

ЦЕРВИКАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ: МЕНЯЕМ ИДЕОЛОГИЮ КОМБИНИРОВАННОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ В АЛГОРИТМЕ ЦЕРВИКАЛЬНОГО СКРИНИНГА

Автор: Галина Николаевна Минкина, проф., докт. мед. наук, проф. кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета Московского государственного медико-стоматологического университета (Москва)

Копирайтинг: Татьяна Рябинкина

Рак шейки матки — одна из многочисленных нозологий, заболеваемость по которым с каждым годом в большинстве стран постепенно растёт, и основная тому причина кроется в эпидемиологических и экологических особенностях современного мира. Так, это новообразование остаётся третьей наиболее распространённой злокачественной опухолью у женщин в мире и четвёртой по частоте причиной смерти от онкологических заболеваний женского населения.

Тем отраднее тот факт, что на фоне общего роста заболеваемости в мире происходит парадоксальное снижение смертности от рака шейки матки. Связано это, безусловно, с совершенствованием диагностических методик, в первую очередь — со сменой парадигм диагностики. На смену традиционному Пап-тесту приходит идеология комбинированного скрининга: для повышения чувствительности и специфичности цитология становится жидкостной и сочетается с ВПЧ-тестированием. Журнал SP с большим удовольствием публикует статью по вопросам цервикального скрининга одного из самых вдумчивых и информированных специалистов страны — проф. Галины Николаевны Минкиной.

Уже более полувека одним из основных методов цервикального скрининга (к сожалению, во многих случаях единственным) служит традиционное цитологическое исследование цервикальных мазков (Пап-тест*). Современные оценки его результативности не особенно впечатляют: по данным австралийского метаанализа, чувствительность метода не превышает 60%. Установлено, что каждый третий случай рака шейки матки (30%) обнаруживают у женщин, регулярно проходивших цитологический скрининг, по причине ложноотрицательных результатов.

Причины ложноотрицательных цитологических результатов известны. В первую очередь, это неправильный забор материала (неадекватный отбор проб из эндоцервикса и недостаточный захват зоны трансформации), неполный его перенос на стекло, плохо приготовленный неинформативный мазок, «загрязнённый» эритроцитами, элементами воспаления и скоплением клеток. Не менее важное значение имеет также субъективность цитолога при выявлении патологических клеток. Печальный результат подобных технических неточностей в отборе, приготовлении образцов и их интерпретации 4,5 — треть своевременно нераспознанных случаев цервикального рака.

Все перечисленные аргументы послужили прямой причиной для разработки и внедрения новой методики — жидкостной технологии приготовления цитопрепаратов, а также компьютеризированного скрининга, облегчающего интерпретацию препарата.

С ТОЧНОСТЬЮ ДО КЛЕТКИ

Жидкостная цитология подразумевает размещение материала с шейки матки не на стекле, а в транспортной жидкости. Так получают клеточную суспензию, дальнейшая работа с которой происходит в лаборатории и в зависимости от оборудования полностью или частично автоматизирована. За последнее десятилетие в мире были внедрены в практику различные системы для жидкостной цитологии, одни более, другие менее эффективные, однако все они объединены одной общей чертой: при их использовании чувствительность выявления цервикальных поражений выше, чем у предшествующей традиционной технологии Пап-теста, а неадекватные образцы, непригодные для анализа, — гораздо более редкое явление.

Ещё один шаг вперёд — компьютеризированный скрининг. Международная компания BD («Бектон, Дикинсон энд Компани»), разрабатывающая медицинское оборудование, предложила тандем технологий для компьютеризированного цервикального скрининга: жидкостную технологию для цервикального скрининга BD SurePath и систему визуализации цитологических образцов BD FocalPoint.

Суть технологии BD SurePath заключается в том, что весь материал, полученный с шейки матки посредством щёточки, переносят не на стекло, как в случае приготовления традиционного мазка, а вместе со съёмной головкой собирающего устройства погружают во флакон с консервирующей жидкостью и отправляют в лабораторию. Важное преимущество этого метода — все собранные клетки переходят в суспензию и в дальнейшем пропорционально — в микропрепарат, тогда как в традиционной цитологии на предметное стекло попадает не более 20% клеточного материала. Как показали исследования, если инструмент для взятия мазка утилизировать, а не отправить в лабораторию, то можно потерять до 37% клеточного материала, в основном за счёт эндоцервикальных клеток.

Консервирующая жидкость обеспечивает полноценную фиксацию материала, защищает его от микробной контаминации и сохраняет морфологические и иммуноцитохимические свойства в условиях, оптимальных для транспортировки и дальнейшего исследования. Используемая консервирующая жидкость основана на этиловом спирте, не обладает канцерогенными и самовоспламеняющимися свойствами и не требует специальных мер обращения. Срок хранения материала во флаконе — 4 нед. при комнатной температуре и 6 мес. — в холодильнике.

НА ГРАНИ РОБОТЕХНИКИ

Следующий этап — компьютеризированный скрининг. Технология BD FocalPoint получила одобрение FDA США (Управления по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными препаратами США) для первичного скрининга жидкостных цитологических препаратов, полученных по описанному выше методу, в декабре 2008 года и сейчас её широко используют в скрининговых программах. В условиях лаборатории из присланной суспензии клеток с использованием аппарата BD PrepStain готовят стандартный цитологический препарат. Во время его подготовки оборудование автоматизированно удаляет кровь, слизь и элементы воспаления, а концентрированные эпителиальные клетки распределяет на предметном стекле в виде монослоя на участке диаметром 13 мм. Эта же система окрашивает мазок в соответствии с модифицированным Пап-методом. Все процессы проходят автоматически, что обеспечивает стандартизированные результаты максимально высокого качества.

Далее партию цитопрепаратов помещают в аппарат (Slide Profiler) системы FocalPoint для компьютеризированного скрининга — работа в лаборатории не прекращается и ночью, без участия сотрудников. Устройство выбирает в каждом мазке 10 полей зрения, наиболее вероятно содержащих аномальные клетки, и представляет их на рассмотрение цитологу.

Поля зрения, подлежащие рассмотрению цитологом, с использованием автоматизированного предметного столика микроскопа предъявляются в порядке, основанном на уменьшающихся показателях, т.е. поле зрения с самой высокой вероятностью патологических изменений будет рассмотрено первым. Цитолог контролирует продвижение к очередному полю зрения, используя мышь или ножную педаль. Если в любом из 10 полей зрения обнаружена аномалия, специалист просматривает препарат полностью. Суммируя в целом, можно назвать следующие преимущества объединённого использования технологий подготовки жидкостного цитологического препарата, аппаратного приготовления мазка и компьютеризированного скрининга по сравнению с традиционным цитологическим исследованием:

- доля неудовлетворительных (неадекватных) мазков меньше на 95%, что обеспечивает экономические преимущества и удобно как для пациентов, так и для лабораторий;
- низкое соотношение числа неопределённых заключений к числу заключений о наличии поражений (минимизация соотношения ASCUS/SIL*), что позволяет получить более точные цитологические заключения;
- уровень выявления поражений высокой степени, особенно железистых, выше;
- скрининговое время, необходимое для интерпретации мазка врачом, в 5 раз меньше, что значительно повышает продуктивность лабораторий.

* Сокращённое название мазка Папаниколау. Георгиос Папаниколау предложил новый метод диагностики рака шейки матки в 1928 году. С самого начала суть теста заключалась в заборе клеточного материала с шейки матки с последующим переносом его на стекло и микроскопией.

Внедрение жидкостной цитологии представляет интерес ещё и потому, что позволяет проводить дополнительные анализы, используя однократно полученную суспензию клеток и, прежде всего — на присутствие типов вируса папилломы человека высоко-го канцерогенного риска (ВПЧ-ВР).

Данные рандомизированных контролируемых исследований и метаанализа когортных исследований с высокой степенью достоверности свидетельствуют о том, что ВПЧ-тестирование — более чувствительный метод выявления предраковых изменений шейки матки и инвазивного рака (цервикальных интраэпителиальных неоплазий [CIN] II и III, аденокарциномы *in situ*, инвазивного рака), чем цитологическое исследование.

Практически все случаи CIN II и выше обусловлены персистирующей инфекцией — одним из 14 типов ВПЧ-ВР18,19. В клиническую практику уже внедрены чувствительные молекулярные тесты на ВПЧ-ВР, однако их полезность как изолированного самостоятельного скринингового инструмента ограничена: этот тест обнаруживает в том числе транзиторные инфекции, особенно у молодых женщин, и поэтому он имеет в 6 раз меньшую специфичность, чем цитологическое исследование.

Тестирование на ВПЧ-ВР в настоящее время применяют в США и Европе у женщин со слабыми цитологическими атипиями (ASCUS), а также как дополнение к цервикальному цитологическому исследованию у пациенток в возрасте от 30 лет. При диагностированных ASCUS в случае отрицательного результата на ВПЧ-ВР женщина получает уверенность в том, что у неё нет значительных цервикальных поражений; это снижает число ненужных кольпоскопий и увеличивает экономическую эффективность скрининга. И тем не менее даже у женщин с ASCUS клиническая значимость тестирования на ВПЧ-ВР ограничена. Как выясняется, в среднем 43% таких пациенток имеют положительный результат по ВПЧ-ВР, тогда как поражения CIN II и выше, можно выявить только у каждой четвёртой из них (10,3%). Соответственно, необходимо дальнейшее распределение женщин с ASCUS и положительными результатами по ВПЧ-ВР по группам риска, чтобы избежать излишних направлений на кольпоскопию и интенсивного наблюдения тех, кому это не нужно. У женщин в возрасте от 30 лет с нормальной цитологической картиной (NILM — негативной в отношении интраэпителиальных поражений и злокачественности) при положительных результатах на ВПЧ-ВР следует повторить цервикальное цитологическое исследование и тест на ВПЧ-ВР через 12 мес. Тем не менее такой подход порождает значительное беспокойство у женщин с положительными результатами на носительство вируса высокого онкогенного риска и может вести к запаздыванию лечения пациенток с предраковыми поражениями, у которых получены ложнонегативные цитологические результаты. Таким образом, для определения риска у ВПЧ-ВР-положительных женщин с нормальной цитологической картиной (NILM) нужна более детальная информация, например о конкретных типах ВПЧ.

Как известно, два из 14 генотипов ВПЧ-ВР — ВПЧ-16 и ВПЧ-18 — ответственны за большинство (две трети) случаев инвазивного рака. Большая доля заболеваемости раком шейки матки приходится на ВПЧ-16 — 50–60%, тогда как на ВПЧ-18 — 10–12%. Соответственно, именно определение двух этих генотипов вируса может обеспечить клинически достаточный критерий и идентифицировать женщин, имеющих наибольший риск CIN II и выше.

ДВА В ОДНОМ

Стратегия генотипирования ВПЧ в контексте ВПЧ-скрининга и диагностических протоколов была апробирована в масштабном многоцентровом исследовании ATHENA (Addressing The NEED for Advanced HPV Diagnostics, «К вопросу о необходимости углублённой диагностики ВПЧ»). В этой научной работе, проведённой в США, приняли участие более 47 000 женщин в возрасте от 21 года, проходивших рутинный цитологический скрининг на рак шейки матки. Исследователи оценивали клиническую эффективность нового теста Cobas HPV Test (Roche Molecular Systems, Pleasanton, CA), предложенного в качестве сортировочного для женщин старше 21 года с цитологической картиной ASCUS и как дополнительного теста для клинического ведения женщин в возрасте от 30 лет, не имеющих интраэпителиальных поражений и новообразований по данным цитологического исследования (NILM).

Тест на ВПЧ Cobas HPV Test представляет собой качественный *in vitro* тест для выявления ВПЧ-ВР путём амплификации ДНК искомого вируса методом ПЦР в реальном времени. Этот тест обнаруживает 14 генотипов ВПЧ-ВР и обеспечивает три отдельных результата: общий результат по 12 генотипам (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, и 68) и отдельные — по ВПЧ-16 и ВПЧ-18.

В исследовании ATHENA тест Cobas HPV Test продемонстрировал результаты, соответствующие современному стандарту тестирования* на объединённую группу ВПЧ (14 генотипов) для выявления CIN II и выше, а также CIN III и выше и позволил его оптимизировать за счёт представления индивидуальных результатов по ВПЧ 16 и ВПЧ 18.

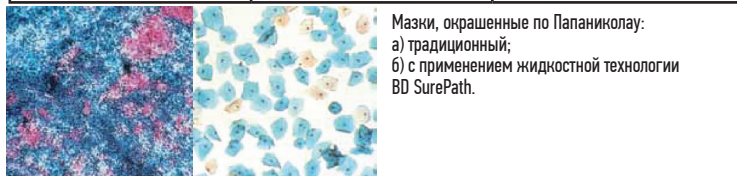
У женщин со статусом ASCUS Cobas HPV Test позволяет выявить тех, кто имеет наибольший риск рака. В исследовании ATHENA цитологический статус ASCUS имели 4% женщин. Среди них ВПЧ-ВР (определяли все 14 генотипов) выявили у каждой третьей (33%). Абсолютный риск CIN II и выше у пациенток с положительным тестом Cobas HPV Test был в 18 раз выше, чем у женщин с отрицательным; степень риска CIN II и выше у женщин, с положительными результатами по ВПЧ-ВР варьировала в зависимости от генотипа вируса и была ожидаемо наибольшей при инфицированности ВПЧ-16 (31,5%). У пациенток со статусом ASCUS/ВПЧ-16+ вероятность поражения CIN II и выше была в 3,7 раза больше, чем у женщин со статусом ASCUS/ВПЧ-ВР+ (12 генотипов вируса, исключая ВПЧ 16/18).

Эти данные необходимо учитывать при ведении пациенток с клеточными атипиями неясного значения. Согласно сегодняшним рекомендациям, всех женщин с ASCUS и ВПЧ-ВР положительным результатом следует направлять на кольпоскопию; остальным рекомендовано повторное тестирование через 12 мес. Однако, учитывая невысокую чувствительность кольпоскопии, женщинам с ASCUS/ ВПЧ-16+, а значит, с высоким риском малигнизации, даже если при первичной кольпоскопии не было обнаружено признаков предракового поражения, всё равно нужно более интенсивное последующее наблюдение. У женщин с нормальным цитологическим статусом тест Cobas HPV Test обнаруживает заболевания, пропущенные при цитологическом исследовании, и даёт информацию о степени риска рака.

В исследовании ATHENA 91% участниц имели нормальные цитологические результаты (NILM). Общая распространённость ВПЧ-ВР (14 генотипов), выявленных с помощью Cobas HPV Test среди женщин в возрасте от 30 лет с цитологической картиной NILM составила 6,7%, распространённость ВПЧ-16, 18 и других генотипов — 1%, 0,5% и 5,2%, соответственно.

Тактика ведения ВПЧ-ВР-положительных женщин с нормальной цитологической картиной (NILM/ВПЧ-ВР+) остаётся клинической дилеммой. Хотя большинство руководств рекомендуют рескрининг таких пациенток через 1 год, эта стратегия имеет существенные недостатки. Во-первых, отсутствие отклонений по данным цитологического исследования не всегда означает, что у женщины действительно нет CIN и даже рака. Во-вторых, часть этих женщин за год может быть потеряна для наблюдения, что снижает чувствительность использования теста на ВПЧ для первичного скрининга. Соответственно, для этой группы необходима немедленная сортировочная стратегия.

Рекомендации Американского общества кольпоскопии и цервикальной патологии		
Цитологическое заключение	Исследование на ВПЧ	Тактика
ASCUS	ВПЧ-ВР–	Повторный скрининг через 1 год
ASCUS	ВПЧ-ВР+	Кольпоскопия
NILM	ВПЧ-ВР–	Повторный скрининг не ранее чем через 3 года
NILM	ВПЧ-ВР+	Рекомендовано тестирование на ВПЧ-16 и ВПЧ-18
NILM	ВПЧ-16+ или ВПЧ-18+	Немедленная кольпоскопия



Мазки, окрашенные по Папаниколау: а) традиционный; б) с применением жидкостной технологии BD SurePath.

Предшествующие исследования отчётливо продемонстрировали, что ВПЧ-ВР-статус — важный предиктор существующего или будущего предракового поражения у женщин с нормальной цитологической картиной. Так, в одном из проспективных исследований (Khan et al.) у женщин 30 лет и старше с исходно нормальной цитологической картиной (NILM) за 10 лет кумулятивный уровень CIN III и выше составил 20,7% у подвергшихся воздействию ВПЧ-16 и 17,7% — среди инфицированных ВПЧ-18. А вот заболеваемость CIN III и выше среди носительниц других генотипов ВПЧ-ВР составила лишь 1,5%. Абсолютный риск CIN II и выше у женщин старше 30 лет с нормальными цитологическими результатами значительно варьирует в зависимости от генотипа ВПЧ-ВР. Так, наиболее высок этот риск у носительниц ВПЧ-16 (13,6%, что почти втрое выше аналогичного показателя у женщин этой же группы, инфицированных другими 12 типами ВПЧ-ВР (4,6%). Степень риска CIN II и выше для женщин с нормальными цитологическим статусом и положительными результатами теста на ВПЧ-16 и/или ВПЧ-18, оказалась сопоставима со степенью риска для женщин с ASCUS и положительными результатами по ВПЧ-ВР (14 генотипов). Cobas HPV Test, позволяющий индивидуально определять генотипы ВПЧ наибольшего риска и одновременно получать совокупный результат по остальным генотипам вируса, прошёл клиническую валидацию в ходе исследования ATHENA, одобрен FDA и соответствует директивам и стандартам Евросоюза. Американское общество кольпоскопии и цервикальной патологии (ASCCP) также поддерживает комбинированное тестирование (цитологическое исследование в сочетании с тестированием на ВПЧ-ВР) у женщин от 30 лет и рекомендует немедленное кольпоскопическое исследование у женщин с нормальной цитологической картиной (NILM), инфицированных ВПЧ-16 или ВПЧ-18 (табл. 1). Таким образом, выводы очевидны: жидкостная цитология и ВПЧ-тестирование значительно улучшили диагностику предраковых патологических изменений шейки матки, а сочетание этих методов позволяет оптимизировать организацию врачебной практики и гарантирует рациональный и экономически эффективный цервикальный скрининг.

Комбинированное тестирование, позволяющее не только в максимально автоматизированном режиме оценить цитологический пейзаж шейки матки, но и выявить будущий риск интраэпителиальных поражений, вполне способно стать новой скрининговой идеологией и заменить собой традиционное цитологическое исследование. Единственное препятствие на этом многообещающем пути состоит в том, что далеко не все клиники имеют специальное оборудование для этой цели и не у всех специалистов есть должные навыки по работе с ним. Очевидное решение — оснащение и обучение, которые максимально повысят эффективность скрининговых программ по раннему выявлению рака шейки матки.

* SP: обязательное генотипирование двух наиболее онкогенных типов (16-го и 18-го), а также достаточная масштабность клинического исследования, большая выборка пациенток и сертификация теста FDA и CE по результатам исследования.