

# Современные подходы к скринингу рака шейки матки

Методы жидкостной цитологии и иммуноцитохимии в гинекологическом скрининге.



Терминологическая система Бетезда 2014.



Дауд Антонина Игоревна  
К.М.Н.

Определения:



- **Рак шейки матки** – злокачественная опухоль вирусной природы, развивающаяся из неопластически трансформированных клеток плоского и/или железистого эпителия цервикса. В 85.9-92.9% случаев инвазивного рака обнаруживают ДНК ВПЧ ВКР. В 90% случаев – плоскоклеточный рак, в 10% - железистый рак.

# Основная цель цервикального скрининга- HSIL

- Основная цель организованного гинекологического скрининга – выявление на ранних этапах интраэпителиальных изменений высокой степени злокачественности и микроинвазивного рака при отсутствии визуальных признаков опухоли.



# Определения



Основная цель организованного скрининга РШМ–  
предрак.

- **Предрак шейки матки** – неинвазивные формы интраэпителиальных поражений – HSIL (CIN2+) = CIN II, CIN III, CIS.
- **HSIL** – интраэпителиальные поражения плоского эпителия высокой степени злокачественности (CIN II, CIN III, CIS).
- **LSIL** – интраэпителиальные поражения плоского эпителия низкой степени злокачественности (CIN I и койлоцитарную атипию).

# Основное требование к диагностическому тесту в гинекологическом скрининге



**Высокая чувствительность+**

**высокая специфичность=**

**Выявление максимального числа скрытых HSIL при минимальном количестве ложно положительных результатов, с целью раннего предупреждения развития инвазивной карциномы и снижения числа необоснованных кольпоскопий.**

## Обследование на РШМ – идеальный пример высокоэффективного и экономически целесообразного скрининга онкологических заболеваний. Почему?



- **Высокая заболеваемость ( в мире - более полумиллиона новых случаев в год);**
- **Длительный период предрака ( в среднем –10-15 лет);**
- **В 2011 году пик заболеваемости сместился к более молодому возрасту 35-50 лет (наиболее социально активная часть населения);**
- **В скрининге используются достаточно чувствительные и специфичные тесты (цитологический жидкостной Пап-тест и определение ДНК ВПЧ ВКР с возможностью проведения ко-тестирования в жидкостной цитологии).**

## Актуальность проблемы

**3-е** место среди всех онкологических заболеваний у женщин

**4-е** место среди причин смерти от онкологических заболеваний у женщин



- Ежегодно регистрируют более 0.5 млн. новых случаев РШМ;
- Из 266 000 женщин, погибающих от этой болезни ежегодно, 80% приходится на страны с низким социо-экономическим уровнем и слабо развитой программой скрининга;
- РБ входит в группу стран с высоким уровнем заболеваемости РШМ;
- Неблагоприятный показатель соотношения смертности к заболеваемости указывает на актуальность проблемы улучшения ранней диагностики;
- Существующие системы профилактики и скрининга онкогенных эффектов ВПЧ-инфекции в РБ не эффективны и отстают от темпов прироста заболеваемости преинвазивными формами РШМ, что неминуемо приведёт в дальнейшем к росту заболеваемости и смертности от инвазивных форм;
- В странах, где практикуют эффективные программы организованного скрининга, отмечают ежегодно снижение смертности на 3%;

Основоположник цитологического метода исследования при заболеваниях шейки матки.

В 1928 году Джордж Папаниколау предложил цитологический метод исследования рака шейки матки, в последствии получивший название Пап-теста.

1928 год



*«Я не мог убедить своих коллег в практичности процедуры»*  
Джордж Папаниколау, 1928 год.

# Этиология и патогенез РШМ

1983год



Харальд цур Хаузен-немецкий медик, учёный, лауреат Нобелевской премии в области медицины и физиологии 2008 года за открытие роли папилломавирусов в развитии рака шейки матки.

# Этиология РШМ

Аногенитальные типы HPV, вовлечённые в развитие карциномы и кондилом принадлежат к  $\alpha$ -роду и подразделяются на два основных типа: hr (высокого риска) и lr (низкого риска).



Модель ВПЧ

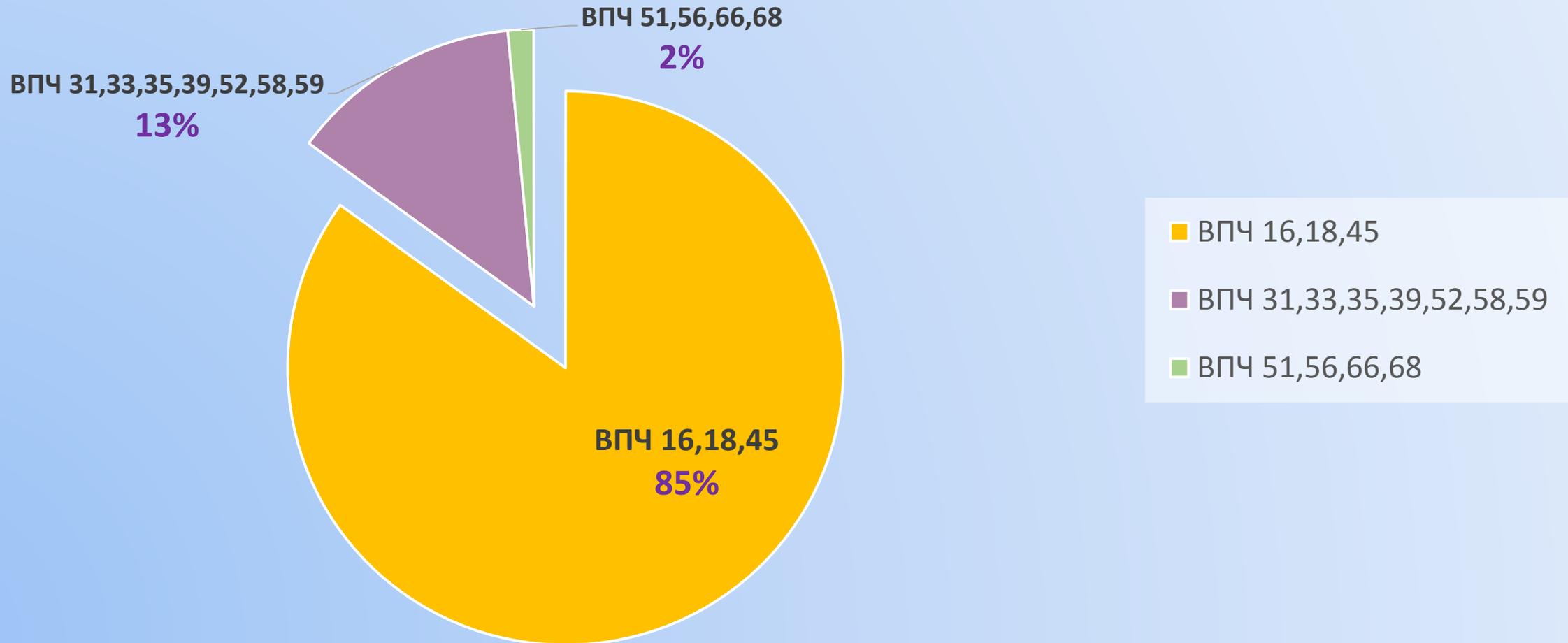
**hr-HPV:**

**16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,59,66,68;**

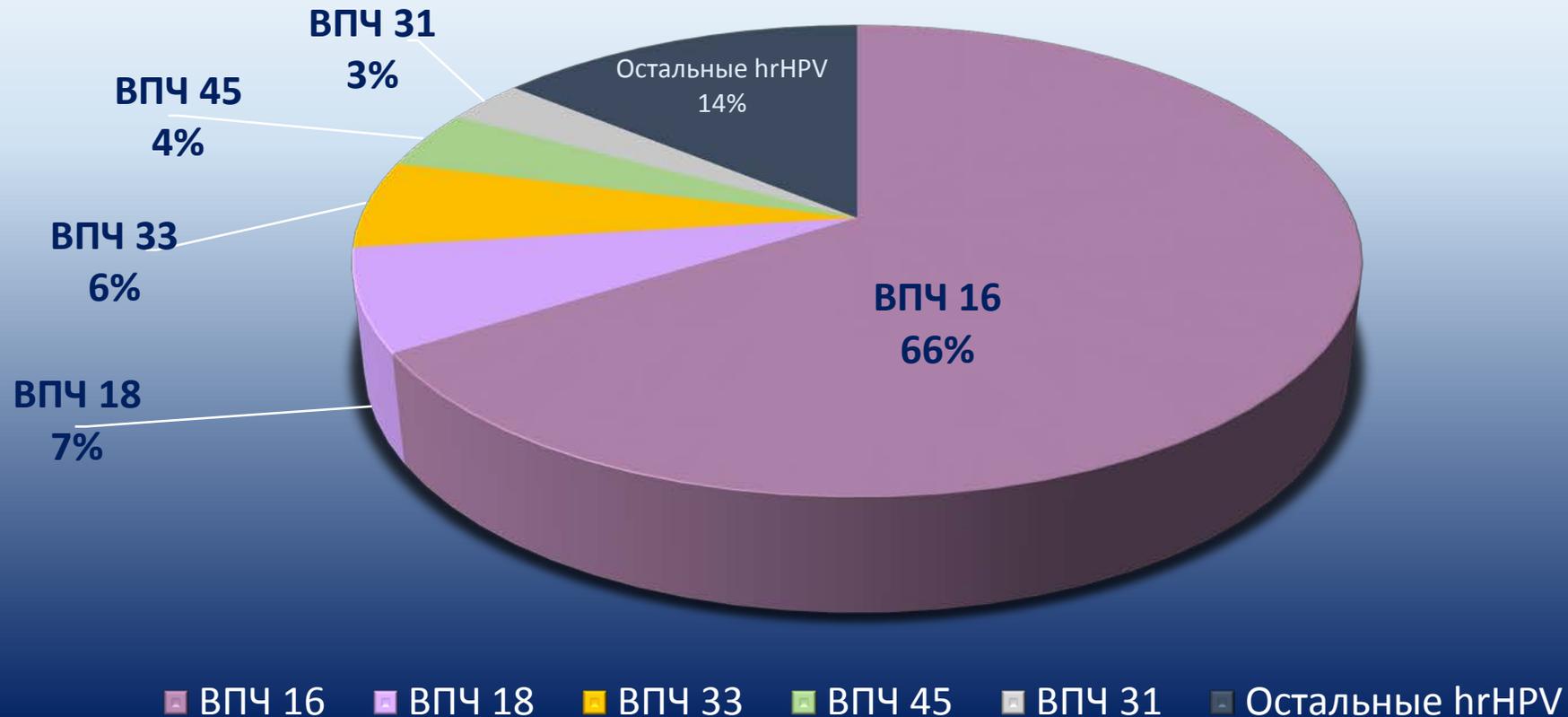
Рак шейки матки связан с длительным персистированием ДНК вируса папилломы человека высокого риска hrHPV (ВПЧ ВКР). hr-HPV16 – основной этиологический фактор плоскоклеточной карциномы;  
hr-HPV18 – основной этиологический фактор

# Роль различных типов ВПЧ ВКР в индукции РШМ

Доля различных типов ВПЧ ВКР в развитии РШМ



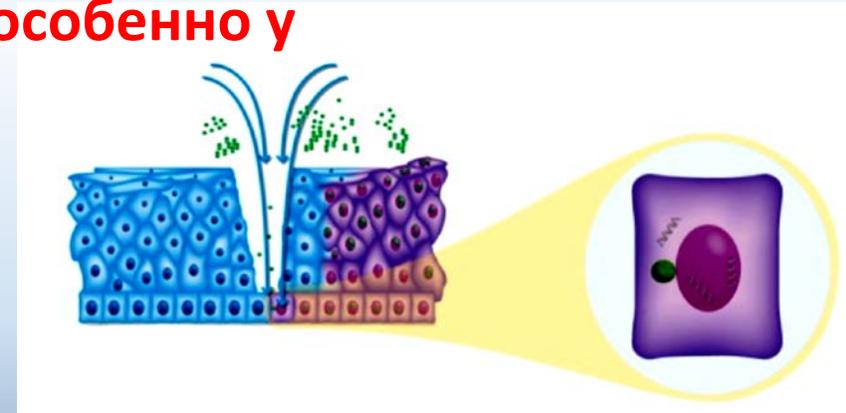
# Частота выявления различных типов hrHPV при цервикальной карциноме в Европе (de Sanjose et al.2010)



# Формы ВПЧ инфекции

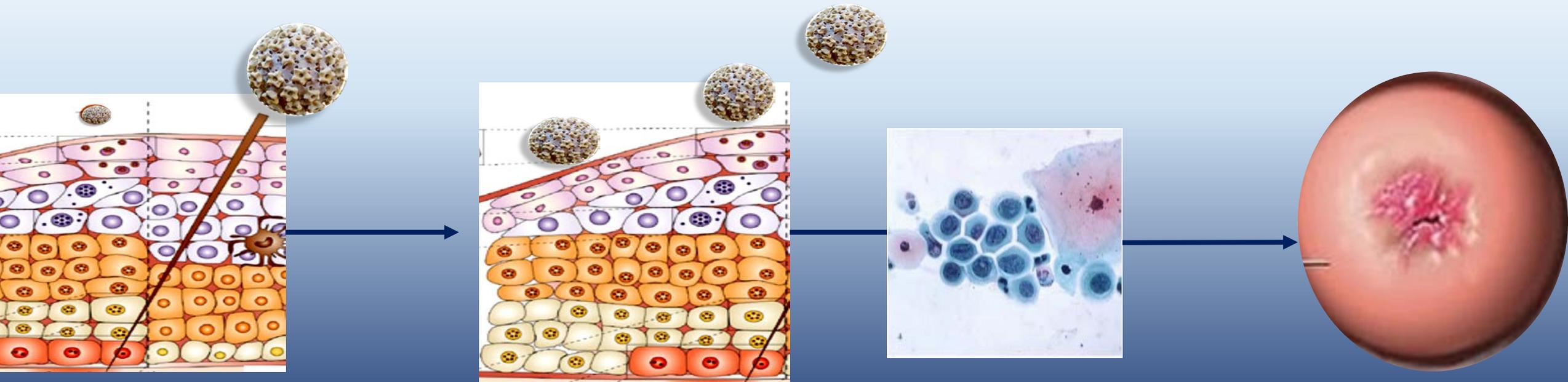
**ВПЧ – чаще (до 90%) транзиторная инфекция (через 12-24 мес. самоэлиминируется), особенно у женщин до 30 лет.**

❖ ВПЧ инфицирует базальный слой эпителия чаще всего в зоне перехода многослойного плоского эпителия в цилиндрический;



- ❖ ВПЧ инфекция протекает протекает в двух формах:
1. Эписомальной (вне хромосом клетки) –доброкачественной формы паразитирования, без повреждения клеточной ДНК
  2. Интрасомальной (интегрированной в геном клетки) – злокачественной формы паразитирования, с повреждением клеточной ДНК.

# Путь злокачественной инфекции от инфицирования ВПЧ ВКР до инвазивной карциномы



Инфицирование  
в возрасте 15-20  
лет

Персистирование более  
2-х лет

Прогрессия в  
предрак (HSIL)  
В течение 10-15-20 лет

Инвазивная  
карцинома  
В возрасте 30-35-40  
лет

# Схема патогенеза РШМ (Харольд цур Хаузен)

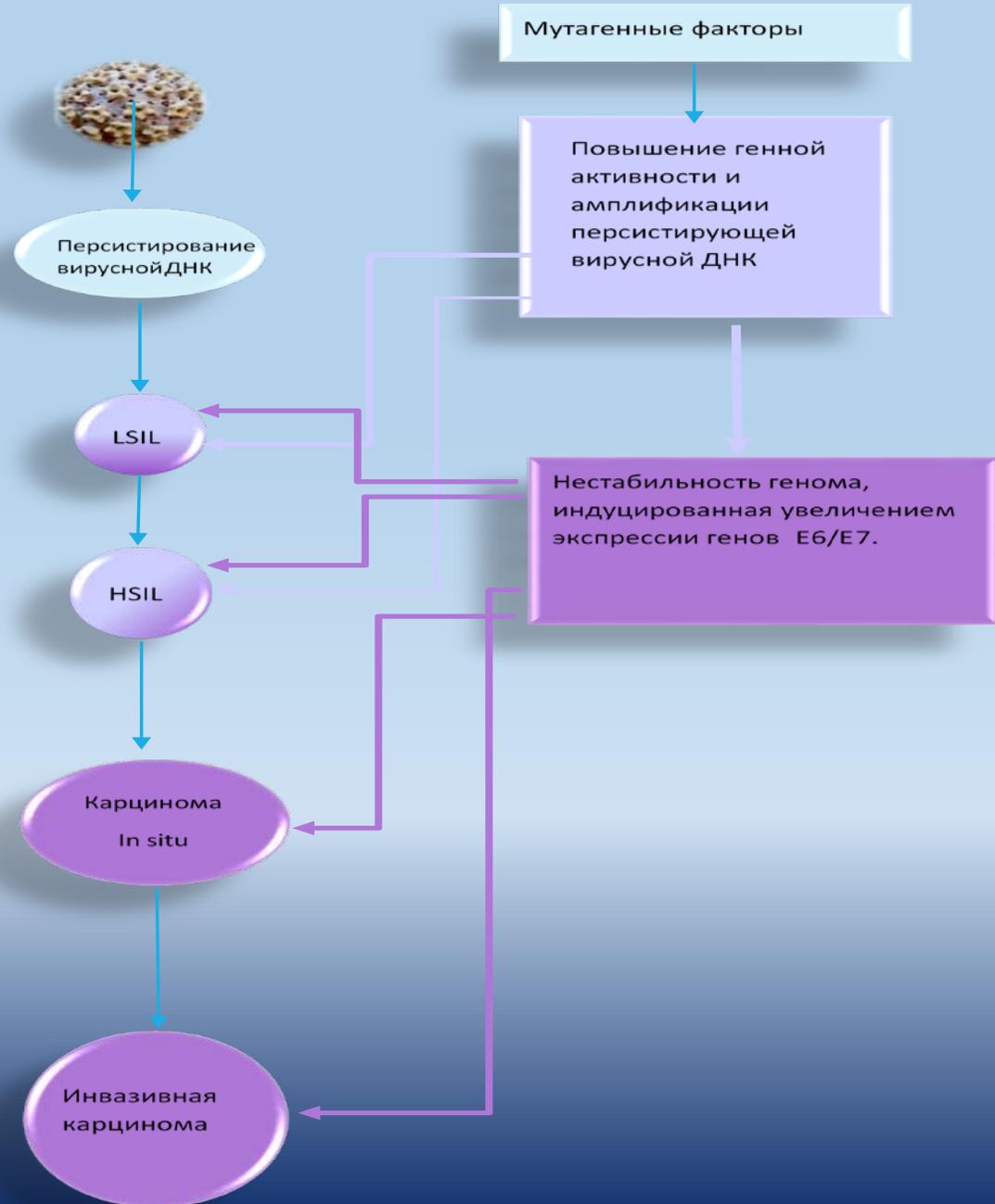
## Мутагенные факторы

Вирусные факторы:

- hrHPV;
- вирусная нагрузка;
- тип вируса.

Другие невирусные факторы:

- 3 и более половых партнёров в течение года;
- Курение;
- Мутагенные инфекции: Herpes simplex, бактериальные и протозойные;
- Генетическая предрасположенность;
- Гормоны;
- Иммуносупрессия;



# Формы ВПЧ инфекции

- **LSIL (CIN 1) – это обратимая стадия инфекции ВПЧ. Ретроспективное исследование Holowaty et al.(1999) показало, что в 62.2% случаев CIN 1 спонтанно регрессирует в течение 9-12 месяцев. Прогрессия в последующие стадии дисплазии отмечается в 25% случаев. Этот процесс, как правило, происходит в течение 5-10-15 лет. Прогрессия CIN 1 зависит от типа ВПЧ, вирусной нагрузки и предрасполагающих факторов.**
  - **ВПЧ 16,18 практически никогда не подвергаются самоэлиминации и характеризуются самым высоким риском прогрессии в CIN2+**
- Итак: LSIL (CIN 1) – в большинстве случаев, доброкачественная форма инфицирования ВПЧ.**
- **HSIL (CIN2+) – это злокачественная форма инфицирования ВПЧ.**

# Роль онкогенных протеинов E6, E7 ВПЧ в неопластической трансформации клеток эпителия.

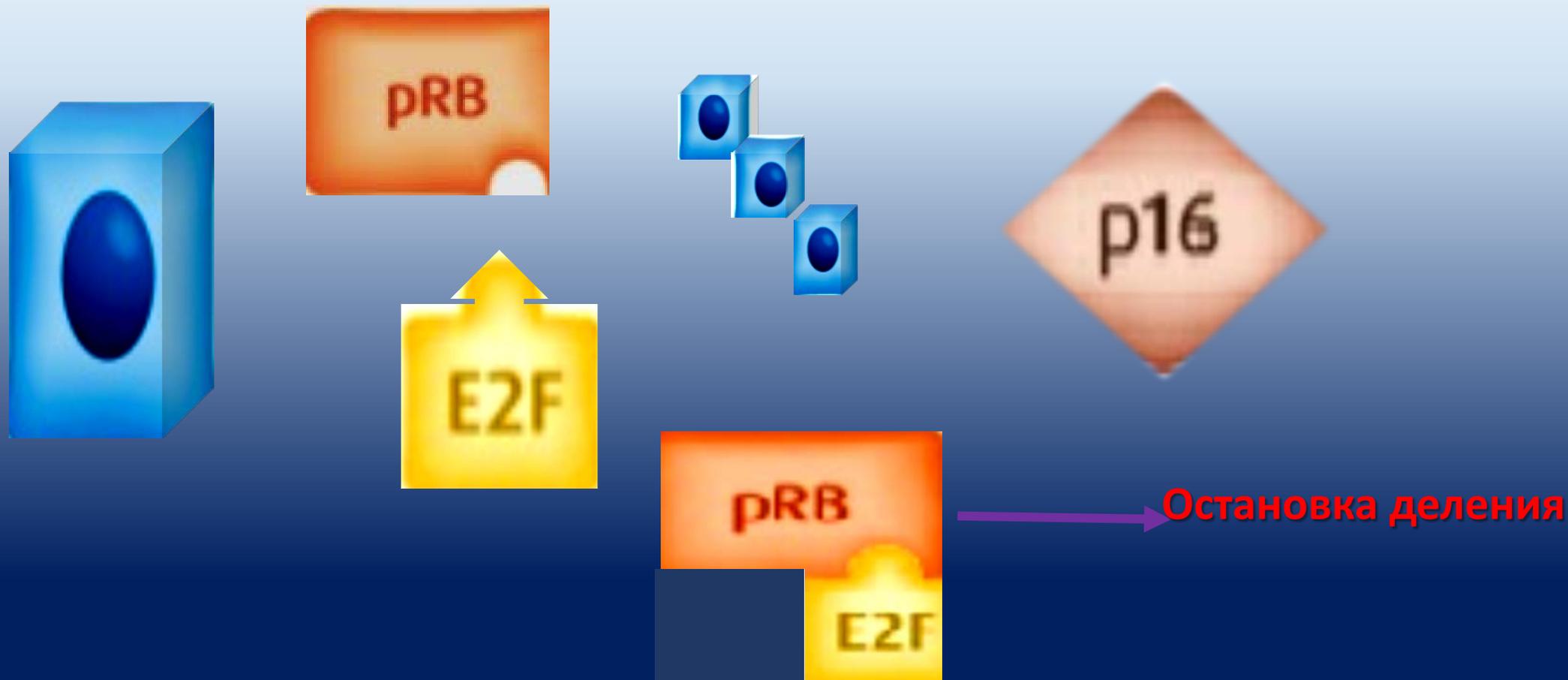
## Онкопротеины E6, E7 ВПЧ ВКР



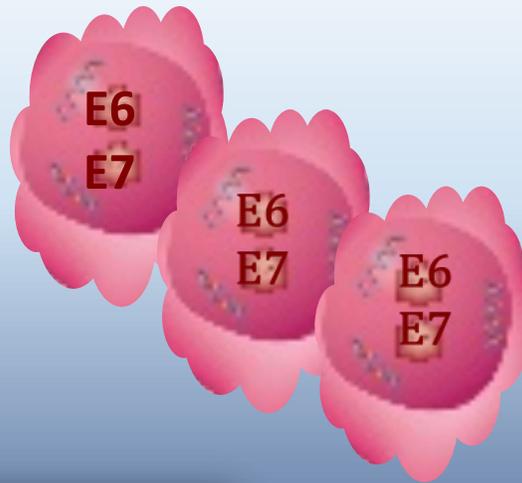
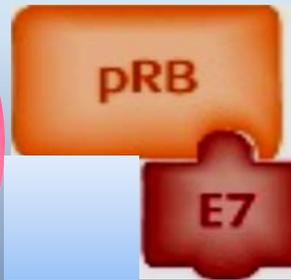
## Маркёры цитоактивной ВПЧ-инфекции

- **P16** – белок, вовлечённый в контроль клеточного цикла;
- **Ki-67** – маркёр пролиферативной активности;
- Одновременная экспрессия **P16/Ki-67(CINtec Plus)** – самый чувствительный и высокоспецифичный тест.
- TOP2A-топоизомераза II $\alpha$  и MCM-2 – белки – маркёры абберантной S-фазы, определяемые коммерческим набором моноклональных антител **ProExC (Becton Dickinson)**.

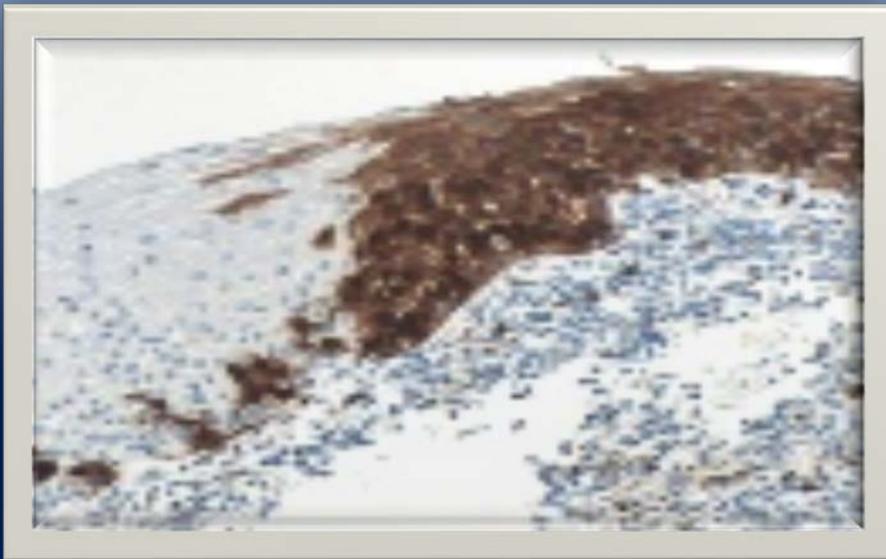
Ключевой механизм в поддержании баланса между пролиферацией и остановкой деления в здоровых клетках.



# Трансформирующая ВПЧ инфекция: онкогенез



**E6 – онкобелок, нарушающий апоптоз трансформированных клеток;**  
**E7 – онкобелок, нарушающий клеточный цикл.**



# Иммуноцитохимическое окрашивание на белок P16.

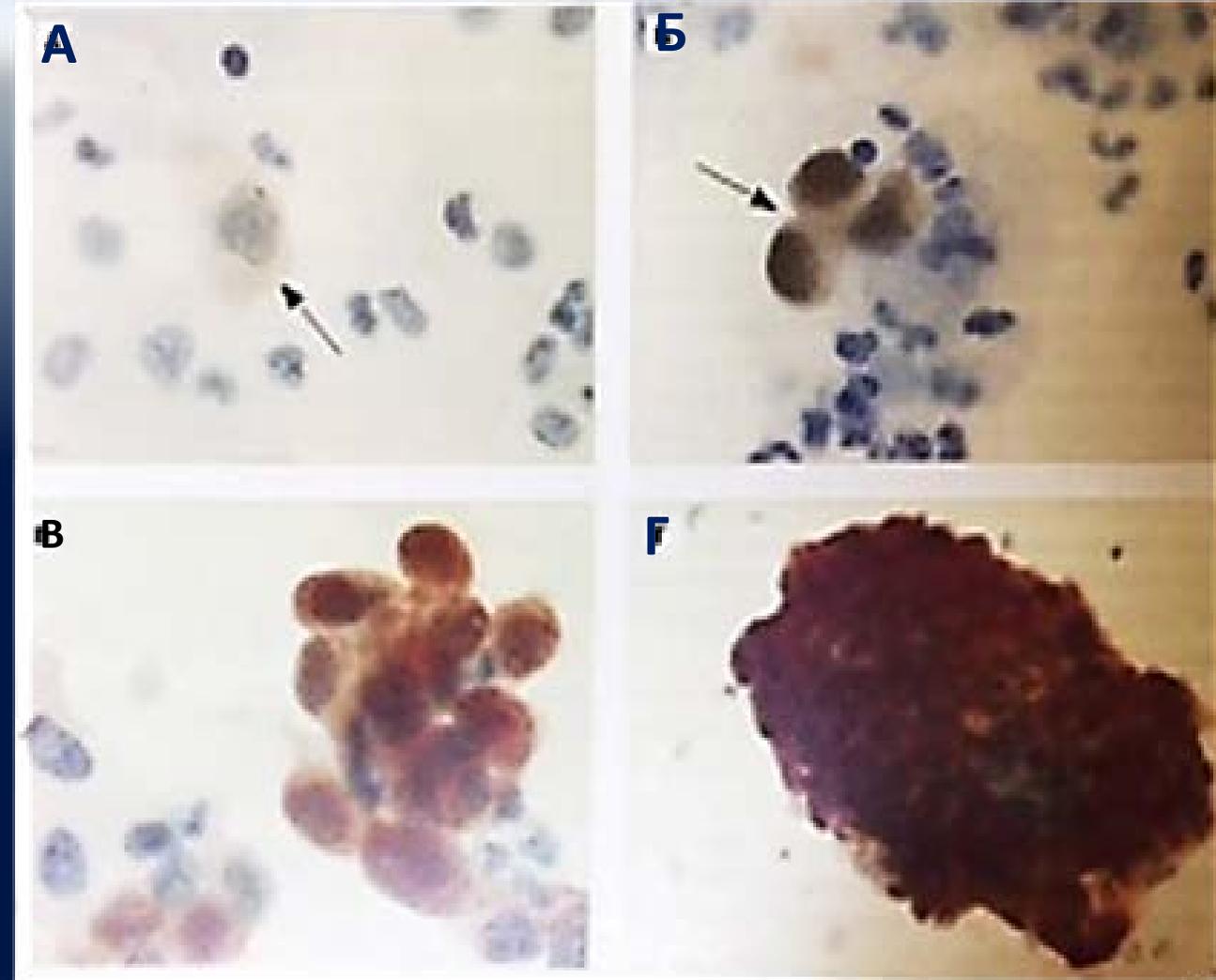
**A-LSIL (CIN I) –  
слабоположительное окрашивание.**

**Б-HSIL (CIN II) – умеренное  
окрашивание.**

**В-HSIL (CIN III) – резко  
положительное окрашивание.**

**Г – HSIL (CIS) – резко положительное  
окрашивание.**

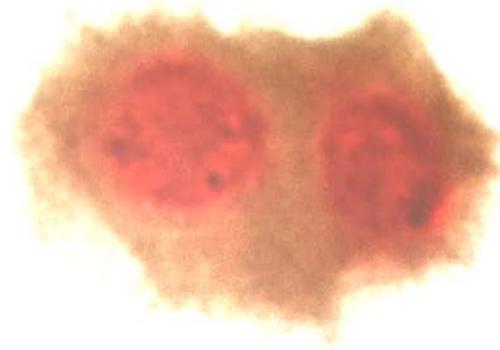
**(И.П.Шабалова, К.Т. Касоян.2016).**



**Двойное окрашивание P16/Ki67 во многих исследованиях показало чувствительность 93%, а специфичность – 98% в скрининге на HSIL(CIN2+).**

**Две клетки с ко-экспрессией белков p16 (коричневое окрашивание цитоплазмы) и Ki67(малиновое окрашивание ядра).**

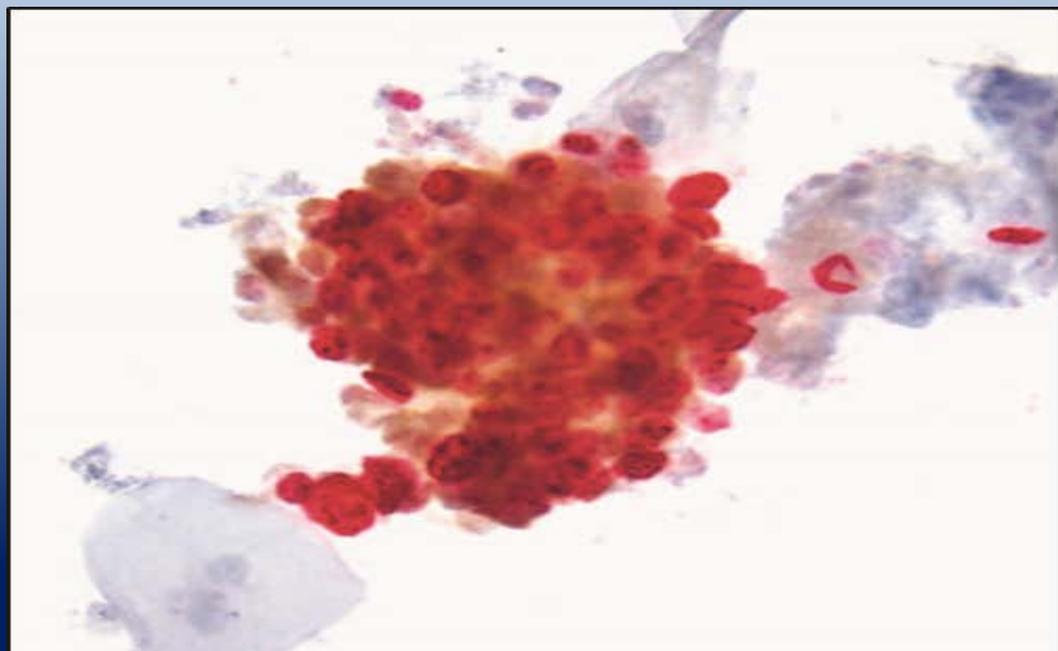
**Жидкостная цитология. BD SurePath.**



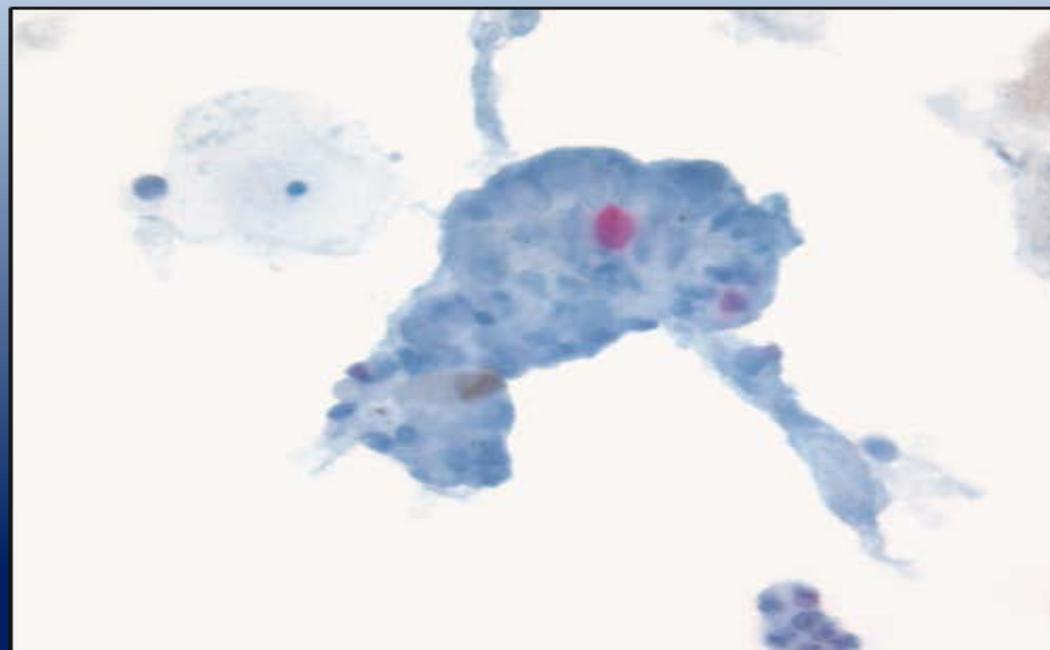
(И.П.Шабалова, К.Т. Касоян.2016).

# Двойное окрашивание p16/Ki67 препаратов жидкостной цитологии

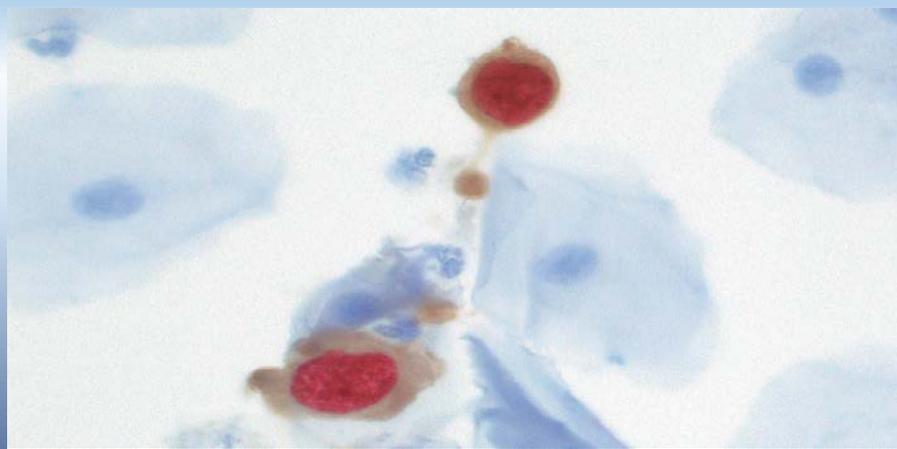
Аденокарцинома in situ



Реактивные изменения



**P16/Ki67**



**Жидкостная цитология.  
BD SurePath. CINtec Plus.**

- 1. Повышает чувствительность выявления HSIL (CIN2+) в жидкостном Пап-тесте с 66% до 93%;**
- 2. Первый инструмент для определения эффективной тактики ведения женщин с цитологическими заключениями ASC-US, LSIL и результатом ко-тестирования NILM/ДНК ВПЧ ВКР+: чувствительность такова, что позволяет выявить 92-95% скрытых в этих диагнозах HSIL, а высокая специфичность уменьшает на 50 -75% число кольпоскопий, поскольку имеет специфичность существенно выше, чем у ВПЧ генотипирования;**

**Обнаружение одной позитивной клетки, окрашенной на P16/Ki67 – показание для кольпоскопии.**



## 1997 год-начало эры жидкостной цитологии

**Becton**

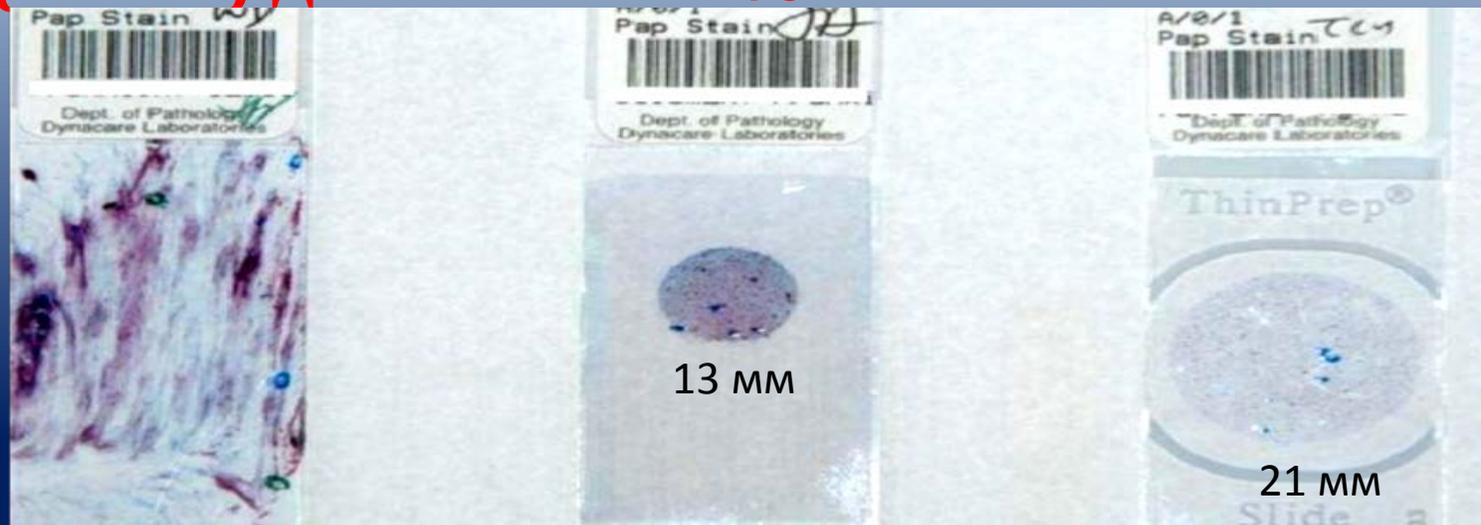
**Dickinson**



BD – медицинская компания - создатель инновационной технологии приготовления цитологического препарата (BD SurePath), позволяющей проводить высокоточную диагностику рака шейки матки на самых ранних стадиях развития неопластического процесса.

*Главные преимущества жидкостных цитопрепаратов от воздушных.*

- **Приготовление цитологических препаратов по технологии ЖЦ практически сводит к нулю количество неинформативных и неадекватных мазков;**
- **ЖЦ позволяет существенно снизить число ложноотрицательных результатов Пап-теста. Чувствительность жидкостного Пап-теста в определении HSIL (CIN2+) достигает 66%.**



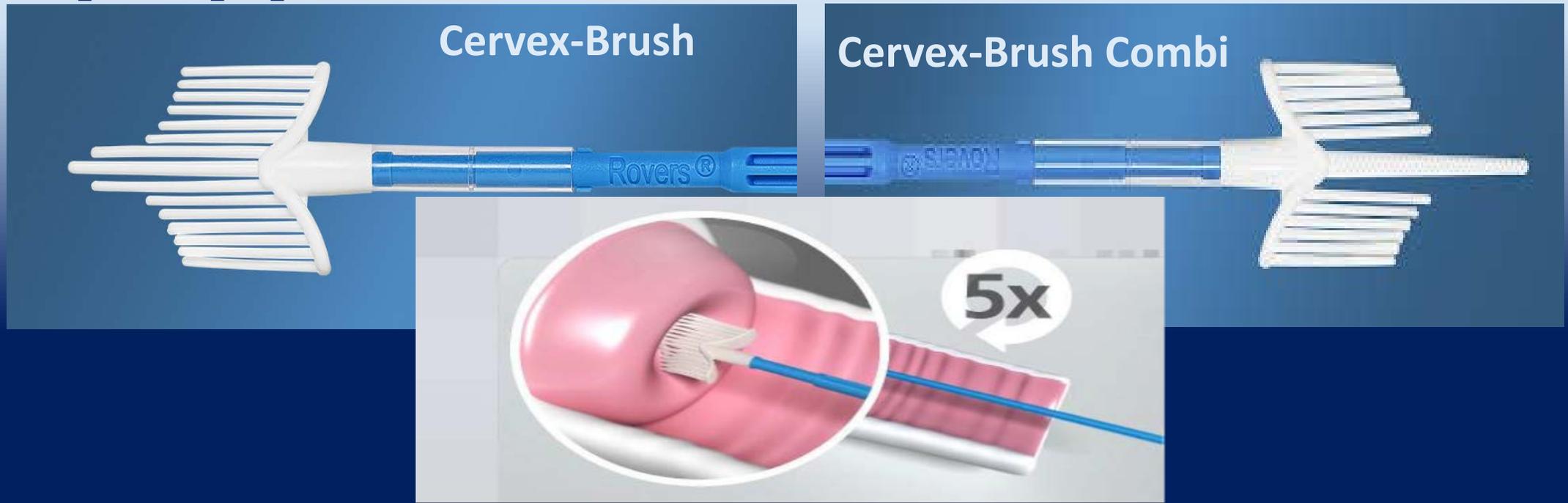
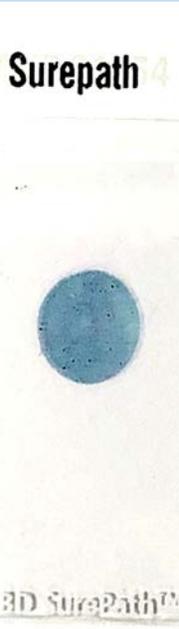
Воздушный

BD SurePath

ThinPrep

# Чем обеспечена высокая диагностическая значимость BD SUREPATH жидкостного Пап-теста

- **100%** собранного клеточного материала переносится равномерным монослоем на стекло, прежде всего благодаря использованию специального инструмента (Cervex-Brush, Cervex-Brush Combi), которые захватывают одновременно экто-, эндоцервикс и зону трансформации.

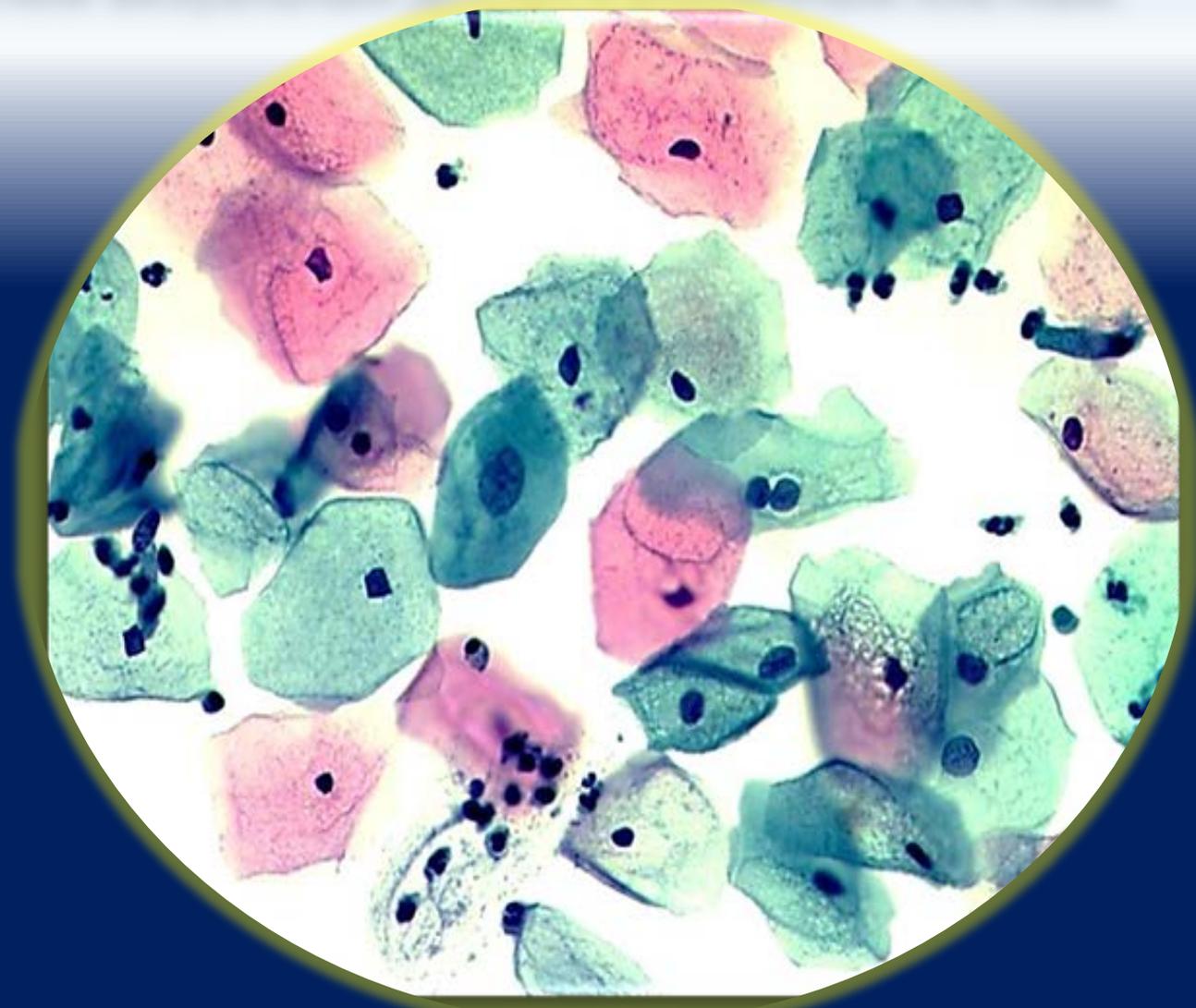


# Чем обеспечена высокая диагностическая значимость BD SUREPATH жидкостного Пап-теста

- **Материал помещают во флакон со стабилизирующим раствором, обеспечивающим быстрое консервирование и абсолютную сохранность морфологических, иммуноцитохимических и молекулярно-генетических свойств клеток в течение длительного времени (до 1 года при  $t$  2-8°). Благодаря предварительной влажной фиксации, живые клетки, сразу помещённые в консервирующий раствор, полностью сохраняют свой естественный размер. Клеточные структуры не подвергаются дегенерации, которая всегда происходит при высушивании мазков на воздухе;**
- **В стабилизирующем растворе полностью удаляется слизь, лизируются эритроциты, затрудняющие просмотр клеток и структур;**



Самое главное достоинство жидкостных препаратов – лёгкий визуальный доступ к атипичным клеткам.

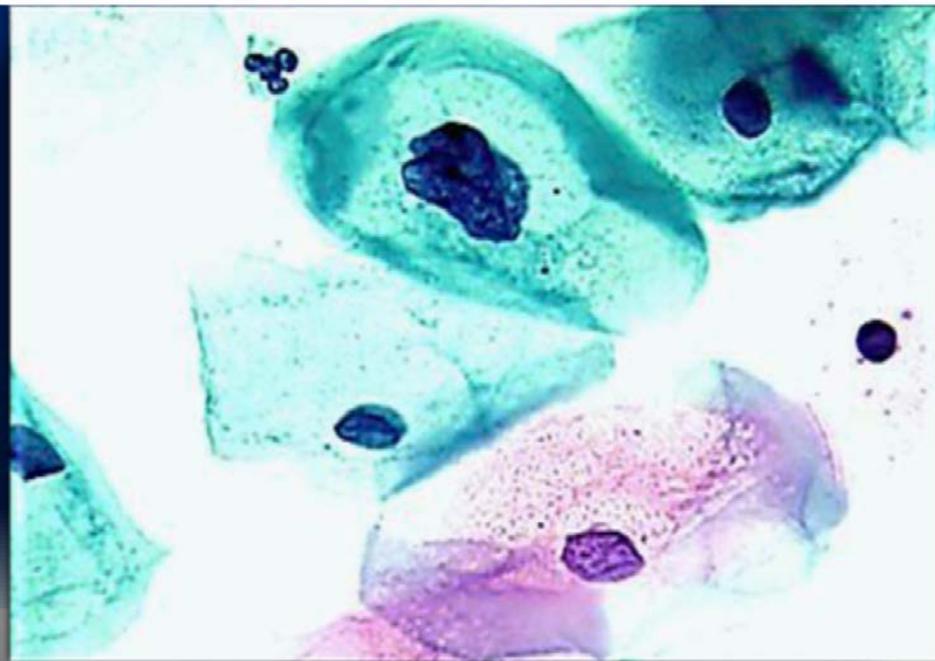


Самое главное отличие жидкостных цитологических препаратов BD SurePath – изолированное размещение клеток в монослое с минимальным размером диагностического окна, на светлом фоне, что обусловлено отсутствием эритроцитов, фибрина, слизи, разрушенных клеток, которые удаляются на этапе клеточного обогащения.

**Жидкостная цитология. BD SurePath. МедАрт**

**Основное преимущество окраски жидкостных препаратов по Папаниколау.**

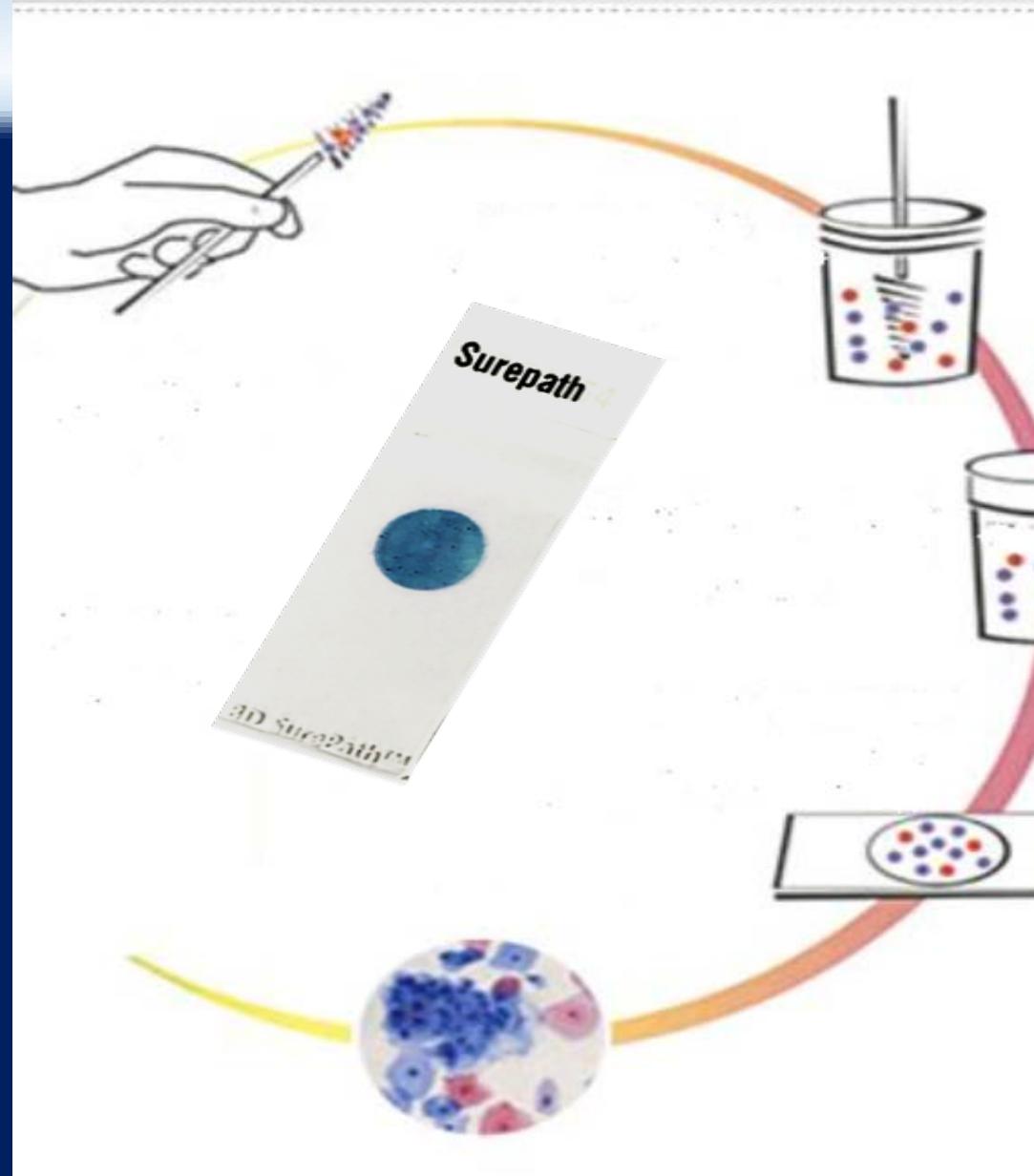
- **Значительно лучше просматриваются ядерные структуры: размер, окраска, ядерная мембрана, хроматин и ядрышки. Легче идентифицируются ядра атипичных клеток, что существенно поднимает чувствительность Пап-теста.**



Койлоцитарная  
атипия  
ЖЦ.ВД SurePath.  
МедАрт

## Основные преимущества BD SurePath Пап-теста

1. Снижение числа неудовлетворительных препаратов до 1% (Moss, S., 2002)
2. Снижение ложноотрицательных результатов;
3. Снижение числа диагнозов ASC-US;
4. Оптимальный лёгкий визуальный доступ к атипичным клеткам с возможностью компьютерной обработки изображений;
5. **Возможность проведения ко-тестирования с ДНК ВПЧ ВКР, Chlamidia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae;**
6. Оптимальная платформа для проведения иммуоцитохимических и молекулярно-генетических исследований;
7. Существенно улучшилась диагностика патологии железистого эпителия, относительная доля которого в последние два десятилетия существенно возросла. (R. Nayyar, 2015.).

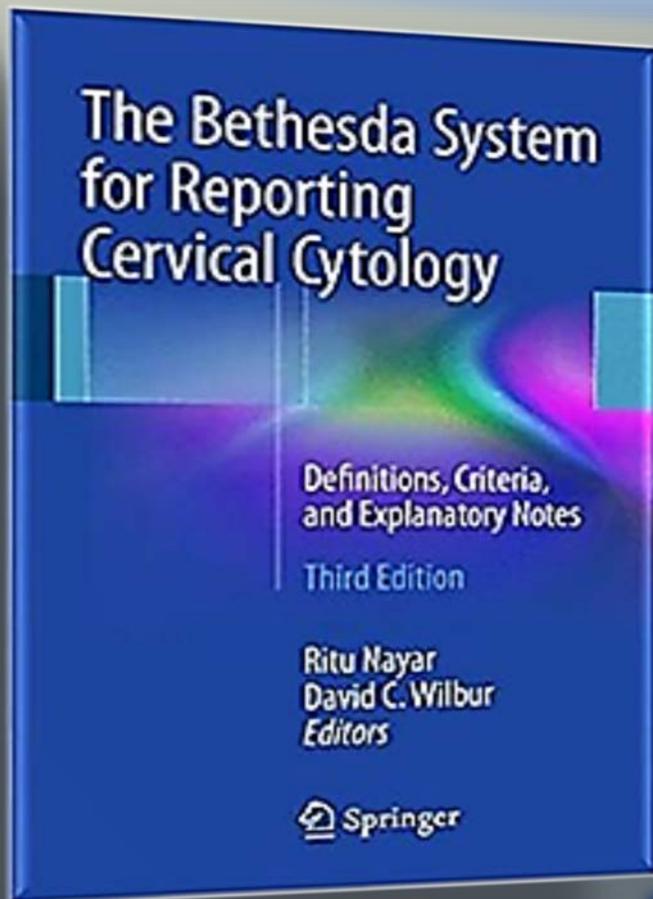


# Главное преимущество жидкостного BD SurePath Пап-теста

**Жидкостная цитология по технологии BD SurePath – единственный Пап-тест на сегодняшний день, позволяющий увеличить, по сравнению с традиционным воздушным, диагностику HSIL+ на 64.4%.**

«Библия» современного цитопатолога - терминологическая система Бетезда-2014 (TSB-2014)

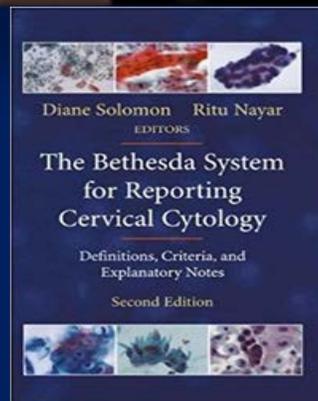
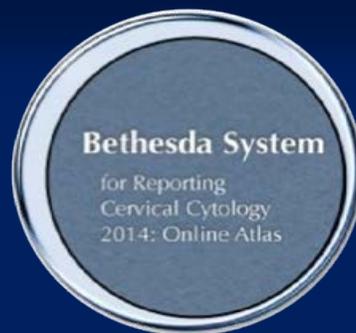
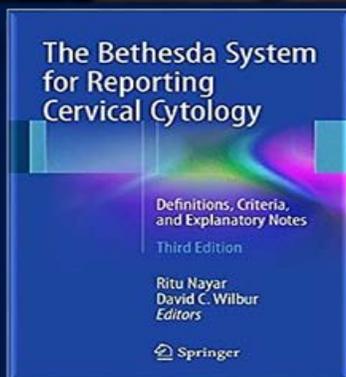
**1988...2014...**



В настоящее время TSB-2014 рекомендована во всём мире, как наиболее оптимальная терминологическая цитологическая классификация патологических изменений шейки матки, которая составляет основу формирования цитологического заключения.



Доктор Риту Найар (в центре) – президент Американского общества цитопатологов, сформировала в 2014 году целевую группу, которая через интернет-ресурс принимала уточнения по терминологической системе от цитопатологов из 59 стран мира. Результатом совместных усилий стала TBS-2014 и 3-е издание атласа Бетезда, как основного документа, регламентирующего формирование цитологического заключения.



## Фундаментальные принципы TSB-2014.

Фундамент TBS - двухуровневая система для описания плоскоклеточных интраэпителиальных поражений:

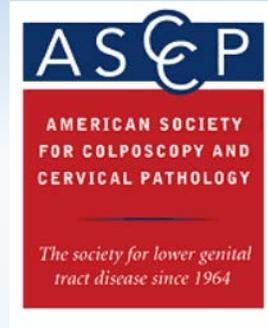
**LSIL** и **HSIL**, которая полностью отражает биологию вирус-эпителиальных взаимоотношений.

- Должна быть клинически значимой для врача (риск-адаптированные категории с соответствующими рекомендациями по алгоритмам ведения);
- Должна быть единой, унифицированной, воспроизводимой в различных цитологических лабораториях;
- Должна базироваться на знаниях об этиологической роли ВПЧ и понимании процесса канцерогенеза;

# Неизменная структура TSB



Одна из важнейших причин пересмотра последнего пересмотра TSB.



- **Разработка и внедрение новых алгоритмов цервикального скрининга, основанных на ко-тестировании женщин старше 30 лет, предусматривающем цитологическое исследование совместно с ВПЧ-тестированием (ASCCP, 2012);**

Риск-адатированные алгоритмы, соответствующие определённому возрасту построены на принципах доказательной медицины с высоким уровнем доказательности, т.е. менеджмент пациентов проводится по схемам, разработанным по результатам мета-анализа многочисленных рандомизированных контролируемых исследований.

# Главное преимущество ко-тестирования.

- Тестирование на ДНК ВПЧ ВКР имеет более весомую прогностическую значимость в оценке развития CIN2+ в ближайшие 5-15 лет, чем Пап-тест. Ко-тестирование ДНК ВПЧ ВКР/Пап-тест обладает высокой чувствительностью и позволяет увеличить скрининговый интервал, что приводит к минимизации таких негативных эффектов, как психоэмоциональный дискомфорт при положительных тестах, дополнительные визиты к гинекологу и затраты на дообследования и неоправданные лечебно-диагностические мероприятия.

# Основные требования к тактике цервикального скрининга:



- Должна быть максимально эффективной, т.е. обеспечивать выявление скрытых HSIL, близкое к 100%
- Должна быть возраст специфической и учитывать анамнез заболевания;
- Должна быть риск адаптированной, что означает соответствие лечебно-диагностической тактики риску развития инвазивной карциномы, т.е.:
- Должна обеспечивать минимальный вред, сопряжённый со скринингом.

# Алгоритмы 2012 года. Что нового?

- ❖ Интервалы скрининга;
- ❖ Возраст специфические стратегии скрининга;
- ❖ Тактика при дискордантных результатах ко-тестирования:  
NILM/ДНК ВПЧ16/18+ и ASC-US/ДНК ВПЧ16/18-;
- ❖ Возраст и условия окончания скрининга;
- ❖ Скрининг ВПЧ-вакцинированных;
- ❖ Оценка возможности проведения первичного ВПЧ-тестирования или стратегия ВПЧ-сортировки.

# Начало скрининга.

- Скрининг на рак шейки матки необходимо начинать с 21 года, не зависимо от возраста начала половой жизни или наличия факторов риска. Превентивные меры у подростков должны быть сфокусированы на ВПЧ-вакцинации, которая оказывается весьма эффективной и экономически оправданной, при её проведении до начала половой жизни. Важны и другие меры профилактики, которые затрагивают вопросы планирования семьи, контрацепции, предупреждения инфекций, передающихся половым путём и т.д.

Интервалы скрининга. Оптимальный интервал – временной промежуток, за который CIN2+, гарантированно не проявится или не прогрессирует в CIN3+;

Ежегодный скрининг не приемлем;

- Интервалы скрининга зависят от возраста и клинического анамнеза.

**Женщины в возрасте от 21 года до 29 лет:**

Метод скрининга	Временной интервал
Только Пап-тест	1 раз в 3 года

ВПЧ-ВКР тестирование не проводят.

Возраст специфические интервалы  
скрининга:

**Женщины в возрасте от 30 до 65 лет:**

Метод скрининга	Временной интервал
Ко-тестирование (предпочтительно)	1 раз в 5 лет
Пап-тест (приемлемо)	1 раз в 3 года

Почему ко-тестирование считают предпочтительным:

- **Ко-тестирование с периодичностью 1 раз в 5 лет позволяет улучшить диагностику CIN2+ и, одновременно уменьшить количество первичных диагнозов CIN3+, в сравнении с цитологией, проводимой 1 раз в 3 года;**
- **Ко-тестирование существенно улучшает диагностику злокачественных поражений железистого эпителия: аденокарцином и предраковых состояний (по данным исследования Katki et al 2011) . 63% всех случаев аденокарцином диагностируют в 5-летний период после результата ко-тестирования ДНК ВПЧ ВКР16/18 +/-NILM.**

# Дискордантные результаты ко-тестирования.



## NIIM/ДНК ВПЧ ВКР+

Не прибегать к немедленной кольпоскопии!

Алгоритм	Тактика
<u>Повторное ко-тестирование через 12 мес:</u> -положительно (цитология или ДНК ВПЧ ВКР)	Кольпоскопия
-отрицательно (цитология и ДНК ВПЧ ВКР)	Рутинный скрининг
<u>ВПЧ16 или ВПЧ16/18 генотипирование:</u> ВПЧ16 или ВПЧ18 положительно	Кольпоскопия
ВПЧ16 и ВПЧ18 отрицательно	Повторить ко-тестирование через 12 мес.

# Риск развития CIN2+ в ближайшие 5 лет при NILM/ДНК ВПЧ ВКР+

ДНК ВПЧ ВКР тест	Цитология	
	NILM	ASC-US или LSIL
ДНК ВПЧ ВКР -	0-1%	0.28-1.9%
ДНК ВПЧ ВКР+	1.8-4%	18%
ВПЧ16/18+	10%	18-40%

CINtec Plus  
p16/Ki67



Чувствительность

Специфичность

Дискордантные результаты ко-тестирования.



## ASC-US/ДНК ВПЧ ВКР-

*Рутинный скрининг соответственно*

*возрасту, т.к.:*

Риск развития CIN2+ в ближайшие 5 лет – 0.28%-1.9%.

CINtec Plus  
p16/Ki67



Чувствительность

Специфичность

## Прекращение скрининга:

Категория пациенток	Критерии
Женщины > 65 лет	За последние 20 лет в анамнезе нет CIN2+
После гистерэктомии	Удалена шейка матки по причинам, не связанным с CIN2+

*Прерванный скрининг, в рамках этой категории, не возобновляется.*

Наличие в анамнезе CIN2+ ,или  
аденокарциномы in situ, или  
саморазрешившегося CIN I

***Скрининг продолжается в течение  
20 последующих лет, даже, если  
женщина старше 65 лет.***

# Возможна ли ВПЧ-сортировка?

Специалисты ASCCP в настоящее время не видят альтернативы ко-тестированию с периодичностью 1 раз в 5 лет или Пап-тесту с периодичностью 1 раз в 3 года для женщин старше 30 лет, так как ко-тестирование улучшает диагностику CIN2+ на 2-5% в сравнении с самостоятельным ДНК ВПЧ ВКР тестом и позволяет избежать неоправданных кольпоскопий, которые неизбежно последуют после получения положительного ДНК теста из-за низкой его специфичности.

# Тактика скрининга среди ВПЧ-вакцинированных

Практические рекомендации по возрасту вступления в скрининг, временным интервалам и технологиям скрининга, остаются одинаковыми, как для вакцинированных, так и для тех, кто не проводил специфической профилактики. Основными причинами, не позволяющий изменять тактику скрининга для вакцинированных, являются следующие:

- низкий охват специфической профилактикой женского населения;
- Современные вакцины направлены только против ВПЧ16/18;
- Есть вероятность инфицирования до проведения специфической профилактики.

Основное требование к диагностическому  
тесту в гинекологическом скрининге

**Высокая чувствительность+**

**высокая специфичность=**

**BD SUREPATH +ДНК ВПЧ ВКР+**

*CINtec PLUS*

Современный подход к алгоритмам  
скрининга рака шейки матки

***Ко-тестирование Жидкостной Пап-  
тест/ ДНК ВПЧ ВКР***

***+***

***Система Бетезда (TBS-2014)  
+ иммуноцитохимия (p16+Ki67),  
proExC.***

