

© Г. Н. Минкина, В. С. Калинина,  
М. В. Гаврикова, С. В. Фириченко,  
О. К. Храмова

## ПОСЛЕЧЕБНЫЙ МОНИТОРИНГ ЦЕРВИКАЛЬНЫХ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НЕОПЛАЗИЙ

Московский государственный медико-  
стоматологический университет

УДК: 618.146-006-08

■ Лечение цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) в целом успешно, вместе с тем, риск инвазивного рака остается выше, чем у женщин общей популяции. В данном исследовании 157 пациенток с диагнозом CIN 2,3 наблюдались после процедуры петлевой электроэксцизии через 3, 6, 12 и 24 месяцев с помощью цитологического исследования, кольпоскопии и количественной детекции ДНК ВПЧ на основе ПЦР в реальном режиме времени. ДНК-тестирование осуществлялось на базе жидкостного цитологического образца. В результате 12 месяцев наблюдения наличие остаточного поражения высокой степени тяжести — CIN 2,3, было подтверждено у 5,7% пациенток путем прицельной биопсии или повторной эксцизии. В диагностике остаточных поражений наилучшие характеристики продемонстрировал ВПЧ-тест. Через 6 месяцев наблюдения чувствительность и негативная прогностическая ценность ВПЧ-теста были равны 100%. Комбинированный тест (ВПЧ-тест + цитология) имел аналогичную чувствительность, но наименьшую специфичность. Высокая чувствительность и негативная прогностическая значимость ВПЧ-тестирования должны сделать его тестом излеченности и стандартом постлечебной оценки.

■ **Ключевые слова:** CIN; петлевая электроэксцизия; ВПЧ-тест.

Реальной вторичной профилактикой рака шейки матки, занимающего второе место в мире среди злокачественных опухолей репродуктивных органов у женщин, является своевременное выявление и лечение истинных предраковых заболеваний, к которым относится цервикальная интраэпителиальная неоплазия 2-й и 3-й степени тяжести (CIN 2,3).

Лечение CIN 2,3, по литературным данным, в целом успешно. Однако риск остаточных поражений и рецидивов варьирует от 5% до 30% [17, 16, 20, 18]. Большинство (80–90%) резидуальных поражений выявляются в течение первых двух послеоперационных лет [5, 6]. Вместе с тем, пациентки, пролеченные по поводу CIN 2,3, остаются в группе повышенного риска, по крайней мере, 8 лет в сравнении с общей популяцией [9, 3, 19]. Эти данные свидетельствуют о важности тщательного и непрерывного постлечебного контроля.

Протоколы постлечебного наблюдения, используемые в настоящее время, основаны на серии последовательных цитологических исследований (Пап-тест). Однако Пап-тест имеет высокий уровень ложноотрицательных результатов, более того, цитологическое исследование после лечения обладает меньшей чувствительностью, чем до него [2, 10, 13]. В качестве альтернативной опции постлечебного мониторинга CIN 2,3 предложено использовать тестирование на ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ-тест), одно из главных достоинств которого, в отличие от цитологии — объективность и низкая лабораторная вариабельность. Этот тест обладает высокой чувствительностью и высокой ценностью в прогнозе излеченности или неудачи терапии предраковых поражений шейки матки [11, 4, 19, 7].

В настоящем исследовании дана оценка и сопоставлены характеристики цитологического исследования и количественного ВПЧ-тестирования в диагностике остаточных поражений после лечения CIN 2,3.

### Пациенты и методы

157 пациенток в возрасте от 16 до 77 лет с гистологически верифицированным диагнозом цервикального интраэпителиального поражения высокой степени тяжести наблюдались в специализированном кабинете после процедуры петлевой электрохирургической эксцизии (LEEP).

Процедура петлевой электроэксцизии одновременно выполняла задачу расширенной биопсии и лечения и проводилась под кольпоскопическим контролем после определения зоны пораженного эпителия пробами с 3%-й уксусной кислотой и раствором Люголя. Размер и форма петли соответствовали площади и локализации поражения. Дно кратера коагулировали с помощью шаровидного электрода или вапоризировали с помощью CO<sub>2</sub> лазера. Полученные образцы ткани исследованы тотально.

В результате гистологического исследования удаленной ткани шейки матки у 37 (23,6%) пациенток обнаружено наличие CIN 2, у 120 (76,4%) — CIN 3 (в том числе 90 тяжелых дисплазий и 30 CIS). В 10,2% наблюдений патология выявлена в линии резекции или в цервикальном соскобе, в 89,8% наблюдений края конуса были «чистыми», т. е. поражения не имели. У 90 пациенток с CIN 2,3 (57%) эндоцервикальные железы были интактны, у 67 пациенток (43%) — вовлечены в поражение.

Более ранними исследованиями, проведенными в нашей клинике было показано, что цервикальные интраэпителиальные неоплазии ассоциированы с дисбиотическими нарушениями вагинальной микроэкологии — снижением частоты выделения и количества основных кислотопродуцентов — лактобацилл, на фоне повышения содержания представителей условно-патогенной флоры. Причем уровень подавления молочнокислой флоры наиболее выражен у пациенток с поражениями высокой степени тяжести [1].

Для нормализации влагалищного биоценоза всем наблюдавшимся пациенткам после процедуры электроэксцизии шейки матки назначали оральный биотерапевтический препарат Вагилак, который доказал свою эффективность как в зарубежных исследованиях, так и в исследованиях, проведенных в нашей клинике [1, 15, 14].

Вагилак представляет собой капсулы, содержащие лиофильно высушенные штаммы лактобактерий  $5 \times 10^9$  КОЕ *Lactobacillus rhamnosus GR-1* и *Lactobacillus reuteri RC-14* в равных пропорциях, полученных из вагинального тракта здоровых женщин. Пациентки принимали препарат по 1 капсуле в день в течение 4–6 недель.

Диагностические мероприятия до и после эксцизии включали жидкостное цитологическое исследование (ЖЦ), кольпоскопию, гистологическое исследование и ПЦР-тестирование на присутствие ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВПЧ-тест). В качестве референтного метода диагностики использовали гистологическое исследование.

Цитологическое исследование осуществлялось с применением жидкостной цитологической технологии. Клеточный материал собирался с экто- и эндоцервикса и помещался в стабилизирующий раствор (система CYTOSCREEN). В условиях лаборатории из присланной суспензии клеток готовили тонкослойный цитологический препарат высокого качества. Интерпретация цитологических данных осуществлялась согласно системе Бетесда.

ВПЧ-тестирование проводилось из остаточного жидкостного цитологического материала. В исследовании использована отечественная тест-система «Амплисенс® ВПЧ ВКР скрин-титр FRT» в режиме «реального времени», позволяю-

щая дифференцировать 12 генотипов ВПЧ высокого канцерогенного риска (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) в формате «мультиплекс».

Постлечебный контроль осуществлялся через 3, 6, 12 месяцев после эксцизии и далее ежегодно. Пациентки с двумя последовательными негативными результатами ЖЦ и нормальными данными кольпоскопического исследования считались негативными относительно наличия остаточного поражения независимо от результата ВПЧ-теста. У пациенток с наличием поражения высокой степени тяжести в мазке и/или атипичного эпителия при кольпоскопии выполнялась прицельная биопсия и эндоцервикальный кюретаж или повторная эксцизия.

Критерием остаточного поражения являлся позитивный результат прицельно взятой или расширенной биопсии и/или эндоцервикального кюретажа — наличие CIN любой степени тяжести.

### Результаты исследования и их обсуждение

В итоге первого кольпоскопического исследования (через 3 месяца после эксцизии) атипичная зона трансформации (ЗТ) и подозрение на остаточное поражение диагностированы у 11 пациенток. У 3 из них плотный уксусно-белый эпителий визуализировался вокруг наружного зева и/или в наружной трети цервикального канала (далее выполнена прицельная биопсия или повторная эксцизия), у 8 — кольпоскопическая картина соответствовала поражению низкой степени тяжести. В процессе дальнейшего наблюдения динамика кольпоскопической картины отмечена лишь у части пациенток с удовлетворительной кольпоскопией и у абсолютного большинства заключалась в продвижении языков плоского эпителия, частичном созревании ЗТ и исчезновении реактивных изменений МПЭ.

В результате жидкостного цитологического исследования в первый постлечебный визит у 35 (22%) пациенток диагностирована атипия различной степени выраженности: у 14 (9%) — ASCUS (атипичные плоские клетки неясного значения), у 17 (11%) — L-SIL (интраэпителиальные поражения низкой степени тяжести) и у 4 (3%) — H-SIL (интраэпителиальные поражения высокой степени тяжести). Цитологическая норма или реактивные изменения эпителия констатированы у 122 (78%) пациенток. По результатам повторных ЖЦ (6 и 12 месяцев после лечения) ASCUS и более выявлены у 78 пациенток. У большинства из них в мазках присутствовали минимальные клеточные и ядерные изменения, соответствующие ВПЧ-эффекту (койлоцитарная атипия, двухъядерные клетки, амфифилия цитоплазмы, дискератоз и пр.) или подозрению на него. Эти изменения могут быть следствием недостаточной эксцизии и наличия ВПЧ-инфекции, с

Таблица 1

## Частота сопутствующей экстрагенитальной патологии

Статус эндоцервикальных желез и краев резекции	N	Остаточное поражение		P
		N	%	
Эндоцервикальные железы				
neg	92	3	3,3	
pos	65	11	16,9	<0,01
Края резекции				
neg	141	11	7,8	
pos	16	3	18,8	<0,5

другой стороны, возможны ложноположительные результаты как следствие незрелости эпителия или воспалительной реакции [5, 3].

До лечения присутствие онкогенных типов ВПЧ обнаружено у 99,7% пациенток с CIN 2,3. По результатам ДНК-тестирования в первый постлечебный визит отсутствие ВПЧ констатировано у 57% пациенток, через 6 месяцев после лечения количество ВПЧ — негативных возросло до 74%, а через 12 месяцев после экцизии ВПЧ-негативными было абсолютное большинство (81%) пролеченных пациенток. Наибольшая элиминация вируса зарегистрирована между 1-м и 2-м визитом постлечебного наблюдения.

В первый год после лечения по показаниям, перечисленным выше, у 17 пациенток выполнено повторное гистологическое исследование. Материал для этого исследования у 10 пациенток получен путем прицельной биопсии, у 5 — путем повторной экцизии и у 2 — гистерэктомии. В результате, в 3 наблюдениях обнаружены лишь реактивные изменения МПЭ (гипер-, паракератоз), у 5 пациенток диагностировано интраэпителиальное поражение низкой степени тяжести (ВПЧ-эффект/CIN 1) и у 9 — высокой степени тяжести (CIN 2, 3). Таким образом, в результате 12 месяцев наблюдения после лечения CIN 2,3 остаточное интраэпителиальное поражение обнаружено у 14 (8,9%) пациенток, в том числе у 9 (5,7%) — CIN 2,3.

Цервикальные интраэпителиальные неоплазии высокой степени тяжести в первый год после лечения, наиболее вероятно, являются резидуальными — следствием неэффективной экцизии, тогда как ВПЧ-эффект или CIN 1 могут быть результатом персистирующей ВПЧ-инфекции, новой инфекции или реактивации инфекции другой локализации. Количество остаточных поражений, выявленных в нашем исследовании (8,9%), в диапазоне литературных данных [16, 8, 19, 7]. Однако, в отличие от многих других сообщений, за остаточное поражение мы рассматривали наличие CIN любой степени тяжести и, хотя некоторые случаи могут представлять собой результат новой инфекции после лечения, частое сочетание

участков низкой и высокой степени тяжести в одном поражении объясняет такой подход [19].

В качестве возможных факторов риска остаточного поражения мы пранализировали статус краев иссеченного конуса и вовлеченность в поражение эндоцервикальных желез (табл. 1).

Позитивные края иссеченного конуса по данным гистологического исследования зарегистрированы у 16 (10,2%) пациенток, в том числе у 3 (18,8%) с остаточным CIN 2,3. Доля пациенток, развивших остаточное поражение после экцизии с «чистыми» краями, составила 7,8% (в 6 наблюдениях ВПЧ-эффект/CIN 1, и в 5 — CIN 2,3). Анализ показал, что позитивный статус краев резекции не является надежным фактором риска резидуального поражения ( $p > 0,5$ ).

В то же время, частота остаточных поражений в нашем исследовании существенно зависела от исходного состояния эндоцервикальных желез. Так, по данным гистологического исследования, при наличии CIN 2,3 только в покровном эпителии экзоцервикса и интактных эндоцервикальных железах остаточное поражение диагностировано лишь в 3,3% случаев, тогда как при вовлечении в поражение и эндоцервикальных желез — в 16,9% ( $p < 0,01$ ).

С целью определения наиболее оптимального теста для постлечебного наблюдения CIN 2,3 проанализированы и сопоставлены характеристики жидкостного цитологического исследования, ВПЧ-тестирования и комбинированного теста: чувствительность (Se), специфичность (Sp), прогностическая ценность положительного (PPV) и отрицательного результата (NPV).

В первый постлечебный визит цитологическим методом остаточные поражения выявлены только у 9 из 14 пациенток. Таким образом, наряду с хорошей специфичностью (81,7%), ЖЦ проявила невысокую чувствительность (64,5%). Использование повторных цитологических исследований в процессе постлечебного наблюдения привело к увеличению чувствительности этого теста (85,7%) и, вместе с тем, к снижению его специфичности до 72,5% (табл. 2).

Таблица 2

**Характеристики жидкостного цитологического исследования в диагностике остаточных поражений после лечения CIN 2,3**

ЖЦ	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)
Первая ЖЦ	64,5 (61,3–67,7)	81,7 (77,6–85,8)	25,8 (21,6–30,0)	95,4 (92,2–97,6)
Повторные ЖЦ	85,7 (82,1–90,3)	72,5 (70,1–74,6)	23,6 (20,2–26,9)	98,3 (97,1–99,4)

В целом ЖЦ продемонстрировала меньшую диагностическую эффективность в постлечебном мониторинге CIN 2, 3, чем ВПЧ-тест, что совпадает с данными других авторов [6, 12].

В данном исследовании все пациентки, у которых в постлечебном периоде гистологически верифицирован диагноз CIN, т. е. подтверждено наличие остаточного поражения, были стабильно ВПЧ-позитивны. ВПЧ-тест при абсолютной чувствительности (100%) и абсолютной прогностической ценности отрицательного результата (100%) сохранил хорошую специфичность (86,0%), чем значительно превысил аналогичные показатели жидкостного цитологического исследования. Повторное ВПЧ-тестирование, выполненное через 12 месяцев после лечения, не изменило диагностическую эффективность первоначального ВПЧ-теста, а комбинированное тестирование (ВПЧ-тест + ЖЦ) снизило специфичность диагностики до 78,5% (табл. 3).

### Заключение

Процедура петлевой электрохирургической эксцизии является высокоэффективным методом лечения CIN 2,3 и, в большинстве случаев, наряду с устранением поражения, приводит к исчезновению вируса.

В диагностике остаточных поражений наилучшие характеристики демонстрирует ВПЧ-тестирование. Негативный ВПЧ-тест, полученный через 6 месяцев после эксцизии, свидетельствует об отсутствии резидуального поражения и позволяет безопасно вернуть пациентку к ежегодному скринингу. При позитивных результатах ВПЧ-теста, напротив, требуется интенсивное наблюдение с повторными кольпоскопическими и цитологическими исследованиями (обязательно получение эндоцервикальных образцов) ввиду вероятности остаточного поражения.

Высокая чувствительность и прогностическая ценность ВПЧ-теста определяют необходимость его интеграции в постлечебный мониторинг цервикальных интраэпителиальных неоплазий высокой степени тяжести.

### Литература

1. Минкина Г. Н., Калинина В. С. Состояние вагинальной микрофлоры и ее коррекция у пациенток с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2008. — №5. — С. 76–79.
2. Фролова И. И. Диагностика цервикальных интраэпителиальных неоплазий: реальность и перспективы // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2003. — Т. 2, №4. — С. 80–83.
3. Abnormal cervicovaginal cytology with negative human papillomavirus testing / Negri G., Rigo B., Vittadello F. [et al.] // Cancer. — 2007. — Vol. 111, N5. — P. 280–284.
4. Addition of high-risk HPV testing improves the current guidelines on follow-up after treatment for cervical intraepithelial neoplasia / Nobbenhuis M. A., Meijer C. J., van den Brule A. J. [et al.] // Br. J. Cancer. — 2001. — Vol. 84. — P. 796–801.
5. Chapter 10: new dimensions in cervical cancer screening / Cuzick J., Mayrand M. H., Ronco G. [et al.] // Vaccine. — 2006. — Vol. 24, suppl. 3. — P. S90–S97.
6. HPV testing and monitoring of women after treatment of CIN 3: review of the literature and meta-analysis / Zielinski G. D., Bais A. G., Helmerhorst T. J. [et al.] // Obstet. Gynecol. — 2004. — Vol. 59. — P. 543–53.
7. HPV testing can reduce the number of follow-up visits in women treated for cervical intraepithelial neoplasia grade 3 / Zielinski G. D., Rozendaal L., Voorhorst F. J. [et al.] // Gynecol. Oncol. — 2003. — Vol. 91. — P. 67–73.
8. Human papillomavirus testing and the outcome of treatment for cervical intraepithelial neoplasia / Paraskevaidis E., Koliopoulos G., Alamanos Y. [et al.] // Obstet. Gynecol. — 2001. — Vol. 98. — P. 833–836.
9. Human papillomavirus testing following loop electrosurgical excision procedure identifies women at risk for posttreatment cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 disease / Kreimer A. R., Guido R. S., Solomon D. [et al.] // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. — 2006. — Vol. 15. — P. 908–914.
10. Identifying women with cervical neoplasia: using human papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results / Manos M. M., Kinney W. K., Hurley L. B. [et al.] // JAMA. — 1999. — Vol. 281. — P. 1605–1610.
11. Negative predictive value of human papillomavirus test following conization of the cervix uteri / Jain S., Tseng C. J., Horng S. G. [et al.] // Gynecol. Oncol. — 2001. — Vol. 82. — P. 177–180.
12. New Technologies for Cervical Cancer Working Group. Human papillomavirus testing and liquid-based cytology: results at recruitment from the new technologies for cervical cancer randomized controlled trial / Ronco G., Segnan N., Giorgi-Rossi P. [et al.] // J. Natl. Cancer Inst. — 2006. — Vol. 98. — P. 765–774.
13. Obwegeser J.H., Brack S. Does liquid-based technology really improve detection of cervical neoplasia? A prospective, randomized trial comparing the ThinPrep Pap Test with the conventional Pap Test, including follow-up of HSIL cases // Acta Cytol. — 2001. — Vol. 45. — P. 709–714.

14. Oral probiotics can resolve urogenital infections / Reid G., Bruce A. W., Fraser N. [et al.] // FEMS Immunol. Med. Microbiol. — 2001. — Vol. 30. — P. 49–52.
15. Oral use of Lactobacillus rhamnosus GR-1 and L. fermentum RC-14 significantly alters vaginal flora: randomized, placebo-controlled trial in 64 healthy women / Reid G., Charbonneau D., Erb J. [et al.] // FEMS Immunol. Med. Microbiol. — 2003. — Vol. 3, N2. — P. 131–134.
16. Persistent human papillomavirus infection after therapeutic conization for CIN 3: is it an alarm for disease recurrence? / Nagai Y., Maehama T., Asato T. [et al.] // Gynecol. Oncol. — 2000. — Vol. 79. — P. 294–299.
17. Rate of human papillomavirus clearance after treatment of cervical intraepithelial neoplasia / Elfgren K., Jacobs M., Walboomers J. M. [et al.] // Obstet. Gynecol. — 2002. — Vol. 100. — P. 965–971.
18. Risk factors for CIN 2/3 in HGSIL cases / Spiryda L. B., Brown M., Ke Creek [et al.] // Abstract. 25th International Papillomavirus Conference. — Malmö, 2009. — P.03.42
19. Role of high risk human papilloma virus test in the follow-up of patients who underwent conization of the cervix for cervical intraepithelial neoplasia / Park J. Y., Bae J., Myong Cheol Lim, [et al.] // Gynecol. Oncol. — 2009. — Vol. 20. — P. 86–90.
20. Treatment outcomes for squamous intraepithelial lesions / Nuovo J., Melnikov J., Willan A. R. [et al.] // Int. J. Obstet. Gynecol. Obstet. — 2000. — Vol. 68. — P. 25–33.

Статья представлена М. И. Ярмолинской,  
НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН,  
Санкт-Петербург

#### FOLLOW-UP AFTER TREATMENT FOR CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA

Minkina G., Kalinina V., Gavrikova M., Firichenko S.,  
Chramova O.

■ **Summary:** Treatment of CIN is generally successful, although the risk for development of cervical cancer remains higher than for women of general population. In this study 157 women have been followed-up after treatment for CIN 2,3 by LEEP in 3, 6, 12 and 24 months with cytology, colposcopy and quantitative HPV test on the basis of real time PCR. HPV test was performed from the liquid-based cytology sample. After 12 months of post treatment monitoring the presence of residual high-grade lesion — CIN 2,3, has been confirmed in 5,7% of the treated women by punch biopsy or repeated excision. In detection of residual disease the best characteristics have been shown by HPV test. At 6 month follow-up both the sensitivity and the negative predictive value for HPV test achieved 100%. A combination of HPV testing and cytology was the equal sensitive but the least specific. The high sensitivity and negative predictive value should establish HPV testing as a test of cure and standard in post-treatment evaluation.

■ **Key words:** CIN; LEEP; HPV test.

#### ■ Адреса авторов для переписки

*Минкина Галина Николаевна* — профессор кафедры акушерства и гинекологии лечебного ф-та.

Московский государственный медико-стоматологический университет.  
127473 Москва, ул. Делегатская, 20/1.

**E-mail:** minkinagn@mail.ru.

*Калинина Варвара Сергеевна* — старший лаборант кафедры акушерства и гинекологии лечебного ф-та.

Московский государственный медико-стоматологический университет.  
127473 Москва, ул. Делегатская, 20/1.

**E-mail:** minkinagn@mail.ru.

*Гаврикова Мария Владимировна* — старший лаборант кафедры акушерства и гинекологии лечебного ф-та.

Московский государственный медико-стоматологический университет.  
127473 Москва, ул. Делегатская, 20/1.

**E-mail:** minkinagn@mail.ru.

*Фириченко Сергей Викторович* — ассистент кафедры акушерства и гинекологии лечебного ф-та.

Московский государственный медико-стоматологический университет.  
127473 Москва, ул. Делегатская, 20/1.

**E-mail:** minkinagn@mail.ru.

*Храмова Ольга Константиновна* — врач акушер-гинеколог.

ООО «Медицинский научный центр МедБиоСпектр».

Москва, Каширское шоссе, 24.

**E-mail:** minkinagn@mail.ru.

*Minkina Galina Nikolaevna* — the professor of the Department of Obstetrics and Gynecology Establishment.

Moscow State Medical Stomatological University.  
127473 Moscow, Delegatskaya str., 20/1.

**E-mail:** minkinagn@mail.ru.

*Kalinina Varvara Sergeevna* — the senior laboratorian of the Department of Obstetrics and Gynecology Establishment.

Moscow State Medical Stomatological University.  
127473 Moscow, Delegatskaya str., 20/1.

**E-mail:** minkinagn@mail.ru.

*Gavrikova Mariya Vladimirovna* — the senior laboratorian of the Department of Obstetrics and Gynecology Establishment.

Moscow State Medical Stomatological University.  
127473 Moscow, Delegatskaya str., 20/1.

**E-mail:** minkinagn@mail.ru.

*Firichenko Sergey Viktorovich* — the assistant of the Department of Obstetrics and Gynecology Establishment.

Moscow State Medical Stomatological University.  
127473 Moscow, Delegatskaya str., 20/1.

**E-mail:** minkinagn@mail.ru.

*Chramova Olga Konstantinovna* — gynecologist.

«Medical centre of science MedBioSpekt».

Moscow, Kashirsky highway 24.

**E-mail:** minkinagn@mail.ru.