

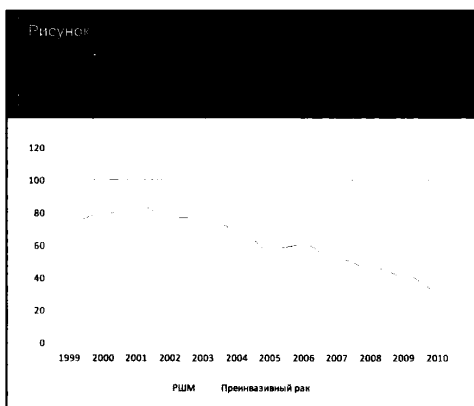
Анализ эффективности определения ДНК папилломавирусов высокого канцерогенного риска в профилактике рака шейки матки

Рак шейки матки (РШМ) – наиболее значимая онкологическая патология у женщин. По данным 2008 г., ежегодно регистрировалось 529 000 случаев заболевания цервикальным раком и 274 000 смертей от этой патологии по всему миру, и этот показатель имеет тенденцию к росту. Стандартизированный показатель заболеваемости и смертности составил 15,2 и 7,8⁰/₁₀₀₀₀ соответственно. В развивающихся странах цервикальный рак остается на втором месте среди женской онкологической патологии (542 000 зарегистрированных случаев в год, 17,8⁰/₁₀₀₀₀) и только на 10-м месте в развитых странах (76 000 случаев в год, 9,0⁰/₁₀₀₀₀). Смертность находится на уровне 9,8 и 3,2⁰/₁₀₀₀₀ в менее развитых и более развитых странах соответственно [12]. Различные уровни заболеваемости и смертности от РШМ обусловлены как разным уровнем распространения

вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) в популяциях, так и различающимися профилактическими и скрининговыми программами. Так, среди европейских стран в Румынии наблюдается самый высокий уровень заболеваемости и смертности от РШМ (30 и 21⁰/₁₀₀₀₀ соответственно), распространенность ВПЧ ВКР среди общей популяции женского населения достигает 60,7% [9]. Самая низкая заболеваемость и смертность от РШМ наблюдается в Финляндии (4,2 и 1,2⁰/₁₀₀₀₀) при распространенности ВПЧ ВКР 7,5%, сходной со средневропейской, 10,5% [16, 18]. Такая ситуация объясняется внедрением в Финляндии программ организованного (направленного) цервикального скрининга и образовательных мероприятий с целью повышения санитарной грамотности населения [16]. Подобные программы организованного скрининга существуют лишь

в девяти странах Европы (Дании, Финляндии, Исландии, Норвегии, Словении, Швеции, Нидерландах, Великобритании и в крупных регионах Италии) [10]. Эффективность в снижении заболеваемости РШМ при использовании направленного скрининга составляет 75%. В большинстве других стран обследование является добровольным и зависит от инициативы конкретной женщины или ее врача («оппортунистический скрининг»), эффективность его составляет около 43% [11].

В Республике Беларусь скрининг носит оппортунистический характер и существует в виде двухступенчатой системы вторичной профилактики цервикального рака: I этап – рутинный осмотр в зеркалах и цитологическое исследование, II этап – углубленное кольпоскопическое исследование, дополняемое, при необходимости, прицельной биопсией. лечебно-диагностическим выскаблива-



нием слизистой оболочки цервикального канала или конусовидной экцизией шейки матки (ШМ) [1].

Ведущим методом первичного скрининга по-прежнему остается цитологическое исследование, эффективность которого зависит от ряда факторов [7]. Даже при использовании окраски мазков по Папаниколау чувствительность колеблется от 30 до 87%, а специфичность – от 86 до 100% в различных исследованиях [17].

Персистирование ВПЧ ВКР является необходимым условием для развития цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ЦИН) и РШМ. Доказанная вирусная этиология стимулирует попытки использовать определение ДНК ВПЧ ВКР в программах скрининга РШМ [15]. Диагностические характеристики молекулярно-генетического определения ДНК ВПЧ ВКР превышают таковые у цитологического исследования (чувствительность 65–95%, специфичность 45–85%) [13, 14].

Первая тест-система на ДНК ВПЧ «Hybrid Capture 2 High Risk HPV DNA Test» фирмы «Digene» (США) была одобрена Управлением по контролю качества продуктов и лекарств (FDA) в 2003 г. и впоследствии рекомендована для скрининга. В Европе вопрос о применении теста на ВПЧ в первичном скрининге находится в стадии активного обсуждения [11]. В России в настоящее время завершаются масштабные государственные испытания программы цервикального скрининга, в основе которого лежит использование молекулярно-генетических технологий определения ДНК ВПЧ ВКР [2]. Таким образом, разработка и внедрение совершенных профилактических скрининговых программ является актуальной задачей профилактической медицины.

Цель исследования – изучение эффективности определения ДНК ВПЧ ВКР методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в дополнение к традиционному цитологическому скринингу в профилактике РШМ.

Материалы и методы

Материалом для анализа заболеваемости РШМ послужили данные Белорусского канцер-регистра о случаях РШМ, зарегистрированных в Гомельской области в 1999–2010 гг.

Также были проанализированы результаты обследования на ДНК ВПЧ ВКР по данным лаборатории диагностики вирусных и особо опасных инфекций Гомельского областного центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья и лаборатории ПЦР и диагностических препаратов Центральной научно-исследовательской лаборатории Гомельского государственного медицинского университета.

Объектом клинко-эпидемиологического исследования были здоровые женщины, посетившие учреждения здравоохранения для рутинного профилактического медицинского осмотра в г. Гомеле в 2009–2010 гг. Критерии включения: согласие на участие в исследовании, удовлетворительное качество цервикальных мазков для проведения молекулярно-генетических и цитологических исследований. Критерий исключения: наличие дисплазий или РШМ в анамнезе. В соот-

ветствии с приведенными критериями для анализа было выбрано 1023 человека в возрасте от 17 до 62 лет (средний возраст $32,0 \pm 0,3$ года). Все женщины были осмотрены гинекологом, выполнялось цитологическое исследование и определение ДНК ВПЧ ВКР методом ПЦР в цервикальных мазках. При выявлении дисплазии и койлоцитоза (маркеров ВПЧ) и/или положительном результате обследования на ДНК ВПЧ ВКР женщины приглашались на повторный прием. При вторичном осмотре проводилось углубленное исследование с кольпоскопией и применением сосудистых проб (с 3–5%-ным раствором уксусной кислоты) и прицельная биопсия. Конизация ШМ выполнялась с лечебной и диагностической целью на радиохирургическом аппарате «Сургитрон» (Россия). Показанием для конизации были дисплазии 1–3-й степени, законченные и незаконченные зоны трансформации с образованием ретенционных кист (*ovula Nabothy*), обусловленные эктопией цилиндрического эпителия и эктропионом как с положительными, так и отрицательными результатами определения ДНК ВПЧ ВКР и цитологического исследования.

Для детектирования генома папилломавирусов применялась тест-система, определялись следующие генотипы ВПЧ ВКР: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59.

Для статистической обработки данных применялся ROC-анализ, эффективность применения технологии ПЦР рассчитывалась по методике К.А. Мовчан и соавт. [4].

Результаты и обсуждение

Результаты диагностики преинвазивного и инвазивного РШМ в Гомельской области. Один из показателей эффективности работы онкологической службы по профилактике РШМ – отношение случаев выявленного преинвазивного рака к

Таблица 1

Показатель	Год									
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	
Количество исследований	40	199	163	293	641	1267	2108	2778 (3285)*	2827 (3343)*	
% позитивных образцов	82,5	52,3	37,4	53,6	51,5	47,8	48,8	41,1 (38,9)*	39,3 (40,1)*	
Cancer in situ: РШМ	0,3:1	0,3:1	0,4:1	0,7:1	0,7:1	1:1	1,2:1	1,4:1	1,6:1	

* С учетом исследований, проведенных лабораторией ПЦР и диагностических препаратов Центральной научно-исследовательской лаборатории Гомельского государственного медицинского университета.

его инвазивным формам. Мы проанализировали этот показатель в связи с ростом количества обследованных женщин на ДНК ВПЧ ВКР в Гомельской области с 2002 г., когда эта методика была внедрена. Результаты представлены на рисунке.

В Гомельской области сложилась положительная тенденция диагностики преинвазивного рака. Это можно связать с внедрением технологии молекулярно-генетического определения ДНК ВПЧ ВКР в области в 2002 г. и ростом числа обследованных. С 1999 по 2002 г. выявлялось небольшое количество случаев преинвазивного рака, метод ПЦР для диагностики ДНК ВПЧ ВКР не применялся.

До 2007 г. количество выявленных случаев инвазивного РШМ преобладало над преинвазивными формами. При достижении в 2007 г. числа обследованных женщин более 1000 человек (табл. 1) отношение преинвазивного РШМ к его инвазивным формам составило 1:1. В 2010 г. количество случаев *cancer in situ* стало в 1,6 раза больше, чем инвазивного рака.

Приведенные данные показывают, что обследование на ДНК ВПЧ ВКР методом ПЦР и проведение диагностических мероприятий в группе инфицированных женщин способствует росту выявления преинвазивного РШМ.

Результаты клинико-эпидемиологического исследования. В результате обследования 1023 здоровых женщин с использованием цитологического и молекулярно-генетического методов, проведения расширенной кольпоскопии, лечебно-диагностической конизации ШМ и прицельной биопсии ЦИН различной степени тяжести диагностирована у 91 женщины (8,9%). Из них дисплазия шейки матки I–III степени верифицирована у 89 обследованных, преинвазивный рак – у 2. У 84 (8,2%) женщин ЦИН диагностирована при обследовании пациенток с цитологическим заключением дисплазии и/или морфологических маркеров ВПЧ, а также инфицированных ВПЧ ВКР. У 7 (0,7%) женщин дисплазия диагностирована при выполнении лечебно-диагностической конизации для лечения фоновой патологии ШМ по показаниям, представленным выше, при отсутствии патологических изменений в мазке и отрицательном результате ПЦР.

Результаты цитологического исследования. При анализе результатов цитологического исследования у 1023 здоровых женщин обнаружено, что дисплазия была выявлена у 11 (1,1%) обследованных, койлоцитоз дополнительно отмечался у 43 пациенток (4,2%).

Таблица 2 Сравнительная характеристика диагностических параметров цитологического и молекулярно-генетического методов исследования как методов скрининга в профилактике РШМ

Параметр оценки	Цитология	ПЦР + цитология
Чувствительность (Se), 95% ДИ	8,8%; 3,9–16,6%	92,3%; 84,8–96,8%
Специфичность (Sp), 95% ДИ	94,2%; 92,5–95,6%	65,3%; 62,2–68,4%
PV+, 95% ДИ	12,9%; 5,8–23,9%	20,6%; 16,8–24,9%
PV–, 95% ДИ	91,4%; 89,4–93,1%	98,9%; 97,7–99,5%
LR+, 95% ДИ	1,5; 0,8–2,9	2,7; 2,5–2,9
LR–, 95% ДИ	0,97; 0,7–1,3	0,12; 0,06–0,2

Примечание: PV+ – прогностическая ценность положительного результата; PV– – прогностическая ценность отрицательного результата; LR+ – отношение правдоподобия положительного результата; LR– – отношение правдоподобия отрицательного результата. AUC – площадь под кривой операционной характеристики теста.

Из 11 цитологических заключений дисплазии диагноз морфологически подтвердился у 5 человек (0,5%). При углубленном обследовании, проведенном на основании цитологического ВПЧ-эффекта, морфологически было диагностировано еще 3 дисплазии. Таким образом, при проведении углубленного обследования женщин с цитологическими признаками дисплазии и ВПЧ-эффекта (койлоцитоза) дисплазия гистологически верифицирована у 8 пациенток (у 2 – I степени, у 5 – II степени, у 1 – III степени), что составило 0,8%. Полученные данные доказывают целесообразность углубленного исследования при цитологическом заключении, указывающем как на дисплазию, так и на ВПЧ-эффект.

Результаты молекулярно-генетического исследования. При обследовании 1023 здоровых женщин ДНК ВПЧ ВКР была выявлена у 364 (35,6%). При проведении углубленного обследования инфицированных женщин дисплазия была диагностирована у 83 человек (8,1%), причем у 76 пациенток (в том числе 2 случая *cancer in situ*) при отрицательных результатах цитологического исследования. Среди неинфицированных у 8 (0,8%) пациенток была диагностирована и морфологически подтверждена дисплазия: у одной женщины с цитологическим заключением дисплазии, у 7 – с фоновой патологией ШМ после конизации.

Из этих данных следует, что поиск дисплазий в группе инфицированных женщин оказался наиболее продуктивным и позволил диагностировать дополнительно 7,6% дисплазий.

Сравнительная характеристика методов скрининга представлена в табл. 2.

По результатам ROC-анализа выявлено, что чувствительность комплекса

методов оказалась значительно выше чувствительности одного цитологического исследования. Прогностическая ценность отрицательного результата примененных методов приближается к 100%, что позволяет рассматривать заключение комплекса молекулярно-генетического и цитологического исследований – «отрицательный» как «отрицательный», т.е. при отсутствии ДНК ВПЧ ВКР и нормальной цитологии риск развития дисплазии, а впоследствии РШМ, минимален. Согласно отношению правдоподобия, удовлетворительный результат цитологического исследования одинаково часто может встречаться как у женщин с дисплазией, так и у здоровых лиц. Положительный результат комплекса ПЦР и цитологического исследования встречается в 2,7 раз чаще у женщин с дисплазией, чем у здоровых лиц. Отрицательный же результат у пациенток с дисплазией встречается крайне редко. При сравнении площади под кривой операционной характеристики тестов также выявлена недостаточность применения только цитологического исследования в качестве метода скрининга (AUC = 0,5, 95% ДИ 0,48–0,55) и показана эффективность применения комплекса ПЦР и цитологического исследования в программах раннего выявления ВПЧ-ассоциированной патологии (AUC = 0,8, 95% ДИ 0,76–0,81).

Анализ затрат на применение метода ПЦР в профилактике РШМ. Использование ПЦР предупредило «потерю» выявления 76 больных молодого возраста ЦИН шейки матки из 1023 женщин (из них ЦИН II – 34, ЦИН III – 13, *cancer in situ* – 2). По данным В.И. Кулакова, инвазивный рак развивается из 36% ЦИН III степени, а ЦИН II степени трансформируется в ЦИН III степени лишь у 26% больных [3].

Суммируя количество пациенток с ЦИН II–III степени с наибольшей вероятностью трансформации в инвазивный рак, расчетное количество больных РШМ составило $R = 5,4 + 3,2 = 8,6 = 9$ человек.

Экономические потери (ущерб – У) в связи с заболеваемостью РШМ складываются из потерь внутреннего валового продукта (ВВП), создаваемого одним работником за год, выплат пособий (П) по временной утрате трудоспособности, затрат на диагностику и лечение (Л) [4]: $У = ВВП/год + П + Л$.

Размер ВВП на одного работающего в Беларуси в 2009 г. составил 14 457 000 руб. (5177,1 долл. США) [5, 6]. Предполагаемые потери ВВП: $ВВП/год = 5177,1 \times 9 = 46593,9$ долл. США. Размер выплаченных пособий для 9 человек составил: $П = 3111,0 \times 9 = 27999,0$ долл. США. Затраты на стационарное и поликлиническое обслуживание: $Л = 20493,0 + 827,1 = 21320,1$ долл. США. Таким образом, предполагаемые потери составили: $У = ВВП/год + П + Л = 46593,9 + 27999,0 + 21320,1 = 95913,0$ долл. США.

Стоимость однократного проведения ПЦР в 2009 г. составила 45 000 руб. (16,1 долл. США). Затраты на выполнение исследования методом ПЦР у 1023 женщин составили $15,8 \times 1023 = 16470,3$ долл. США.

Таким образом, затраты на лечение «пропущенного РШМ» при использовании только цитологического исследования в качестве скрининга в 6 раз превышают затраты на применение метода ПЦР для раннего выявления ВПЧ-ассоциированной патологии ШМ: $95913,0/16470,3 = 5,8 = 6,0$.

Существует еще социальная сторона предполагаемого ущерба, связанная с рождаемостью. В Беларуси среднее количество детей на одну женщину в детородном возрасте составляет 1,3 [8]. Если учесть, что пациентки находятся в репродуктивном возрасте, то потери рождения детей составят $9 \times 1,3 = 11,7 = 12$ детей на 1023 женщины. Этот социальный ущерб приобретает большое значение, так как усугубляет депопуляцию населения Беларуси.

Таким образом, внедрение ПЦР в Гомельской области в 2002 г. привело к росту выявления преинвазивного РШМ, причем с 2007 г. количество случаев выявленного преинвазивного рака превысило случаи инвазивного.

Определение ДНК ВПЧ ВКР в дополнение к цитологическому методу

и активное лечение фоновой патологии ШМ позволило диагностировать ЦИН I–III степени у 91 (8,9%) женщины, считающей себя здоровой на основании результатов обследования предыдущих традиционно выполняемых профилактических осмотров, и оказалось в 11 раз эффективнее цитологического скрининга (8,9 и 0,8% соответственно).

Затраты на дополнительные исследования методом ПЦР оказались в 6 раз ниже, чем расчетные затраты на лечение РШМ, выявленного на поздних стадиях.

Таким образом, определение ДНК ВПЧ ВКР методом ПЦР в дополнение к традиционному цитологическому скринингу существенно увеличивает эффективность последнего и является экономически выгодным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Залуцкий И.В. // Мед. новости. – 2005. – № 4. – С. 50–56.
2. ИнтерЛабСервис [Электронный ресурс]. – М., 2011. – Режим доступа: <http://www.interlabservice.ru>. – Дата доступа: 05.05.2011.
3. Кулаков В.И., Роговская С.И., Бебнева Т.Р. Заболевания шейки матки, влагалища, вульвы (кли-

нические лекции) / под ред. В.Н. Прилепской. – М., 1999. – С. 153–159.

4. Мовчан К.А., Глушанко В.С., Плиш А.В. Методики расчетов эффективности медицинских технологий в здравоохранении: инструкция по применению. – Минск, 2003. – 24 с.
5. Национальный банк Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Минск, 2011. – Режим доступа: <http://www.nbrb.by>. – Дата доступа: 25.04.2011.
6. Национальный статистический комитет Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Минск, 2011. – Режим доступа: <http://www.belstat.gov.by>. – Дата доступа: 25.04.2011.
7. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний шейки и тела матки. Руководство. – СПб.: SOTIS, 2000. – 333 с.
8. Человеческий потенциал Республики Беларусь / под ред. П.Г. Никитенко. – Минск, 2009. – 716 с.
9. Anton G. // APMIS. – 2011. – № 119. – P. 1–9.
10. Arbyn M. // Европейский журнал по сексуальному и репродуктивному здоровью. 2007. – № 67. – С. 10–12.
11. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2007.
12. Ferlay J. // Int. J. of Cancer. – 2010. – Vol. 127, Is. 12. – P. 2893–2917.
13. Goldie S. // N. Engl. J. Med. – 2005. – Vol. 353, N 20. – P. 2158–2168.
14. Hong I.S. // J. Acta Cytologica. – 2002. – Vol. 46, N 5. – P. 828–834.
15. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. – Vol. 64. Human papillomaviruses. – Lyons, 1995. – 200 p.
16. Leinonen M. // Int. J. Cancer. – 2008. – Vol. 123, N 6. – P. 1344–1349.
17. Nanda K. // Ann. Intern. Med. – 2000. – Vol. 132, N 10. – P. 810–829.
18. Parkin D. M. // Int. J. of Cancer. – 2001. – Vol. 94, N 2. – P. 153–156.

Поступила 25.07.2011 г.

РЕЗЮМЕ
АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДНК ПАПИЛЛОМАВИРУСОВ ВЫСОКОГО КАНЦЕРОГЕННОГО РИСКА В ПРОФИЛАКТИКЕ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ
 Беляковский В.Н., Волченко А.Н., Воропаев Е.В., Пригожая Т.И., Стасенкова С.В., Грабарёва Г.Л., Думова С.А.
 Гомельский областной клинический онкологический диспансер
 Гомельский государственный медицинский университет
 Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья

Изучена эффективность определения ДНК ВПЧ ВКР методом ПЦР в дополнение к цитологическому скринингу в профилактике РШМ. Проанализированы данные о заболеваемости РШМ и количестве обследованных на ДНК ВПЧ ВКР женщин в Гомельской области. Также выполнено цитологическое и исследование методом ПЦР 1023 женщинам без цервикального рака или дисплазий в анамнезе. Расчеты затрат проводились в ценах 2009 г.

Внедрение ПЦР в Гомельской области привело к росту выявления преинвазивного РШМ. Определение ДНК ВПЧ ВКР в дополнение к цитологическому методу и активное лечение фоновой патологии ШМ позволило диагностировать ЦИН I–III степени у 91 женщины (8,9%) и оказалось в 11 раз эффективнее цитологического скрининга (8,9 и 0,8% соответственно). Затраты на дополнительные исследования методом ПЦР оказались в 6 раз ниже расчетных затрат на лечение РШМ, выявленного на поздних стадиях.

Ключевые слова: цитологический скрининг; ПЦР; вирус папилломы человека; рак шейки матки; эффективность диагностики.

Summary
ANALYSIS OF EFFECTIVENESS OF DNA HUMAN PAPILLOMAVIRUSES HIGH CANCER RISK DETECTION IN CERVICAL CANCER PREVENTION
 Belyakovskij V.N., Volchenko A.N., Voropaev E.V., Prigozhaya T.I., Stasenikova S.V., Grabarjeva G.L., Dumova S.A.
 Gornel Regional Clinical Oncological Dispensary, Belarus
 Gornel State Medical University, Belarus
 Gornel Regional Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health, Belarus

The aim of the article was to study effectiveness of DNA HPV HCR detection in addition to cytological screening of cervical cancer prevention. Data of cervical cancer morbidity and number of surveyed for DNA HPV HCR women in Gornel region were analyzed. Also cytological and PCR investigation were carried out for 1023 women without cervical cancer or dysplasia in anamnesis. Calculations of cost-effectiveness of PCR were performed at 2009 prices.

Implementation of PCR in Gornel region led to increasing cancer in situ detection. DNA HPV HCR detection in addition to cytological screening and active treatment of cervical pathology allowed to diagnose 91 (8.9%) cases of CIN I–III out of 1023 women. Complex of methods was turned out in 11 times more effective, then cytology screening (8.9% by complex of methods and 0.8% by only cytology). The cost of PCR analysis has been in 6 times lower than the estimated cost of treating of cervical cancer diagnosed at later stages.

Keywords: cytological screening, PCR, human papillomavirus, cervical cancer, effectiveness of diagnostics.