

ДИАГНОСТИКА МАРКЕРОВ ПРИ ВПЧ-АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ШЕЙКИ МАТКИ

DIAGNOSIS OF MARKERS IN HPV-ASSOCIATED DISEASES OF THE CERVIX

**A. Yashchuk
R. Zainullina
G. Lyalina**

Summary. The purpose of this study is to review immunohistochemical methods for diagnosing cervical pathology associated with human papillomavirus.

Materials and methods. To search for a literature review, the following keywords were used: immunohistochemistry (IHC), human papillomavirus (HPV), cervical cancer. The inclusion criteria set the time frame from 2015 to 2022. Publications were searched according to these criteria on the following platforms: Web of Science, elibrary.ru. The results of the analysis of data presented in scientific articles were included in the final text of the review.

Results. The article presents immunohistochemical diagnostic methods, expression of Ki-67 and p16/INK4a markers in the diagnosis of cervical diseases in HPV-associated diseases.

Conclusions. The additional use of IHC studies with Ki-67 and P16/INK4a markers increases the information content of the standard histological examination of cervical biopsy specimens and contributes to the development of adequate tactics for the treatment of patients, especially women of reproductive age.

Keywords: immunohistochemistry (IHC), human papillomavirus (HPV), cervical cancer.

Ящук Альфия Галимовна

*Д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Минздрава России Минздрава России
alfiya-galimovna@mail.ru*

Зайнуллина Раиса Махмутовна

*К.м.н., доцент, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Минздрава России Минздрава России
raisa.bsmu@gmail.com*

Лялина Гульнара Зилфировна

*Аспирант, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России
Минздрава России
davlet_g@mail.ru*

Аннотация. Целью данного исследования является обзор иммуногистохимических методов диагностики патологии шейки матки ассоциированной с вирусом папилломы человека.

Материалы и методы. Для поиска литературного обзора использовались ключевые слова: иммуногистохимия (ИГХ), вирус папилломы человека (ВПЧ), рак шейки матки. Критериями включения были заданы временные рамки с 2015 по 2022 гг. Осуществлялся поиск публикаций по данным критериям на следующих платформах: Web of Science, elibrary.ru. Результаты анализа данных, приведенных в научных статьях, были включены в окончательный текст обзора.

Результаты. В статье представлены иммуногистохимические методы диагностики, экспрессия маркеров Ki-67 и p16/INK4a в диагностике заболеваний шейки матки при ВПЧ-ассоциированных заболеваниях.

Выводы. Дополнительное использование ИГХ-исследования с маркерами Ki-67 и P16/INK4a повышает информативность стандартного гистологического исследования биоптатов шейки матки и способствует выработке адекватной тактики лечения больных, особенно женщин репродуктивного возраста.

Ключевые слова: иммуногистохимия (ИГХ), вирус папилломы человека (ВПЧ), рак шейки матки.

Введение

Высочайшую актуальность в современном мире имеет заболеваемость и смертность от рака шейки матки (РШМ). Злокачественные опухоли репродуктивной системы занимают главенствующее положение в женской популяции, где РШМ занимает

2-е место после рака молочной железы (РМЖ), и 3-е среди смертей женщин. Отмечается неуклонный рост числа злокачественных новообразований в России и в мире. За последние годы достигнуты значительные успехи в профилактике, диагностике и лечении онкологических заболеваний, но многие вопросы все еще недостаточно изучены [1]. По итогам 2018 года Россия

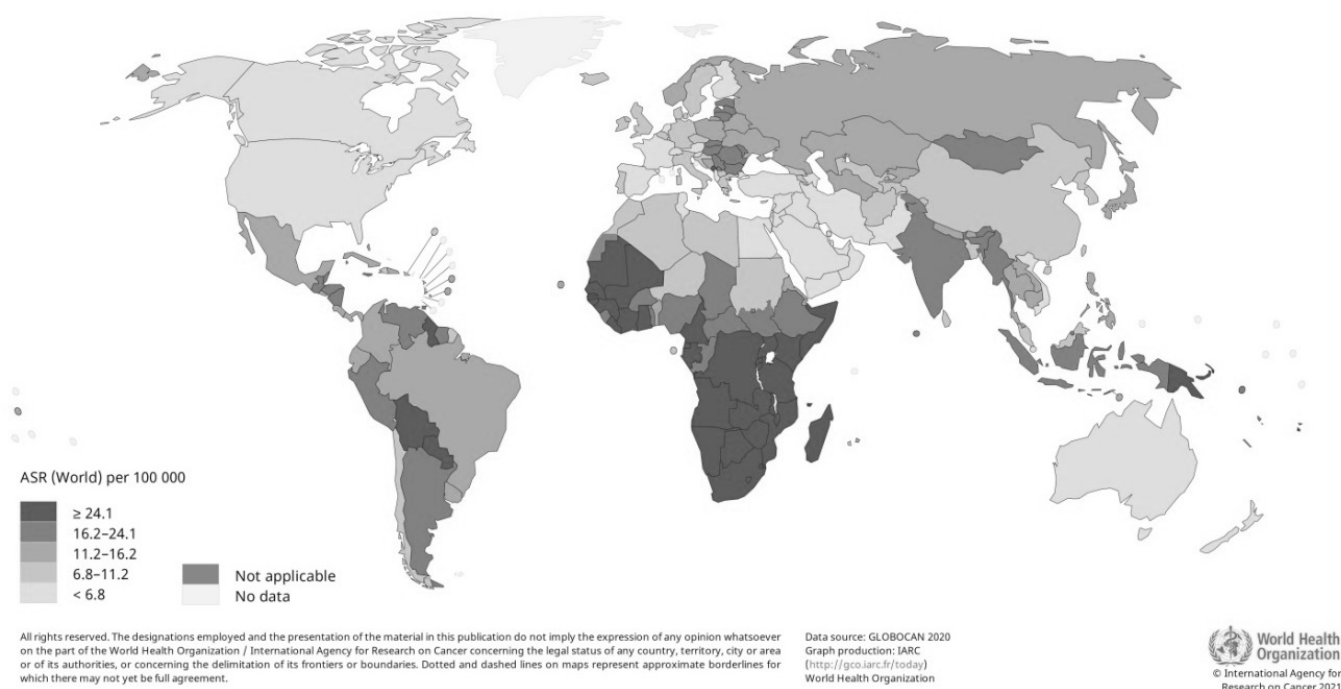


Рис. 1. Стандартизированные показатели заболеваемости РШМ в мире, оценка на 2018 г
Источник: GLOBOCAN МАИР, 2018 г.

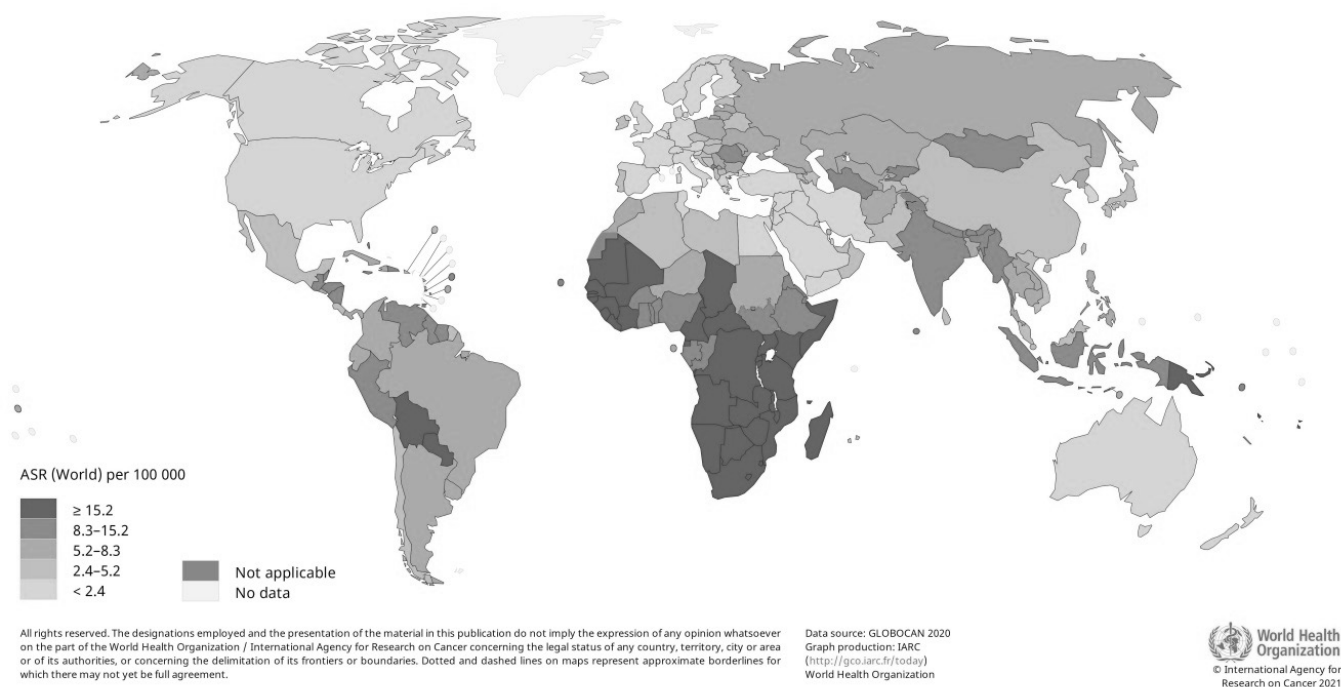


Рис. 2. Стандартизированные показатели смертности от РШМ в мире, оценка на 2018 г.
Источник: GLOBOCAN МАИР, 2018г

заняла пятое место в мировой структуре по смертности онкологических больных — 314,6 тыс. в год (Япония — 409,3 тыс., США — 616,7 тыс., Индия — 784,8 тыс., Китай — 2,86 млн.) (рис. 2) [2].

Во всем мире в 2018 году зарегистрировано почти 570 тыс. случаев РШМ и 311 тыс. случаев смерти, в Африке РШМ был основной причиной смерти от рака у женщин (рис. 2). Средний возраст во всем мире на момент постановки диагноза РШМ составлял 53 года [3].

Рак шейки матки в мировой структуре ЗНО находится на 5 месте. Более 55% новых случаев возникает в странах Восточной и Юго-Восточной Азии, Восточной и Западной Африки, Южной Америки. Перечень стран с самыми высокими стандартизованными показателями заболеваемости выглядит следующим образом (%) (рис. 1): Замбия (66.4), Танзания (59.1), Уганда (54.8), Мадагаскар (51.6); страны с минимальными стандартизованными показателями заболеваемости: Ирак (1.9), Иран (2.2), Египет (2.3), Саудовская Аравия (2.5), Иордания (2.9) [4].

Патогенетическая роль вируса папилломы человека (ВПЧ) в развитии рака шейки матки давно известна. В мире каждый год регистрируется более 500 тыс. новых случаев рака, ассоциированного с ВПЧ инфекцией.

Основной причиной предраковых и раковых поражений шейки матки является инфицирование ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР). Из более 100 известных типов ВПЧ, не менее 14 являются высокоонкогенными. ВПЧ 16, 18 типов отвечают примерно за 70% случаев РШМ в мире.

Цервикальный рак вполне предотвратимая патология, в отличие от большинства других онкологических заболеваний. Известно, что для РШМ обязательна персистенция онкогенных типов ВПЧ, которые в настоящее время выявляются ВПЧ-тестированием. В мировой практике с успехом используется профилактическая вакцинация, как действенная мера первичной профилактики РШМ. Течение ВПЧ-ассоциированного цервикального рака предусматривает многолетние внутриэпителиальные неопластические изменения, которые нам доступны для диагностических и лечебных вмешательств. В связи с этим мы имеем максимум возможностей предотвратить развитие инвазивной карциномы и снизить показатели заболеваемости и смертности. В странах, где проводится государственная программа вакцинации и масштабного скрининга заболеваемость и смертность снижается [5].

Каждый случай инвазивного рака — это результат упущенных возможностей диагностики, а также лече-

ния CIN. Снижение РШМ возможно путем устранения факторов риска, вакцинации и организации скрининга [6].

Диагностика

Скрининг — это массовое обследование населения с целью выявления лиц с наличием определенного заболевания при отсутствии клинических симптомов. Для цервикального скрининга главное назначение в выявлении предраковых процессов или же злокачественных заболеваний шейки матки на ранней стадии. Рассматриваются 3 варианта методик цервикального скрининга: 1) Пап-тест с традиционным мазком (традиционная цитология), Пап-тест с жидкостной пробоподготовкой (жидкостная цитология); 2) ВПЧ-тестирование молекулярными методами; 3) визуальный метод с уксусной кислотой (VIA).

Сталкиваясь с дисплазией шейки матки, врач стоит перед выбором между консервативной и хирургической тактикой ведения пациентки. Золотым стандартом является гистологическое исследование. Но несмотря на это, существует необходимость в дополнительных чувствительных и специфических биомаркерах, которые могут улучшить стандартизацию и контроль качества гистопатологической диагностики. Возможно повышение информативности гистологического исследования при использовании дополнительных методов, например иммуногистохимия (ИГХ). Наиболее известными являются ИГХ маркеры Ki-67 и p16/INK4a, но на сегодня не выработано четких критериев для оценки их экспрессии в гистологических препаратах [8]. Ki-67 — это ядерный белок, связанный с клеточной пролиферацией и экспрессируется во всех активных фазах митотического цикла, для многих опухолевых процессов характерна гиперэкспрессия этого маркера. Исследования показали, что гиперэкспрессия p16/INK4a в раковых и предраковых тканях на молекулярном уровне тесно связана с экспрессией онкогенного белка E7 ВПЧ [9]. Фактически белок p16/INK4a представлен киназами, которые находятся в прямой зависимости от циклинов и приобретает особое значение для регуляции клеточного цикла эукариот. Стоит отметить, что данный белок принимает участие контроле перехода клетки из фазы G1 в фазу S, который опосредован через белок ретинобластомы (pRB). Более того, данный белок направлен на подавление опухолевого роста, равно как повышение экспрессии p16/INK4a. Также он вполне может запускать остановку циклов клеточного деления. Большинство видов опухолей имеют инактивацию гена p16/INK4a, что порождает различные нарушения регуляции клеточного цикла, а также бесконтрольную пролиферацию клеток. Одновременно с этим, в опухолях, которые непосредственно и достаточно тесно связаны с транс-

формирующим действием ВПЧ, вполне можно наблюдать увеличение экспрессии белка подобного рода. Отметим, что экспрессия белка p16/INK4a достаточно реактивно увеличивается на фоне роста количества вирусных онкобелков ВПЧ E6 и E7. В этом случае, повышение экспрессии p16/INK4a не имеет должной эффективности для регуляции клеточного цикла, так как онкобелки ВПЧ действуют на уровне белка ретинобластомы. Повышение экспрессии p16/INK4a, применительно к рассматриваемому виду опухолей вполне можно рассматривать через призму косвенного признака интеграции ВПЧ высокого риска в геном и трансформации эпителиальных клеток под действием ВПЧ [10].

Иммуноцитохимическое исследование позволяет обнаружить экспрессию белка p16 (p16INK4a) на поверхности эпителиальных клеток. Так, белок p16 выступает в качестве биологического маркера начала канцерогенеза, а повышение его экспрессии можно наблюдать в рамках предраковых изменений. Полагаем, что такая ситуация вполне может рассматриваться через призму непрямого маркера активной онкогенной экспрессии ВПЧ и высокого онкологического риска (выявляется при переходе ВПЧ из эписомальной формы в интегрированную). Более того, выявление экспрессии данного белка позволяет максимально точно обнаружить риск развития рака шейки матки и, как следствие, оперативно начать лечение. Более того, выявление и анализ уровня экспрессии позволит на практике определить степень нарушения пролиферации в целом, что способствует развитию опухоли, равно как способность той или иной опухоли давать метастазы.

Достаточно перспективным тестом для диагностики дисплазии и рака шейки матки видится иммуноцитохимическое определение повышенной экспрессии гена-супрессора p16INK4a. В норме, кодируемый этим геном, белок p16INK4a осуществляет блокировку стимуляции деления клетки, которая вызывается фактором роста и происходит на фоне угнетения циклин-зависимой киназы. Впоследствии это приводит к нарушению фосфорилирования белка ретинобластомы (БРБ). В таких условиях БРБ связано с фактором транскрипции E2F и направлено на блокировку его митотической активности, что затем останавливает деление клетки. В то же время, в рамках ВПЧ инфекции, встроенная в геном хозяина ДНК вируса синтезирует такие онкогены, как E6 и E7. Онкоген E7 связывается с белком ретинобластомы, препятствуя ингибированию E2F. На практике это порождает попросту бесконтрольное деление клетки и повышенный синтез белка p16INK4a, что может быть зафиксировано с помощью цитоиммунохимической реакции [7]. Определение онкобелка p16INK4a позволяет определить раннюю стадию рака шейки матки. Стоит отметить, что по своей эффективности данный тест яв-

ляется более релевантным, чем кольпоскопия или генотипирование ВПЧ или кольпоскопия.

В исследовании Л.И. Мальцевой и соавт [11], сообщается, что при взаимодействии ВПЧ 16 и 18-го типов с эпителиальной клеткой образуются вирусные белки E6 и E7. А P16ink4a появляется в процессе метилирования генов супрессоров и говорит о генетической нестабильности, что наблюдается до малигнизации. И можно сделать вывод о том, что накопление p16ink4a в цитоплазме поможет диагностировать предраковую патологию и ранние формы рака шейки матки.

По данным F. Karlsen для низкой степени плоскоклеточного интраэпителиального поражения (LSIL) специфичность показателей онкопротеинов E6 и E7 составляет 80% [12].

ВЫВОДЫ

Со степенью тяжести дисплазии непосредственно связано то, насколько выражена экспрессия ИГХ-маркеров Ki-67 и P16/INK4a в ткани шейки матки. Дополнительное использование ИГХ-исследования с указанными маркерами, включая стандартное гистологическое исследование, всегда способствует выделению больных, которые имеют низкий и высокий риск развития различных тяжелых поражений. Это приобретает особую актуальность для группы CIN2, которая является наиболее проблемной в части гистологической оценки и методики работы с пациентками. Стоит отметить, что дополнительное использование ИГХ-исследования с маркерами Ki-67 и P16/INK4a существенно повышает эффективность и информативность исследований биоптатов шейки матки. Кроме того, это во многом направлено на разработку оптимальной тактики лечения больных лиц, в частности, женщин, находящихся в детородном возрасте.

Иммуногистохимическое обследование на маркеры позволит уточнять заключения цитолога, а дополнительному исследованию на онкопротеина p16ink4a будут подлежать все случаи атипической цитологии, за исключением инвазивного рака шейки матки, а также неопределенные цитологические заключения (в частности, все атипические клетки плоского эпителия неясного значения-ASCUS), равно как изменения железистого эпителия. Во многих случаях ИГХ с маркерами способствует формированию индивидуальной тактики в отношении пациенток, а также позволяет улучшить систему мониторинга тех пациенток, которые прошли органосохраняющее лечение после рака шейки матки и тяжелой дисплазии путем добавления определения онкопротеина p16ink4a к рутинному цитологическому исследованию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cancer Today (powered by GLOBOCAN2018) [Электронный ресурс] / J. Ferlay [et al.] // International Agency for Research on Cancer (IARC) Cancer Base No15. — 2018.
2. Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. 236 с.
3. The Global Cancer Observatory. <http://gco.iarc.fr>
4. Пак Р.В. Эпидемиологические особенности рака шейки матки в мире // Вестник КазНМУ. 2019. № 1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/epidemiologicheskie-osobennosti-raka-sheyki-matki-v-mire> (дата обращения: 02.06.2021).
5. World Health Organization. Human papillomavirus vaccines: WHO position paper, May 2017-Recommendations [Электронный ресурс] // Vaccine. — 2017. — Vol. 35, № 43. — P. 5753–5755. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.05.069 \
6. Доброкачественные и предраковые заболевания шейки матки с позиции профилактики рака. Клинические рекомендации (протоколы диагностики и ведения больных). РОАГ. Утв. МЗ РФ от 02.11.2017 г. № 15–4/10/2/-76–76. Мю- 2017- с. 54
7. Wyber R, Vaillancourt S, Perry W, Mannava P, Folaranmi T, Celi LA. Big data in global health: improving health in low- and middle-income countries. Bull World Health Organ. 2015 Mar 1; 93 (3):203–208. <https://doi.org/10.2471/BLT.14.139022>
8. Hebbar A, Murthy VS. Role of p16/INK4a and Ki-67 as specific biomarkers for cervical intraepithelial neoplasia: An institutional study. J Lab Physicians. 2017 Jun; 9 (2):104–110. <https://doi.org/10.4103/0974-2727.199630>
9. Branca M, Ciotti M, Giorg C, Santini D, Di Bonito L, Costa S, et al. Predicting high-risk human papillomavirus infection, progression of cervical intraepithelial neoplasia, and prognosis of cervical cancer with a panel of 13 biomarkers tested in multivariate modeling. Int. J. Gynecol. Pathol. 2008; 27 (2):265–273. <https://doi.org/10.1097/PGP.0b013e318159cbc0>
10. US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. Screening for Cervical Cancer. JAMA. 2018;320 (7):674–686. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.10897>
11. Ашрафян Л.А., Оводенко Д.Л. Основные трудности скрининга рака шейки матки. Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. 2018; 1: 14–7.
12. Мальцева, Л.И. Инновационные подходы к диагностике предрака и рака шейки матки у женщин с ВПЧ-ассоциированным цервицитом. / Л.И. Мальцева, Л.Н. Фаррахова, М.А. Нюхин. //Ульяновский медико-биологический журнал. № 3, 2013- с. 86–89
13. Comparison of HPV detection technologies: Hybrid capture 2, PreTect HPV-Proofer and analysis of HPV DNA viral load in HPV16, HPV18 and HPV33 E6/E7 mRNA positive specimens. / Karlsen F [et al.] // J Virol Methods, 2009-Jan. — 155(1): 61–66.
14. Давыдов А.И., Шахламова М.Н., Тер-Овакимян А.Э. Комплексное решение терапии патологии шейки матки, ассоциированной с вирусом папилломы человека. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2018;17(2):27–31. DOI: 10.20953/1726–1678–2018–2–27–31
15. Ашрафян Л.А., Киселев В.И., Кузнецов И.Н., Серова О.Ф., Узденова З.Х., Герфанова Е.В. Рак шейки матки: проблемы профилактики и скрининга в Российской Федерации. Доктор.Ру Гинекология. 2019;11(166):50–54. / DOI: 10.31550/1727–2378–2019–166–11–50–54
16. Новые возможности ранней диагностики и профилактики ВПЧ-ассоциированных поражений шейки матки. В.Н. Прилепская [и др.] — Медицинский совет. Гинекология, 2019- с. 72–76
17. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, Griesser H, Alameda F, Angeloni C, et al; PALMS Study Group. Screening for cervical cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: results of the PALMS study. J Natl Cancer Inst. 2013 Oct 16;105(20):1550–7. DOI: 10.1093/jnci/djt235
18. Cancer Today (powered by GLOBOCAN2018) [Электронный ресурс] / J. Ferlay [et al.] // International Agency for Research on Cancer (IARC) Cancer Base No15. — 2018.
19. World Health Organization. Human papillomavirus vaccines: WHO position paper, May 2017-Recommendations [Электронный ресурс] // Vaccine. — 2017. — Vol. 35, № 43. — P. 5753–5755. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.05.069 \
20. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность). Под ред. В.И. Чиссова, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена Росмедтехнологий», 2020. [Malignant neoplasms in Russia in 2019 (morbidity and mortality). Ed. V.I. Chissov, V.V. Starinsky, G.V. Petrova. Moscow: FGU «MNIIOI im. P.A. Gertsena Rosmedtehnologii», 2019 (in Russian).]
21. Crosbie EJ et al. Human papillomavirus and cervical cancer. Lancet 2013; 382 (9895): 889–99.
22. The Global Cancer Observatory. <http://gco.iarc.fr>
23. Доброкачественные и предраковые заболевания шейки матки с позиции профилактики рака. Клинические рекомендации (протоколы диагностики и ведения больных). РОАГ. Утв. МЗ РФ от 02.11.2017 г. № 15–4/10/2/-76–76. М. — 2017- с. 54
24. Аляутдина О.С., Синицына О.В. Значение теста на онкобелок p16ink4a в алгоритме диагностики рака шейки матки // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. — 2016. — № 11–1. — С. 58–60.

© Ящук Альфия Галимовна (alfiya-galimovna@mail.ru),

Зайнуллина Раиса Махмутовна (raisa.bsnu@gmail.com), Лялина Гульнара Зилфировна (davlet_g@mail.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»