся патологии шейки матки: мировые алгоритмы рекомендуют проводить ВПЧ-тестирование через 6 месяцев после лечения либо как самостоятельный тест, либо в комплексе с цитологическим исследованием [12]. При этом ведущее значение для прогноза имеют данные ВПЧ-теста: положительные результаты даже на фоне нормальных показателей цитологического мазка свидетельствуют о высоких рисках прогрессирования патологического процесса в шейке матки и необходимости углубленного обследования пациентки.

ВЫВОДЫ

В настоящее время во многих странах мира цитологическое исследование остается основным методом скрининга РШМ: использование традиционного цитологического тестирования или более чувствительной жидкостной цитологии зависит от имеющихся у медиков возможностей. Однако, несмотря на явное преимущество цитологического мазка по сравнению с другими методами диагностики РШМ, а также его доказанную эффективность в профилактике этого заболевания, цитологическое исследование имеет и существенные недостатки, которые могут усложнить работу гинеколога и повлиять на своевременность лечения. В первую очередь, это недостаточная диагностическая чувствительность, обусловленная высокой зависимостью от качества полученного материала. Стремление увеличить эффективность программы скрининга и признание ВПЧ как этиологического фактора развития РШМ привело к разработке молекулярных методов выявления вируса с учетом основных эффектов его воздействия на клетку, которые имеют более высокую диагностическую чувствительность по сравнению с цитологическим исследованием. Современные стратегии цервикального скрининга объединили эти два метода:

- недостаточная диагностическая чувствительность цитологического исследования компенсирована высокой диагностической чувствительностью ВПЧ-тестирования;
- недостаточная специфичность последнего компенсирована высокой диагностической специфичностью цитологического метода.

Сочетание этих двух методов в повседневной практике клинициста позволит своевременно выявить начальные и предраковые стадии заболевания и провести соответствующее лечение, что, в свою очередь, приведет к снижению заболеваемости и смертности от РШМ.

НАДІЙНИЙ ЄВРОПЕЙСЬКИЙ ПАРТНЕР



СІНЕВО
медична лабораторія

Понад 140 лабораторних
центрів у 34 містах України

> 15'000 ЛІКАРІВ
ОБРАЛИ «СІНЕВО»



Міжнародний
контроль якості



Найкраще світове
обладнання



штрих-кодування зразків

Автоматизований
лабораторний процес



Більше ніж 1500
лабораторних тестів

3032 **ВПЛ 16, 18, 31, 33, 35, 39,
45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68; ПЛР**
(зіскоб, генотипування
в кількісному форматі, Real-time)

Термін виконання – 3 дні

4040 **Пакет № 129**

«Цервікальний скринінг»

(2 показники; ПАП-тест на основі
рідинної цитології, ВПЛ 16, 18, 31,
33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68;
ПЛР, у/г зіскоб, генотипування
в кільк. форматі, Real-time)

Термін виконання – 4 дні

0 800 50 70 30

безкоштовно зі стаціонарних телефонів по Україні

www.synevo.ua

facebook.com/SynevoLab



ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Wright, T.C., Stoler, M.H., Sharma, A., et al. "Evaluation of HPV-16 and HPV-18 genotyping for the triage of women with high-risk HPV+ cytology-negative results." *Am J Clin Pathol*, 136(2011): 578–586.
2. "FDA Approves First Human Papillomavirus Test for Primary Cervical Cancer Screening." U.S. Food and Drug Administration News Release, April 24, 2014. [http://www.fda.gov/newsevents/newsroom/pressannouncements/ucm394773.htm] Last accessed February 26, 2015.
3. Cuzick, J., Clavel, C., Petry, K.U., Meijer, C.J., Hoyer, H., Ratnam, S., et al. "Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening." *Int J Cancer*, 119(2006): 1095–1101.
4. Li, N., Franceschi, S., Howell-Jones, R., Snijders, P.J., Clifford, G.M. "Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication." *Int J Cancer*, 128(2011): 927–935.
5. Bulk, S., Visser, O., Rozendaal, L., Verheijen, R.H., Meijer, C.J. "Incidence and survival rate of women with cervical cancer in the Greater Amsterdam area." *Br J Cancer*, 89(2003): 834–839.
6. Confortini, M., Bergeron, C., Desai, M., Negri, G., Dalla, P.P., Montanari, G., et al. "Accuracy of liquid-based cytology: comparison of the results obtained within a randomized controlled trial (the New Technologies for Cervical Cancer Screening Study) and an external group of experts." *Cancer Cytopathol*, 118(2010): 203–208.
7. Walboomers, J.M., Jacobs, M.V., Manos, M.M., Bosch, F.X., Kummer, J.A., Shah, K.V., et al. "Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide." *J Pathol*, 189(1999): 12–19.
8. Petry, K.U., Schmidt, D., Scherbring, S., Luyten, A., Reinecke-Luthge, A., Bergeron, C., et al. "Triage of Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology." *J Gynecol Oncol* (2011).
9. Munoz, N., Bosch, F.X., Castellsague, X., Diaz, M., De Sanjose, S., Hammouda, D., et al. "Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective." *Int J Cancer*, 111(2004): 278–285.
10. Overmeer, R.M., Henken, F.E., Bierkens, M., Wiltink, S.M., Timmerman, I., Meijer, C.J., et al. "Repression of MAL tumour suppressor activity by promoter methylation during cervical carcinogenesis." *J Pathol*, 219(2009): 327–336.
11. Arbyn, M., Anttila, A., Jordan, J., Ronco, G., Schenk, U., Segnan, N., Wiener, H., Herbert, A., Daniel, J., Von Karsa, L., European Commission, editors. *European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening*, 2nd ed. Luxembourg. Office for Official Publications of the European Communities (2008): 1–291.
12. Arbyn, M., Sasieni, P., Meijer, C.J., Clavel, C., Koliopoulos, G., Dillner, J. "Chapter 9: Clinical applications of HPV testing: a summary of meta-analyses." *Vaccine*, 24(3) (2006): 78–89.

ТЕСТИРОВАНИЕ НА ВИРУС ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА В ЦЕРВИКАЛЬНОМ СКРИНИНГЕ

О.В. Рыкова, руководитель клинического направления лабораторной диагностики медицинской лаборатории «Синэво»

В статье представлены современные лабораторные аспекты цервикального скрининга, включающие оценку инфицирования вирусом папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска.

Разработаны молекулярные методы выявления ВПЧ с учетом основных эффектов воздействия вируса на клетку, которые имеют высокую диагностическую чувствительность по сравнению с цитологическим исследованием.

Ключевые слова: рак шейки матки, цервикальный скрининг, традиционная цитология, жидкостная цитология, ПАП-тест, вирус папилломы человека.

ТЕСТУВАННЯ НА ВИРУС ПАПОЛОМИ ЛЮДИНИ В ЦЕРВІКАЛЬНОМУ СКРИНІНГУ

О.В. Рыкова, керівник клінічного напрямку лабораторної діагностики медичної лабораторії «Сінево»

У статті представлені сучасні лабораторні аспекти цервікального скринінгу, що включають оцінку інфікування вірусом папіломи людини (ВПЛ) високого канцерогенного ризику.

Розроблено молекулярні методи виявлення ВПЛ з урахуванням основних ефектів впливу вірусу на клітину, які мають високу діагностичну чутливість у порівнянні з цитологічним дослідженням.

Ключові слова: рак шийки матки, цервікальний скринінг, традиційна цитологія, рідинна цитологія, ПАП-тест, вірус папіломи людини.

TESTING HUMAN PAPILLOMA VIRUS IN CERVICAL SCREENING

O.V. Rykova, head of the clinical areas of laboratory diagnosis medical laboratory «Synevo»

The article presents modern laboratory aspects of cervical screening, which include assessment of infection with human papillomavirus (HPV) high carcinogenic risk.

It were developed molecular methods for HPV detection on the major effects of the virus on cells that have a high diagnostic sensitivity than cytology.

Keywords: cervical cancer, cervical screening, traditional cytology, liquid-based cytology, PAP-test, human papilloma virus.