

# Современные стратегии клинико-диагностического сопровождения папилломавирусной инфекции

 **РеалБест**



# Актуальность диагностики папилломавирусной инфекции (ПВИ)

- Общий рост инфицированности и заболеваемости

**Одна из наиболее распространённых инфекций, передаваемых половым путём – 55-65%**

- Возможность передачи от матери плоду/новорожденному (около 30% случаев)

# Вирус папилломы человека (ВПЧ, Human papillomavirus, HPV)

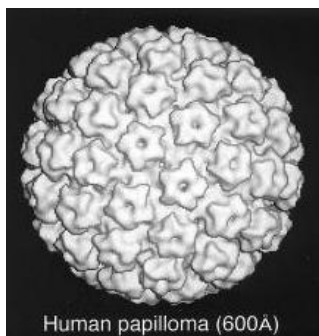
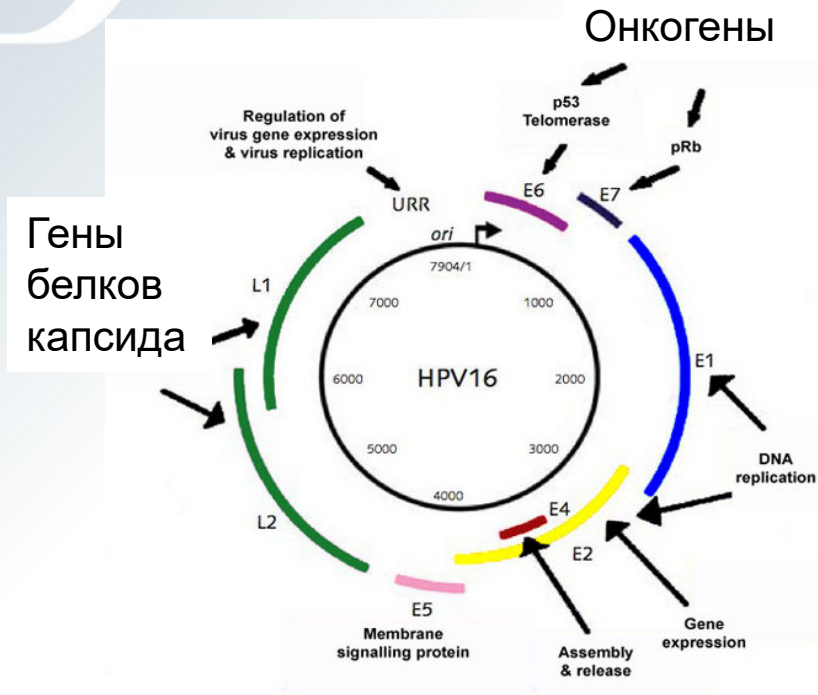
- ДНК-содержащие вирусы семейства *Papillomaviridae*
- Передача только от человека к человеку
- Известно около 400 типов (более 40 могут вызывать поражения аногенитального тракта)
- Пути передачи: половой, трансплацентарный, перинатальный, контактно-бытовой
- Инфицирование является онкогенным фактором



Харальд Цур Хаузен – Нобелевская премия по физиологии и медицине за 2008 г.



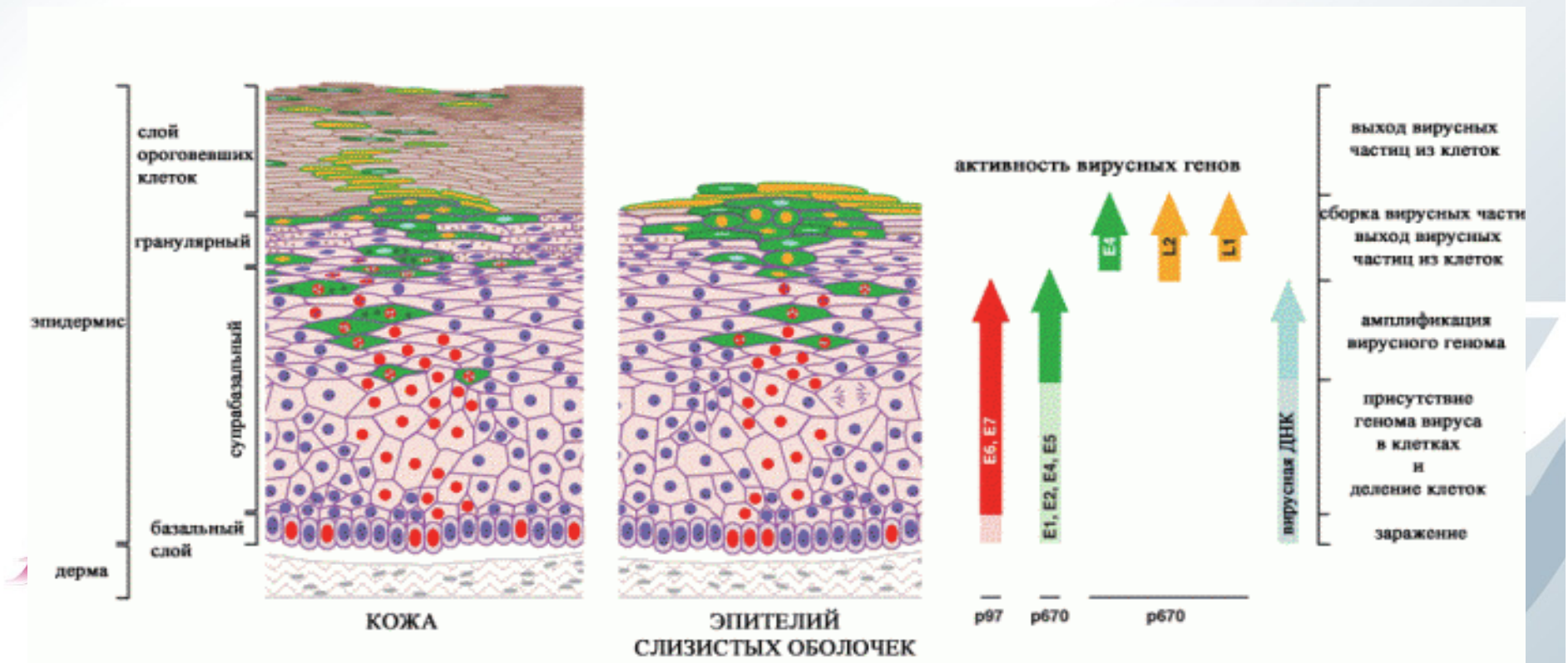
# ВПЧ: организация генома



- Двухцепочечная кольцевая ДНК.
- Кодировывает 8 генов: «ранние» (E) и «поздние» (L) в зависимости от времени экспрессии.
- Ранние белки (E) регулируют жизненный цикл вируса. Белки E6 и E7 отвечают за онкогенные свойства, их избыток оказывает трансформирующее воздействие. Белок E2 контролирует репликацию ДНК и наработку белков E6 и E7.
- Поздние гены L1 и L2 кодируют структурные белки капсида.

# ВПЧ: инфицирование организма

- Мишени – эпителиальные клетки кожи и слизистых оболочек
- Инфицирование базального слоя эпителия через микроразрывы (достаточно единичных вирусных частиц)
- Проникновение в клетки путём рецепторно-опосредованного эндоцитоза; инфицированные стволовые клетки (10 – 200 копий вируса на клетку) – постоянный источник вируса



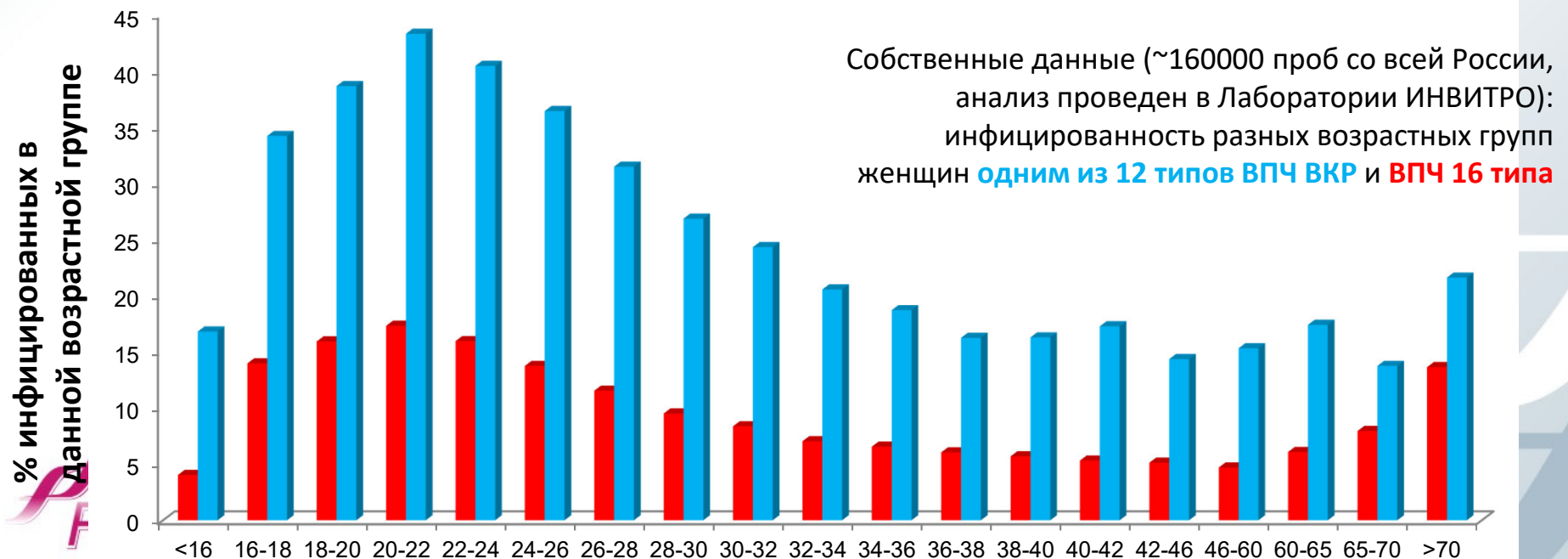
# ВПЧ: инфицированность населения

- Риск передачи при однократном незащищённом контакте – **60-80%**
- В течение первых 4-6 лет половой жизни инфицируется около **80%** женщин
- До 80% людей, живущих в мире, контактировали с ВПЧ в своей жизни как минимум раз
- Молодые женщины до 30 лет высоко инфицированы онкогенными типами ВПЧ
- Инфицированность в позднем возрасте сильно различается в различных странах, но в целом снижена по сравнению с молодым возрастом

# ВПЧ-инфекция – одна из самых распространенных инфекций, передающихся половым путем

*Вероятность инфицирования при однократном незащищенном контакте – до 60%*

- В первые 4–6 лет половой жизни ~80% женщин инфицируется ВПЧ ВКР, **однако у 90% в течение 9-15 месяцев происходит спонтанная элиминация вируса**
- Молодые женщины (до 26-30) лет наиболее высоко инфицированы ВПЧ ВКР, **но именно у них предраковые поражения шейки матки обнаруживаются редко**
- Инфицированность в позднем возрасте сильно различается в разных странах, **однако в целом снижена по сравнению с молодым возрастом**



# ВПЧ: варианты воздействия на эпителий

ВПЧ могут оказывать на эпителий **продуктивное** или **трансформирующее** воздействие:

- При продуктивном воздействии возникают доброкачественные новообразования - папилломы и кондиломы кожи и слизистых оболочек
- Результат трансформирующего воздействия - дисплазии различных степеней, развитие которых приводит к раку

## Доброкачественные нарушения

- Амплификация ДНК вируса отдельно от генома клетки-хозяина
- Нарработка капсидных белков в верхних слоях эпителия
- Сборка вирусных частиц и их выход на поверхность кожи

## Злокачественные нарушения

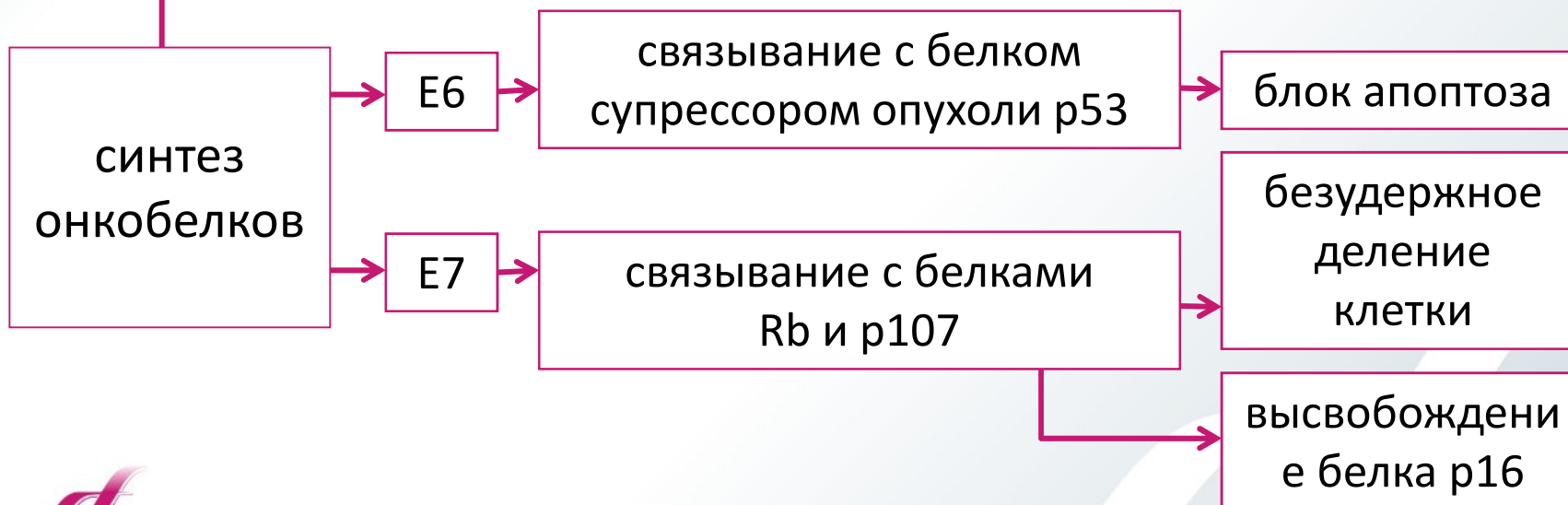
- Интеграция в геном клетки-хозяина (потеря части вирусного генома)
- Активная наработка онкобелков E6 и E7
- Малигнизация клетки



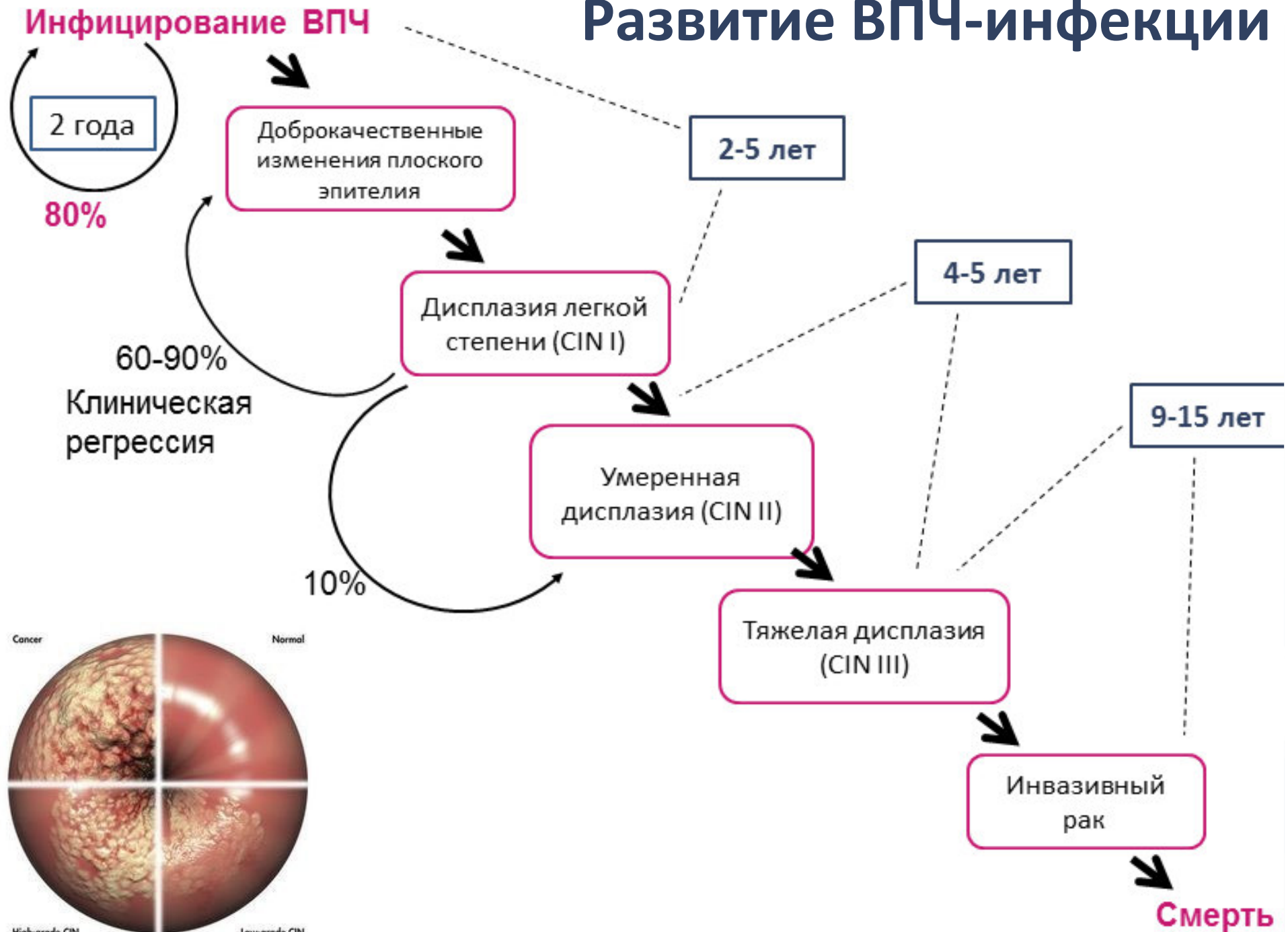
# ВПЧ: интеграция ДНК в геном клетки-хозяина

нарушение, частичная делеция гена E2

- утрата контроля над экспрессией генов E6, E7
- повышение стабильности мРНК E6, E7



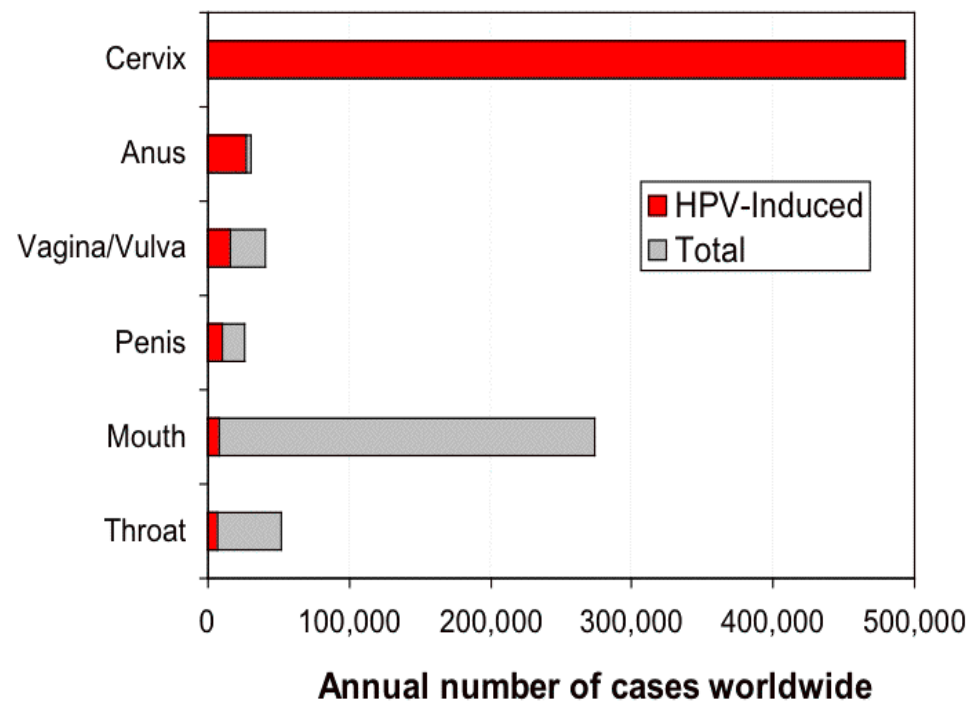
# Развитие ВПЧ-инфекции



# ВПЧ: онкогенный потенциал

## Дисплазии различных степеней; раковые заболевания

- Рак шейки матки: 90-100%
- Рак аногенитальных обл. : 90%
- Рак влагалища и вульвы – 40%
- Рак полового члена – 40%
- Рак ротовой полости и горла – 3-12%



*А также: рак груди, легких, толстой кишки, прямой кишки, предстательной железы и пищевода*

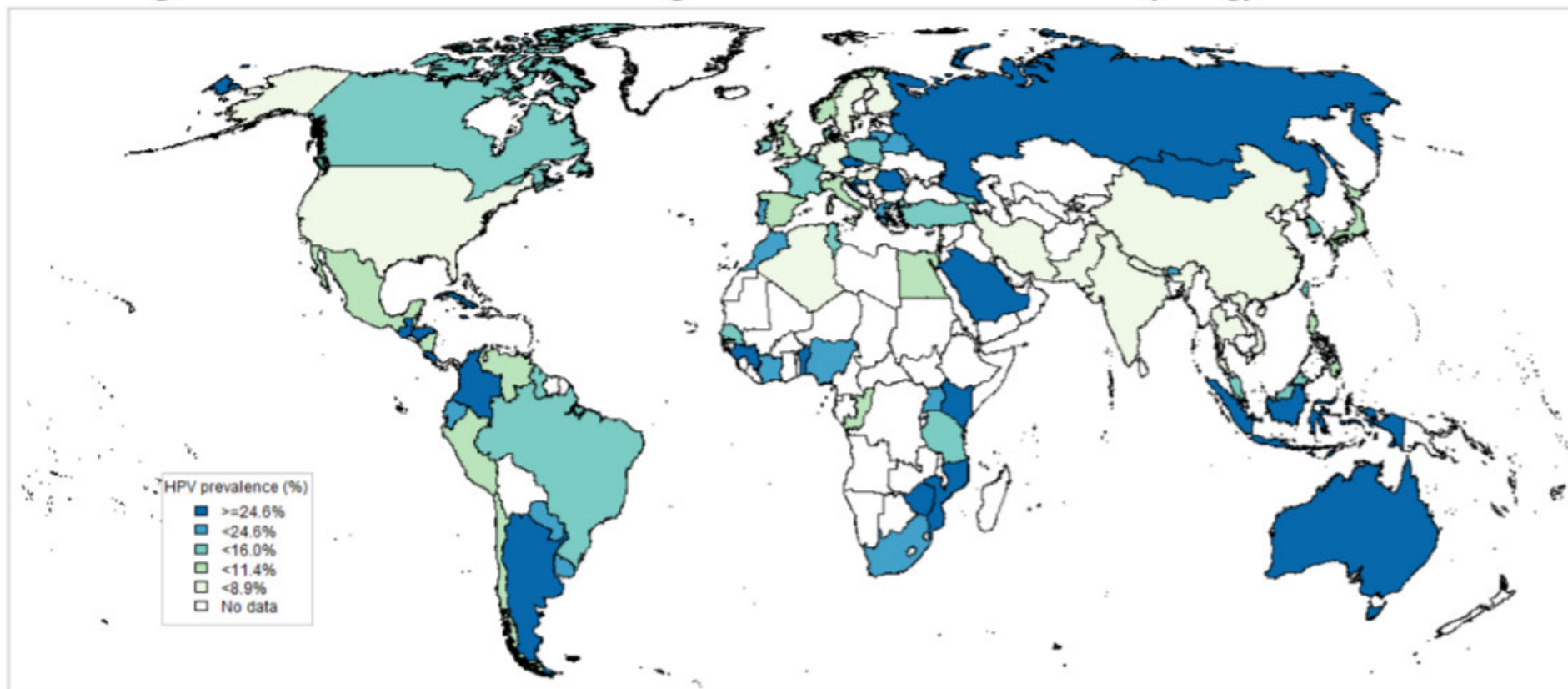
# Рак шейки матки (РШМ)

- Занимает 2 место среди онкозаболеваний по частоте встречаемости и 3 место по смертности у женщин
- Ежегодно около 500 тыс. новых случаев РШМ в мире, из них около 250 тыс. случаев заканчивается летально (данные ВОЗ)
- Россия (2010): 22,7 тыс. новых случаев (15,9 на 100 тыс. населения), летальный исход – 11,9 тыс. (8,3 на 100 тыс.)
- Более 99% случаев заболевания РШМ вызваны ВПЧ (более 95% - ВПЧ высокого онкогенного риска)
- Инфицированность ВПЧ в 300 раз повышает вероятность развития РШМ; у женщин до 29 лет заболеваемость выросла в 2 раза

## ВПЧ-инфекция – одна из самых распространенных инфекций, передающихся половым путем

*Инфицированность населения заметно (в разы) отличается в разных странах*

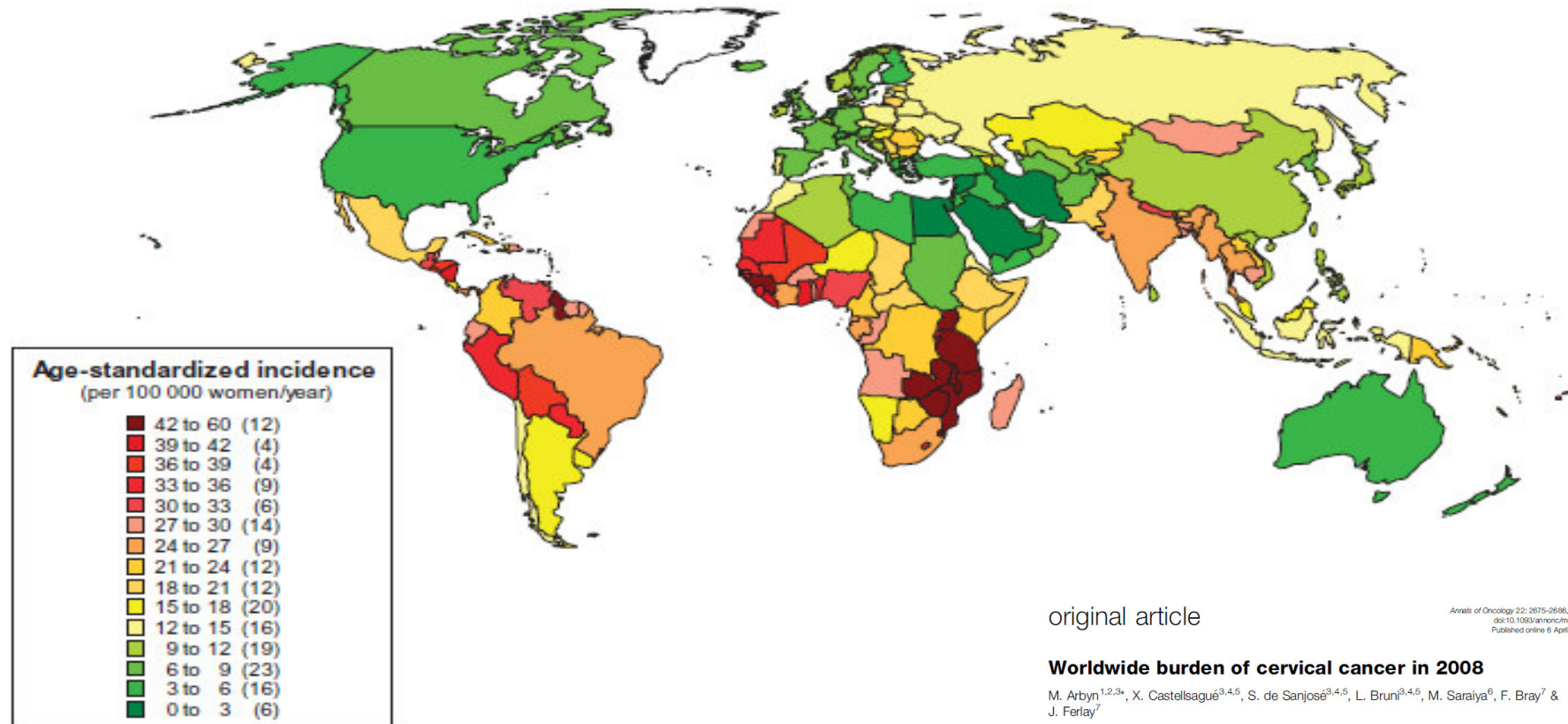
Figure 26: Prevalence of HPV among women with normal cervical cytology in the World



Data updated at 15 dic. 2014 (data as of 31 oct. 2014).

The samples for HPV testing come from cervical specimens (fresh / fixed biopsies or exfoliated cells) Data sources: See references in Section 9.

## Заболѐваемость РШМ существенно (в десятки раз) отличается в разных странах мира и не всегда коррелирует с распространенностью ВПЧ-инфекции

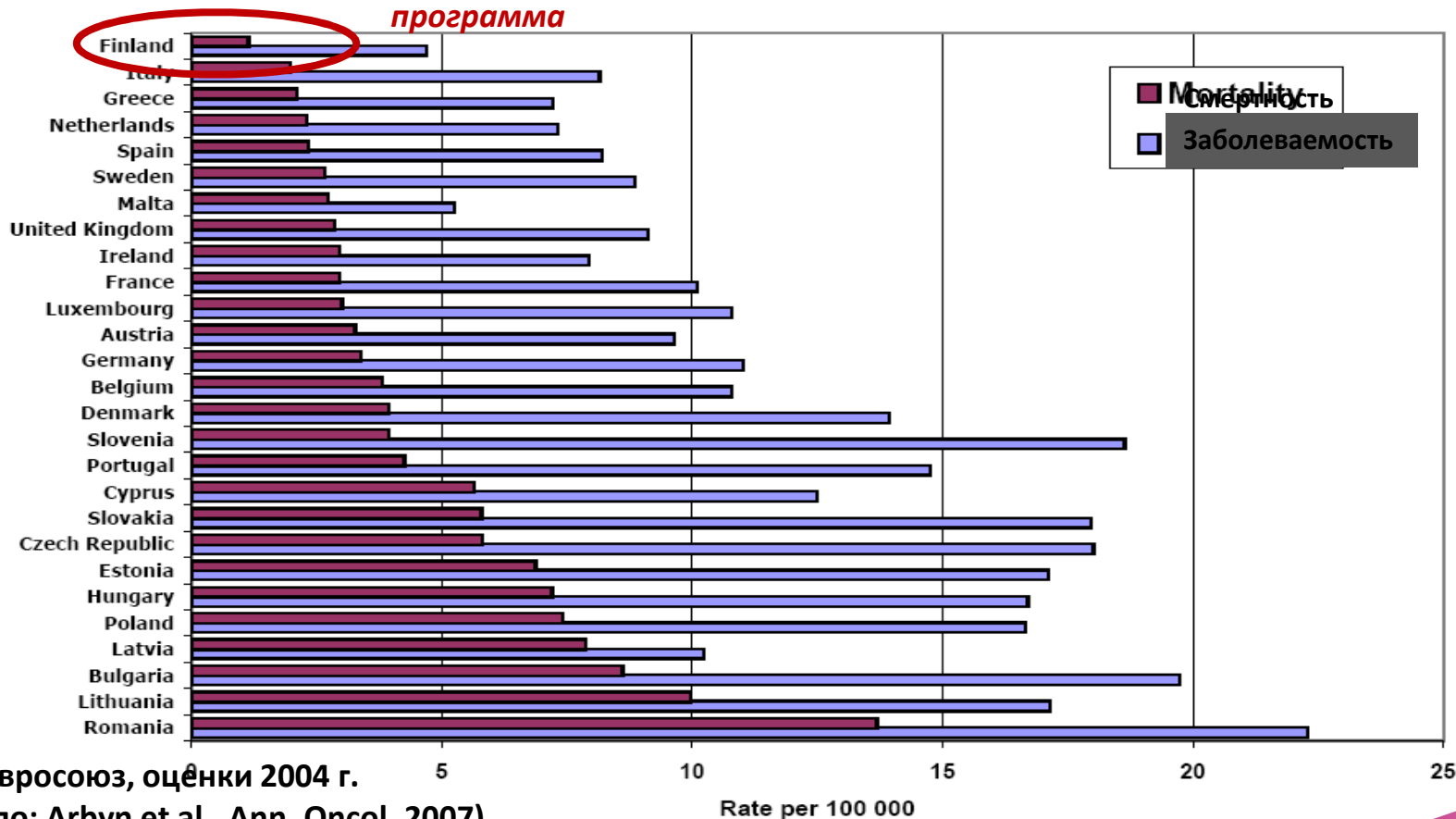


**Figure 1.** Geographic distribution of the world ASIR of cervical cancer, by country, estimated for 2008 (per 100 000 women-years). The counts in the legend correspond to the number of countries in each ASIR range. ASIR, age-standardised incidence rate.

## Заболеваемость и смертность при РШМ – величины непостоянные и могут быть существенно снижены: **почему?**

- РШМ, как правило, развивается медленно
- Прогноз при медицинском вмешательстве на предраковой стадии хороший
- Поэтому при периодическом скрининге есть высокая вероятность вовремя выявить предраковую стадию и предотвратить развитие заболевания

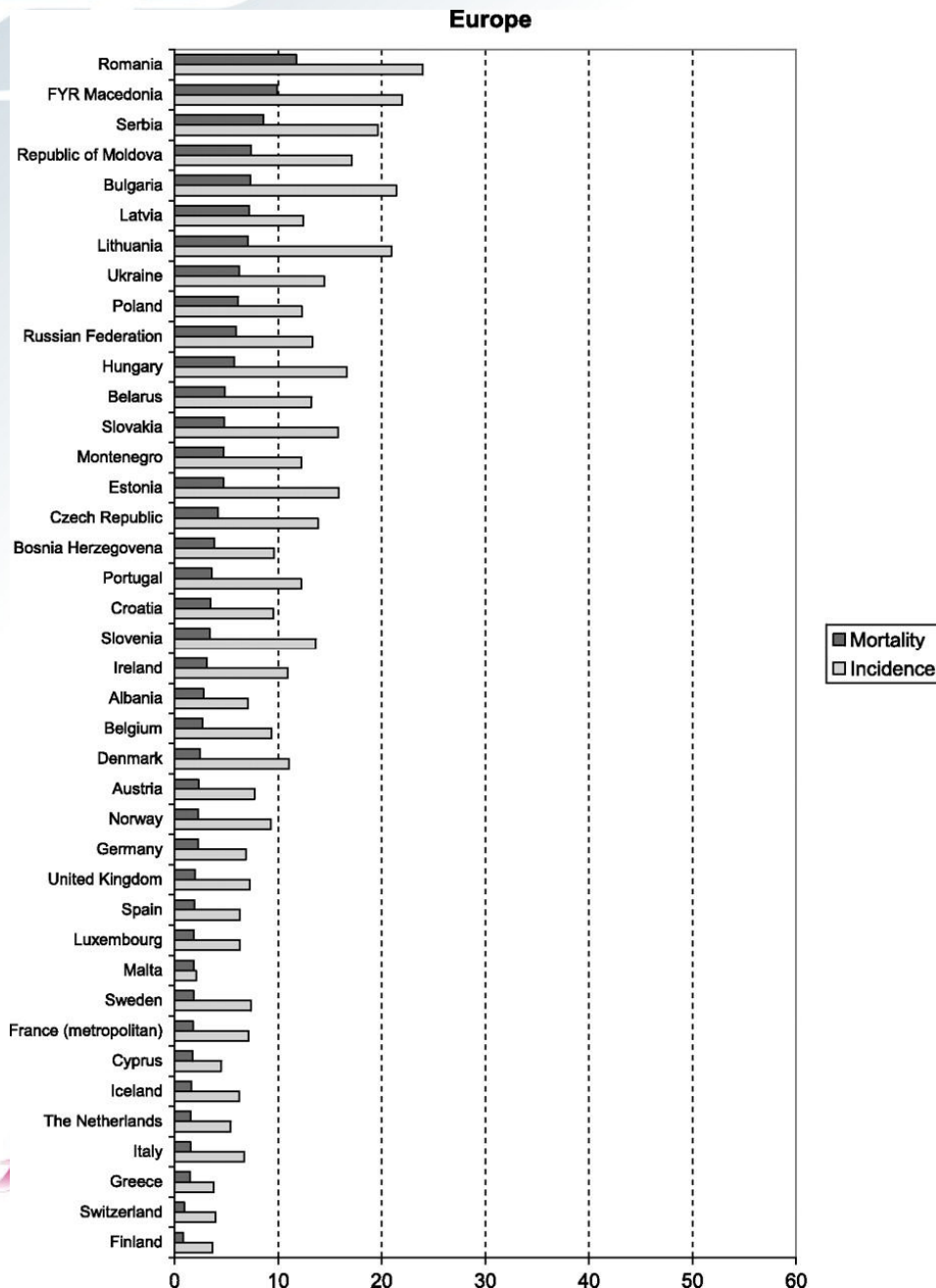
*Относительно рано запущенная и успешно действующая скрининговая программа*



Евросоюз, оценки 2004 г.

(по: Arbyn et al., Ann. Oncol. 2007)

# РШМ: заболеваемость и смертность



Age-standardised rates of incidence of and mortality from cervical cancer (per 100 000 women-years) in Europe countries, estimates for 2008, ordered by continent and ranked by increasing mortality from bottom to top (direct standardisation using the world reference population). (*derived from Arbyn et al., Ann Oncol. 2011*).



# Факторы риска развития и профилактика РШМ

## Инфицирование ВПЧ

- Генотип ВПЧ
- Длительность персистенции ВПЧ
- Активность вирусных онкогенов

## Возраст женщины

- Уровень эстрогенов
- Состояние иммунной системы
- Возраст при рождении первого ребенка и количество детей

## Иные факторы

- Сопутствующие заболевания
- Курение

Отказ от незащищенных половых контактов

Один (проверенный) партнер

Вакцинация (Церварикс, Гардасил)

Выявление активной ВПЧ-инфекции

Систематическое наблюдение  
возрастных групп риска

Образование, снижение факторов  
риска

Выявление клинических признаков  
дисплазии и лечение

# ПВИ: особенности развития

- Спонтанное самоизлечение в течение 9 – 15 мес. более чем в 80% случаев
  - Выявление ВПЧ не является указанием на рак или его высокую вероятность!
  - Это тем более верно для наиболее инфицированной части населения (молодые женщины)!
- В 10% случаев – развитие внутриэпителиальной дисплазии (CIN) I, II или III степени
- Развитие предрака в 0.5% случаев; от инфицирования до развития предрака – около 20 лет
- Отсутствие жалоб, проявление только на стадии предрака или РШМ
- Отсутствие методов лечения на латентной стадии

# Патологии шейки матки, ассоциированные с ВПЧ-инфекцией: задачи терапии

**Кого лечить?** Тех, у кого есть клинические и субклинические проявления поражения шейки матки (кондиломы/папилломы/генитальные бородавки в области половых органов, предраковые изменения шейки матки)

**Зачем лечить?** Чтобы устранить эти проявления и предотвратить возможность развития РШМ. *Важно понимать, что ВПЧ после этого может продолжать оставаться в соседних неизмененных клетках или попасть в организм при реинфекции*

ВПЧ-инфекция – не болезнь, и лечить ее (при отсутствии клинических проявлений)

- **невозможно**, т.к. специфического препарата против ВПЧ пока не существует (хотя ведется активная разработка “терапевтических ВПЧ-вакцин”)
- **лишено практического смысла**, т.к. вероятность повторного инфицирования и самоизлечения очень высоки

## Патологии шейки матки, ассоциированные с ВПЧ-инфекцией: **задачи диагностики**

Обнаружение начальных морфологических изменений, указывающих на предраковые состояния и являющихся основанием для назначения терапии

Поскольку эти изменения не беспокоят женщину и самостоятельно она не может узнать о них, то необходимо:

либо осматривать всех на предмет этих изменений,  
либо определять тех пациентов, кому этот осмотр показан

***Выявление факта инфицированности ВПЧ самостоятельного клинического значения не имеет – не является задачей диагностики***

***Инфицированы очень многие, проблемы развиваются у подавляющего меньшинства***

# ВПЧ: классификация генотипов по онкогенности

- Группа высокого онкогенного риска

*ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82*

- **Доказательство онкогенности представляет серьезную сложность!**
- **Состав групп постепенно меняется**
- Многие типы крайне редко обнаруживаются при раке в виде моно-инфекции

*группа неустановленного онкогенного риска*

*все остальные ВПЧ*

# ВПЧ: выявляемость типов при РШМ

Тип	Карцинома ШМ*	Аденокарцинома ШМ*
ВПЧ16	54,38%	41,62%
ВПЧ18	11,27%	37,30%
ВПЧ31	3,82%	1,08%
ВПЧ33	2,06%	0,54%
ВПЧ35	1,27%	1,08%
ВПЧ39	0,82%	0,54%
ВПЧ45	5,21%	5,95%
ВПЧ51	0,75%	0,54%
ВПЧ52	2,25%	
ВПЧ56	1,09%	
ВПЧ58	1,72%	0,54%
ВПЧ59	1,05%	2,16%
ВПЧ66	0,19%	
ВПЧ68	0,37%	
ВПЧ73	0,49%	
ВПЧ82	0,26%	
ВПЧ26	0,22%	
ВПЧ53	0,04%	
ВПЧ6	0,07%	
ВПЧ11	0,07%	

- Возможно заражение разными типами в любых комбинациях
- Рак может быть связан с ВПЧ любого канцерогенного риска, но порядка 70% - это ВПЧ16+ВПЧ18
- Выявляемость разных типов ВПЧ у женщин с нормальной цитологией и при раке, а также у мужчин всегда различается
- Цифры могут варьировать в разных популяциях и географических зонах
- Генотипы низкого риска при РШМ практически всегда выявляются совместно с генотипами высокого риска

\* - частота выявляемости ВПЧ данного типа в клетках опухолей шейки матки; *Munoz, N. et al. (2004)*

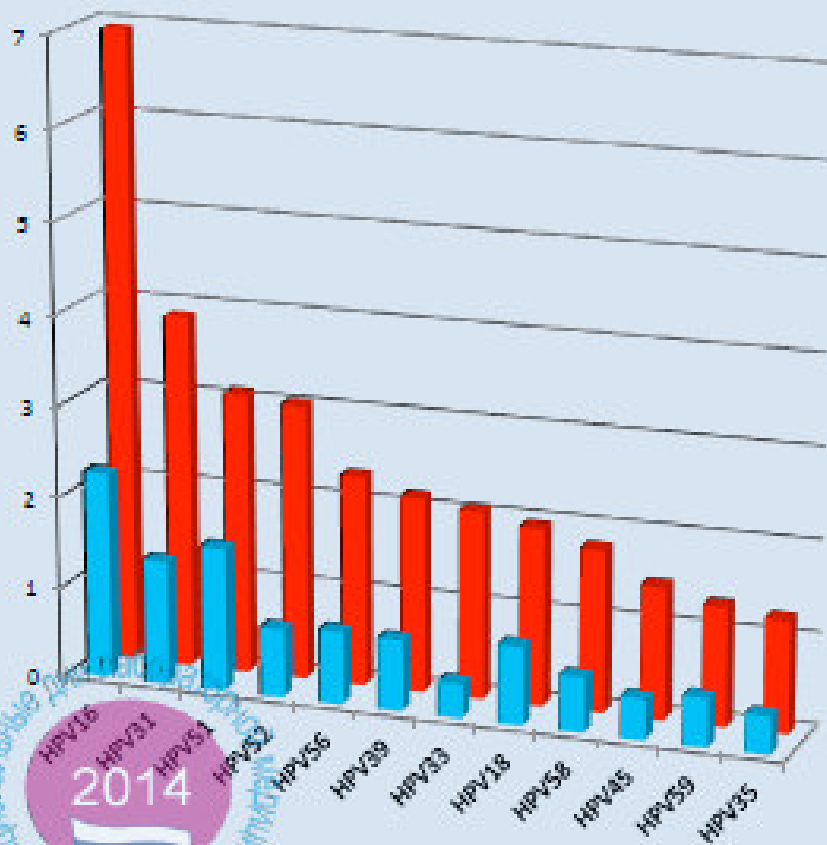
# Результаты (2)

## ВПЧ ВКР, встречаемость генотипов (весь массив)

Мужчины

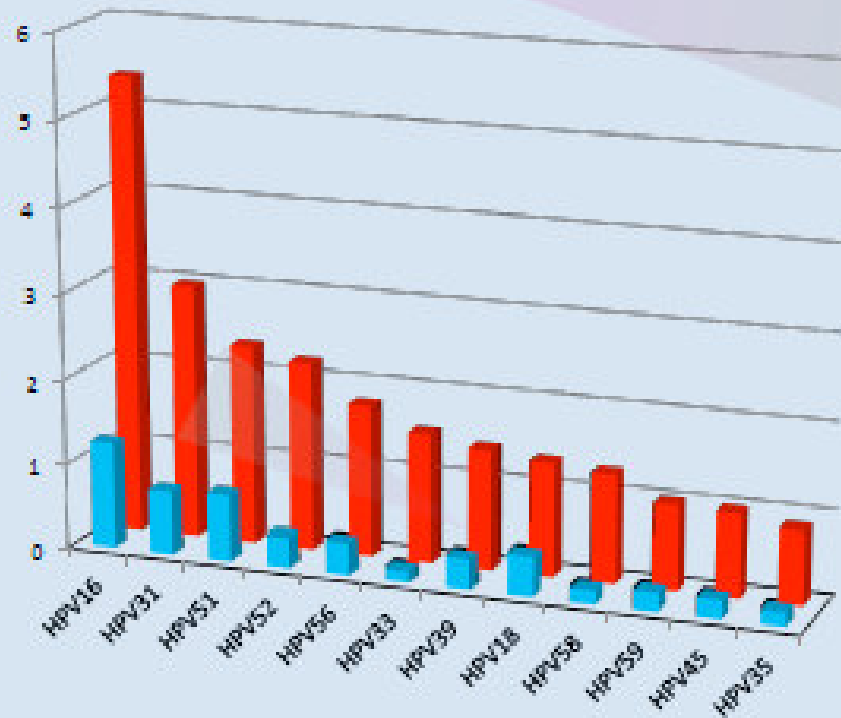
Женщины

% от общей выборки



Cut-off:  $>10^4$  копий/мл пробы

% от общей выборки



Cut-off:  $>10^5$  копий/мл пробы

# ПВИ: методы диагностики

- Клинико-визуальный метод
- Цитологический метод
- Кольпоскопический метод
- Гистологический метод
- Серологический метод
- Молекулярно-биологические методы

Выявление реакции организма на вирус: морфологические изменения  
серологический ответ



# Диагностика ВПЧ-инфекции в связи с РШМ: место различных методов

- **Выявление факта инфицированности ВПЧ самостоятельного значения не имеет!** Инфицированы очень многие, проблемы развиваются у меньшинства
- Принципиально важно обнаружение начальных морфологических изменений, указывающих на предраковые состояния и являющихся основанием для назначения терапии

Поскольку эти изменения не беспокоят человека и самостоятельно он не может узнать о них, то необходимо:

- либо осматривать всех на предмет этих изменений,
- либо определять тех пациентов, кому этот осмотр показан

**Тем не менее, продолжается дискуссия о латентной инфекции!**

**Каждая четвертая женщина с ВПЧ16/18 через 3 года носительства может получить CIN2+**

## **ВПЧ-инфекция ≠ патология шейки матки!**

- ✓ Профилактика ВПЧ-инфекции < профилактика патологии ШМ
- ✓ Диагностика ВПЧ-инфекции ≠ диагностика патологии ШМ
- ✓ Лечение ВПЧ-инфекции ≠ лечение патологии ШМ

# ПВИ: методы диагностики

**Клинико-визуальный метод** – визуальный осмотр шейки матки после применения 3% уксусной кислоты и пробы Шиллера

*По производительности и стоимости подходит для скрининга*

*Недостатки: высокая субъективность оценки результата*

**Цитологическое исследование шеечных мазков по Папаниколау (РАР-тест)** – метод выявления морфологических изменений в клетках

*По производительности и стоимости подходит для скрининга*

*Недостатки: недостаточная специфичность, низкая чувствительность, низкая воспроизводимость; принципиален правильный забор пробы*

# Методы диагностики ПВИ: PAP-тест

- Чувствительность – 40-70%;  
при контроле лечения CIN II+ – 15-25%
- Воспроизводимость – 11-80%
- Доля сомнительных результатов, требующих повторных исследований – до 15% (ASCUS; ASC-H)

McCrary D., 2002; Wright T., 2004

- Оценка риска развития дисплазий средней и тяжелой степеней в течение трех лет при нормальном Pap-тесте\*

Цитология	ВПЧ-тест	Частота возникновения CIN II/III
Норма	Положительные повторные ВПЧ-тесты	<b>21%</b>
Норма	Отрицательные ВПЧ- тесты	<b>0,08%</b>

\* Lorincz, et al. Arch Pathol Lab Med. 2003; Clavel C, et al. Brit J Cancer, 2001

# ПВИ: методы диагностики

**Кольпоскопия** – осмотр шейки матки кольпоскопом,  
выявление аномального эпителия

*Хороший вторичный метод исследования*

*Недостатки: неспецифичность (без дополнительных методов  
выявление CIN – 75%; около 50% результатов могут быть  
ложноположительными; около 25% тяжёлых CIN могут быть  
классифицированы лёгкими)*

**Гистология** – исследование биоптатов

*Золотой стандарт диагностики, позволяет ставить диагноз*

*Недостатки: высокая стоимость, невозможность частого  
проведения, высокие требования к качеству материала*

*Ложноотрицательные результаты могут достигать 15%!*

# ПВИ: методы диагностики

## Молекулярно-биологические методы

- неамплификационные
- амплификационные (ПЦР, ЛЦР)
- сигнальные амплификационные (система гибридной ловушки *Digene Hybrid Capture System II*)
- **Молекулярно-биологические тесты** – дают информацию о развитии ВПЧ-инфекции и позволяют анализировать клеточные молекулярные маркеры, связанные с онкогенной активностью вируса. **Не дают возможности установить наличие заболевания, должны использоваться только в совокупности с клиническими методами**

# Метод ПЦР в диагностике ПВИ

- Наиболее чувствителен на ранних этапах ПВИ, когда отсутствуют клинические, кольпоскопические и цитологические признаки инфицирования ВПЧ
- Выявление ВПЧ высокого риска не позволяет установить стадию инфекции, но однозначно указывают на наличие ПВИ (при этом отсутствие инфекции не может быть установлено однозначно)
- Должен использоваться в совокупности с клиническими методами исследования

# ПЦР-диагностика ПВИ: применение

- Скрининг (метод выбора в рамках национальных программ контроля РШМ), профилактические осмотры
- Контроль эффективности терапии
- Контроль эффективности вакцинопрофилактики (выявление генотипов ВПЧ, против которых направлены вакцины)
- Ранняя диагностика ПВИ
- Генотипирование
- Выявление дополнительных признаков онкогенности (наличие интеграции, выявление РНК вирусных онкогенов)
- Эпидемиологический надзор
- Подтверждение и уточнение результатов, полученных другими методами (неясные данные цитологии)



## **Вирусная нагрузка ВПЧ в норме и при патологии: существует ли “клинически незначимая” нагрузка?**

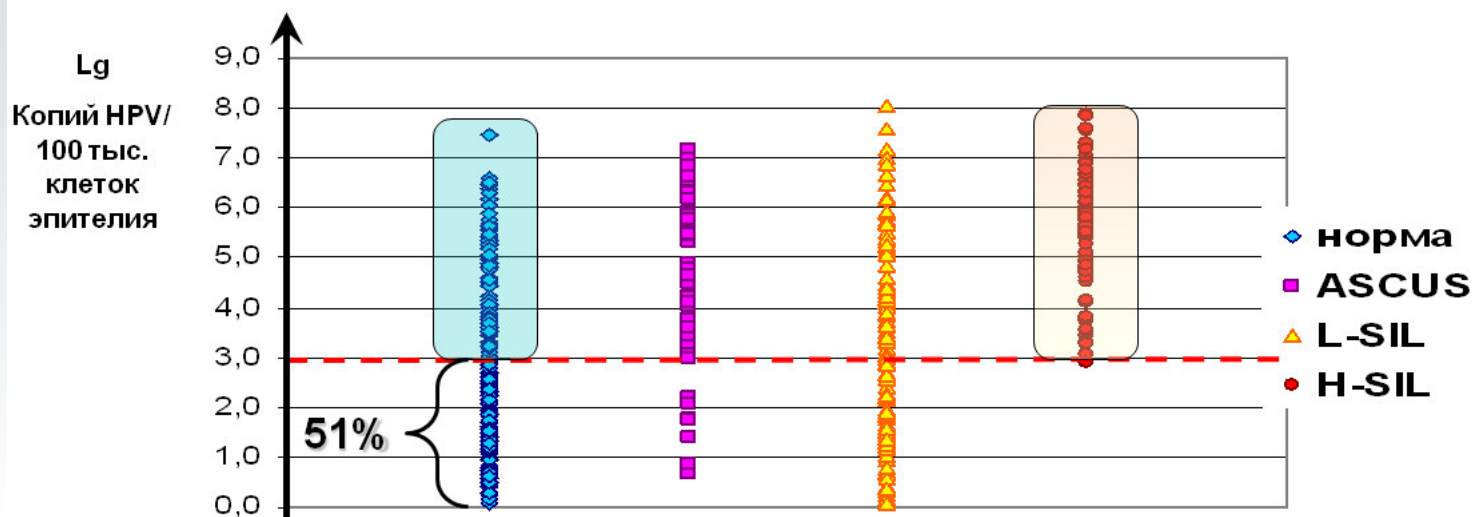
**Вирусная нагрузка (оценивается на 100 тыс. клеток эпителия) ниже определенного значения практически не встречается в образцах тяжелой дисплазии и рака (“клинически незначимое инфицирование”). Нагрузка выше данного порога считается клинически значимой**

**Этот факт обосновывает применение отсечек, но не количественной оценки вирусной нагрузки!**

**Означает ли вирусная нагрузка ниже определенной гарантию отсутствия неоплазии?**

**Отсутствие вируса – означает с высокой вероятностью!**

# Количественное определение ДНК ВПЧ



Вирусная нагрузка ниже определенного значения практически не встречается в образцах тяжелой дисплазии и рака (“клинически незначимое инфицирование”). Нагрузка выше данного порога считается клинически значимой. В разных работах этот порог оценивается как  $10^3$ - $10^4$  геномов ВПЧ на 100 тыс. клеток человека

\* результаты Центра Молекулярной Диагностики (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора) по Донникову А.Е., 2012

Ни один из принятых в настоящее время алгоритмов профилактики РШМ не включает дифференцированный подход к пациентам по результатам контроля вирусной нагрузки!

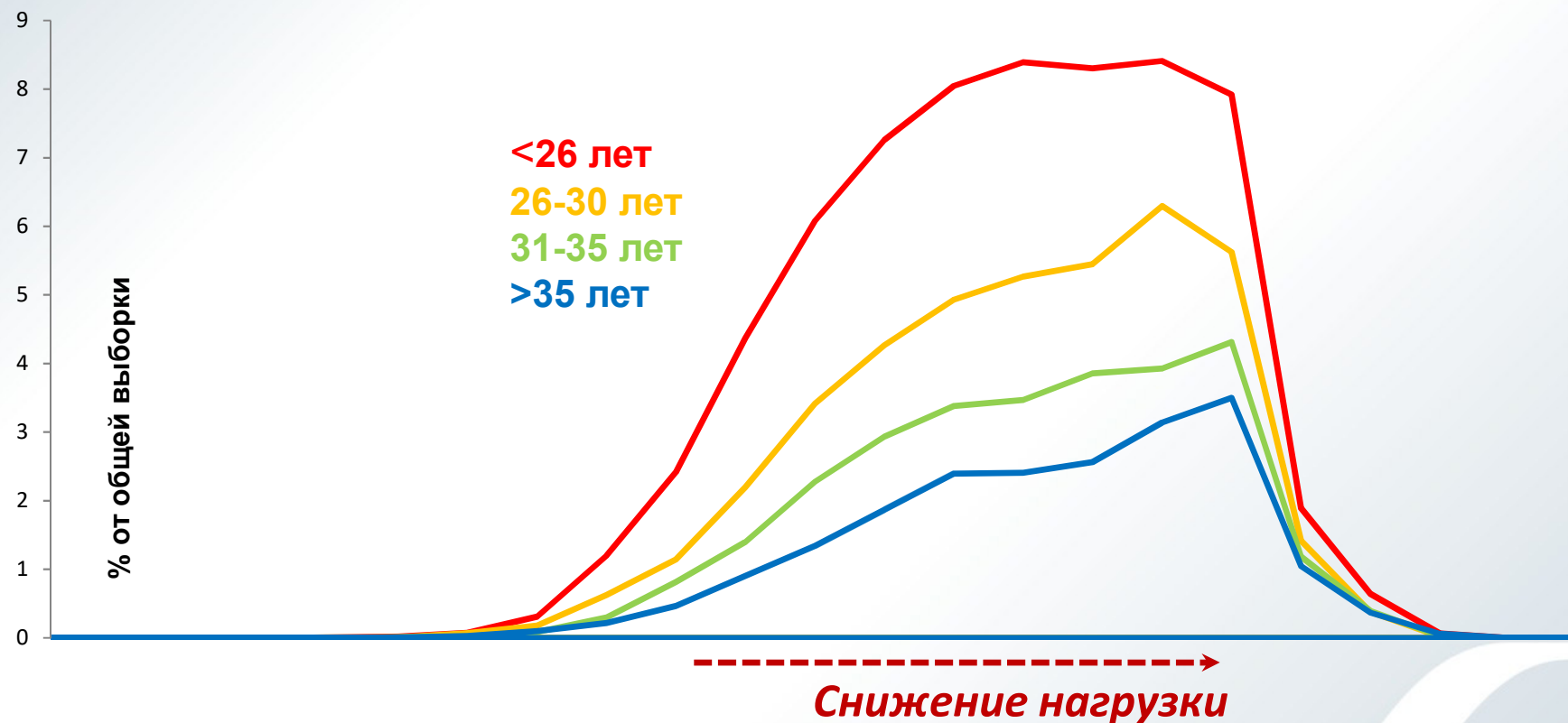
## Почему?

- Вирусная нагрузка может **снижаться** при увеличении доли интегрированной формы
- При развитии патологии **характер** изменения вирусной нагрузки зависит от генотипа
- Для разных генотипов требуется **разное время** для развития РШМ
- Разные генотипы характеризуются **разной вероятностью** интеграции
- **Разные генотипы по-разному взаимодействуют** с защитными системами клетки и организма
- Большая часть информации получена для ВПЧ16, в меньшей степени – для ВПЧ18, про остальные генотипы информации недостаточно

multiple infections). In general, HPV-16 viral load as measured by real-time PCR increased linearly with increasing grade of SIL while HPV-18 measured using similar techniques increased through low-grade SIL (LSIL), with HPV-18 viral load among high-grade SIL and cancers near the level of cytologically normal women. HC 2 viral load, using the clinical 1.0 pg/ml cut point, differentiated cytologically normal women from women with any level of cytological abnormality (normal versus  $\geq$ LSIL) but did not change as lesion severity increased.



## ВПЧ ВКР, распределение вирусных нагрузок в зависимости от возраста пациенток, случайная выборка n>100000 (собственные данные)



Более высокая вирусная нагрузка ВПЧ ВКР характерна для инфицированных пациенток более молодого возраста

# Стратегии применения ПЦР в диагностике ПВИ

- Проведение первичного скрининга совместно с цитологическим исследованием для женщин старше 30 лет
- Второй этап скрининга после цитологии для разрешения сомнительных результатов
- Контроль проведенного хирургического лечения CIN II+
- Первый этап скрининга до цитологии (для стран и регионов, где плохо организованы программы цервикального цитологического скрининга)



## Возможности и задачи молекулярно-биологических методов в диагностике патологий ШМ

Диагностическая чувствительность и специфичность существующих ВПЧ-тестов оценивается по их способности определять как положительные пробы от пациентов с неоплазией от CIN2 и выше (CIN2+)

*Отсутствие инфекции не может быть однозначно установлено молекулярно-биологическими методами, поскольку латентная ВПЧ-инфекция может сопровождаться вирусемией ниже порога выявления любым набором*

**Положительная предсказательная ценность** (ППЗ) современных ВПЧ-тестов в отношении CIN2+ **недостаточна** для использования их как основного диагностического метода в отношении патологий ШМ

В то же время **отрицательная предсказательная ценность** (ОПЗ) хорошо валидированных ВПЧ-тестов в отношении CIN2+ **высока**, поскольку вирусные нагрузки ниже принятых в этих тестах отсечек (Cut-offs) относительно редко наблюдаются при CIN2+

Поэтому эти тесты **более эффективны для скрининга, чем для подтверждения наличия патологии**

# Рекомендации ВОЗ по скринингу РШМ (2014 – 2015 гг)

- Методы: основной – цитологический, дополнительные – ДНК-тесты, визуальный
- Наиболее широкий охват женщин. В странах с ограниченными ресурсами – хотя бы одноразовый скрининг всех женщин 35-40 лет
- Идеальным считается скрининг женщин 25-65 лет сначала 2 года подряд, при отрицательных результатах – каждые 3 года
- Использование ВПЧ-тестирования позволит увеличить промежутки между скринингами до 5 лет
- Использование ВПЧ-тестирования совместно с цитологическим методом: одновременно (ко-тестирование) или в качестве первичного метода со вторичным - цитологическим

# ВПЧ-тестирование и цитология при скрининге

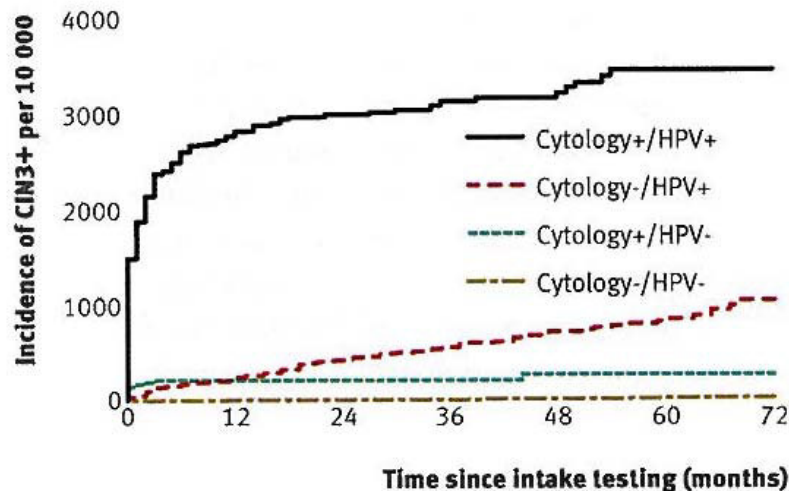


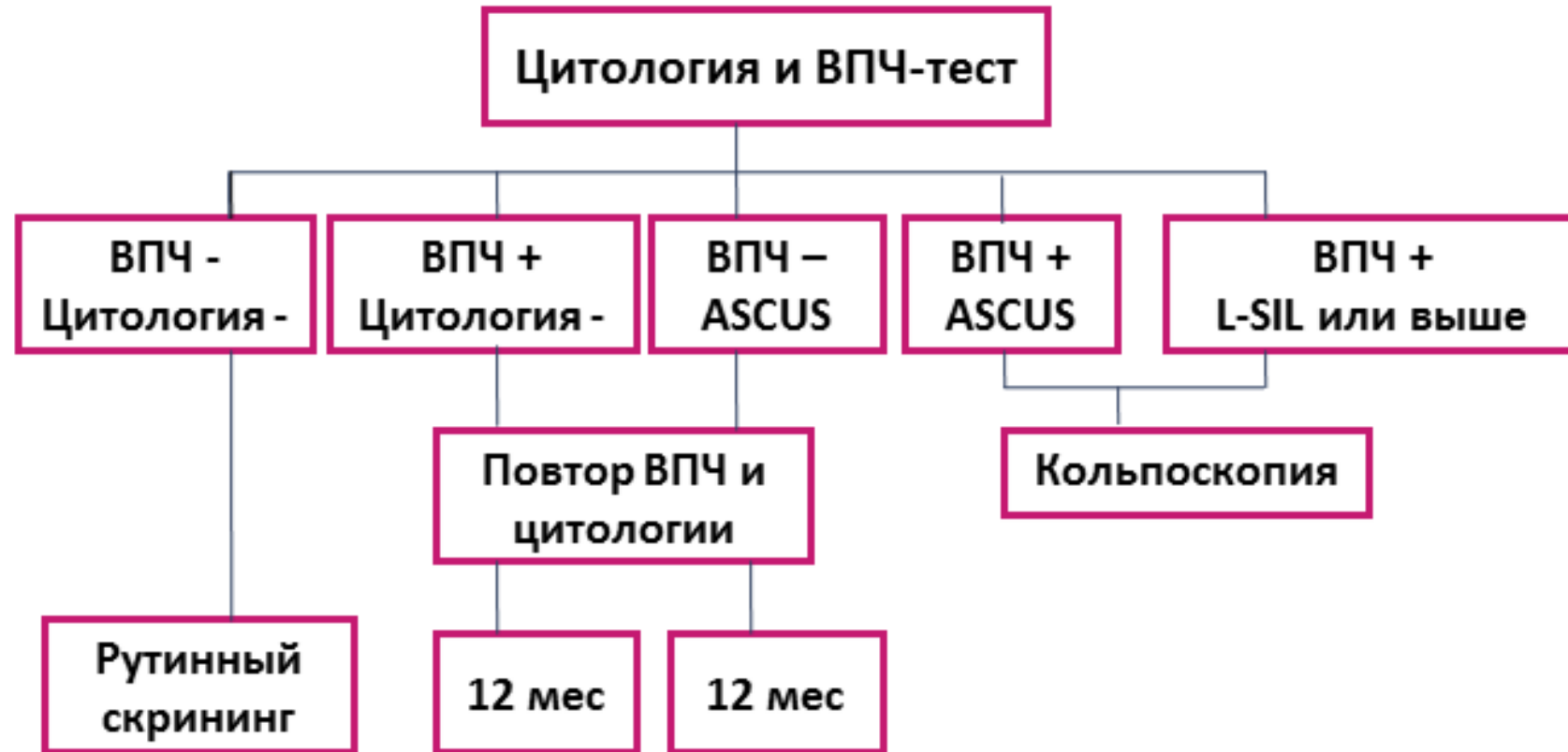
Fig 1 | Kaplan-Meier plots of cumulative incidence rate for CIN3+ for women according to baseline test results in the first 72 months of follow-up in all seven countries

Совместное применение цитологических исследований и ВПЧ-тестирования позволяет **значительно повысить эффективность скрининга:**

- Повышение чувствительности до 99-100%
- Удлинение сроков повторного исследования
- Значительное снижение затрат



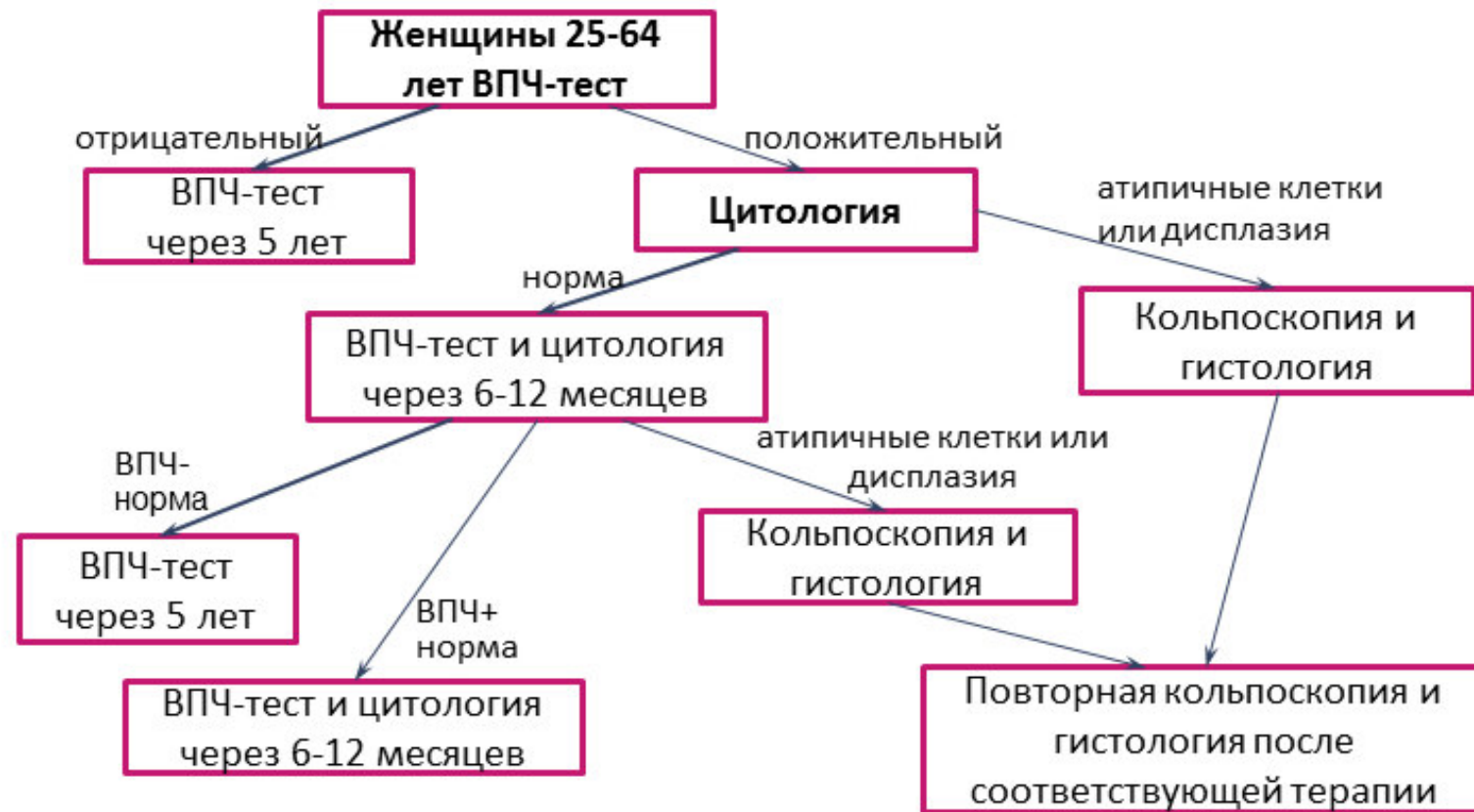
# ВПЧ-тестирование и цитология при скрининге



American Society of Colposcopy and Cervical Pathology (ASCCP) Interim Guidance on the use of HPV DNA testing as an adjunct to cervical cytology.

Wright TC, Obstetr Gynecol 2004; 103: 304-9

# ВПЧ-тестирование: первый этап скрининга



Кольпоскопия и биопсия показаны всем женщинам с цервикальной интраэпителиальной неоплазией класса II (CIN II) или класса III (CIN III), независимо от подтверждения у них наличия ВПЧ-инфекции

По Suzick J. 2002, 2006 Донникову А.Е., 2012

# ПВИ: резюме

- Передача только от человека к человеку, преимущественно половым путем, большинство женщин инфицируются в первые годы половой жизни
- Из >400 известных типов для некоторых показана онкогенность – инфицирование может являться причиной злокачественных новообразований
- Инфицирование ВПЧ является причиной рака шейки матки (РШМ)
- У большинства инфицированных вирус элиминируется под давлением иммунной системы и не развиваются клинические проявления
- Развитие поздних стадий РШМ может быть предотвращено при условии своевременной диагностики, основанной на выявлении ранних клинических проявлений (цитология, гистология)
- Рациональным основанием для направления на обследование может являться выявление ВПЧ высокого онкогенного риска (ВПЧ ВКР)

# Инфицирование ВПЧ ВКР в РФ: резюме

- Уровень инфицированности населения и заболеваемости РШМ (по данным ВОЗ является относительно высоким)
- Национальная скрининговая программа отсутствует, региональные скрининговые программы основаны на цитологических методах и не демонстрируют эффективности
- Вакцинация не является обязательной, население ей не охвачено и имеет предубеждения против неё
- Большая часть обследований на наличие ВПЧ производится методом ПЦР и проводится в частных диагностических лабораториях
- Принципы использования ВПЧ-тестов и трактовки получаемых результатов не основаны на едином консенсусе

# Наборы реагентов для ПЦР-диагностики ПВИ: требования

- Выявление типов высокого онкогенного риска
- Выявление широкого спектра генотипов ВПЧ высокого риска (более 10 генотипов)
- Возможность количественной оценки/определения клинически значимого количества ДНК ВПЧ
- Надёжность результатов

# Наборы реагентов серии «РеалБест»

- Выявление ДНК одного генотипа ВПЧ

РеалБест ДНК ВПЧ 44

- Дифференциация ДНК двух генотипов ВПЧ

РеалБест ДНК ВПЧ 6/11, 16/18, 26/51, 31/33, 35/45

- Дифференциация ДНК трёх генотипов ВПЧ

РеалБест ДНК ВПЧ 26/53/66, 68/73/82

- Дифференциальное определение ДНК 12 генотипов ВПЧ  
высокого риска (качественное и количественное)

РеалБест ДНК ВПЧ ВКР генотип – 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52,  
56, 58, 59

ВПЧ-тестирование, цитология и **цервикальный скрининг**

**ВПЧ после цитологии**

**ВПЧ вместе с цитологией**

**ВПЧ перед цитологией**

**Почему?**

- 1) Потому, что ВПЧ-тестирование обладает значительно более высокой отрицательной предсказательной ценностью, чем цитология
- 2) Потому, что ВПЧ-тестирование дает **более однозначно интерпретируемый результат**
- 3) Потому, что ВПЧ-тестирование **в меньшей степени зависит от человеческого фактора и подготовки специалиста**
- 4) Потому, что проба для ВПЧ-тестирования пригодна для анализа **дополнительных молекулярных маркеров**

## Возможности молекулярных методов в диагностике патологий ШМ, связанных с ВПЧ-инфекцией:

- ✓ Эффективны в качестве метода, дополняющего цитологический анализ при первичном скрининге
- ✓ Высокая отрицательная предсказательная ценность
- ✓ Выявляют инфекцию до появления клинических проявлений
- ✓ Позволяют определить вирусную нагрузку
- ✓ Позволяют определить генотип вируса
- ✓ Позволяют определить интегрированную форму вируса
- ✓ Позволяют оценить содержание продуктов вирусных онкогенов и изменения состава клеточных микроРНК
- ✓ Частные задачи (анализ донорской спермы, научные исследования etc)

## Ограничения молекулярных методов:

- ✓ Не указывают на заболевание как таковое
- ✓ Относительно низкая положительная предсказательная ценность доступных тестов
- ✓ Доступные тесты не позволяют установить стадию заболевания
- ✓ Клиническое значение вирусных нагрузок ВПЧ ВКР нуждается в уточнении

**Совместное использование ВПЧ-тестирования и цитологии позволяют увеличить чувствительность выявления предраковых состояний шейки матки до 96-99% и снизить смертность от РШМ в 4-5 раз**



# Терапия ВПЧ-инфекции

Специфического противовирусного препарата для подавления ВПЧ пока не существует

*Ведется активная разработка терапевтических ВПЧ-вакцин*

Полного устранения вируса из организма достичь **НЕВОЗМОЖНО**

Лечение **всех инфицированных** лишено практического смысла: вероятность повторного инфицирования и самоизлечения очень высоки

Задача терапии – устранение клинических и субклинических форм ВПЧ-инфекции:

- удаление кондилом/папиллом/генитальных бородавок с области половых органов
- удаление предраковых изменений с шейки матки

**Важно понимать, что ВПЧ после этого может продолжать оставаться в соседних неизмененных клетках**

# Существующие вакцины

- **Церварикс** – бивалентная вакцина, содержащая очищенные капсидные белки L1 ВПЧ 16 и 18 типов, адсорбированных на адъювантной системе ASC4, содержащей гидроксид алюминия и 3-0-дезацил-4-монофосфолипида А
- **Гардасил** – четырехвалентная вакцина, содержащая очищенные капсидные белки L1 ВПЧ 6, 11, 16 и 18 типов, аморфный гидроксифосфат алюминия в качестве адъюванта

# Позиции ВОЗ относительно вакцины против папилломавирусной инфекции человека (октябрь 2014)

- Серологический ответ на вакцинацию в 1-4 раза выше, чем ответ на естественную инфекцию
- Сывороточные антитела остаются стабильными в течение не менее 5 лет после вакцинации
- **ВОЗ рекомендует включение вакцинации против ВПЧ-инфекции в национальные программы иммунизации**
- ВОЗ для девушек 15 лет и младше рекомендует двухдозовый календарь с шестимесячным интервалом между дозами; и трехдозовый календарь (0; 1-2; 6 мес) для женщин старше 15 лет
- Внедрение ВПЧ-вакцины не должно нарушать или отвлекать денежные средства от эффективных программ по скринингу по поводу РШМ
- Внедрение ВПЧ-вакцины не должно подменять скрининг по поводу РШМ (30% РШМ вызываются другими типами ВПЧ, чем 16 и 18)

## Стадия ВПЧ-инфекции и состояние вируса

**Латентное течение** (от 2 месяцев до 10 лет и более)

- Персистенция вируса в базальном слое эпителия. Вирус в episomal форме, нет активной репликации. Онкогены неактивны

### Продуктивная инфекция

- Вирус в episomal форме, реплицируется в инфицированных клетках базального слоя, стимулируя их размножение. Сборка вирусных частиц и их выход на поверхность кожи

### Стадия интеграции (1)

- Вирус интегрируется в геном клетки, теряя часть генома и способность к репликации. Экспрессия онкогенов E6 и E7. Нагрузка определяется episomal формой

### Стадия интеграции (2)

- Значительная доля вирусных частиц интегрирована в геном клетки (до 8 копий на геном). Активная экспрессия онкогенов E6 и E7

## Клинические проявления

Отсутствуют

Доброкачественные новообразования (папилломы, кондиломы)

Изменения в структуре эпителиальных клеток (койлоцитоз). Дисплазия (неоплазия)

Малигнизация клетки. Карцинома (инвазивный рак)

## Молекулярные маркеры

- ДНК ВПЧ, генотип ВПЧ
- Вирусная нагрузка (может быть любой)

- ДНК ВПЧ, генотип ВПЧ
- Вирусная нагрузка (может быть высокой)

- ДНК ВПЧ, генотип ВПЧ
- Вирусная нагрузка (может быть низкой, но чаще высокая)
- Экспрессия E6 и E7
- Интегрированная форма микроРНК

- ДНК ВПЧ, генотип ВПЧ
- Вирусная нагрузка (часто низкая)
- Экспрессия E6 и E7
- Интегрированная форма микроРНК
- Активность клеточных генов (p16, теломераза)

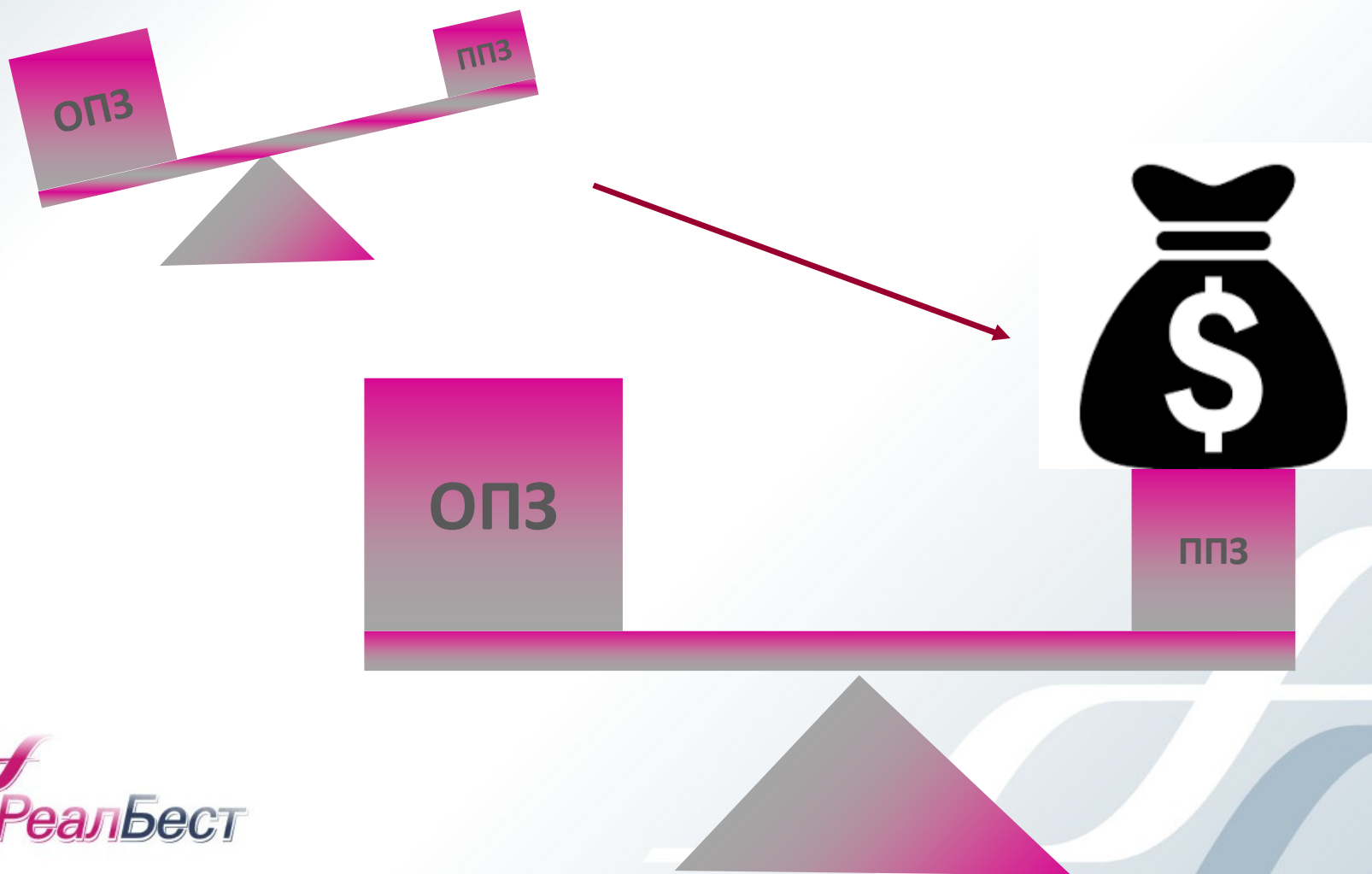
Как повысить положительную предсказательную ценность ВПЧ-теста для того, чтобы обеспечить достаточную общую точность при диагностике?



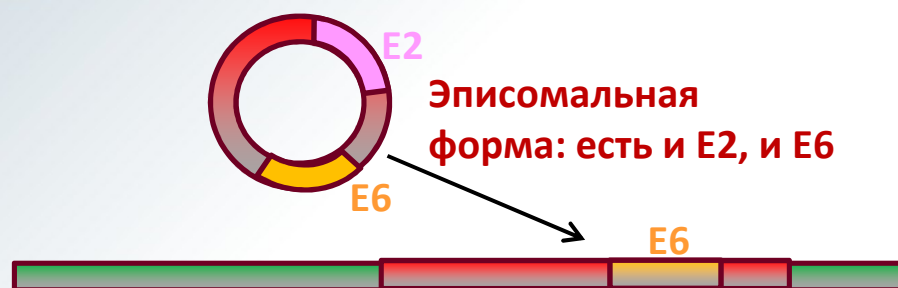
- Количественная оценка
- Генотипирование
- Отношение ДНК E2/E6
- РНК E6, E7
- РНК химерных транскриптов ВПЧ
- РНК онкогенов и онкосупрессоров
- Клеточные белки
- Клеточные микроРНК
- CNV гена TERT



Как повысить положительную предсказательную ценность ВПЧ-теста для того, чтобы обеспечить достаточную общую точность при диагностике?



# Интеграция ДНК ВПЧ в геном клетки



Интегрированная форма: есть E6, нет E2



Синтез белков E6, E7



**E6**  
Связывание с белком p53 (опухолевый супрессор)



**E7**  
Связывание с белками Rb и p107

**Блок апоптоза**  
**Активация теломеразы**  
**Нарушения клеточного цикла, неконтролируемое деление клетки**

**Рак**

## Молекулярные маркеры

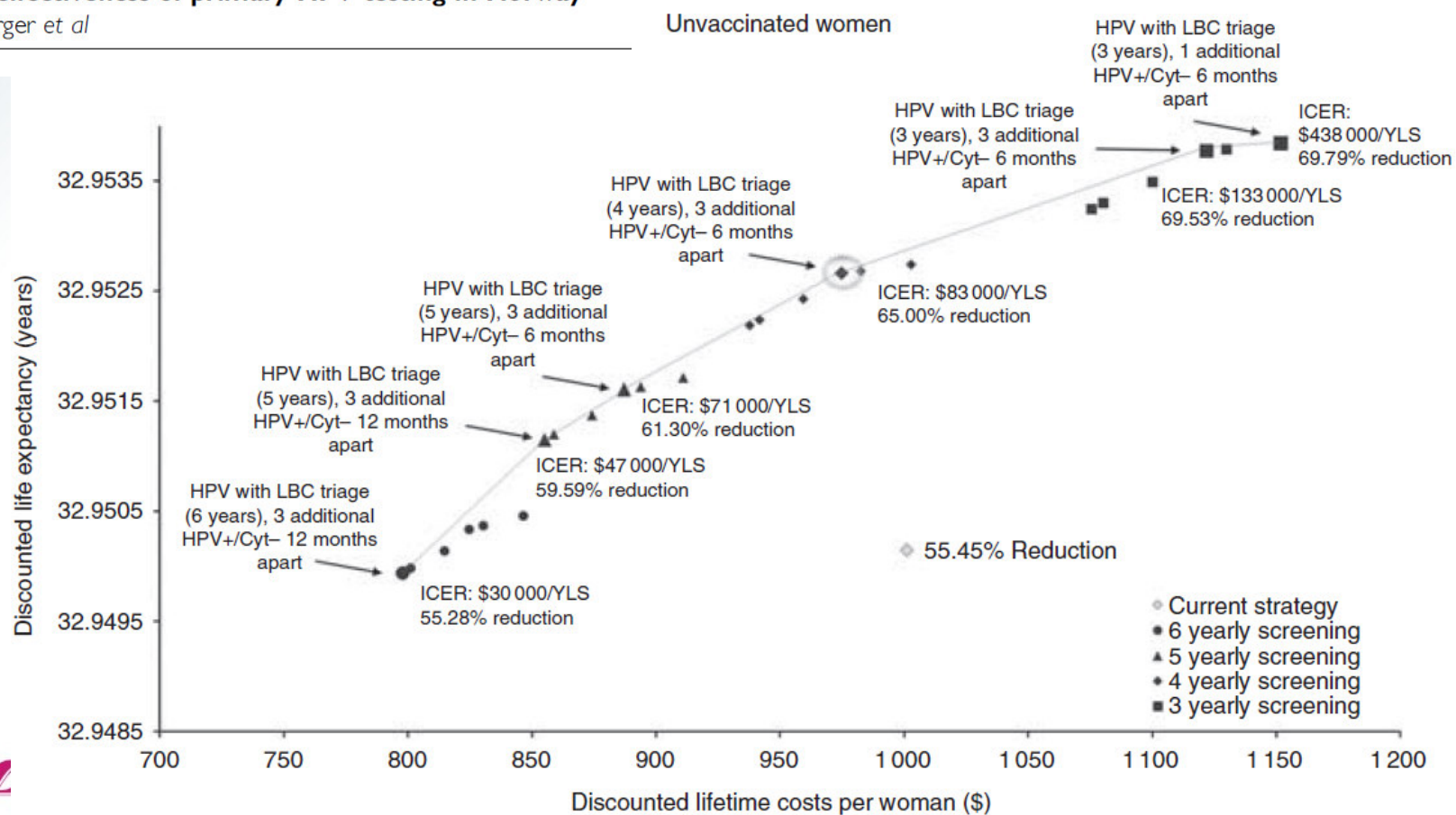
- Отношение ДНК E2/E6 (ПЦР)
- РНК E6, E7 (ОТ-ПЦР, ТМА/NASBA)
- Aptima Gen-Probe HPV Assay (Hologic)
- PreTect HPV Proofer (Norchip)
- РНК химерных транскриптов ВПЧ (APOT Assay)
- РНК клеточных онкогенов и онкосупрессоров (ОТ-ПЦР, чипы)
- Клеточные белки: p16INK4A и т.п. (иммуногистохимия)
- Клеточные микроРНК (ОТ-ПЦР, чипы)
- CNV гена TERT (ПЦР, NGS)

# ВПЧ-тестирование, цитология и цервикальный скрининг

Периодичность повторного скрининга и время начала скрининга - **вопрос экономики. Каждая женщина может решать этот вопрос самостоятельно**

## Cost-effectiveness of primary HPV testing in Norway

EA Burger et al





**Благодарю за внимание!**