

## ВПЧ-тестирование в цервикальном скрининге

**О.В. Рыкова**

Медицинская лаборатория «Синэво»

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

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

Рак шейки матки (РШМ) остается одной из актуальных проблем современного здравоохранения: в разных странах мира занимает 2–3-е место в структуре гинекологических онкологических заболеваний и ведущей причиной смертности от раковых заболеваний у женщин. Различают два гистологических типа: плоскоклеточный тип является основным и составляет до 84% в структуре РШМ, аденокарциномы встречаются реже (16%), однако динамика последних лет свидетельствует о росте заболеваемости именно данным типом, что частично связано со сложностями своевременной диагностики на этапе предраковых изменений [4, 5]. Предложенная Г. Папаниколу традиционная цитология, за многие десятилетия показала свою эффективность, особенно, в странах с хорошо организованным цервикальным скринингом и позволила снизить заболеваемость и смертность на 50–70%. Однако результаты использования данного метода показали недостаточную диагностическую чувствительность традиционной цитологии, которая в среднем составляет 50–70% [3] и одним из механизмов ее повышения является повышение частоты исследований. Однако это не решает вопросы своевременного выявления предраковых стадий аденокарцином, что приводит к росту заболеваемости даже в странах с хорошо организованным цервикальным скринингом [5, 13]. Внедрение жидкостной цитологии позволило улучшить качество мазка, однако, значительного повышения диагностической чувствительности по результатам целого ряда исследований это не дало. Это обусловлено сохранением высокой зависимости результата от соблюдения правил подготовки, качества взятия материала для тестирования и доступности получения полноценного материала, особенно, в случаях зоны трансформации 3-го типа [6].

В настоящее время этиологическая роль вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВКР) в развитии рака шейки матки является доказанной [7]. Впервые серьезные предположения о возможной роли ВПЧ в развитии РШМ 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 взаимодействуя с p53 и PRB приводят к нарушению процессов апоптоза клетки и обеспечивают неконтролируемый рост опухоли. Это интегрированная стадия вируса, которая наступает после первичной стадии гиперпродукции вируса (эписомальной стадии). В среднем, до развития РШМ проходит около 10 лет после инфицирования вирусом, 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 канцерогенезе, с одной стороны, и результаты эффективности программы цервикального скрининга, основанного на цитологическом исследовании: недостаточная диагностическая чувствительность традиционной цитологии, разработка жидкостной цитологии, позволяющей использовать собранный материал клеток для дополнительных исследований, привело к разработке алгоритмов цервикального скрининга, включающего ВПЧ-тестирование. Результаты различных исследований свидетельствуют, что ВПЧ-тестирование на 30% более чувствительно, чем цитология, для выявления ЦИН 2 и на 22% – для ЦИН 3. Отрицательные результаты ВПЧ обеспечивают лучшую прогностическую значимость в отношении прогноза развития РШМ по сравнению с нормальными результатами цитологии (традиционной/жидкостной). Однако включение ВПЧ-тестирования в цервикальный скрининг имеет свои недостатки: в силу более низкой специфичности (особенно, в молодом возрасте) данного теста повышается процент необоснованных обследований и вмешательств. Для решения вопроса повышения специфичности сегодня рекомендовано использовать тесты, позволяющие выявлять не просто инфицирование вирусом, а наличие интегрированной стадии, продукции онкобелков E6/E7. В мире проводятся исследования по изучению эффективности использования маркеров пролиферации p16/ki 67 (иммуноцитохимического окрашивания цитологических мазков), отражающих интегрированную стадию вируса, прямого определения экспрессии онкобелков E6/E7, определение мРНК вируса [8]. Перспективным является внедрение тестов, определяющих мутации генов-супрессоров опухолевого роста (CADM 1 и Mal) [10].

### Лабораторная диагностика инфицирования ВПЧ

В настоящее время для идентификации вирусной ДНК используют различные методики (гибридизации вирусной ДНК и молекулярной диагностики (в первую очередь метода полимеразной цепной реакции – ПЦР). В Украине наиболее распространенным лабораторным методом выявления ВПЧ является ПЦР-диагностика: данный метод позволяет в короткие сроки выявить факт наличия вируса, провести генотипирование и оценить вирусную нагрузку. Клиницисту необходимо знать о различиях тех или иных тестов молекулярной диагностики для возможности выбрать наиболее оптимальный тест для решения той или иной клинической задачи.

Оценка наличия вирусной ДНК методом ПЦР может быть в качественном или количественном формате проведения. Качественный метод ПЦР позволяет оценить наличие или отсутствие геномного материала возбудителя и в бланке результата клиницист получает «обнаружен/не обнаружен» возбудитель. Необходимо учитывать, что данный метод ВПЧ-тестирования может быть в формате оценки наличия нескольких генотипов одновременно (без выявления конкретного генотипа) или оценки наличия конкретных генотипов, но в качественном формате (генотипирование). Выбор теста в данном случае будет зависеть от диагностических за-

дач: для первичного скрининга достаточно провести тестирование в качественном формате наличия вируса (без генотипирования). Для оценки не просто наличия, но формирования конкретного алгоритма ведения пациента, клиницисту необходимо определение конкретного генотипа, так как, например, наличие 16-го или 18-го генотипа определяет более высокие риски канцерогенеза и необходимости прицельного обследования. На сегодняшний день, большинство имеющихся ВПЧ-тестов генотипируют данные типы вируса, ответственные за 70% всех случаев РШМ. В отношении ВПЧ данный вариант ПЦР-анализа позволяет определиться с наличием инфицирования, выявить конкретный генотип и количество имеющихся генотипов, с персистенцией (в том числе конкретного генотипа), однако не позволяет оценить вирусную нагрузку, которая играет ключевую роль в реализации канцерогенного потенциала вируса. Эти параметры возможны при проведении ПЦР-анализа в количественном формате выдачи результата. Наличие вирусной нагрузки более 3 lg, 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 интерпретацию результатов клиницисту необходимо учитывать следующие особенности данного исследования:

- на сегодняшний день 15 генотипов ВКР ВПЧ признаны этиологическими причинами развития РШМ;
- 16-й и 18-й генотипы 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-й и 18-й составляют 70% всех злокачественных поражений шейки матки, для обеспечения эффективности скрининга оптимально направлять на тесты, позволяющие выявлять и другие генотипы ВПЧ ВКР. Это обеспечивает выявление остальных 30% женщин с риском развития онкологического заболевания;
- при наличии изменений по данным визуальных методов обследования, цитологии и при отрицательных результатах ВПЧ-тестирования на генотипы ВКР, требуется исключение генотипов низкого канцерогенного риска, в первую очередь 6-го и 11-го генотипов, которые могут вызывать изменения эпителия шейки матки без злокачественного перерождения;
- наиболее оптимальным тестом оценки риска канцерогенеза является тест, позволяющий определить конкретный генотип (один или сочетание нескольких), оценить вирусную нагрузку, выявить интегрированную стадию вируса (стадию продукции онкобелков Е6/Е7).

Инфицирование ВПЧ ВКР является необходимым, 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 более 12 мес. Все эти результаты сопоставляют с результатами других методов обследования и позволяют определить тактику ведения и лечения женщины.

### Интерпретация результатов тестирования

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

В возрасте до 30 лет отмечается высокий процент инфицированных: 10–15% в возрасте 20–25 лет, 7% в 30 лет и 3–5% – после 35 лет. В 80% случаев в молодом возрасте вирус самоэлиминируется в течение первого года, в 90% случаев это произойдет в течение двух лет. Поэтому данный тест в мировых протоколах используют в программах цервикального теста как дополнительный тест к цитологическому исследованию (тест сортировки) при выявлении аномальных мазков для определения тактики ведения женщины (целесообразность проведения кольпоскопии с выполнением биопсии, сроков повторного обследования). В случае выявления 16-го и 18-го генотипов тактика ведения более агрессивная, учитывая высокий канцерогенный потенциал данных генотипов.

Для женщин старше 30 лет диагностическая значимость выявления положительных результатов возрастает, особенно, в перименопаузе/менопаузе. Это определяет место ВПЧ-тестирования в цервикальном скрининге для данной категории женщин согласно современным мировым алгоритмам: ВПЧ-тестирование рассматривается как тест первоначального тестирования (самостоятельного) или в комплексе с цитологическим исследованием. При этом диагностическая значимость положительного результата на ВПЧ имеет большую прогностическую значимость, чем цитологии: выявление положительного результата ВПЧ-теста определяет необходимость более углубленного обследования пациентки, особенно при выявлении 18-го типа, который ассоциируется с высокими рисками наличия аденокарциномы.

Выявление положительного результата ВПЧ-тестирования при нормальных цитологических мазках или незначительных изменениях требует повторного обследования через 6–12 мес (в зависимости от данных цитологии и визуальных методов обследования). Персистенция вируса более года на фоне проводимого лечения свидетельствует о высоких рисках развития или уже наличии тяжелой патологии шейки матки и определяет необходимость углубленного обследования: биопсия с последующим гистологическим исследованием. Особого внимания такое сочетание лабораторных тестов заслуживает у женщин старше 30 лет – это обусловлено, с одной стороны, изменениями со стороны зоны трансформации, приводящими к возможности получения недостаточного количества материала из шейки матки для цитологического исследования, с другой стороны, с возрастом процент инфицированных женщин значительно снижается, возможность персистенции возрастает и диагностическая значимость положительного результата ВПЧ-теста значительно повышается. В случае выявления 18-го генотипа необходимо исключение аденокарциномы.

Отрицательные результаты ВПЧ-тестирования позволяют отнести женщину к низкому риску развития РШМ в ближайшие 5 лет, а при наличии патологических изменений со стороны цитологического исследования провести дополнительное тестирование на поиск возможных других факторов развития цервикальной патологии.

Кроме того, учитывая высокую диагностическую чувствительность ВПЧ-тестирования, данный тест нашел свое место в алгоритме оценки эффективности после поведенного лечения по поводу имеющейся патологии шейки матки: мировые алгоритмы рекомендуют проводить ВПЧ-тестирование через 6 мес после проведенного лечения либо как самостоятельного теста, либо в комплексе с цитологическим исследованием [12]. При этом ведущее значение для прогноза отведено результату ВПЧ-теста: при положительных результатах даже на фоне нормальных результатов цитологического мазка женщина нуждается в углубленном обследовании и свидетельствует о высоких рисках прогрессирования патологического процесса в шейке матки.

### Выводы

В настоящее время цитологическое исследование во многих странах мира остается основным методом скрининга РШМ: использование традиционного цитологического исследования или более чувствительной жидкостной цитологии зависит от возможностей в каждой отдельной стране. Однако несмотря на явное преимущество и доказанную эффективность в профилактике РШМ цитологического мазка при проведении

скрининговых исследований по сравнению с другими методами диагностики РШМ, 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 повысить эффективность программы скрининга и признание ВПЧ этиологическим фактором развития РШМ привело к разработке молекулярных методов выявления вируса с учетом основных эффектов воздействия вируса на клетку, которые имеют 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, а недостаточная специфичность последнего компенсирована высокой диагностической специфичностью цитологического метода. Клиницисту в его повседневной практике сочетание этих двух методов позволит своевременно выявить начальные, предраковые стадии и провести лечение, что позволит снизить заболеваемость и смертность от РШМ.

### ВПЛ-тестування у цервікальному скринінгу

**О.В. Рыкова**

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

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

### HPV testing in cervical screening

**O. V. Rykova**

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

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

### Сведения об авторе

**Рыкова Ольга Васильевна** – Медицинская лаборатория «Синэво», 03680, г. Киев, ул. Академика Палладина, 46/2, корпус 3.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wright TC, Stoler MH, 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* 2011;136:578–586.
2. FDA Approves First Human Papillomavirus Test for Primary Cervical Cancer Screening [News]. Silver Spring, Md: Food and Drug Administration, 2014. Available online. Last accessed September 18, 2014.
3. Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJ, 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* 2006;119: 1095–101.
4. Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, Snijders PJ, Clifford GM. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer* 2011; 128: 927–35.
5. Bulk S, Visser O, Rozendaal L, Verheijen RH, Meijer CJ. Incidence and survival rate of women with cervical cancer in the Greater Amsterdam area. *Br J Cancer* 2003; 89: 834–9.
6. Confortini M, Bergeron C, Desai M, Negri G, Dalla PP, 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* 2010; 118: 203–8.
7. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12–9.
8. Petry KU, 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-stain cytology. *Gynecol Oncol* 2011.
9. Munoz N, Bosch FX, 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* 2004; 111: 278–85.
10. Overmeer RM, Henken FE, Bierkens M, Wilting SM, Timmerman I, Meijer CJ et al. Repression of MAL tumour suppressor activity by promoter methylation during cervical carcinogenesis. *J Pathol* 2009; 219: 327–36.
11. European Commission. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. 2nd ed. Arbyn M, Anttila A, Jordan J, Ronco G, Schenck U, Segnan N, Wiener H, Herbert A, Daniel J, von Karsa L, European Commission, editors. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2008. pp. 1–291.
12. Arbyn M, Sasieni P, Meijer CJ, Clavel C, Koliopoulos G, Dillner J. Chapter 9: Clinical applications of HPV testing: a summary of meta-analyses. *Vaccine* 2006; 24 (SUPPL. 3): S78–S89.
13. M. Arbyn, A. Anttila, J. Jordan et al. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening Second Edition, 2008.

Статья поступила в редакцию 17.12.2014

**Указанные в статье лабораторные исследования выполняются в Медицинской лаборатории Синэво**