

“ЗНАЧЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ОСНОВ ПРИ ПРОГНОЗИРОВАНИИ ПРЕДРАКА РАННИХ ФОРМ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ”

*Атаханова Нигора Эргашевна – профессор, д.м.н.,
заведующая кафедрой «Онкология» Ташкентской
медицинской академии, Ташкент, Узбекистан*

*Турсунова Нодира Исроиловна – к.м.н., доцент
кафедры «Онкология» Ташкентской медицинской
академии, Ташкент, Узбекистан*

*Бахтиёрова Мухайё Умаржон кизи – магистр
кафедры «Онкология» Ташкентской медицинской
академии, Ташкент, Узбекистан*

*Орынбекова Эльмира Муратовна – магистр
кафедры «Онкология» Ташкентской медицинской
академии, Ташкент, Узбекистан*

*Холиддинов Хумоюнмирзо Шухратжон угли –
магистр кафедры «Онкология» Ташкентской
медицинской академии, Ташкент, Узбекистан*

Аннотация: Рак шейки матки (РШМ) занимает четвертое место среди наиболее распространенных видов рака и является одной из главных причин смертности женщин от онкологических заболеваний по всему миру. Особенно страшной является диагностика РШМ на поздних стадиях, когда результаты лечения могут быть менее эффективными. Однако, обнаружение биомаркеров предлагает новые возможности для применения точной медицины и улучшения исходов для пациентов. Иммуногистохимия, с высокой скоростью и точностью, уже значительно ускоряет этот процесс. Сегодня, благодаря развитию технологий, было обнаружено множество различных биомаркеров РШМ. Однако, мало из них было успешно внедрено в клиническую практику из-за ограниченного количества масштабных клинических исследований. Интегративные подходы, основанные на разных уровнях тканевых функций, позволяют лучше понять основы биологии РШМ через выявление взаимосвязей между участвующими биомолекулами и их функциями. Этот подход помогает выявить новые профили интегрированных биомаркеров и расширить область применения точной медицины. Создание всемирной системы исследований ранней диагностики (EDRN) также способствует ускорению процесса трансляции биомаркеров в клиническую практику. Для заполнения пробелов в исследованиях мы рассматриваем последние достижения в разработке биомаркеров РШМ, основанных на применении высокопроизводительных технологий с упором на геномику для более эффективного определения

заболевания.

Ключевые слова: ВПЧ-тестирование, биомаркеры, дисплазия, инвазивный рак шейки матки;

Несмотря на то, что рак шейки матки (РШМ) легко предотвратить, он всё же является четвертым по распространенности гинекологическим заболеванием, которое нарушает здоровье и угрожает жизни женщин, особенно в странах с низким и средним уровнем дохода [1-3]. В настоящее время исследования в области онкологии сосредоточены на предсказании предраковых и ранних форм РШМ, и клинические и иммуногистохимические принципы играют важную роль в выявлении молекулярных биомаркеров и патологических процессов, связанных с прогрессией этой опасной патологии. В 2018 году Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) зафиксировала около 570 000 случаев РШМ и около 311 000 смертей у женщин от этого заболевания [4]. Персистирующая инфекция, вызванная вирусом папилломы человека (ВПЧ) высокого риска, является основной причиной развития рака шейки матки [5]. Поздняя диагностика РШМ на ранних стадиях часто связана с отсутствием симптомов и неспецифическим характером заболевания [6]. В клинической практике наиболее часто используемыми методами скрининга являются цитологический скрининг (тест Папаниколау) и тестирование на ВПЧ [7]. Однако эти методы имеют некоторые ограничения, такие как дискомфорт для пациентов, инвазивность и чувствительность, а также низкая чувствительность и специфичность. Раннее обнаружение заболевания имеет огромное значение благодаря доступности различных методов лечения, которые делают РШМ излечимым [8]. Хирургическое вмешательство, лучевая терапия, химиотерапия и их комбинации являются доступными вариантами лечения, однако они могут вызывать различные побочные эффекты и не всегда приводят к полному излечению [9, 10]. Предраковыми состояниями шейки матки являются дисплазии эпителия I–III степеней [цервикальная интраэпителиальная неоплазия (CIN) или плоскоклеточные интраэпителиальные поражения (SIL)]. CIN - это группа заболеваний, которая характеризуется нарушением созревания и стратификации многослойного плоского эпителия шейки матки. CIN I обычно регрессирует и не является предраковым состоянием, однако небольшая часть случаев CIN I прогрессирует к CIN II-III, которые уже являются предраковыми поражениями. Эти состояния, при отсутствии лечения, могут предшествовать развитию РШМ на протяжении нескольких лет и даже десятилетий. В такой длительный период времени CIN могут быть выявлены и излечены до развития инвазивного рака с помощью органосохраняющих мер [1], [2], [3]. Основной опасностью для

женщин является рак шейки матки. Все методы диагностики и исследования шейки матки разрабатывались, чтобы обнаружить это заболевание и его предраковое состояние.

Существует несколько классификаций предраковых состояний шейки матки. Термин "дисплазия" был предложен J. Reagan в 1953 году и впоследствии принят ВОЗ в 1972 году для обозначения пролиферативных процессов в эпителии. Этот термин наиболее распространен в РФ. С 1975 года используется термин "CIN". CIN I соответствует слабо выраженной дисплазии (I). CIN II соответствует умеренно выраженной дисплазии (II). CIN III соответствует тяжелой дисплазии (III) и карциноме *in situ*. В последние годы в различных странах активно развивается фармакоэкономический подход для улучшения диагностики и управления расходами на медицинскую помощь, особенно в условиях глобального кризиса. Лечение и наблюдение за пациентами с ЦИН имеют высокую стоимость, а хирургическое лечение может сопровождаться осложнениями, что увеличивает риск для здоровья и репродуктивной функции женщин, а также затраты на медицинскую помощь [10, 11]. Дисплазия первой степени чаще встречается у молодых женщин. Однако, несмотря на это, у 15-20% этих пациенток с цитологическим диагнозом слабой дисплазии гистологически выявляются более значительные предраковые изменения. ЦИН 2- высокий онкогенный груз для систем здравоохранения, ассоциированный с поражением вирусом папилломы человека (ВПЧ), является распространенным заболеванием шейки матки. Чаще всего выявленными генотипами ВПЧ были: 16, 33, 31, 18, 45, 39, 35, 46, 51%. Тяжелая дисплазия была обнаружена у 18,75% больных. Однако, низкая специфичность скрининговых тестов может привести к недостаточному или нецелесообразному лечению предраковых поражений шейки матки. Экспрессия генов хозяйских клеток изменяется под влиянием онкогенных продуктов ВПЧ, таких как Ki-67 и p16. Наличие атипичных клеток, экспрессирующих одновременно p16 и Ki-67, указывает на более серьезное поражение. Поэтому оценка биомаркеров p16 и Ki-67 имеет важное значение для выбора оптимальной тактики ведения больных. ВПЧ является главным фактором риска развития дисплазии и инвазивного рака шейки матки. Подтипы ВПЧ могут поражать половые пути, а 13 из них связаны с раком. ВПЧ 16 и 18 наиболее тесно связаны с раком шейки матки. Инфекция ВПЧ 16 является сильным предиктором развития CIN 3 и рака шейки матки. Канцерогенез шейки матки начинается с инфекции ВПЧ и прогрессирует с экспрессией онкогенов E6 и E7. Супрессорные гены, такие как p53 и Rb, также инактивируются вирусными онкогенами, приводя к развитию дисплазии и рака. Понимание патофизиологии ВПЧ-инфекции и ее роли в прогрессировании дисплазии шейки матки имеет важное

значение для адекватного лечения предраковых поражений и развития более чувствительных диагностических инструментов.

Кроме ВПЧ-инфекции, есть много других факторов риска, связанных с возникновением рака шейки матки. Хотя исследования по-прежнему продолжаются, чтобы точно определить связь между каждым фактором риска, ВПЧ-инфекцией и предраковыми изменениями. ВПЧ-инфекция обычно передается половым путем, поэтому ранний возраст начала половой активности и большое количество сексуальных партнеров увеличивают риск развития дисплазии шейки матки и рака [1, 3, 8]. В недавнем исследовании, опубликованном Гинекологической онкологией, была проведена оценка связи между каждым отдельным фактором риска и развитием CIN 2. Установлено, что количество половых партнеров на протяжении жизни связано с повышенным риском развития рака шейки матки и CIN 3 по сравнению с CIN 2 [8]. Это исследование также показало, что отсрочка половой активности до 19 лет связана с уменьшением риска развития CIN 3 [8]. Повышение количества родов связано с увеличением риска CIN 3, наибольшую корреляцию наблюдали у женщин с тремя и более родами [8]. Обнаружена значительная связь между употреблением табака и развитием дисплазии шейки матки и рака. Текущее курение представляет больший риск, чем курение в прошлом. Также проведенные исследования показали, что увеличение числа пачек-лет связано с повышенным риском CIN 3 [1, 8]. При использовании оральных контрацептивов, по сравнению с внутриматочными противозачаточными средствами или отсутствием гормональной контрацепции, увеличивается риск развития рака шейки матки. Оральные контрацептивы также могут привести к повышенному риску CIN 3 по сравнению с CIN 2. Более длительное использование оральных контрацептивов (более 10 лет) связано с увеличенным риском дисплазии шейки матки и рака [8, 9], хотя механизм этой связи до сих пор не ясен [9, 10]. Одна из гипотез связана с влиянием гормонов на репликацию ВПЧ во время инфекции. Вирус имеет сайты гормонального распознавания в своей области транскрипции и его репликация усиливается при гормональной стимуляции, что было доказано на клеточном уровне [1]. Кроме того, длительное использование оральных контрацептивов может привести к более рискованному сексуальному поведению, снижению использования презервативов и увеличению числа сексуальных партнеров, каждый из которых связан с риском приобретения ВПЧ-инфекции [1, 3, 8]. Одним из важных аспектов предсказания предраковых и ранних стадий рака шейки матки является определение областей с дисплазией и выявление изменений в тканях, которые предшествуют развитию раковых клеток. Для достижения этой цели, в клинической практике широко используются различные современные методы, включая колпоскопию,

цитологические исследования с помощью Папаниколау теста и гистологический анализ биоптатов. Важно отметить, что прогностические факторы часто имеют большее значение для исхода заболевания, чем терапевтический эффект. В настоящее время также активно изучаются иммуногистохимические (ИГХ) показатели в качестве прогностических критериев эффективности лечения и прогрессирования рака шейки матки. Иммуногистохимические маркеры, такие как маркеры активации онкогенов и генов-супрессоров, апоптотической и пролиферативной активности, играют особую роль в развитии рака. Особое внимание следует уделять дефектам генов, которые контролируют повреждение ДНК и клеточную пролиферацию, так как они играют ключевую роль в механизмах канцерогенеза.

При диагностике патологии шейки матки применяются несколько методов: визуальный осмотр, цитологический метод (традиционная цитология, жидкостная цитология), ВПЧ-тестирование, расширенная кольпоскопия и гистологическое исследование биоптата шейки матки [33]. Скрининг предраковых поражений шейки матки и инвазивных форм РШМ регулярно рекомендуется начинать с 21 года, после первого полового акта [11•, 12]. В соответствии с обновленными рекомендациями, пациентам в возрасте от 21 до 29 лет рекомендуется проходить рефлексное тестирование на ВПЧ раз в три года, а совместное тестирование на ВПЧ может проводиться пациентам в возрасте от 30 до 65 лет [11•, 12]. Однако совместное тестирование на ВПЧ не рекомендуется для пациентов моложе 30 лет, так как в этой возрастной группе достаточно распространена транзиторная ВПЧ-инфекция, которая обычно регрессирует самостоятельно, и заболеваемость раком шейки матки низка [11•, 12]. Важно помнить, что более длительные интервалы проверки применяются только в том случае, если цитологическое исследование не выявляет необходимость дальнейшего обследования. Рядом с вышеупомянутыми методами, современные исследования подчеркивают важность иммуногистохимического анализа при определении потенциальных молекулярных маркеров ранних стадий рака шейки матки. Недавние исследования показали, что высокая экспрессия белка p16INK4a в тканях шейки матки может быть связана с повышенным риском развития раковых клеток. Эти данные позволяют более точно и заранее идентифицировать высокорисковых пациенток и принять необходимые меры предосторожности.

Кроме того, иммуногистохимический анализ может помочь определить степень злокачественного превращения опухоли в тканях шейки матки. Обнаружение биомаркеров, таких как Ki-67 и p53, позволяет более точно

определить наличие и степень развития рака, что существенно влияет на прогноз и стратегию лечения. Белок p16INK4a является ингибитором циклинзависимых киназ и играет важную роль в регуляции клеточного цикла. Он участвует в контроле перехода клетки из фазы G1 в фазу S и подавляет опухолевый рост; повышенная экспрессия p16INK4a может вызвать остановку клеточного деления. Многие опухоли характеризуются неактивностью гена p16INK4a, что приводит к нарушению регуляции клеточного цикла и неконтролируемому размножению клеток. Однако в случае опухолей, связанных с действием ВПЧ, отмечается увеличение экспрессии данного белка. Экспрессия p16INK4a реактивно увеличивается при росте вирусных онкобелков ВПЧ E6 и E7. При этом повышение экспрессии p16INK4a неэффективно для регуляции клеточного цикла, так как онкобелки ВПЧ воздействуют на уровне белка ретинобластомы. Повышение экспрессии p16INK4a в отношении этого типа опухолей рассматривается как косвенный признак интеграции ВПЧ высокого риска в геном и трансформации эпителиальных клеток под воздействием ВПЧ.

Автор Gerdes и его коллеги впервые опубликовали описание антигена KI-67 в 1983 году. Этот антиген состоит из двух полипептидных цепей, масса каждой из которых составляет 345 и 395 кДа соответственно. В интерфазе KI-67 является основной частью ядерной матрицы и связывается с хромосомами в фазе митоза. Хотя эта димерная молекула тесно связана с 10-й хромосомой, конкретная роль KI-67 в процессе клеточного деления до сих пор неизвестна. Однако экспрессия этого антигена позволяет отличить опухолевые клетки, которые находятся в активной фазе клеточного цикла на протяжении всего процесса (фазы G1, S, G2 и M), за исключением периода G0.

Пролиферативная активность опухолевых клеток представляет собой "фракцию роста" новообразования и играет важную роль как в механизме злокачественной трансформации клеток, так и в биологическом поведении уже существующих опухолей. Пролиферативная активность опухоли является ключевым фактором, определяющим скорость роста новообразования, его способность к метастазированию, реакцию на лечение и исход онкологического заболевания. Многие факторы, влияющие на прогрессирование и исход онкологических заболеваний, оказывают свое патогенетическое воздействие на опухоль путем изменения пролиферативной активности.

Исторически гистологическая диагностика интраэпителиальной цервикальной неоплазии (CIN) основывалась только на морфологической оценке измененного эпителия и определении цитопатического действия

ВПЧ. Однако рутинные гистологические методы имеют свою субъективность и иногда приводят к неправильным диагнозам, что значительно влияет на тактику прогнозирования и лечения пациентов. Поэтому определение уровня пролиферации при исследовании экспрессии KI-67 (MIB-1) посредством метода иммуногистохимии является необходимым и рутинным шагом при любом онкологическом заболевании. При дисплазиях умеренной и высокой степени (80-100% случаев CIN II и практически все случаи CIN III) и инвазивном раке шейки матки обнаруживается усиленная экспрессия белка p16INK4a. Определение экспрессии белка p16INK4a с использованием метода иммуногистохимии, в сочетании с индексом пролиферации (экспрессией KI-67), является важным критерием для дифференциального диагноза дисплазии умеренной и высокой степени (CIN II и III) и начальных форм рака шейки матки (Adenocarcinoma in situ, микроинвазивная аденокарцинома). На основе пересмотренных руководящих принципов ASCCP лечение предраковых поражений у женщин в возрасте от 30 до 65 лет начинается при гистологическом диагнозе CIN 2 или выше. Обычно предраковые поражения шейки матки можно объединить в абляционные или эксцизионные процедуры. Аблятивные процедуры, такие как криотерапия и лазерная абляция, обычно применяются при низкой степени злокачественности поражений, которые не затрагивают эндоцервикальную ткань [21, 25•]. Эксцизионная процедура включает процедуру петлевого электрохирургического иссечения (LEEP) и конизацию холодным ножом. В данном обзоре рассматривается только конус с холодным ножом и LEEP, так как большинство врачей предпочитают использовать именно эти процедуры [21, 25•]. Эксцизионная процедура обычно предпочтительнее в случаях с поражением эндоцервикальной ткани, более высокой степенью дисплазии и необходимостью гистологического исследования, однако эти процедуры не лишены риска. Приведены различные варианты лечения и рассмотрены преимущества и недостатки абляционных методов по сравнению с эксцизионными процедурами, а также сравниваются LEEP с конизацией холодным ножом и криотерапию с лазерной абляцией. В свежее опубликованном обзоре Кокрейна, в котором детально рассматриваются процедуры лечения неоплазии шейки матки, не найдено значительных различий в остаточной болезни между криотерапией и лазерной абляцией, особенно при использовании метода криотерапии с двойным замораживанием [25•]. Лазерная абляция связана с уменьшением вазомоторных симптомов и неприятным запахом выделений по сравнению с криотерапией.

В заключение стоит подчеркнуть, что длительный прогресс CIN до инвазивного рака, наличие высокочувствительных тестов для ранней диагностики, делает возможным обнаружение данных заболеваний на предраковой стадии. Это открывает возможность для своевременного лечения молодых женщин с органосохраняющим подходом и сохранением их репродуктивной функции, так как именно эта группа является основной рискующей заболеванием. Каждый случай инвазивного рака, проявившегося на стадии 1a, является результатом пропущенных возможностей диагностики CIN или неправильного лечения. Своевременное обнаружение тяжелой CIN, включая предраковую стадию и МРШМ (микроинвазивный рак шейки матки), и адекватное лечение могут помочь предотвратить развитие инвазивных форм у большинства пациенток, подверженных этому серьезному заболеванию. Развитие профилактических методов, включающих вакцинацию подростков против ВПЧ 16-18 типов, создание программ организованного скрининга, использование современных инструментов в существующих методах скрининга, внедрение соответствующих алгоритмов диагностики, лечения и наблюдения за пациентами с CIN - все эти задачи являются основными приоритетами в области государственного здравоохранения.

Список литературы:

1. Barakat RR, Berchuck A, Markman M, Randall M. Principles and practice of gynecologic oncology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams, and Wilkins; 2013.
2. Peralta-Zaragoza O, et al. HPV-based screening, triage, treatment, and follow-up strategies in the management of cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol Int.* 2013.
3. Lentz M, Lobo RA, et al. Comprehensive gynecology. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Mosby; 2012.
4. Shetty MK. Breast and gynecologic cancers: an integrated approach for screening and diagnosis in developing countries. New York: Springer Sciences; 2013. p. 83–98.
5. D'Ottaviano M, et al. HPV 16 is related to the progression of cervical intraepithelial neoplasia grade 2: a case series. *Obstet Gynecol Int.* 2013.
6. Tornesello M, et al. Viral and cellular biomarkers in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia and cancer. *BioMed Res Int.* 2013.
7. Broccolo F, Fusetti L, et al. Comparison of oncogenic HPV typespecific viral DNA load and E6/E7 mRNA detection in cervical samples: results from a multicenter study. *J Med Virol.* 2013;85: 472–82.

8. Luhn P et al. The role of co-factors in the progression from human papillomavirus infection to cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2012;128:265–70.
9. Vessey M, Yeates D. Oral contraceptive use and cancer: final report from the Oxford-Family Planning Association Contraceptive Study. *Contraception.* 2013;88:678–83.
10. Gierisch J, Coeytaux RR, et al. Oral contraceptive use and risk of breast, cervical, colorectal, and endometrial cancers: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2013;22:1931–43.
11. Stewart ML et al. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *Obstet Gynecol.* 2013;121(4):829–46. A concise overview of the updated 2012 ASCCP guidelines organized by abnormal cytology and histologic diagnosis.
12. Practice Bulletin No. 140: management of abnormal cervical cancer screening test results and cervical cancer precursors. *Obstet Gynecol.* 2013;122(6):1338–66.
13. Nanda K, McCrory DC, et al. Accuracy of the papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med.* 2000;132(10):810–9.
14. Guo M, Gong Y, et al. The role of human papillomavirus type 16/18 genotyping in predicting high-grade cervical/vaginal intraepithelial neoplasm in women with mildly abnormal papanicolaou results. *Cancer Cytopathol.* 2012.
15. Rao A et al. Comparison of hybrid capture 2 high-risk HPV results in the low positive range with cobas HPV test results from the ATHENA study. *J Clin Virol.* 2013;58:161–7.
16. Gillo-Tos A, De Marco L, et al. Clinical impact of the analytical specificity of the hybrid capture 2 test: data from the New Technologies for Cervical Cancer (NTCC) study. *J Clin Microbiol.* 2013;51(9):2901–7.
17. Moberg M, Gustavsson I, et al. Real-time PCR-based system for simultaneous quantification of human papillomavirus types associated with high risk cervical cancer. *J Clin Microbiol.* 2003;41(7):3221–8.
18. Perez-Castro S et al. Human papillomavirus (HPV) E6/E7 mRNA as a triage test after detection of HPV 16 and HPV 18 DNA. *J Med Virol.* 2013;85:1063–8.
19. Oliveira A, Verdasca N, Pista Â. Use of the NucliSENS EasyQ HPV assay in the management of cervical intraepithelial neoplasia. *J Med Virol.* 2013;85:1235–41.
20. Apgar B et al. Gynecologic procedures: colposcopy, treatment of cervical intraepithelial neoplasia, and endometrial assessment. *Am Fam Physician.* 2013;87(12):836–43.