

ТЕСТ ПАПАНИКОЛАУ В ДИАГНОСТИКЕ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Э.Р. Кинзикеева, Дж. Болис, К.А. Ливерани

Институт акушерства и гинекологии им. Л. Манджагалли при Миланском
государственном университете
Клиника акушерства и гинекологии №2, Милан, Италия

Кинзикеева Элла Руслановна,
врач при второй клинике Акушерства и гинекологии
Института акушерства и гинекологии им. Л. Манджагалли
при Миланском государственном университете, Италия, Милан,
ул. Падре Равази, 3, Сесто Сан Джованни (Милан),
тел. +39-333-88-34-290,
e-mail: EllaK84@list.ru

Рар тест до сегодняшних дней остается не диагностическим, но фундаментальным методом исследования в диагностике вируса папилломы человека (ВПЧ) у здорового населения. В статье оценено ведение пациентов с теми или иными результатами Рар теста по данным клинических исследований за 2007- 2009 гг. при диагностическом центре профилактики новообразований нижнего полового тракта клиники Манджагалли (Милан), показаны сходства или отличия клиники от общей статистики. При анализе клинической и теоретической частей выявлены основные недостатки и преимущества теста Папаниколау, возможности их решения, а также рассмотрены альтернативные методики ведения пациентов.

Полученные данные не отличаются от общей статистики и позволяют заключить, что для осуществления более эффективного скрининга и для уменьшения процента ложно-негативных результатов необходимо сочетание с Рар тестом нескольких методов и периодическое их повторение.

Ключевые слова: Рар тест, тест Папаниколау, скрининг ВПЧ, ВПЧ, ведение пациентов с ВПЧ, ASCUS, CIN, LSIL.

THE ROLE OF PAPANICOLAOU TEST TO SCREEN FOR CERVICAL CANCER

E.R. Kinzikeeva, G. Bolis, C.A. Liverani

Department of Obstetrics and Gynecology L. Mangiagalli
University of Milan School of Medicine, Milan, Italy

For today Pap test remains not diagnostic but the fundamental method of research in screening of HPV in a healthy population.

In this article it was evaluated the management of patients with diverse abnormal Pap smear results, according the clinical data for 2007-2009 at the diagnostic center to prevent

tumors of the lower genital tract at the clinic Mangiagalli (Milan) showing similarities and differences between clinical data from data of basic statistics analyzing the clinical and theoretical part to identify disadvantages and benefits of Pap tests and their possible solutions, and also to consider alternative methods of management of patients.

Our clinical results were not significantly diverse from data of general statistics and allowed to conclude that for more effective screening and for reduce the percentage of false-negative results should be useful a combination with Pap test other methods for HPV research and repeat them periodically.

The key words: Pap test, Papanicolaou, screening HPV, HPV, management of patients with HPV, ASCUS, CIN, LSIL.

Заболеваемость раком шейки матки (РШМ) и смертность от этого заболевания значительно снизилась с внедрением в 50-х годах XX столетия массового скрининга с тестом Папаниколау (Пап тест). Тест, идентифицируя вирусную инфекцию с самых ранних стадий ее появления, радикально изменил диагностический подход к этой патологии, и сегодня это - наиболее используемый диагностический метод для скрининга РШМ. Методика Пап теста зародилась в 1923 году - год, в котором Георгий (George) Папаниколау опубликовал свои первые результаты исследований по эксфолиативным клеткам шейки матки. За последние 50 лет, несмотря на технологический прогресс и расширения познаний в области натуральной истории РШМ, техника теста практически не изменилась. Этот метод исследования позволяет выявить заболевание еще до того, как диспластические изменения начинают проникать в субэпителиальный слой или до того, как инфекция перейдет в клиническую форму и станет заметной во время простого гинекологического осмотра. Цитологическое исследование базируется на факте, что каждый эпителий, особенно многослойный плоский эпителий влагалища и влагалищной части шейки матки, подвергается постоянному процессу отшелушивания. Соскабливая с небольшим давлением специальной деревянной или пластиковой лопаточкой и прибором со щеточкой, на поверхности которого легко концентрируются клеточные элементы и который позволяет более эффективно собрать эндоцервикальные клетки (cytobrush), собирают слой отшелушенных клеток на поверхности многослойного плоского эпителия или эндоцервикального канала. Взятый материал тотчас же распределяют в тонком слое на предметном стекле и фиксируют специальной смесью, выпускаемой в виде спрея, содержащей алкоголь и эфир в равных частях. Взятие материала должно осуществляться в овуляторной фазе, нежелательно проведение Пап теста во время менструации или при наличии кровяных выделений, так как результат цитологического исследования может быть неадекватным (рис. 1,2). American Cancer Society (ACS) и Национальный Институт Опухолей (National Cancer Institute NCI) рекомендуют, начиная с периода начала половой жизни, проведение ежегодного гинекологического осмотра, ассоциированного с взятием Пап теста и последующее уменьшение частоты скрининговых контролей после трех или более негативных результатов теста [6]. В Италии скрининг с Пап тестом

рекомендован женщинам в возрасте от 25 до 64 лет каждые три года. С 1996 года активизируются программы скрининга, и на 2005 год их количество достигло 117 (покрытие населения составило 66% относительно 31% в 1999 году). Разница между Севером и Югом Италии населения, участвующего в скрининге, составляет 37%. В 1988 году NCI спонсировал группу работ, посвященных развитию единообразной описательной диагностической терминологии относительно цервико-вагинальной патологии по улучшению курирования пациентов с аномальным результатом кольпо-цитологического мазка. В 1988 году была рождена классификация, известная под названием «Bethesda System» (TBS), впоследствии модифицированная в 1991 и 2001 гг. (табл. 1).

Таблица 1
Цитологическая классификация Bethesda System 2001. Аномалии эпителиальных клеток

ASC (ASCUS и ASC-H) LSIL (HPV/CIN1) HSIL (CIN2/3 и карцинома in situ) Плоскоклеточный рак
AGC (атипичные железистые клетки, эндоцервикальные, эндометриальные, не специфицируемые) Атипичные железистые клетки, более похожие на неоплазию (эндоцервикальные или NAS) AIS (аденокарцинома in situ) Аденокарцинома
Эндометриальные клетки у женщин более 40 лет

Классификационная система Bethesda ввела две главные категории: легкую неоплазию шейки матки L-SIL (Low-grade Squamous Intraepithelial Lesions) и умеренную неоплазию шейки матки H-SIL (High-grade Squamous Intraepithelial Lesions), упрощая предшествующее цито-гистологическое понятие цервикальной интраэпителиальной неоплазии CIN (cervical intraepithelial neoplasia).

Bethesda System (TBS) в 1991 году также ввела новый диагностический класс, именуемый «атипичные клетки плоского эпителия неопределенного значения» или «ASCUS» (Atypical Cells of Undetermined Significance), которые были подразделены на подклассы: ASCUS-R, связанный с реактивным воспалением; ASCUS-NOS (не специфицированный); ASCUS-L (морфологические изменения, связанные с CIN легкой степени); ASC-H (морфологические изменения, связанные с CIN высокой степени). Спустя 10 лет в Bethesda System 2001 подклассы «ASCUS»

были сокращены до двух: ASCUS (присутствие атипичных клеток плоского эпителия неопределенного значения); ASC-H (присутствие атипичных клеток плоского эпителия, по которым невозможно исключить CIN высокой степени). 50% пациенток с ASCUS позитивны по ДНК ВПЧ, независимо от штаммов вируса. Типы ВПЧ высокой степени риска варьируют от 30 до 49%. Широко варьирующие значения преобладания ВПЧ у пациенток с негативными результатами Пар теста (11,5–40,0% позитивны по ВПЧ и 13–31% из них позитивны по ВПЧ высокой степени риска) могут зависеть от различной степени контакта с инфекцией ВПЧ тестируемых групп в различных исследованиях и недостаточное распределение исследуемых женщин по возрасту, имея в виду, что у женщин моложе 30 лет процент наличия инфекции достаточно высок (20–75%), вне зависимости от наличия или отсутствия морфологических изменений, вызванных ВПЧ [4]. Диагноз ASCUS ставят в 3–5% случаев (3 000 000 Пар тестов ASCUS/год только в США), тогда как International Society of Gynecological Pathology (ISGP) называет оптимальным преобладание результата ASCUS в цитодиагностической лаборатории ниже 1,5%.

Материалы и методы

Работа состоит из двух частей: а) анализа различных исследований, в особенности мультицентрового рандомизированного исследования ALTS ("ASCUS/LSIL Triage Study"), объективами которого было выяснить, каково оптимальное ведение пациенток с результатами цитологического исследования ASCUS/LSIL и б) клинической, где данные по клинике (гистологическое подтверждение наличия CIN2/3 при тех или иных результатах Пар теста) были сравнимы с данными общей существующей статистики. Первичным объектом исследования была оценка ведения пациенток с теми или иными результатами Пар теста, показав сходства или отличия клиники от общей статистики и, суммируя клиническую и теоретическую части, выявить основные недостатки и преимущества теста Папаниколау и возможности их решения, а также рассмотреть альтернативные методики ведения пациенток.

Результаты и обсуждение

а) NCI осуществил мультицентровое рандомизированное клиническое исследование, названное ALTS ("ASCUS/LSIL Triage Study"), чтобы определить оптимальное ведение пациенток с результатами Пар теста ASCUS/LSIL, в котором подвергли сравнению по специфичности и чувствительности три алгоритма диагностики, наиболее используемые в США при результатах Пар теста ASCUS/LSIL: немедленную кольпоскопию, серийные кольпоцитологические контроли и ДНК вируса папилломы человека (ВПЧ) тест [1]. Другими словами, целью исследования было выявить наиболее точную диагностическую методику для отбора пациенток с результатами ASCUS/LSIL тех, которые имеют морфологические изменения высокой степени, гарантируя в то же время не агрессивную тактику ведения больных в

случаях благоприятного спонтанного разрешения инфекции ВПЧ. При 4 американских клинических центрах были выбраны 3488 пациенток с диагнозом Пар тест ASCUS и 1572 пациента с начальным результатом Пар LSIL. В момент вербовки все женщины прошли гинекологический осмотр и у каждой были собраны два цервикальных мазка: один – для приготовления препарата для цитологии и для ВПЧ ДНК теста HC II, другой – для определения генотипа вирусного ДНК, даже если результаты последнего не входили в объективы исследования. Затем пациентки были распределены на три равные группы: IC, CM и ВПЧ тест, соответственно которым направлены на: немедленную кольпоскопию (группа "IC", 1163 рандомизированных пациенток) независимо от результатов Пар теста, сделанного в начале исследования (100% пациенток, направленных на кольпоскопию); периодические кольпоцитологические контроли (группа «CM», 1164 рандомизированных пациента), с направлением на кольпоскопический экзамен только в случае результата Пар теста HSIL, исследованного во время начала исследования или в одном из следующих follow up (100 из 1164, или 8,6%); периодические контроли с ВПЧ ДНК тестом (группа «ДНК тест», 1161 рандомизированных пациенток), с направлением на кольпоскопию только в случае выявления во время начала исследования позитивного и/или inadequate теста ВПЧ ДНК или же Пар теста с результатом HSIL (649 из 55,9%). Таким образом, в начале исследования направление на кольпоскопию зависело как от принадлежности к той или иной группе, так и от результата проведенных тестов (Пар теста и ВПЧ ДНК). Исследование ALTS показало, что ведение пациентки с цитологическим результатом ASCUS/LSIL может базироваться на ВПЧ ДНК тесте. По накоплению таких наблюдений было продемонстрировано, что ежегодное проведение ВПЧ ДНК теста после ASCUS/LSIL с направлением на кольпоскопию только пациенток с позитивным при первом или последующих контролях ВПЧ ДНК помогает выявить присутствие морфологических изменений высокой степени (CIN 2-3) с чувствительностью, равной от 83 до 100%. Использование всего лишь одного ДНК ВПЧ теста позволит отобрать 92% пациенток с ASCUS, где присутствует CIN3 (чувствительность = чувствительности немедленной кольпоскопии), при этом уменьшая вдвое количество пациенток, направленных на кольпоскопию относительно непосредственного ее проведения (53% относительно 100%). Было также выявлено, что только 1,4% женщин с Пар тест ASCUS, негативных изначально по ВПЧ ДНК результатов в течение последующих 2 лет CIN3. Также обнаружено, что follow up только с цитологией обладает такой же высокой чувствительностью (95%) в диагностике CIN3, но с более поздним диагностическим результатом и направлением на кольпоскопию 67% пациенток всех ASCUS, относительно 53% ВПЧ ДНК теста, разница в процентах между двумя методиками достаточно высока. Было осмотрено 730 женщин, обратившихся в диагностический центр патологии кольпоскопии с января 2007 и по июль 2009

года; возрастные категории пациенток колебались от 18 до 85, из которых основная часть приходилась на возраст от 20 до 50. Всем женщинам повторно провели Рар тест и кольпоскопию. При малейшем подозрении на дисплазию высокой степени во время кольпоскопии женщинам была проведена биопсия и/или по необходимости хирургическое вмешательство. Данные в процентах возможности наличия дисплазии высокой степени были сравнимы с общей существующей статистикой (табл. 2).

Таблица 2

Сравнение клинических данных 2007–2009 гг. выявления гистологически подтвержденной неоплазии средней/высокой степени при различных результатах теста Папаниколау с общей статистикой

Результат Рар test (кол-во)	Гистологический диагноз (количество женщин) CIN2-3	Процент CIN2-3 при данном результате цитологического исследования	Общая статистика
ASCUS	9	4,7%	5-17%
ASC-H	5	50%	24-94%
L-SIL	24	7%	15-30%
H-SIL	37 (1 инвазивный рак после LEEP)	2,7% инвазивного рака после LEEP	2% инвазивного рака после LEEP
AGC 5	1	20%	9-54%
CARCINOMA SQ. 2	-	-	-

Благодаря этому тесту в последние 50 лет смертность от РШМ уменьшилась на 70%, в последние годы имеет место контроль эффективности скрининга с тестом Папаниколау, с того времени, как стало ясно, что в его методике имеются недочеты, не позволяющие выявлять абсолютно все случаи заболевания опухолью. Цитология – не всегда достоверный метод исследования для обнаружения ВПЧ, койлоциты и дискератоциты – специфические маркеры только для клинического исследования, и большинство инфекций ВПЧ не может быть обнаружено с помощью Рар теста. Другая проблема, что скрининг не охватывает все женское население, как было задумано в идеале, несмотря на наличие огромного числа информации. Неадекватные цитологические мазки наряду с ошибочными диагностическими техниками выполнения и недостатки в проведении скрининговых программ все еще являются причинами повышенной заболеваемости и смертности: 1 из 5 результатов Рар теста является недостоверным из-за неадекватного взятия либо ввиду неточности оборудования либо из-за ошибок интерпретации. Остается также актуальной проблема ложно-негативных результатов. Для проведения более эффективного скрининга необходимо периодически повторять тест. Причин множество,

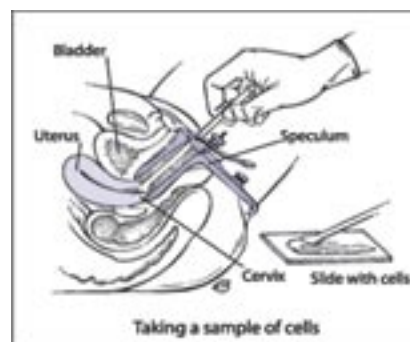


Рис. 1. Техника Рар теста

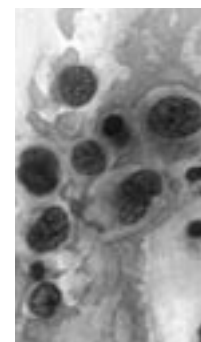


Рис. 2. ASCUS в тесте Папаниколау. Эти клетки были позитивны по ВПЧ 82

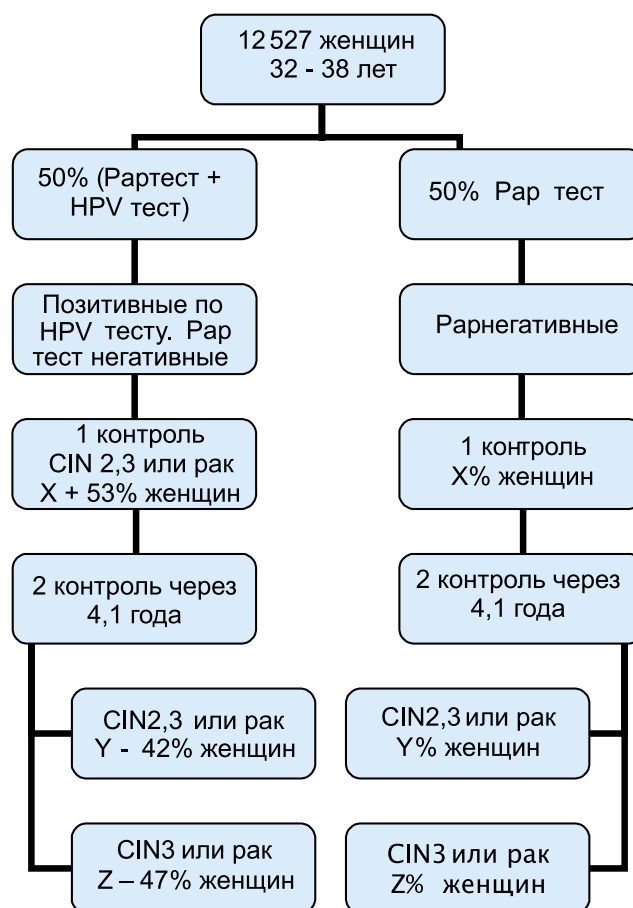


Рис. 3. Рар тест и HPV тест в скрининге РШМ

и, в основном, они связаны с забором материала и его распределения на предметном стекле, а также с ошибками чтения и интерпретации данных. Последующее развитие подобных явлений повело за собой попытки улучшить эффективность Рар теста, улучшая техники сбора и приготовления препаратов, внедряя критерии «контроля за качеством» в цитологических лабораториях и внедряя новые диагностические методики, сходные с цитологией. Из них важная роль отведена тесту по типизации

ВПЧ (табл.2). Новым внедрением для улучшения качества скрининга за последние годы можно считать тонкослойную жидкостную цитологию (в США составляет 25% всей цервикальной цитологии). Преимущества этих методик, по сравнению с традиционным Рар тестом, представлены в цитологических препаратах более высокого качества благодаря получению клеточного монослоя, свободного от таких побочных элементов, как кровь, слизь, экссудативный и некротический материалы, сохранению в лучшей фиксации препарата, присутствию в специальной емкости для хранения фиксирующей жидкости и консерванта, благодаря возможности получить другие препараты, особенно для поиска ВПЧ для молекулярной амплификации посредством ПЦР и его генотипизации. Если же некоторые ученые предлагают немедленный отказ от Рар теста, склоняясь к ВПЧ ДНК тесту, хотя представляется более рациональным сочетание двух этих методик посредством использования новых систем жидкостной цитологии сбора препарата, что поможет устранить ошибки цитологии и в то же время удлинить интервал времени между повторными исследованиями.

Выводы

1. На основе этого и других проведенных исследований American Society for Colposcopy and Cervical Pathology установило, что ВПЧ ДНК тест (табл.3) представляет собой более оптимальный диагностический метод в ведении пациентов с Рар тестом ASCUS, помогая выявить пациентов, которые не нуждаются в кольпоскопии. В то же время он является менее полезным среди пациентов с результатом LSIL, где количество ВПЧ ДНК негативных пациентов, не нуждающихся в кольпоскопии, слишком незначительно относительно общего.

2. По данным общей статистики в 2% случаев биопсий с результатом CIN3 присутствует инвазивный плоскоклеточный рак. По нашим результатам из 37 положительных биопсий CIN2-3 после проведения LEEP в 1 случае результативало наличие инвазивного плоскоклеточного рака, то есть в 2,7% случаев, что незначительно превышает статистику.

3. В результатах Рар тестов и кольпоскопий среди женщин, обратившихся в патологию коль-

поскопии, выявление CIN2-3 во время биопсии за последние 2,5 года не показало резких отличий от прогнозов общей статистики. Выявлена большая по сравнению с общей статистикой точность теста к дифференцированию LSIL от H-SIL (7% CIN2-3 по сравнению с 15-30% от общих прогнозов).

4. Остается также проблема ложно негативных результатов Рар теста, которых было выявлено 30% по сравнению с 10-25% по общей статистике.

5. Рар тест до сегодняшних дней остается не диагностическим, но наивысшим фундаментом методом исследования по осуществлению скрининга большей части предположительно здорового населения. Этот тест как метод исследования очень прост, экономически выгоден и хорошо переносится.

Список литературы

1. Castle P.E., Cox J.T., Jeronimo J., Solomon D., Wheeler C.M., Gravitt P.E., Schiffman M. An analysis of high-risk human papillomavirus DNA-negative cervical precancers in the ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS) // *Obstet Gynecol.* - 2008. - №111(4). - P. 847-856.
2. Elfgrén K., Rylander E., Radberg T., Strander B., Strand A., Paajanen K., Sjöberg I., Ryd W., Silins I., Dillner J. Swedescreen Study Group. Colposcopic and histopathologic evaluation of women participating in population-based screening for human papillomavirus deoxyribonucleic acid persistence // *Am J Obstet Gynecol.* - 2005. - №3. - P. 650-657.
3. Greeks have poisoned the American vaginas: <http://justsayxeno.wordpress.com/2007/05/12/greeks-are-ruining-this-country/>
4. Gestione della paziente con Pap test anormale. Linee Guida della Società Italiana di Colposcopia e Patologia Cervico Vaginale (SICPCV) Ed.2006 // *La Colposcopia in Italia.* - 2006. - №1. - P. 267-274.
5. Origoni M. HPV DNA test nel triage del Pap test «borderline» // *It J Gynaecol Obstet.* - 2005. - №3/4. - P. 126-129.
6. Saslow D., Castle P.E., Cox J.T. et al. American Cancer Society Guideline for Human Papillomavirus (HPV) Vaccine Use to Prevent Cervical Cancer and Its Precursors // *CA Cancer J Clin.* - 2007. - №57. - P. 7-28.
7. Stigliano C.M. Dunque questo Pap test? // *It J Gynaecol Obstet* 2005. - №3/4. - P. 124-125.