

УДК 618.14.006.6

**ЗНАЧЕНИЕ ТЕСТА НА ОНКОБЕЛОК P16<sup>INK4A</sup> В АЛГОРИТМЕ ДИАГНОСТИКИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ**<sup>1,2</sup>Аляутдина О.С., <sup>3</sup>Синицына О.В.<sup>1</sup>*Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, e-mail: olasa@list.ru;*<sup>2</sup>*Сеть клиник MedSwiss;*<sup>3</sup>*Группа компаний «Мать и дитя», Москва*

Несмотря на достижения в диагностике, лечении и исследованиях рака шейки матки заболевания, смертность в развивающихся странах продолжает оставаться высокой. Так, в 2008 году было зарегистрировано 529000 новых случаев и 275000 смертей от рака шейки матки. Важнейшее значение в диагностике рака шейки матки 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>. Было показано, что у ВПЧ-инфицированных пациенток клиническая картина часто не соответствовала выраженности патологического процесса при цитологической диагностике. В этой связи нами был разработан алгоритм ведения пациенток при различных комбинациях вариантов клинического и цитологического проявления дисплазии шейки матки.

**Ключевые слова:** ВПЧ, жидкостная цитология, белок p16<sup>ink4a</sup>, рак шейки матки**VALUE OF LIQUID-BASED CYTOLOGY, HPV TESTING AND DETERMINING OF ONCOPROTEIN R16<sup>INK4A</sup> IN DIAGNOSTIC ALGORITHM OF CERVICAL CANCER**<sup>1,2</sup>Alyautdina O.S., <sup>3</sup>Sinitsina O.V.<sup>1</sup>*First Moscow State Medical University, Moscow, e-mail: olasa@list.ru;*<sup>2</sup>*Medical Centre MedSwiss, Moscow;*<sup>3</sup>*Net of companies «Mother and Child», Moscow*

Despite advances in the diagnosis, treatment and research of cervical cancer deaths in developing countries continues to be high. Thus, 529,000 new cases and 275,000 deaths from cervical cancer have been reported in 2008. Cervical cancer is the one of the most common oncological disease. Modern laboratory methods are important in their diagnosis. In determining of the algorithm of patients with HPV infection, we used innovative diagnostic methods – liquid-based cytology and determination p16<sup>ink4a</sup> oncoprotein. It has been shown that the clinical picture of HPV-infected patients often did not correspond to the severity of the cytological pathological. In this regard, we have developed an algorithm for management of patients with different clinical manifestations and cytological cervical dysplasia.

**Keywords:** HPV, liquid-based cytology, p16<sup>ink4a</sup> oncoprotein, cervical cancer

Риск рака шейки матки является вторым по частоте онкологическим заболеванием, угрожающим жизни женщины. Несмотря на достижения в диагностике, лечении и исследованиях этого заболевания, смертность в развивающихся странах продолжает оставаться высокой. Так, в 2008 году было зарегистрировано 529000 новых случаев и 275000 смертей от рака шейки матки. Прошло более 40 лет со времени открытия возбудителя этого заболевания. В 1970-х Harald zur Hausen предположил наличие корреляции между инфицированностью ВПЧ и развитием неопластических процессов в шейке матки. Вирус обладает высоким сродством к сквамозным эпителиальным клеткам и легко инфицирует их. Поражение вирусом, тем не менее, зависит от взаимодействия нескольких факторов: онкогенов, генов восстановления ДНК и генов-супрессоров опухоли [5].

Важное значение в профилактике рака шейки матки имеют диагностические про-

граммы обследования женщин. Заболеваемость раком шейки матки в мире колеблется в значительных пределах, и зависит во многом от экономической составляющей. Так, в США заболеваемость раком шейки невысока, в 2016 году 12990 женщин заболели и 4120 умерли от этого заболевания. Анализ показывает, что причиной этого является применение современных диагностических технологий, так женщинам в возрасте 21–29 лет раз в 3 года проводится анализ, предусматривающий гистологическую оценку методом жидкостной цитологии [6].

Применение Pap теста в гинекологической практике явилось фактором, поднявшим диагностику рака шейки матки на новый уровень. Вместе с тем, заболеваемость и смертность от рака шейки матки остается высокой, несмотря на контроль с помощью Pap теста, что указывает на ограниченные возможности этого диагностического метода. Частыми причинами ложных результатов анализа являются гиперплазия клеток, вос-

палительная атипия и сквамозная метаплазия. Наличие этих факторов приводит к необходимости повторных исследований или проведению более травматичных процедур [1]. 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 [3, 4].

Современные программы скрининга основаны на жидкостной цитологии, включающей забор пробы маленькой пластиковой щеткой в питательную жидкую среду с целью дальнейшего приготовления мазков. Цервикальная цитология зависит от получения хороших образцов и экспертной интерпретации микроскопической картины, что практически не выполнимо без соответствующего оборудования и подготовки.

Весьма перспективным тестом диагностики дисплазии и рака шейки матки может быть 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 циклин-зависимой 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 [2]. 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.

#### **Материалы и методы исследования**

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

1. 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>
2. ПЦР-тест на выявление основных 14 типов ВПЧ при первичном обследовании пациентки

3. 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, из цервикального канала и зоны трансформации) берется биологический материал и помещается в вials. Клеточный состав пробы обогащается, окрашивается на 2 стеклах и анализируется (на первом этапе одна проба) с помощью линейки приборов BD PreMate, BD SurePath, BD Focal Point.

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

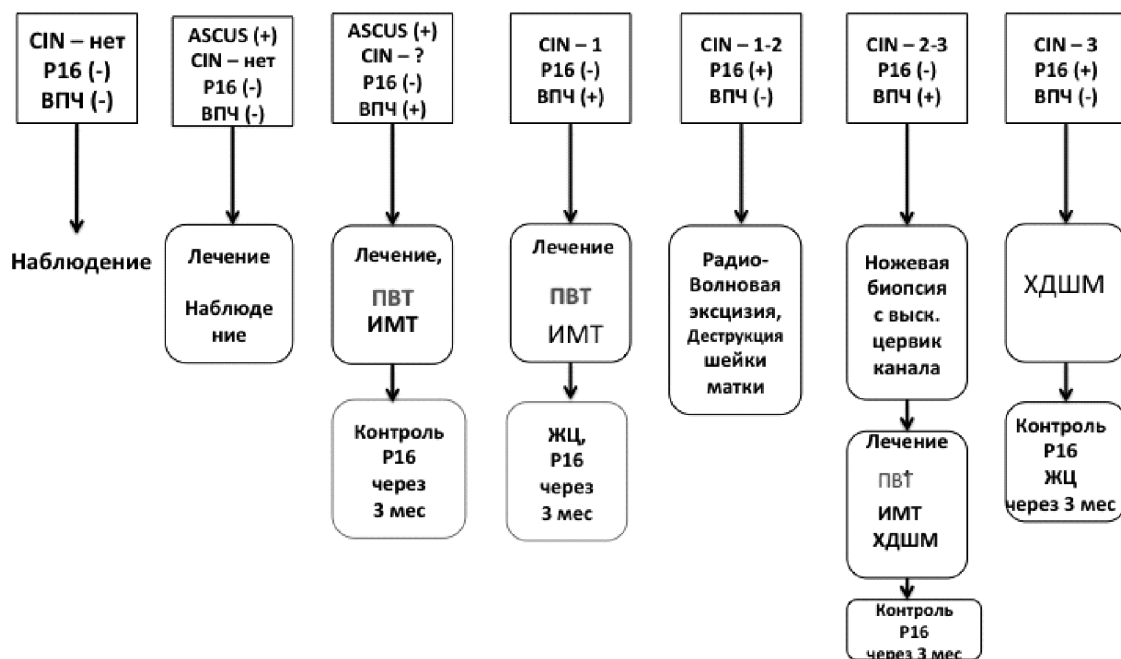
Результаты исследования, степень дисплазии клеток, представляются по Цитологической классификации ВОЗ (CIN I, CIN II и CIN III) и Цитологической классификации Бетеса (ASCUS, LSIL и HSIL). В случае обнаружения патологических изменений проводится исследование второй пробы на экспрессию белка p16<sup>INK4a</sup>. Одновременно всем пациенткам проводится анализ на выявление ВПЧ методом ПЦР диагностики (14 типов вируса). Неотъемлемым компонентом первичного обследования гинеколога является расширенная кольпоскопия.

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 определяющими при дальнейшем обследовании и ведении таких пациенток. Так, при положительном анализе ПЦР диагностики на наличие вируса высокого онкогенного риска (типы 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 и особенно 16 и 18) и характерных изменениях данных жидкостной цитологии возможно отсутствие визуальных изменений при кольпоскопии.

В зависимости от инфицированности ВПЧ, результатов цитологического исследования и наличия белка p16<sup>INK4a</sup> нами разработаны были дорожные карты ведения пациенток, предусматривающие схемы от наблюдения до медикаментозного лечения и хирургической деструкции шейки матки [4].

#### **Заключение**

Таким образом, 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 [7].



*Тактика ведения пациенток с патологией шейки матки.*

*Лечение – медикаментозные методы лечения.*

*Сокращения:*

*ИМТ – иммуномодулирующая терапия;*

*ПВТ – противовирусная терапия;*

*ХДШМ – хирургическая деструкция шейки матки;*

*ЖЦ – жидкостная цитология*

#### Список литературы

1. Карахалис Л.Ю., Зуева Т.П., Петренко С.И. Оптимизация терапии дисплазий шейки матки, ассоциированных с впч-инфекцией // Проблемы репродукции. – 2012. – Т.5. – С. 1–4.
2. Киселев В.И., Муйжнек Е.Л. Молекулярные механизмы развития дисплазии шейки матки: новые знания – новые возможности. – М.: Ильмик Групп, 2012.
3. Follen M., Richard-Kortum R. Emerging technologies and cervical cancer // J Natl Cancer Inst. – 2000. – Т. 92363. – С. 65.
4. 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. – Т.4. – С.22–29.

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 // The Journal of pediatrics. – 1998. – Т.132. – С. 277–84.

6. Roelens J., Reuschenbach M. P16INK4A immunocytochemistry versus human papillomavirus testing for triage of women with minor cytologic abnormalities: a systematic review and meta-analysis // Cancer Cytopathol. – 2012. – Т. 120. – С. 294–307.

7. Walboomers J.M., Jacobs M.V., Manos M.M. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide // J. Pathol. – 1999. – Т.189. – С. 12–19.