

NADEJDA CODREANU, CRISTINA MURŞIEV, MIHAELA BOTNARI-GUŢU,
DIANA RUSNAC, ELENA BAHOVA

ROLUL TESTARII LA HPV ÎN MANAGEMENTUL CONTEMPORAN AL STĂRILOR PRECANCEROASE ŞI CANCERULUI COLULUI UTERIN

Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie „Nicolae Testemiţanu”

SUMMARY

THE ROLE OF HPV SCREENING IN THE CONTEMPORARY MANAGEMENT OF PRECANCEROUS AND CANCEROUS LESIONS OF THE UTERINE CERVIX

Keywords: HPV screening, cervical cancer, cervical precancerous lesions

Background: Cervical cancer affects about 500.000 women each year, having serious repercussions upon the public health, as half of the primary diagnosed cases are lethal. The statistics show that 91% of women survive at least for 5 years after the diagnosis is established, assuming that it is a early stage. Great progress in the prevention, diagnosis and treatment of cervical cancer has been obtained since the cytological screening, HPV genotyping and anti-HPV vaccination have been discovered, as the lethality dropped by 80%. But in spite of this fact, it is important to keep in mind that the Pap-test has its clinical limitations, as about 1/3 of the precancerous lesions remain underdiagnosed. Recently, the studies performed for the US Cancer prevention Center showed that the HPV testing has a greater sensitivity in detecting \geq CIN2 and \geq CIN3 lesions versus the pap-smear. The HPV testing offers the possibility to quantify the risk, the sensitivity Cobas® HPV Test being with about 35,7% higher and reaching about 100%. In our study, only 1 of 10 women with positive HPV 16, 18 had precancerous cervical modifications and normal cytological results.

The aim of the study was to evaluate the role of the HPV testing in the contemporary screening and management of the precancerous and cancerous cervical modifications.

Materials and methods: The study was based on the data of 270 women of 18-60 years of age. Their Pap-smear and HPV-AND tests were performed in the Synevo-Laboratory. Based on this results the women were redirected for colposcopy and onco-gynecological consultations, including biopsy and treatment.

Results and conclusions:

1. The screening performed using the Cobas® HPV Test revealed that 1/3 of the 270 women included in the study were infected with oncogenic HPV types, with ACES vs NILM in a 4 to 1 correlation.
2. 40% of the women were diagnosed with precancerous and cancerous uterine cervix pathologies, they were redirected for colposcopy, biopsy and histology.
3. In our study the Cobas® HPV test showed a 100% sensibility and a 92,86% specificity.
4. The study showed that the major group of risk for developing ACES were women aged over 30, administering oral contraceptives over 2-3 years and infected with HPV 16,18 types, fact that proves the need to vaccinate young women against HPV.

РЕЗЮМЕ

РОЛЬ ВПЧ СКРИНИНГА В СОВРЕМЕННОМ МЕНЕДЖМЕНТЕ ПРЕДРАКОВОЙ И РАКОВОЙ ПАТОЛОГИЙ ШЕЙКИ МАТКИ

Ключевые слова: ВПЧ скрининг, предраковая и раковая патология шейки матки.

Справочная информация: Рак шейки матки затрагивает около 500.000 женщин каждый год, сильно влияя на индикаторы здоровья населения, так как половина первично диагностированных случаев имеют летальный исход. Статистика показывает, что выживаемость достигает 5 лет и более при условии, что диагностика происходит в ранних стадиях. Огромный прогресс был достигнут в плане скрининга, диагностики и лечения

рака шейки матки с тех пор как цитологический скрининг, определения генотипа и ВПЧ вакцинация были введены, смертность упала на около 80%. Несмотря на это, важно помнить что у Пап-теста есть свои клинические недостатки, 1/3 предраковых изменений остается в тени. Недавно, исследования проведенные для Американского Центра Предотвращения Рака показали что ВПЧ тестирование имеет большую чувствительность в диагностике поражении \geq CIN2 и \geq CIN3, в сравнений с обыкновенной цитологией. ВПЧ тестирование позволяет измерить риск этих поражений, а чувствительность Cobas® ВПЧ Теста больше на 35,7%, достигая почти 100%. В нашем исследовании только у 1 из 10 женщин с положительными результатами на ВПЧ 16,18 имели предраковые модификаций и нормальную цитологию.

Целью нашего исследования было оценить роли ВПЧ скрининга в современном менеджменте предраковой и раковой патологий шейки матки.

Материалы и методы: исследование основано на данных 270 женщин в возрасте от 16 до 60 лет, которые сдали Пап-тест и ВПЧ-ДНК в лабораторий Синево. Основываясь на результатах, женщины были перенаправлены на онко-гинекологические консультации, включая биопсию и лечение.

Результаты и выводы:

1. Скрининг пациенток применяя Cobas® ВПЧ-Тест показал что 1/3 из 270 женщин включенные в исследования были ВПЧ 16,18 положительными, с соотношением ACES и NILM 4:1.
2. У 40% женщин были диагностированы предраковые и раковые изменения шейки, они были перенаправлены на кольпоскопию, биопсию и гистологию.
3. В нашем исследований Cobas® ВПЧ тест показал 100% чувствительность и 92,86% специфичности.
4. Исследование показало, что в группу риска к развитию ACES вошли женщины старше 30 лет, принимающие оральные контрацептивы больше 2-3 лет зараженные ВПЧ 16,18, то что доказывает необходимость вакцинации молодых женщин.

Introducere

Cancerul de col uterin (CCU) reprezintă o entitate clinică cu repercusiune majoră în sănătatea publică, la nivel mondial. Conform statisticilor OMS, anual sunt înregistrate aproximativ 500.000 de cazuri noi, din ele 250.000 fiind fatale. Cca 91% din paciente supraviețuiesc cel puțin 5 ani după diagnosticare, cu condiția că CCU a fost depistat precoce.

Progrese remarcabile au fost obținute în prevenția și tratamentul stărilor precanceroase de col uterin prin efectuarea screeningului citologic, genotipării HPV și vaccinării anti-HPV, incidența și mortalitatea datorată cancerului de col uterin scăzând cu până la 80% .

Este important să cunoaștem faptul că Pap-testul are rezervele sale de diagnostic, fiind neinformativ în 1/3 cazuri de leziuni precanceroase examinate în cadrul controlului periodic. Astfel, ultimele studii arată că 24-32% din cazurile de cancer invaziv de col uterin sunt diagnosticate în cazul femeilor cu citologie Pap normală. Analiza studiilor privind testarea HPV realizată pentru Serviciul de Prevenție a Cancerului din SUA a arătat că utilizarea testării HPV ca metoda de screening este mult mai sensibilă în detecția leziunilor \geq CIN2 și \geq CIN3, comparativ cu citologia Pap. Astfel depistarea leziunilor de col la persoane asimptomatice utilizând testarea HPV ca prim test (versus citologia Babeș-Papanicolau) este recomandată în SUA ca alternativă de screening.

Aceasta permite cuantificarea riscului de leziuni precanceroase \geq CIN II la femeile infectate cu tulpini HPV 16 și/ sau HPV 18, sensibilitatea Testului cobas® HPV depășind sensibilitatea Testului-Pap cu 35,7%, fiind aproape 100%. În cadrul acestui studiu, 1 din 10 femei testate pozitiv pentru genotipurile HPV16, 18 a avut modificări precanceroase cervicale cu citologie normală și vârsta peste 30 de ani.

Scopul lucrării: Studiul rolului HPV-testării în screeningul diagnostic și managementul contemporan al stărilor precanceroase și cancerului de col uterin.

Obiective:

1. Analiza rezultatelor examenului citologic Pap în mediu lichid și testului cobas® HPV la 270 de paciente incluse în studiu.
2. Determinarea ratei genotipului dominant HPV cu risc oncogen crescut între pacientele studiului pentru argumentarea vaccinoprofilaxiei în R.Moldova.
3. Identificarea corelației între structura genotipică HPV cu risc crescut și structura ACES în cadrul leziunilor precanceroase de col uterin detectată în lotul de studiu.
4. Evaluarea importanței HPV-testării în detectarea suplimentară a stărilor precanceroase în grupul pacientelor cu citologie normală (NILM), celule scuamoase atipice cu semnificație nedeterminată (ASC-US) și HPV-pozitive.

Material și metode

S-a efectuat un studiu analitic retrospectiv. Lotul de studiu a fost alcătuit din 270 paciente care au efectuat examenul citologic cervico-vaginal Babeș-Papanicolau în mediu lichid și HPV ADN. Pacientele au fost alese în mod aleator din totalul pacientelor unui medic obstetrician-ginecolog, ele având vârsta cuprinsă între 18-60 ani. Colectarea PAP-CML cu HPV AND și analiza rezultatelor a fost realizată de către laboratorul Synevo în perioada anilor 2013-2016. Specimenele recoltate erau celule ale zonei exocervicale, endocervicale și a zonei de transformare-sediul cel mai frecvent al leziunilor preneoplazice. Tratarea și colorarea citologiei în mediu lichid s-a realizat în mod automat, lamele fiind scanate și analizate prin sistem computerizat, iar rezultatul s-a elaborat conform Sistemului de raportare a citologiei colului uterin Bethesda 2001. Ca test reflex s-a efectuat Cobas® HPV, realizat pe platforma automată Cobas 4800 (Roche

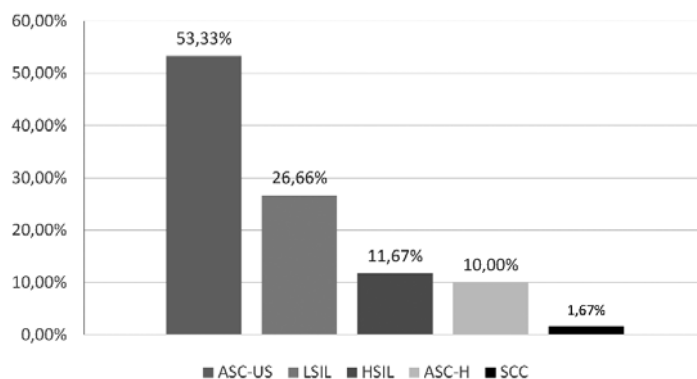
Diagnostics), care detectează printr-o metodă real-time PCR 14 genotipuri HPV cu risc crescut.

Rezultate

Rezultatele testării genotipice a infecției cervicale cu HPV au arătat prezența acestora în raport de 27,77% în lotul de studiu. Dintre formele de anomalii ale celulelor epiteliale scuamoase (ACES) detectate în lotul de studiu, au predominat în raport de 53,33% celulele scuamoase atipice cu semnificație nedeterminată (ASC-US). Pacientele HPV-negative și citologie negativă pentru leziuni maligne intraepiteliale (NILM) au fost considerate sănătoase fiind excluse din studiu.

Dintre pacientele HPV-pozitive, 80% au prezentat ACES, iar 20% s-au încadrat în citologie NILM (Fig. 1.). Este semnificativ faptul că din totalul pacientelor incluse în grupul NILM, 7,14% au fost HPV-pozitive, prezentând risc de modificări precanceroase cervicale, risc omis de citologie.

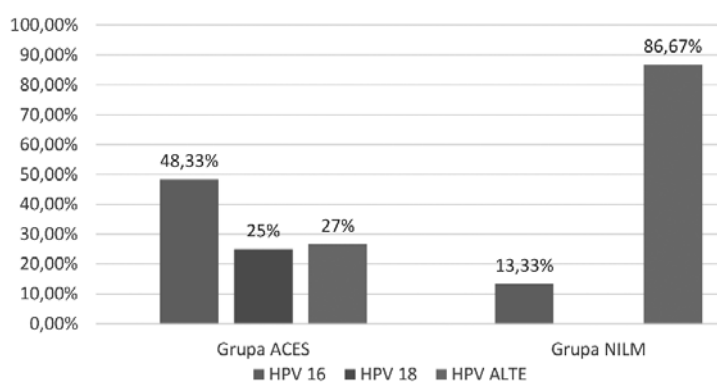
Fig. 1. Structura ACES la pacientele infectate cu HPV



Analizând distribuția tulpinilor HPV cu risc oncogen înalt în rândul pacientelor cu ACES, am obținut rezultatele: cea mai frecventă a fost infecția cu HPV 16 – 48,33% care în sumă cu infecția HPV 18 au alcătuit 73,33% din

totalul tulpinilor identificate. Din pacientele HPV pozitive, 26,66% au prezentat infecție cu mai mult decât o tulpină HPV [31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68] – infecție mixtă. (Fig. 2.)

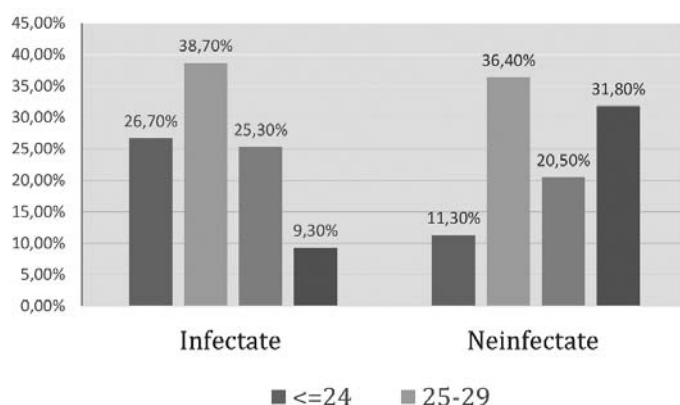
Fig. 2. Structura tulpinilor HPV în rândul pacientelor infectate



Intervalul de vârstă al pacientelor diagnosticate cu infecție HPV s-a dovedit semnificativ mai ridicat în grupurile 20-29 și 30-39 ani – 72 cazuri, comparativ cu grupurile 40-49 și 50-59 ani, unde s-au identificat doar

3 cazuri. (Fig. 3.). Rezultate similare au fost prezentate într-un studiu caz-control publicat de Silva și colab., care a observat că vârsta este invers corelată cu persistența infecției HPV.

Fig. 3. Grupele de vârstă la pacientele studiului



Dacă analizăm repartitia infecției HPV după anul de examinare, în anul 2016 s-au înregistrat 47 cazuri, ceea ce reprezintă mai mult de 1/2 cazuri. De asemenea, s-a observat creșterea continuă a numărului de cazuri identificate, care teoretic s-ar explica prin accesibilitatea diagnosticului prin tehnici modern, cum ar fi examenul

citologic cervico-vaginal Babeș-Papanicolau în mediu lichid asociat cu Cobas® HPV test.

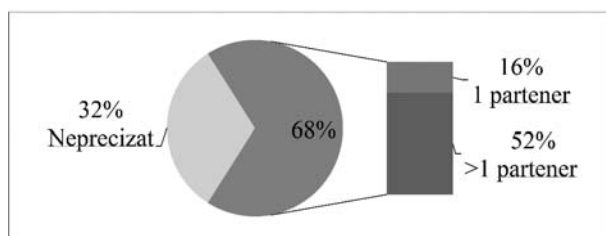
Evaluarea factorilor de risc identificați la femeile examinate a relevat: prezența partenerilor sexuali multipli, infecții ale tractului urogenital și folosirea contraceptivelor orale. (tab. 1)

Tabelul 1. Factorii de risc în grupul pacientelor infectate cu HPV.

Factorul de risc	Total	
	N=	%
Debutul precoce al vieții sexuale	12	16%
Contraceptivele orale	30	40%
Sarcini multiple	8	10,7%
Parteneri sexuali multipli	39	52%
Infecții ale tractului genital	30	40%
Anamneza eredocolaterală complicată	25	33,3%
Statut de fumătoare	4	5,3%
Indicele masei corporale nefavorabile	1	1,3%

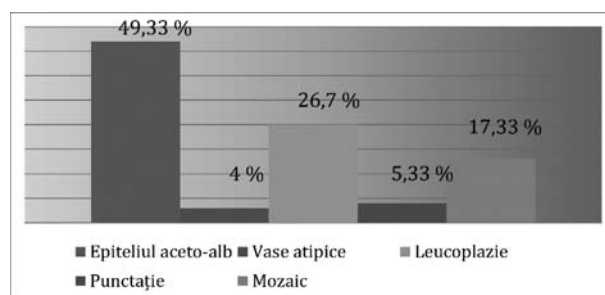
La evaluarea vieții sexuale a pacientelor HPV- pozitive, au predominat femeile cu parteneri sexuali multipli. (Fig. 4.)

Fig. 4. Distribuția pacientelor infectate cu HPV conform numărului de parteneri sexuali.



Din numărul total de 75 paciente HPV- pozitive, 15 au prezentat NILM iar 30- ASCUS. Ele au fost redirecționate la examenul colposcopic. Dintre aspectele colposcopice sugestive pentru neoplazia cervicală s-au identificat: epiteliu aceto-alb (49,33%), leucoplazie (26,7%), mozaicism (17,33%), punctație (5,33%) și vase atipice (4 %). (fig. 5.)

Fig. 5. Aspectele colposcopice sugestive pentru neoplazie identificate la examenul colposcopic



Rezultatele biopsiei au fost următoarele:

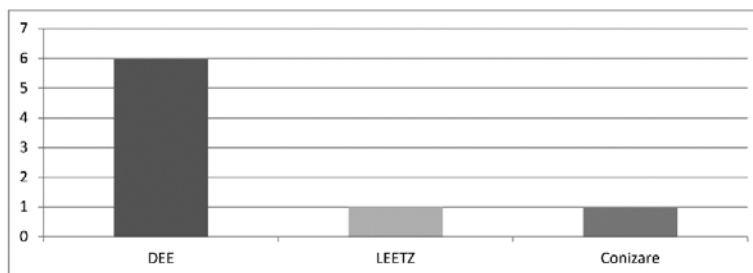
Tabelul 2

Nr. paciente	CML	Rezultatul biopsiei
2	NILM	Acantoză și hiperkeratoză CIN 2
3	ASC-US	Acantoză, koilocitoză și parakeratoză CIN3
2	ASC-US	Koilocitoză și hiperparakeratoză CIN 2
3	ASC-US	Displazie severă CIN 3.

Metodele de tratament aplicate la aceste paciente au fost : excizia electrochirurgicală cu ansa (DEE) – în 6 cazuri, excizia electrochirurgicală largă cu ansa a zonei de trans-

formare (LEETZ) și conizarea efectuate în a câte 1 caz. (fig. 6).

Fig. 6. Metodele de tratament aplicate



De asemenea, au fost determinate sensibilitatea și specificitatea pentru Testul cobas® HPV în cadrul lotului nostru de studiu (tabelul 3), cu obținerea sensibilității de 100%

și specificității de 92,86%, rezultate net superioare unui simplu Pap-test.

Tabelul 3

HPV	ACES	NILM	Valoarea	95% CI
Detectabil	60	15	Sensibilitate 100%	94.04-100%
Nedetectabil	0	195	Specificitate 92,86%	88.49-95.95%
Total	60	210	Valoare predictivă pozitivă 80%	71.07-86.69%
			Valoare predictivă negativă 100%	

Concluzii

1. Utilizarea testului cobas® HPV în triajul de screening al lotului de studiu de 270 paciente a făcut posibilă depistarea infectării cu tulpini oncogene în 1/3 din cazuri, manifestată prin dezvoltarea ACES vis-a-vis de citologia normală (NILM) în raport de 4:1.
2. Testul cobas® HPV a permis depistarea în cadrul triajului citologic la 40% dintre paciente a stărilor precanceroase și cancerului de col uterin, confirmate prin colposcopie, biopsie și histologie, iar la 60% din pacientele infectate testul a depistat stări ASC-US și NILM.
3. Utilizarea algoritmului de prognozare oferit de testul cobas® prin HPV genotipare a permis diagnosticarea suplimentară a stărilor \geq CIN2 între pacientele cu ASC-US și HPV 16 la fiecare a 3-a pacientă (31,6%) cu vârsta \geq 30 ani și fiecare a 4-a pacientă (25%) cu vârsta \leq 30 ani, iar printre pacientele cu citologie normală (NILM) infectate cu HPV 16,18 la fiecare a 7-a cu vârsta \geq 30 ani. Astfel, testul cobas® HPV a demonstrat, în cadrul lotului studiat o sensibilitate de 100% și o specificitate 92,86%.
4. Studiul a demonstrat că grupul de risc major de dezvoltare a ACES îl constituie femeile cu vârsta \geq 30 ani, utilizatoare de contraceptive orale mai mult de 2-3 ani, infectate cu genotipul HPV 16,18, responsabil de 2/3 din ACES, ceea ce ar confirma oportunitatea înglobării pacientelor tinere în imunoprofilaxia HPV cu vaccin bivalent existent pe piață.

Bibliografia:

1. Arbyn M, Bryant A, Beutels P, Martin-Hirsch PL, Paraskevaidis E, Van Hoof E, et al. Prophylactic vaccination against human papillomaviruses to prevent cervical cancer and its precursors. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2011, Issue 4.
2. Arbyn M, Bryant A, Martin-Hirsch PL, Xu L, Simoons C, Markowitz L. Prophylactic vaccination against human papillomaviruses to prevent cervical cancer and its precursors. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2013, Issue 12.
3. Abdullah, A., Qasim, M., Shafiq, M., Ijaz, M., Parveen, S., Murtaza, S. et al. Molecular diagnosis and phylogenetic analysis of human papillomavirus type-16 from suspected patients in Pakistan. *Infect Agents Cancer*. 2016; 11: 1
4. Bosch, F.X., Burchell, A.N., Schiffman, M., Giuliano, A.R., de Sanjose, S., Bruni, L. et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. *Vaccine*. 2008; 26: K1-K16
5. De Sanjosé, S., Diaz, M., Castellsagué, X., Clifford, G., Bruni, L., Muñoz, N. et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007; 7: 453-459
6. WHO Fact Sheet. GLOBOCAN 2012: estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012.

7. Trottier, H. and Franco, E.L. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine*. 2006; 24: S4–S15
8. Sotlar, K., Diemer, D., Dethleffs, A., Hack, Y., Stubner, A., Vollmer, N. et al. Detection and typing of human papillomavirus by e6 nested multiplex PCR. *J Clin Microbiol*. 2004; 42: 3176–3184
9. Ramanakumar, A.V., Naud, P., Roteli-Martins, C.M., de Carvalho, N.S., de Borja, P.C., Teixeira, J.C. et al. Incidence and duration of type-specific human papillomavirus infection in high-risk HPV-naïve women: results from the control arm of a phase II HPV-16/18 vaccine trial. *BMJ Open*. 2016; 6: e011371
10. Nobbenhuis, M.A., Walboomers, J.M., Helmerhorst, T.J., Rozendaal, L., Remmink, A.J., Risse, E.K. et al. Relation of human papilloma virus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study. *Lancet*. 1999; 354: 20–25