

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ГОРРИНГ ХАВА ИЗРАИЛОВНА

**ОПТИМИЗАЦИЯ ВТОРИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ
ЦЕРВИКАЛЬНЫХ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НЕОПЛАЗИЙ,
АССОЦИИРОВАННЫХ С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ
ИНФЕКЦИЕЙ**

3.1.4 Акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

д.м.н., профессор Куценко Ирина Игоревна

КРАСНОДАР — 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	6
Глава 1. Обзор литературы	15
1.1. Патогенетические особенности папилломавирусной инфекции	15
1.2. Клиника папилломавирусной инфекции у женщин	22
1.3. Цервикальный скрининг	22
1.4. Методы терапии папилломавирусной инфекции	28
1.5. Таргетная иммунотерапия папилломавирусной инфекции	29
1.6. Первичная профилактика рака шейки матки (вакцинация против ВПЧ)	39
1.7. Вторичная профилактика рака шейки матки	41
Глава 2. Материалы и методы исследования	44
2.1. Этапы, объем, методы исследований и наблюдения (ретроспективное исследование)	44
2.2. Селекция и рандомизация пациенток с формированием групп (проспективное исследование)	46
2.2.1. Критерии включения, невключения, исключения в проспективное исследование	47
2.2.2. Социально-anamnestическая оценка групп пациенток, включенных в проспективное исследование	48
2.3. Клинические методы исследования	56
2.4. Оценка микробиоценоза влагалища и шейки матки	56
2.4.1. Микроскопический (бактериоскопический) метод	56
2.4.2. Полимеразная цепная реакция (система ПЦР-РВ — «АмплиПрайм®», РФ)	56

2.5.	Клинические и микробиологические методы исследования, ассоциированные с персистенцией вируса папилломы человека	57
2.6.	Локальные параметры иммунной системы	59
2.6.1.	Клетки мононуклеарно-фагоцитарной системы (цитохимические показатели)	59
2.6.2.	Цитокиновый статус цервикальной зоны	59
2.7.	Окислительные процессы в слизистой цервикальной зоны	59
2.8.	Биохимический состав цервикального секрета	59
2.9.	Характеристика методов профилактической терапии, проводимой пациенткам с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции	60
2.10.	Статистическая обработка материала	61
Глава 3. Результаты исследования		63
3.1.	Собственное ретроспективное исследование (регион — Краснодарский край)	63
3.1.1.	Эпидемиологический анализ латентных и субклинических форм папилломавирусной инфекции (женское население Краснодарского края)	63
3.1.2.	Эпидемиологический анализ заболеваемости цервикальными интраэпителиальными неоплазиями в Краснодарском крае	69
3.1.3.	Территориальное картографирование латентных и субклинических форм папилломавирусной инфекции (Краснодарский край)	72
3.1.4.	Анализ вагинального микробиома у пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции	73

3.1.5.	Прогноз количества случаев возникновения цервикальных неоплазий, связанных с вирусом папилломы человека, в Краснодарском крае	76
3.1.6.	Вакцинация против вируса папилломы человека в Краснодарском крае	78
3.2.	Результаты проспективного исследования	81
3.2.1.	Клинический и цитоморфологический анализ пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции	81
3.2.2.	Результаты вирусологического анализа латентных и субклинических форм папилломавирусной инфекции	84
3.2.3.	Интерпретация результатов иммуноцитохимического исследования пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции	86
3.2.4.	Оценка цервико-вагинального микробиоценоза у пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции	94
3.2.5.	Биохимический анализ цервикальной слизи у пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции	98
3.2.6.	Исследование местного иммунитета при латентных и субклинических формах папилломавирусной инфекции	99
3.2.7.	Окислительные процессы слизистой шейки матки при латентных и субклинических формах папилломавирусной инфекции	101
3.2.8.	Расчет прогностических критериев заболеваемости, связанной с папилломавирусной инфекцией	102
3.3	Рандомизация пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции	104

3.3.1.	Сравнительная эффективность профилактической терапии пациенток с латентными формами папилломавирусной инфекции	104
3.3.2	Сравнительная эффективность терапии пациенток с субклиническими формами папилломавирусной инфекции (цитология и кольпоскопия)	108
Глава4.	Обсуждение полученных результатов	113
Глава5.	Алгоритм ведения пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции	126
	Выводы	128
	Практические рекомендации	130
	Указатель литературы	132
	Приложения	152

Введение

Актуальность проблемы. Заболевания, связанные с вирусом папилломы человека (ВПЧ), являются одними из самых часто встречающихся инфекций, которые передаются половым путём — 35 типов данного вируса способны вызывать поражения эпителия и слизистых оболочек [4, 11, 52, 97, 121]. Раки вульвы, влагалища и шейки матки занимают лидирующие позиции по смертности от злокачественных опухолей среди женского населения во всём мире, несмотря на внедрение профилактических мероприятий [9, 21, 43, 58, 117]. Именно меры первичной профилактики ВПЧ-индуцированной патологии и ранней диагностики процессов, приводящих к предраковым заболеваниям шейки матки и вульвы, привлекают внимание врачебного сообщества, поскольку являются методом, способным предотвратить распространение этой патологии [6, 18, 22, 41, 63, 122].

С момента публикации Доклада о раке Международной федерации акушеров-гинекологов (FIGO) за 2018 год были достигнуты значительные успехи в глобальных усилиях по снижению заболеваемости раком шейки матки. Однако, несмотря на все достижения, более полумиллиона новых случаев рака шейки матки (РШМ) добавляются каждый год. В России существует государственная программа «Репродуктивное здоровье», в которой одним из приоритетных направлений является разработка эффективной программы скрининга РШМ [26, 54, 70]. Тем не менее, диагностика латентных и субклинических форм папилломавирусной инфекции (ПВИ) остаётся на достаточно низком уровне или отсутствует [16, 33, 25, 64, 79, 125]. Применение организованного цитологического скрининга позволяет осуществлять раннее выявление фоновых и предраковых заболеваний шейки матки [9, 11, 23, 31, 66]. Однако данный скрининг проводится не во всех регионах, особенно в сельской местности [15, 21, 37, 52, 73].

Большое количество исследований в настоящее время посвящено изучению причин элиминации/персистенции вируса, так как персистенция ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР) привести к развитию CIN, и РШМ, так как одной из

важных особенностей папилломавирусной инфекции, наряду с ее частым латентным и субклиническим течением, является длительность инкубационного периода, что также затрудняет ее диагностику и лечение [7, 9, 13, 34, 29, 51, 74, 119]. Кроме того, персистенция и риск реализации неопластических процессов данного типа вирусов во многом зависит от выраженности изменений вагинального гомеостаза [10, 14, 33, 65]. При этом, адекватная оценка этих факторов и своевременная их коррекция позволят уменьшить риск развития предраковых заболеваний женских половых органов и тем самым предотвратить развитие малигнизации. На сегодняшний момент не существует единой тактики ведения женщин с латентными и субклиническими формами ПВИ. В доступной научной литературе наиболее распространенной точкой зрения считается активное наблюдение за данным контингентом пациенток [6, 10, 29, 41, 57, 72], в других исследованиях предпочтение отдается иммуномодулирующей профилактической терапии [5, 33, 49, 76], в-третьих — упор делается на коррекцию индуцирующих активацию ВПЧ процессах в цервикальной зоне [11, 16, 114]. В настоящее время отсутствует препарат, действующий целенаправленно на вирус папилломы человека, но использование лекарственных средств, корригирующих микробиоценоз вульвовагинальной зоны, модулирующих адекватный локальный иммунный ответ может снизить вирусную нагрузку и увеличить частоту элиминации ВПЧ ВКР [12, 24, 48, 76].

Из вышеизложенного следует, что вопросы вторичной профилактики онкологических процессов шейки матки, диагностика и профилактика неопластических процессов, индуцированных вирусом папилломы человека, по-прежнему остаются не решенной до конца как медицинской, так и социальной проблемой [19, 22, 48, 64, 81, 105].

Степень разработанности темы исследования

Заболеваемости, связанной с ПВИ, посвящено множество научных работ, в которых рассматриваются различные аспекты этой нозологии [5, 10–14, 18–22, 34, 48–51, 64, 77, 81, 122]. Достаточно хорошо освещена эпидемиология РШМ по отдельным

субъектам Российской Федерации [4, 11, 14, 28, 36], имеются исследования по эпидемиологии CIN [13, 24]. Но практически нет научных работ по субклиническим формам ПВИ. Другой стороной «медали» являются продолжающиеся в научном сообществе дискуссии, посвящённые вопросам диагностики, профилактики и лечения заболеваний, связанных с папилломавирусами. Эти дискуссии обусловлены противоречивыми результатами исследований, а также отсутствием единого подхода к пониманию патогенеза этих заболеваний. Также продолжаются споры о том, какой объём исследований необходим для диагностики ВПЧ. Диапазон мнений простирается от минимального, включающего только ВПЧ-типирование [47, 64, 118], до более широкого подхода, который предполагает включение в скрининг кольпоскопии, онкоцитологии и нескольких маркеров пролиферации и апоптоза [26, 28, 41, 59, 84, 120]. Дискуссионным остается вопрос влияния на активность вируса девиаций микробиоты, иммунного статуса и, тем более, нет таких исследований при латентных и субклинических формах ПВИ, как и факторов, определяющих их переход в неоплазию [30, 39, 44, 71].

В вопросах терапии заболеваний, ассоциированных с ВПЧ, единая тактика также отсутствует — латентные и субклинические проявления ПВИ часто рассматриваются как состояния, не нуждающиеся в активном вмешательстве, в связи с чем рекомендуется так называемая «выжидательная стратегия» [3, 24, 57, 81, 114]. Другие специалисты, наоборот, настаивают на активном менеджменте с применением различных вариантов иммуномодулирующей и противовирусной терапии [39, 66, 70]. Вышеперечисленные дискуссионные вопросы предполагают поиск новых наиболее оптимальных диагностических критериев ассоциированного с папилломавирусами процесса в шейке матки, с исследованием, направленным на создание алгоритмов прогнозирования развития заболевания и возможности их перехода в неоплазии, а также на разработку методов патогенетически обоснованной вторичной профилактики рака шейки матки, позволит найти новые подходы ведения таких пациенток.

Одной из главных проблем в менеджменте латентных и субклинических форм ПВИ является высокая частота (до 30–40%) их перехода в более тяжелые (диспластические) формы, что и определяет перспективность и актуальность поиска новых терапевтических воздействий [17, 24, 31, 59, 92]. Перспективным в этом направлении представляется использование вакцины против ВПЧ. Имеются отдельные данные о перекрестной защите при ВПЧ от других родственных штаммов того же вида, также есть исследования, указывающие на то, что после заражения ВПЧ наблюдается снижение риска заражения другими штаммами [95, 104]. Также есть доказательства, указывающие на то, что естественная инфекция ВПЧ не дает специфической для группы специфичной иммунной защиты или общей защиты от повторного заражения генитальными типами ВПЧ [74, 97]. Последние исследования, проведенные с вакцинами против ВПЧ, показывают данные о перекрестной защите от родственных штаммов ВПЧ [69, 83, 101]. Несмотря на то, что иммунитет к ВПЧ является типоспецифичным, если рассматривать филогенетическое дерево, включающее различные типы ВПЧ, приходит понимание того, что возможна определенная степень перекрестной защиты, из-за высокой гомологии некоторых типов вирусов с вакцинными. Оценка кросс-защитных свойств вакцин против ВПЧ — чрезвычайно важный вопрос, который мог бы повысить их профилактический потенциал, а воздействие перекрестной защиты может привести к сокращению цервикальных интраэпителиальных неоплазий. Существуют публикации, что у ВПЧ-инфицированных при вакцинации более низкая частота рецидивов CIN, но эти данные получены на основе не рандомизированных исследований со слабой доказательной базой, что ограничивает их ценность [26, 92, 93, 125]. Появляются исследования, связанные с «анализом влияния ВПЧ-вакцинации на уменьшение риска рецидивов цервикальных неоплазий после эксцизионной терапии, что в большей степени объясняется активацией нейтрализующих антител, связывающихся с ВПЧ вне клеток и препятствуя их инфицированию» [66, 82]. Некоторая часть проведенных первоначальных клинических исследований заключила об отсутствии значимого

эффекта на развитие неопластических процессов от вакцинации ВПЧ-позитивных пациенток [79, 93]. При этом другая часть проведенных научных (плацебо-контролируемых) исследований показала, что «ВПЧ-вакцинация у пациенток с латентными формами ПВИ позволяет снизить частоту цервикальных неоплазий». Так, Joura et al. (2020) провели оценку эффективности вакцинации в контексте предотвращения рецидива CIN II у 1350 женщин, из них 587 были вакцинированы до операции, а 763 получили плацебо. Результаты показали, что «эффективность вакцинации составила 64,9%» [99]. В рамках другого исследования, направленного на изучение противорецидивной эффективности вакцинации, были проанализированы данные 454 пациенток с CIN II (190 были вакцинированы, а 264 — получили плацебо). Результаты показали, что «противорецидивная эффективность вакцинации составила 88,2%» [96].

В исследовании Kang et al. (2020), где после цервикальной петлевой эксцизии (LEEP) 360 пациенток были вакцинированы против ВПЧ (377 — контроль), трехлетнее наблюдение выявило: «рецидив CIN II среди вакцинированных лишь в 2,5% (среди невакцинированных — 7,2%)» [81]. В исследовании SPERANZA (Del Pino et al. (2021) с участием 174 вакцинированных и 176 невакцинированных пациенток с CIN II (мониторинг в течение 36 месяцев) был сделан вывод: «рецидив CIN II отмечался у 1,2% вакцинированных и 6,4% невакцинированных. Установлено, что вакцинация против ВПЧ после цервикальной конизации позволяет в 4,5 раза снизить вероятность рецидива CIN II» [76]. В исследовании Bogani et al. (2021) с похожим дизайном и сроками наблюдения до 5 лет выявлено, что: «при конизации наряду ВПЧ-вакцинацией частота рецидивов была 1,7%, а без нее — 5,7%» [69].

В единственном на сегодняшний день отечественном исследовании Н.В. Зароченцевой и соавт. (2020–2021 гг.) были получены данные о: «значимом снижении риска возникновения резидуальных/рецидивных форм цервикальных дисплазий (почти в 10 раз)» [26]. Наконец, в наиболее, на сегодняшний день, подробном обзоре с мета-анализом [2020] было показано, что: «в 7/8 исследований с послеэксцизионной

ВПЧ-вакцинацией снижалась частота рецидива CIN II» [81]. При этом зафиксировано, что: «вакцинация, проводимая сразу после облученной терапии, приводит к активации локального антителообразования в базальном слое эпителия шейки матки, что предотвращает реинфицирование, что и снижает риск рецидива неоплазии» [81].

Таким образом, в вышеперечисленных научных публикациях зафиксирована перспективная роль ВПЧ-вакцинации в плане снижения случаев рецидива неопластических процессов нижнего отдела гениталий, что подтверждает гипотезу об эффективности ВПЧ-вакцинации и перспективности менеджмента пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ.

Цель исследования: разработка инновационной стратегии менеджмента пациенток с латентным и субклиническим течением папилломавирусной инфекции, направленной на повышение эффективности вторичных профилактических мероприятий, предотвращающих развитие неоплазий.

Задачи исследования:

- 1) Провести анализ динамики распространения ВПЧ-инфицирования среди женского населения Краснодарского края за пятилетний период (2019-2023 гг.) и разработать систему математического прогнозирования дальнейшей эпидемиологической ситуации по данной патологии, а также оценить эффективность профилактических мер, направленных на предотвращение заболеваний, связанных с ПВИ.
- 2) Установить особенности локального гомеостаза цервикальной зоны (микробиом, иммунный, гормональный, цитохимический статус) при латентных и субклинических формах ПВИ.
- 3) Идентифицировать и стратифицировать ведущие патогенетические факторы развития ВПЧ-индуцированных поражений шейки матки с разработкой диагностических коэффициентов (ДК) риска прогрессирования данной патологии.

- 4) Определить значимость вакцинации против ВПЧ у пациенток с латентным и субклиническим течением ПВИ, как метода вторичной профилактики цервикальных неоплазий.
- 5) Создать и валидировать инновационный алгоритм ведения пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ.

Научная новизна исследования

1. В рамках территории Краснодарского края, выступающего в качестве модельного региона, было инициировано исследование, направленное на изучение состояния динамики распространенности инфицирования ПВИ и обусловленных им заболеваний за последние 5 лет, а также разработка прогноза, дальнейшей эпидемиологической ситуации в отношении данной патологии.
2. При латентных и субклинических формах ПВИ обнаружен специфический дисбаланс локального гомеостаза цервикальной зоны. Доказано, что развитие неопластических процессов связано с изменениями в микробиоме, провоцирующими каскад патологических событий, где основными факторами являются гиперпродукция TGF β , рост экспрессии p53mut, bcl-2 и c-erbB-2, а также накопление 16 α -гидроксиэстронов с дефицитом рецепторов эстрогенов.
3. Идентифицированы и систематизированы ключевые факторы, предрасполагающие к развитию неоплазии у инфицированных ВПЧ женщин, что позволило разработать диагностические коэффициенты (ДК) для прогнозирования риска их развития.
4. Доказано, что продукция TGF β является одним из наиболее значимых факторов развития неопластических процессов в шейке матки, в связи с чем анализ концентрации TGF β в цервикальном секрете может использоваться в качестве критерия возможности прогрессирования ВПЧ-поражения.
5. Вакцина против ВПЧ продемонстрировала значительную профилактическую эффективность в отношении снижения риска развития цервикальной неоплазии

при латентных и субклинических формах ПВИ — коэффициент снижения риска составил 1,8.

Научно-практическая значимость работы

1. Создана интегрированная система, включающая наиболее значимые прогностические маркеры (анамнестические, клинические, микробиологические, иммуногистохимические), которые при комплексном анализе позволяют оценить вероятность развития неоплазии.
2. Разработана интегративная концепция, раскрывающая ключевую роль комплекса взаимосвязанных нарушений в патогенезе ВПЧ-инфекции, что позволило разработать персонализированные стратегии ведения таких пациенток.
3. Инновационный подход к ведению пациенток с латентной и субклинической формами ПВИ, реализованный в разработанном алгоритме, обеспечивает многогранное терапевтическое воздействие. В отличие от традиционных методов, он не только направлен на профилактику неопластических процессов в шейке матки, но и способствует восстановлению иммуногистохимического и оксидативного равновесия в данной анатомической зоне, что свидетельствует о более глубоком и комплексном воздействии.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Эпидемиологическое исследование, проведенное в Краснодарском крае (2019-2023 гг.), выявило отрицательную динамику распространения ВПЧ — рост носительства вируса на 60% (коэффициент увеличения 1,7 — с 28935 до 48241 на 100 тысяч женского населения), пятикратное увеличение распространенности субклинических форм папилломавирусной инфекции (с 2215 до 11239 на 100 тысяч женского населения). Математический прогноз «прямолинейной тенденции динамики заболеваемости» прогнозирует дальнейший рост числа случаев заболеваний, связанных с ВПЧ (цервикальная интраэпителиальная неоплазия — CIN) среди женского населения региона: в 2026 г в среднем на $8,1 \pm 1,4\%$ по сравнению с 2024 годом.

2. Прогрессирование неопластических процессов, связанных с ВПЧ, обусловлено сложными альтерациями гомеостаза — девиация цитокинового профиля с иммуносупрессивным воздействием TGF- β , угнетением макрофагального звена с Th2-поляризацией и нивелированием антипролиферативных эффектов TNF- α и IL-1 β . Данные изменения сочетаются с высоким индексом массы тела (≥ 30) (+6 бит ДК), гиперэкспрессией онкогенов p53mut и bcl-2 (+16 бит) и маркеров пролиферации c-erb-B2 и PCNA (+12 бит).
3. Разработанная система интегральной оценки, опирающаяся на расчет ДК, предоставляет возможность количественно стратифицировать риск прогрессирования персистирующих форм папилломавирусной инфекции в цервикальную неоплазию. Клиническая ценность такого подхода подтверждается наличием риска прогрессии выше 95% у 67,5 \pm 16,55% пациенток, что указывает на потребность в интенсивных профилактических стратегиях.
4. Предложенная программа ведения пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции: проведение цервикального/цитологического скрининга, стратификация пациенток по степени риска развития неоплазий, а также назначение персонализированной терапии с использованием ВПЧ-вакцины, демонстрирующей превентивный эффект, способствует существенному снижению вероятности развития CIN.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Патогенетические особенности папилломавирусной инфекции

Папилломавирусы обладают ткане- и типоспецифичностью, при этом на сегодняшний момент, ответственными за поражение аногенитальной области считаются 34 типа ВПЧ из всех идентифицированных за 98% случаев рака вульвы, влагалища и шейки матки, который является долгосрочным исходом инфекции с типом ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР) выявляются всего 13 типов (данные International Agency for Research on Cancer (IARC), 2017) [27, 29, 36, 63, 90]. Естественная история рака нижнего отдела гениталий включает в себя четыре стадии: ВПЧ-инфекция зоны трансформации, персистенция ВПЧ-инфекции, клональная экспансия инфицированных ВПЧ клеток до полноценной интраэпителиальной неоплазии (CIN III) или аденокарциномы *in situ* и их прогрессирование до инвазивного рака [1, 6, 19, 37, 45, 82, 124]. Незначительные клеточные аномалии, такие как атипичные плоскоклеточные клетки неопределенного значения (ASCUS), плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени (LSIL) или атипичные железистые клетки неопределенного значения (AGUS), по цитологии или легкая степень CIN (CIN I) по гистологии, могут наблюдаться в течение нескольких месяцев после транзиторных инфекций ВПЧ. При клиренсе инфекции (в подавляющем большинстве >80%) легкие степени поражения исчезают самостоятельно [5, 18, 34, 88]. CIN III, поражение высокой степени (HSIL) и AIS считаются истинными предраковыми заболеваниями, и 40-50% нелеченных поражений могут прогрессировать до рака в течение 5-30-летнего периода [4, 6, 12, 26, 64, 75, 101]. Продолжительность между ВПЧ-инфицированием и развитием в HSIL короче, чем время между CIN III и инвазивным раком. Хотя улучшение социально-экономического статуса, гигиены, санация урогенитального тракта и способствуют снижению риска развития рака вульвы и шейки матки, ВПЧ-вакцинация до начала полового созревания является наиболее эффективной и действенной стратегией первичной профилактики [7, 14, 22, 39, 61].

Эпидемиология папилломавирусной инфекции

Наиболее распространенным путем организованного передачи ВПЧ является честный непосредственный контакт кожи и слизистых оболочек, что для генитальной ВПЧ-инфекции равносильно половому пути передачи с разнообразием очагов и ассоциацией нескольких типов ВПЧ с другими экзамен возбудителями ИППП [23, 38, 41, 60, 88]. При этом в настоящее время вирусами этого семейства инфицировано не частное менее 50% населения репродуктивного возраста, что связано с их контагиозностью и инфицированностью уже при половом дебюте (60% случаев), также очень часто генитальная ВПЧ-инфекция у них протекает асимптомно или субклинически [1, 9, 11, 14, 18, 26, 43, 56, 84]. У женщин ВПЧ-инфекция вызывает наиболее серьезные поражения: ежегодно регистрируется 600000 случаев РШМ, и 45–50% — умирают (данные ВОЗ) [12, 24, 47, 69]. Значимыми факторами риска инфицирования, а также прогрессирования инфекции, вызванной ВПЧ, являются: ранний половой дебют, промискуитет, наличие других урогенитальных (в том числе условно-патогенных) инфекций, курение, недостаточность клеточного иммунитета и отягощенная наследственность [3, 50, 61]. При этом высокая частота латентных и субклинических форм ВПЧ затрудняет оценку факторов риска [36, 41, 79].

Распространенность ВПЧ-ассоциированной патологии гениталий составляет 26/100000 взрослого населения (Минздрав России, 2020). Оценка распространенности ВПЧ в различных регионах РФ весьма разнородна: в Москве и области исследование (1998-2003 гг., 8533 женщины) обнаружило ВПЧ-инфекцию у 14% населения [57], в Краснодарском крае — у 17–24% [11, 24]. Латентные и субклинические формы ВПЧ-инфекции в США детектированы у 20 миллионов (15% населения), при этом 75% имеют ВПЧ ВКР [21, 61, 65, 68, 74, 92]. Пиковая частота заражения ВПЧ приходится на подростковый и ранний взрослый возраст, при этом пожизненная вероятность заражения составляет примерно 80-90% [16, 28, 36, 81]. Частота возникновения ВПЧ-инфекций неуклонно снижается с возрастом — ВПЧ-инфекция сохраняется у 5-15% инфицированных женщин, в то время как 85-90% инфекций становятся

неопределяемыми в течение двух лет [17, 25, 48, 63]. Люди с персистирующей инфекцией ВПЧ подвергаются высокому риску развития рака нижнего отдела гениталий, а ВПЧ 16 и 18 вызывают 70-75% случаев рака вульвы и шейки матки во всем мире [2, 7, 34, 81]. Регрессия LSIL происходит у 90% женщин до 25 лет (элиминация занимает в среднем за 1,5–2 года), а среди женщин более старшего возраста — у 50–70% [7, 22, 24, 39, 69, 74]. Приведенные данные предполагают, что выявлена обратная корреляция между частотой проявления ВПЧ-инфекции и возрастом — это связывается с формированием специфического иммунитета к данному типу вирусов, который развивается в течение жизни [11, 26, 42, 69].

Механизмы инфицирования, патогенность и факторы онкогенности папилломавирусной инфекции

Эпителiotропный вирус папилломы человека поражает базальные клетки цервикальной «зоны трансформации», а в связи с уникальной способностью высококанцерогенных вирусов изменять пораженные клетки, используя информацию, закодированную в нескольких трансформирующих генах и происходит начало их малигнизации [8, 13, 27, 44, 83, 121].

Первоначальное присоединение фрагментов к L1 облегчает конформационные изменения [74, 96]. Впоследствии белок L2 расщепляется фурином на поверхности клетки в месте консенсусного расщепления, которое сохраняется среди всех папилломавирусов [91, 106].

После того как ВПЧ проникает в ядро клетки, он начинает активно размножаться, образуя небольшое количество копий — от 10 до 200 на одну клетку — этот процесс происходит в процессе начальной амплификации и установления инфекции [26, 82, 93]. Затем, пока клетки, содержащие геномы ВПЧ, продолжают делиться, вирус начинает адаптироваться к новым условиям — он изменяет режим репликации своего генома, чтобы поддерживать свою продуктивную амплификацию.

Течение ВПЧ-инфекции имеет три стадии — латентную, субклиническую и клиническую [3, 26, 34, 58, 81]: латентная — вирус поражает базальный слой эпителия

и не детектируется кольпоскопически и цитоморфологически [18, 63]. Последующая активизация инфекции (субклиническая и клиническая стадии) до конца не совсем понятна — ВПЧ не способны к размножению в культуре клеток, что затрудняет процесс их изучения [16, 33, 79]; период клинических проявлений — реализация запрограммированного взаимодействия онкогенов ранней фазы — E6 и E7 (продуктивная фаза). При прогрессировании ВПЧ-опосредованного поражения базальные клетки в цервикальном эпителии подвергаются диспластическим изменениям, при этом персистирующий вирус интегрируется в геном хозяина, что способствует малигнизации эпителиальных клеток [3, 17, 22, 45, 81, 118]. E6 и E7 способствуют развитию рака нижнего отдела гениталий, нарушая клеточные контрольные точки и сотрудничая с факторами хозяина, включая супрессоры и промоторы опухолей [10, 26, 44, 78]. При этом E6 и E7 способствуют злокачественному перерождению клеток, вызывая разрушение белка p53 и инактивацию опухолевых супрессоров, таких как белок ретинобластомы (pRb), когда ДНК вируса встраивается в клетки организма, происходит значительная потеря генома ВПЧ, включая область, которая кодирует белок E5 [5, 12, 14, 27, 31, 95]. Таким образом, необходимыми условиями для формирования диспластических процессов в эпителии аногенитальной области являются подготовительный [31, 47, 72, 95]: экспрессия генов ранних белков E6 и E7 ВПЧ; индукция процессов конверсии эстрадиола в 16-гидроксистерон; повреждение ДНК в ВПЧ-инфицированном эпителиоците, завершающем процесс трансформации.

Морфологические особенности ВПЧ-ассоциированной патологии у женщин

Шейка матки представляет собой структуру, состоящую из стромы и эпителия. Эктоцервикс, который проецируется во влагалище, выстлан плоским эпителием, эндоцервикс — цилиндрическим эпителием. Характерные клетки при ПВИ — это койлоциты, которые представляют собой клетки многослойного плоского эпителия промежуточного типа, образующиеся в результате цитопатического эффекта ВПЧ и патогномичные для плоскоклеточного поражения. Койлоциты представляют собой

плоские эпителиальные клетки с периноядерной кавитацией и особенностями, включающими увеличение ядра, грубый хроматин, ободок конденсированной цитоплазмы часто окружает периноядерную кавитацию, придавая клетке «галло» или очищенный вид вокруг диспластического ядра [17, 29, 33, 61, 87]. Койлоцитоз описывает кульминацию специфических клеточных событий, вызванных ВПЧ-инфицированием [3, 16, 36, 59, 77].

Субклинические проявления ПВИ характеризуются изменениями в структуре плоского эпителия, которые при гистологическом исследовании могут проявляться в виде различных организованных плоских и инвертирующих форм. Клинически, эти изменения часто объединяются под термином «плоская кондилома» и выявляются преимущественно при проведении кольпоскопии или гистологического анализа [14, 36, 51, 87]. Чаще всего плоские кондиломы располагаются в «зоне трансформации». Несмотря на дискуссионные аспекты диагностики субклинических форм папилломавирусной инфекции выделяют две их разновидности: эндофитные кондиломы, гистологически разделяющиеся на плоские и инвертированные и кондиломатозный вагинит/цервицит, кольпоскопически визуализирующийся, как крапчатость слизистой с мелкими шипообразными возвышениями над поверхностью и не имеющий, отличие от плоских кондилом, четких контуров [2, 26, 74].

Иммунитет при папилломавирусной инфекции

Существует особый интерес к папилломавирусам с высоким канцерогенным риском. Гуморальные иммунные реакции с низким титром на вирусные капсиды, индуцированные естественной инфекцией ВПЧ, не являются ни особенно сильными, ни длительными, плохо коррелируют с обнаружением ДНК ВПЧ, и их роль в предотвращении дальнейшей инфекции неопределенна, особенно потому, что антитела могут не потребоваться для обеспечения защиты от повторной инфекции [11, 26, 74].

Наиболее иммуногенным компонентом патогенных папилломавирусов является основной капсидный белок L1, собранный в виде 72 пентамеров в вирион. Связывание

антитела с вирусным капсидом может быть измерено с помощью ИФА с использованием вирусоподобных частиц в качестве субстрата или путем ингибирования связывания меченого моноклонального антитела, специфичного для детерминанта капсида [38, 69, 82]. Заражение ПВИ вызывает гуморальный иммунный ответ на капсид вируса, который распознает преимущественно конформационные детерминанты, проявляющиеся только тогда, когда белок L1 правильно настроен в пентамеры, как у нативного вируса [41, 82, 97]. Адаптивный иммунный ответ на ВПЧ проявляется медленнее, чем на большинство патогенных вирусных инфекций, титры антител после естественной инфекции низки, и анализы трудно стандартизировать [44, 56, 70, 91]. Для генитальных ВПЧ 6, 11, 16 и 18 среднее время до сероконверсии превышает 6 месяцев, и 30-50% лиц с признаками персистирующей генитальной инфекции ВПЧ, по-видимому, никогда не приобретают антитела [41, 54, 100]. Там, где инфекции носят персистирующий характер, антитела также, по-видимому, сохраняются, и пациенты с раком, возникающим в результате генитальных инфекций ВПЧ высокого риска, могут иметь измеримые титры антител к вирусному капсиду через много лет после инфекции, которая его вызвала, серопозитивность для этого типа рака обычно остается на уровне от 30-50% [61]. Таким образом, капсид-специфические иммунные реакции имеют ограниченную диагностическую полезность и, по-видимому, не связаны с процессом вирусного клиренса.

Поражения шейки матки в виде CIN II-III имеют существенные Т-клеточные инфильтраты независимо от того, является ли регресс заболевания вероятным или нет, поскольку они в равной степени присутствуют у ВИЧ+ и ВИЧ- индивидумов [79, 83, 122]. Подобные инфильтраты обнаруживаются при раке шейки матки, и отношение CD4 к CD8 Т-клеткам, по-видимому, падает по мере прогрессирования поражений, связанных с ВПЧ, в направлении рака [82, 105]. Индуцированный иммунитет к белкам ВПЧ и его влияние на ВПЧ-ассоциированные заболевания зависит от антителообразования и клеточноопосредованных защитных реакций, индуцирующих врожденный и адаптивный иммунитет. Иммуноглобулины представляют собой

растворимые белки, демонстрирующие высокое сродство связывания со специфическим антигенным детерминантом, продуцируемым плазматическими клетками в тканях и лимфатических узлах [29, 71, 84, 90]. Демонстрация того, что основной капсидный белок L1 ВПЧ может самособирается в вирусоподобные частицы и что они могут вызывать защитные нейтрализующие антитела хозяина, позволили разработать вакцины, предназначенные для предотвращения заболеваний, связанных с ВПЧ [36, 84].

Предполагается, что папилломавирус, возможно, разработал методы уклонения от иммунных механизмов хозяина. Основным механизмом вирусного иммунного уклонения при ВПЧ-инфекции, вероятно, является избегание презентации антигена — отсутствие лизиса клеток и системная вирусемия минимизирует доступность антигена для презентации, а также гарантирует, что в ходе инфекции подается мало провоспалительных сигналов для вызова адаптивных иммунных реакций. Экспрессия белков капсида ограничена поверхностными эпителиальными клетками, что является следствием использования кодона, оптимизированного для экспрессии в дифференцированных клетках и это, вероятно, изменит представление капсидных белков иммунной системе [96]. Неструктурные белки E7 и E6 ВПЧ 16 типа обладают плеiotропной активностью к инфицированным эпителиальным клеткам и задерживают дифференцировку клеток. Белки ВПЧ также, по-видимому, кодируют специфические функции для ингибирования иммунных реакций, хотя следует учитывать, что некоторая потеря функции инфицированных ВПЧ кератиноцитов может отражать влияние белков ВПЧ на эпителиальную дифференцировку. Некоторые специфические противовоспалительные и иммунные ингибирующие механизмы индуцируются неструктурными белками ВПЧ, включая притупление ответа на сигнальные механизмы $IFN\alpha$ и $IFN\gamma$, и экспрессии IRF-1, ключевого промежуточного фактора контроля транскрипции для эффекторных функций, индуцированных IFN [71, 83, 87]. Такое ингибирование, как ожидается, приведет к снижению специфических противовирусных защитных механизмов, а также

эффективного представления антигена иммунной системе хозяина [84, 99]. Существует зависимое от E6 и E7 снижение секреции КС МIP3 α , ухудшающее миграцию клеток Лангерганса, IL-8, мощного хемоаттрактанта и экспрессии TLR9, ключевой провоспалительной сигнальной молекулы [69, 73, 91]. Белок E5 усиливает экспрессию ганглиозидов на эпителиальных клетках шейки матки, что, как можно ожидать, ингибирует функцию цитотоксических Т-клеток локально, и снижает экспрессию МНС I, что может ухудшить презентацию антигена [93]. Не существует известных ингибирующих эффектов вирусных структурных белков L1 или L2 или неструктурных белков E1 и E4 на иммунные реакции, вызванные инфекцией ВПЧ [88, 93]. Таким образом, папилломавирусы живут в равновесии со своими хозяевами посредством сочетания уклонения от иммунитета и запрограммированного подавления иммунитета.

1.2. Клиника папилломавирусной инфекции у женщин

Спектр клинических проявлений ПВИ разнообразен, а инкубационный период достоверно определить достаточно сложно. При этом наличие форм персистенции вируса с его бессимптомным носительством (латентная инфекция), а также сложностями в диагностике субклинических форм ПВИ, длительность его в среднем составляет 1-12 месяцев [12, 24, 46, 81]. Вариабельность клинических и субклинических проявлений ПВИ определяется их способностью к спонтанному регрессу/рецидивированию, что выражено изменяет как визуальную и кольпоскопическую картину этой патологии, так и ее морфологические признаки.

1.3. Цервикальный скрининг

Одним из дискуссионных вопросов являются методы вторичной профилактики рака нижнего отдела гениталий у женщин, а именно объем необходимого скрининга. Принятыми в современной практике методами скрининга являются вирусологическое, кольпоскопическое, цитоморфологическое исследования [4, 16, 54, 86].

Кольпоскопическая диагностика

Кольпоскопия — наиболее распространенный метод диагностики заболеваний влагалища и шейки матки в странах с низким экономическим уровнем развития. В большинстве стран эта диагностическая процедура выполняется для оценки аномальных результатов цитологии с помощью скрининговой Pap-пробы (аномальный мазок с окраской по Папаниколау) [61, 78]. Обычно применяется расширенная кольпоскопия — визуальный осмотр уксусной кислотой и проба Шиллера [6, 18, 29, 83]. Существенные сложности данного диагностического метода вызывает идентификация субклинических форм папилломавирусной инфекции, что связано со стертостью кольпоскопической картины, а также с отсутствием специфического комплекса признаков [13, 26, 34, 61, 78]. Визуализация внутриэпителиальных кондилом данным методом возможна только при сочетании плоских кондилом с экзофитными. При этом наиболее специфичными признаками являются: ацетобелый эпителий (прогностическая ценность — 91,7%), пунктация и мозаика (77,8%), атипичная зона трансформации (77,4%) [5, 17, 60].

Считается, что стандартизация кольпоскопических признаков в настоящее время недостаточна — кольпоскопия имеет значительную вариабельность и низкую надежность, особенно между клиницистами. ASCCP (Американское общество кольпоскопии и патологии шейки матки) опубликовало стандарты кольпоскопии в 2017 году для решения этих и других проблем. Новая терминология кольпоскопии ASCCP включает следующие принципы: 1) общая оценка, 2) оценка наличия любых поражений ацетовитами, 3) описание нормальных кольпоскопических результатов, 4) описание аномальных кольпоскопических результатов, 5) описание других/различных результатов и 6) сообщение о кольпоскопическом впечатлении, определяемом как впечатление самой высокой степени любого видимого поражения на шейке матки [71]. Комплексное кольпоскопическое исследование должно включать описание видимости шейки матки, видимости сквамоколоночного соединения, наличия ацетоухитенинга, наличия и визуализации поражения,

цвета/контуров/границ/сосудистых изменений поражений, местоположения и размера (размеров) поражения, других особенностей и кольпоскопического оттиска. При этом, несмотря на вышеперечисленные принципы, чувствительность кольпоскопической диагностики составляет 50–70%, при комплексном экватор применении с ВПЧ-тестированием и Pap-тестом достигает 90% [8, 24, 73]. Считается, что признаки ВПЧ-трансформации могут визуализироваться не только в зоне трансформации, но и в нормальном плоском эпителии вне ее зоны, что не наблюдается при цервикальных неоплазиях [26, 60]. Также измененные под воздействием ВПЧ, участки могут иметь нехарактерную микропапиллярную структуру, при этом сосудистая сеть при плоских и инвертирующих формах может быть подозрительной в плане малигнизации.

Цитологический скрининг

Основными рекомендациями по скринингу рака вульвы, влагалища и шейки матки является скрининг на основе цитологии, который рекомендуется проводить на общепопуляционной основе. Цитология обычно проводится специалистом-цитологом с помощью традиционного цитологического мазка или жидких подготовительных слайдов (жидкостная цитология), так что результаты диагностики в значительной степени зависят от опыта цитолога, что заметно снижает точность скрининга и приводит к относительно высоким процентам ложноположительных и ложноотрицательных результатов [12, 68]. Кроме уровня подготовки специалиста, информативность этого метода диагностики зависит от полноценности взятия мазка и правильно выбранной локализации, что ограничивает чувствительность и специфичность 60–80% [21, 39, 52, 68, 91]. Но при этом, несмотря на возможность появления ложноотрицательных результатов, цитологический анализ вагинальных и цервикальных мазков — единственный, позволяющий диагностировать как клиническую, так и субклиническую формы ПВИ [13, 28, 56, 81]. Также следует подчеркнуть, что цитология является первичный скрининговой программой в диагностике SIL. Искусственный интеллект (ИИ), как одно из решений проблемы, помогает разработать автоматизированные системы диагностики при скрининге

неоплазий и рака шейки матки, и помочь цитологам сосредоточиться на основных задачах. Извлекая выгоду из разработки алгоритмов ИИ и методов цифрового сканирования, большинство существующих методов используют изображение всего слайда, которое заранее сканируется в цифровой формат. Тем не менее, патологоанатомы все еще должны экранировать большое количество слайдов под микроскопом в своем повседневном рабочем процессе.

Молекулярно-биологические методы диагностики папилломавирусной инфекции

Распространение методов ВПЧ-диагностики, направленное на обнаружение частиц их ДНК в материале, обязано своей высокой специфичности. В течение последних двух десятилетий в ряде стран тестирование на ВПЧ стало неотъемлемой частью клинических рекомендаций, касающихся скрининга, сортировки и последующего наблюдения после лечения рака шейки матки [25, 53, 81].

Низкая аналитическая чувствительность, присущая большинству современных тестов на ВПЧ, создает ряд проблем в клинической практике. Использование таких тестов в соответствии с общепринятыми клиническими критериями может приводить к большому количеству клинически нерелевантных положительных результатов — это влечет за собой увеличение числа необоснованных кольпоскопий и биопсий, ослабление связи между результатами тестирования и гистологическим подтверждением заболевания, избыточное и ненужное лечение здоровых женщин, а также, как следствие, снижение доверия врачей к результатам тестирования [11, 24, 35, 74]. Важным аспектом тестирования на ВПЧ для идентификации женщин с повышенным риском развития рака шейки матки является также необходимость поддержания баланса и искусственного ограничения разнообразия используемых видов тестирования. В процессе разработки тестов для ВПЧ-детекции в соответствии с существующими клиническими рекомендациями, необходимо находить оптимальный баланс между чувствительностью и специфичностью. Целесообразность включения в тесты типов ВПЧ, которые редко связаны с развитием

РШМ, требует особенно тщательного рассмотрения. В частности, следует проявлять осторожность при скрининге на типы ВПЧ 53 и 66, которые часто обнаруживаются при LSIL (CIN I) или при латентной инфекции, поскольку их включение может существенно снизить клиническую специфичность тестов [114]. Независимо от аналитической чувствительности ВПЧ-теста, абсолютная уверенность в отсутствии РШМ после отрицательного результата не может быть достигнута из-за ряда факторов, находящихся вне контроля теста, таких как ошибки оператора или неправильный забор образцов — это подчеркивает необходимость комплексного подхода к скринингу, с тестированием только на образцах, обработанных и проанализированных в квалифицированных лабораториях по актуальным международным стандартам [54, 68, 105].

Иммуногистохимическая (ИГХ) диагностика папилломавирусной инфекции

На сегодняшний момент отсутствуют тесты серологической ВПЧ-диагностики, полностью удовлетворяющие требованиям клиницистов. При этом наиболее перспективным методом ИГХ ВПЧ-диагностики считается детекция наличия онкопротеинов ранней фазы — E6 и E7 [10, 34, 81]. Белки E6 и E7 ВПЧ вмешиваются в механизмы контроля клеточного цикла, инактивируя белки-супрессоры опухолей, а именно белок p53 и, следовательно, являются основными факторами клеточной злокачественной трансформации, связанной с ВПЧ. Экспрессия онкопротеинов заметно повышается во время трансформации и прогрессирования в сторону более высокой степени дисплазии [52, 67]. Таким образом, онкопротеины E6 и E7 являются весьма перспективными в качестве маркеров для персистирующих, в отличие от транзиторных, ВПЧ-инфекций. Однако большинство попыток установить диагностические критерии, основанные на определении клиренса антител к этим онкобелкам, были неудачными, в основном из-за их низкой иммуногенности [72, 98].

В последние годы все больше говорится о комплексном подходе экономически целесообразном подходе к диагностике «перспективных» по малигнизации ВПЧ-поражений. Точной и довольно экономически эффективной стратегией скрининга и

сортировки является стратегия, включающая генотипирование и цитологию ВПЧ 16/18 положительных женщин с последующей их «сортировкой» на основе метода детекции онкопротеина E7. Поскольку позитивность ВПЧ 16/18, хотя и определяет популяцию пациенток наиболее уязвимых по заболеваемости CIN III и CIS (>25% в течение 3-летнего периода) все еще не представляется возможным дифференцировать транзиторные и персистирующие формы инфекции [23, 84, 90, 102]. В некоторых зарубежных публикациях показано, сортировка E7+ женщин привела к снижению направления на кольпоскопию на 43-52% [88, 103]. Поэтому мы считаем, что дальнейшая дифференцировка E7+ пациенток, отражающая последующую стадию ВПЧ-инфекции, как последующей стадии в канцерогенезе эпителиальных клеток нижнего отдела гениталий является перспективной. Этот анализ может быть включен в алгоритм первичного скрининга ВПЧ, преобразующий алгоритм в полностью молекулярный процесс и сортировки с высокими характеристиками пропускной способности, исключая цитологию, которая является субъективным методом, требующим дорогостоящей инфраструктуры и специализации, не широко доступной, особенно в условиях ограниченных ресурсов. Тем не менее, процесс, основанный на ИФА, является простым в выполнении высокопроизводительным процессом, требующим только базового лабораторного оборудования и очень быстрой кривой обучения. Есть, конечно, и другие молекулярные тесты, которые могут служить кандидатами для сортировки ВПЧ-положительных женщин. Тест OncoE6™, который обнаруживает онкопротеин E6 ВПЧ 16 и 18 с использованием иммунохроматографии, недавно был использован в исследовании более семи тысяч женщин, демонстрируя характеристики, подходящие для диагностического теста [95]. Однако этот тест не может заменить цитологию для сортировки женщин с другими типами ВПЧ (не 16/18).

Таким образом, оценка эффективности теста, идентифицирующего данный биомаркер (E7), который отражает наиболее важный этап в канцерогенезе, является

интересным и поможет лучше понять патогенез ВПЧ-индуцированных процессов в эпителии нижнего отдела гениталий.

Другим перспективным методом дифференцировки ВПЧ-положительных пациенток, является цитология двойного пятна p16/Ki-67, которая представляет собой основанный на цитологии независимый метод для стратификации риска CIN III. Этот метод, требующий ограниченной подготовки, обладает высокой воспроизводимостью [57, 79]. Ограничением данных исследований является тот факт, что женщины с отрицательным результатом как на ВПЧ, так и на цитологию могут не направляться на кольпоскопию, что может привести к пропуску части случаев CIN, не диагностированных этими тестами.

В связи с вышперечисленным и учитывая, что различные методы обладают широко отличаются по своей чувствительности, специфичности и прогностической ценности, перспективным в настоящее время считается комплексный диагностический анализ пациенток с ВПЧ-инфекцией, что нивелирует возможность диагностических ошибок. При этом, до сих пор квалификация специалиста остается решающими в точности и эффективности различных методов ВПЧ-диагностики.

1.4. Методы терапии папилломавирусной инфекции у женщин

Сейчас не существует лекарственных средств, которые были бы специально разработаны для воздействия на ВПЧ. Более того, до сих пор не существует данных, которые позволили бы оценить эффективность различных методов консервативного лечения, поскольку отсутствует чёткое понимание частоты рецидивов папилломавирусной инфекции. Кроме того, у пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ и даже при начальных проявлениях цервикальной интраэпителиальной неоплазии достаточно высока вероятность самопроизвольной регрессии, что во многих случаях определяет целесообразность наблюдательной тактики [4, 11, 25, 44, 69, 81]. Однако, учитывая достаточное количество продуктивных моментов в персистенции ВПЧ с высоким риском развития онкологических процессов в шейке матки, многие клиницисты предпочитают вести

более агрессивную тактику менеджмента ВПЧ-инфекции, особенно при детекции ВПЧ ВКР, что предрасполагает к поиску новых методов терапии (в том числе профилактической) инфекции, вызванной вирусами папилломы человека.

Разнообразие методов терапии инфицированных ВПЧ женщин определяется типом вируса (в зависимости от степени онкогенности), локализацией и стадией процесса и делится на консервативные и хирургические. Наиболее распространенными в настоящее время являются следующие: 1) деструкция экзофитных образований и атипически измененного эпителия; 2) фотодинамическая терапия; 3) цитотоксические и «противовирусные» препараты — отсутствие существенной эффективности в терапии ВПЧ-поражений; 4) иммунокорректирующие препараты — непредсказуемая и неспецифическая активность; 6) неспецифические средства (витамины, ретиноиды и др.); 7) таргетная иммунотерапия.

1.5. Таргетная иммунотерапия папилломавирусной инфекции

Таргетная иммунотерапия цервикальной интраэпителиальной неоплазии была разработана в качестве альтернативы конизации, чтобы сохранить будущие репродуктивные результаты и избежать персистенции вируса папилломы человека и на сегодняшний день является, по нашему мнению, наиболее перспективной в плане вторичной профилактики рака нижнего отдела гениталий у женщин. Таргетная иммунотерапия включает вакцины на основе пептидов, вакцины на основе нуклеиновых кислот (ДНК) и живые векторные вакцины (бактериальные или вирусные). В настоящее время известно 18 вакцин для лечения CIN на различных стадиях разработки. Эффективность вакцин, определяемых регрессией CIN II-III, варьировалась от 17 до 59% после как минимум 12-недельного наблюдения [69, 74, 77, 104]. В большинстве исследований не было продемонстрировано никакой связи между гистологическим ответом и клиренсом ВПЧ или между гистологическим или вирусологическим ответом и ответом иммунных Т-клеток. В то же время до сих пор нет доказанных данных, что эффективность таргетной иммунотерапии достигала

более 50% [74, 99]. Тем не менее, исследования и разработки в этой области продолжаются, что весьма обнадеживает.

В иммунных стратегиях, опосредованных применением таргетных вакцин можно выделить две разные стадии ВПЧ-инфекции, которые и являются их точками приложения, это начальные (латентные и субклинические формы ПВИ) и установленное ВПЧ-поражение (CIN). Чтобы предотвратить первоначальное заражение, профилактические вакцины индуцируют нейтрализующие реакции антител против позднего белка L1, ингибирующего ВПЧ от связывания. Таргетная иммунотерапия направлена на устранение или уменьшение инфицированных клеток путем прайминга цитотоксических Т-клеток против них и повышение регуляции экспрессии белков основного класса гистосовместимости (МНС) I. Конструкция этих вакцин основана на наличии эпизодического пула репликация вируса или интегрированных вирусных последовательностей. Иммунотерапия в основном нацелена на онкобелки ранней фазы — E6 и E7, которые с момента инфицирования базальных эпителиальных клеток экспрессируют L1 и/или капсидные антигены L2 [21, 69, 82, 100]. Кроме того, поскольку ВПЧ 16/18 отвечает за половину всех инвазивных видов рака в мире большинство клинических исследований сконцентрирован именно на этих онкобелках. Технологии для создания терапевтических вакцин против ВПЧ включают пептидные/белковые, нуклеиновые на основе кислот вакцины (только ДНК, на основе рибонуклеиновой кислоты (РНК) вакцины для CIN недоступны), живые векторные (бактериальные или вирусные) и цельноклеточные вакцины, полученные из дендритные клетки или даже опухолевые клетки (хотя и недоступны для CIN) [61, 73, 84, 90].

Вакцины на основе пептидов

Пептиды, полученные из антигенов ВПЧ, могут быть вводятся непосредственно для вакцинации. Дендритные клетки поглощают антигенные белки ВПЧ, которые представляются человеку молекулы лейкоцитарного антигена (HLA) вместе с МНС класса I и/или II для стимуляции иммунного ответа против патогенов. Полиморфный

характер молекул HLA обуславливает необходимость идентификации специфических иммуногенных эпитопных антигенов ВПЧ до разработки вакцины. Адьюванты, такие как хемокины, цитокины и костимуляторные молекулы должны быть использованы для улучшения вакцинная эффективность [88, 96]. Фаза I/II клинических испытаний на людях показала, что пептидные вакцины безопасны и хорошо переносятся пациентами с прогрессирующей рак шейки матки. Обнаружение Т-хелперных реакций и непостоянно специфичные для ВПЧ цитотоксические Т-лимфоцитарные реакции, и наблюдалась продукция цитокинов [96]. Тем не менее, не было зарегистрировано никакого ответа с точки зрения контроля опухоли. В исследовании фазы I 18 женщин с CIN II-III связанной с ВПЧ 16 были вакцинированы пептидами ВПЧ 16 E7, разработанными с использованием аминокислот 12–20+/-86–93, кодируемых геном E7 (Peninsula Labs Inc, California). Проводилось четырехкратное подкожное введение вакцины с трехнедельными интервалами при возрастающих дозах (от 100 до 2000 мкг/дозу) — конизация проводилась через 12 недель. Полный клиническая и гистологическая регрессия (без CIN) наблюдалась в 3-х пациенток (17%), тогда как ответ был частичным у 6 (33%), ДНК ВПЧ 16 выделено у 12 пациенток (67%). Однако сигнал РНК ВПЧ 16 оставался положительным во всех образцах тканей.

Вакцина на основе пептидов, разработанная Лейденской компанией (University Medical Center, Netherlands) и примененная пациенткам с вульварной внутриэпителиальной неоплазией отличалась хорошей эффективностью и комплаентностью. Эта вакцина содержит 9 ВПЧ 16 E6 и 4 синтетических пептида ВПЧ 16 E7 из 25-35 аминокислот (Montanide ISA-51, Seppic). В рандомизированном исследовании 9 пациенток с CIN III на фоне ВПЧ 16 типа, вакцину вводили дважды подкожно с интервалом в 3 недели (300 мкг) [84]. Конизация проводилась на 7 неделе. У всех пациенток наблюдался ВПЧ-специфический IFN γ -ассоциированный Т-клеточный ответ, зарегистрированный системой ELISPOT. Тем не менее, не было обнаружено клиренса ВПЧ после конизации и оценка гистологического воздействия

вакцины не проводилась. Те же исследователи провели рандомизированное исследование, включающее 51 пациентку с LSIL, связанная по меньшей мере с одним ВПЧ ВКР (33% ВПЧ 16) с последующим наблюдением в течение 24 месяцев [85]. Дизайн был сложным с двойной рандомизацией (вакцина/плацебо) при включении и через 12 месяцев: ВПЧ-специфические ответы Т-клеток были детектированы через один год после вакцинации, а реактивность поддерживалась не менее двух лет. Среди 37 привитых пациентов показатели цитологической регрессии, персистенция и прогрессирование составили 51, 43 и 3% соответственно на один год. ВПЧ 16 не детектировался у 3/8 у вакцинированных пациенток и у 1/2 пациенток с плацебо. Таким образом, нет между обеими группами наблюдалась существенная разница.

Вакцины на основе белка

Вакцины на основе белка не представляют риска для безопасности больных и так же легко производимы, как и пептидные. Кроме того, они несут все возможные эпитопы антигена НLА и, таким образом, не требуют идентификация типов НLА пациента. Как правило данный тип вакцин способен индуцировать более высокоэффективные реакции антител, чем цитотоксические ответы Т-клеток [80]. При этом они обладают довольно низким уровнем иммуногенности, и, для повышения эффективности вакцинации, требуют в своем составе наличия адъювантных белков [92]. Применяемый дериватный протеин Е7 состоит из мутированного ВПЧ 16 Е7, связанного с первыми 108 аминокислотами белка *Haemophilus influenzae D*, содержащимися в GlaxoSmithKline Biologicals адъюванте AS02В [92]. В клиническом исследовании фазы I/II вакцина была введена 9 пациенткам (7 CIN III, 2 CIN I, связанных с ВПЧ 16 типа), 3 внутримышечные инъекции проводились каждые 2 недели. Конизация была проведена через 8 недель CIN II-III после вакцинации у пациенток с CIN III. У больных были зарегистрированы значимые титры Е7-специфические цитотоксические Т-лимфоцитов (CTL). После вакцинации не была зафиксирована как элиминация ВПЧ, так и регрессия цервикальной неоплазии, что

может быть связано с тем, что гистологическая оценка проводилась на ранней стадии и индукция только в виде низкоуровневой иммунизации [92].

В исследовании фазы I была опробована вакцина, содержащая копротеин ВПЧ 16 E6/E7. Вакцину вводили подкожно 3 раза раз в 3 недели при возрастающих дозах (от 20 до 200 мкг/дозу) у 23 пациентов с CIN II-III (ВПЧ 16 был положительным при у 65% пациенток), биопсию проводили через 2 недели после последней инъекции. Показано, что иммунизация приводит к гуморальному ответу с E6/E7 специфическими антителами IgG и активацией CD8⁺ Т-клеток. У всех пациенток при биопсии наблюдалось снижение вирусной нагрузки ВПЧ 16. При этом отсутствовала корреляция между вирусологическим ответом и иммунитетом, что по-видимому было связано с короткой продолжительностью наблюдения (только 1 пациентка (4%) имела гистологический ответ без CIN) [89].

Новая терапевтическая вакцина SGN-00101 (Stressgen, Nventa), состоящая из гибридного белка, содержащего копротеин теплового шока *Mycobacterium bovis BCG* (Hsp65), ковалентно связанный со всей последовательностью ВПЧ 16 E7, вводимый подкожно (500 мкг на дозу). В первом исследовании, проведенном Roman L., Wilczynski S. et al. (2022): «На 21 пациентке с CIN II-III (18 CIN III), 24% ВПЧ 16+, получили 4 инъекции и конизацию на 15 неделе — среди 20 оцениваемых пациенток клинический и гистологический ответ был полным (без CIN или CIN I) в 40%, у 11 пациенток (55%) не зарегистрировано улучшения и в одном зафиксировано ухудшение до CIS. Специфический клеточный иммунный ответ, оцененный по критериям ELISPOT, был обнаружен у 9/17 пациентов (53%). Среди 8 пациенток у 5 зарегистрирована активация специфического клеточного иммунного ответа, предполагающего положительную корреляцию с эффективностью. Тем не менее, клиренс ВПЧ был не связанный ни с клиническим, ни с иммунным ответом, т.к. только 1/19 пациенток (5%) стала ВПЧ-отрицательной» [109]. Во втором исследовании, проведенном Palefsky J., Berry. J. et al. (2022) на 58 пациентках с CIN III (57% ВПЧ 16+), 3 инъекции (интервал в 4 недели) и конизацию через 6 месяцев:

«Клинический и гистологический ответ был положительным (без CIN или CIN I) у 13 пациенток (23%) и частичным (уменьшение размеров поражения при кольпоскопии >50%) у 32 (55%); 11 пациенток (19%) — без улучшения, а 2 утяжелились до CIS. Уровни IgG против ВПЧ 16 E7 в сыворотке крови, как правило, коррелировали с положительным терапевтическим эффектом, при этом более высокие уровни ВПЧ 16 E7 IgG наблюдались у пациентов с рецидивирующим заболеванием по сравнению с пациентами, которые никогда не проходили конизацию» [104].

Вакцины на основе ДНК

ДНК-вакцины безопасны, стабильны и достаточно просты в производстве. Они не вызывают нейтрализующей выработки антител, и любой пациент может получать их многократно. Геномной нестабильностью теоретически может быть вызвана интеграцией ДНК геном хозяина, но нет доказательств интеграции ДНК в ткани человека. Они изготовлены из ДНК E6 и/или E7 и не обладают высокой иммуногенностью, поскольку ДНК не способна к амплификации естественным образом или диспергировать от трансфектированных к окружающим клеткам [94]. Среди нескольких ДНК-вакцин, клинические испытания вакцины ZYC-101, по-видимому, является наиболее изученными. ZYC-101 (ZYCOS, Inc., MGI Pharma) является микроинкапсулированной ДНК-вакциной, кодирующей множественные HLA-A2-ограниченные E7-производные эпитопы. В предварительном исследовании, включающем 15 женщин с CIN II-III (56% ВПЧ 16/18+), 5 имели полные гистологические ответы и 11 показали специфический для ВПЧ ответ Т-клеток [65]. Вакцина вводится внутримышечно 3 раза в 3 недели в две дозы (100 или 200 мкг) в рандомизированном исследовании для сравнения эффективности вакцины (n=86) по сравнению с плацебо (n=41), конизация проводилась через 6 месяцев [94]. Гистологический ответ без CIN наблюдался у 37 вакцинированных пациенток (43%) и 11 контрольных (27%). Ни доза вакцины, ни генотип ВПЧ повлияли на результаты. Вакцина хорошо переносилась. Не вирусологический или иммунные данные были доступны для этого исследования.

В многоцентровом клиническом двухфазном исследовании 167 пациенток с CIN II-III (Eriksen D., Jensen P. et al., 2022) были рандомизированы (3:1) для получения 6 мг VGX-3100 или плацебо на 0, 4 и 12 неделе: «регрессия до CIN I или нормальной гистологической картины через 36 недель после первой дозы определяла критерий эффективности: у 53/107 (49,5%) вакцинированных и у 11/36 (30,6%) больных, получавших плацебо, была зарегистрирована гистологическая регрессия» [77]. В совершенно новом (2025) исследовании Eerkens A., Esajas M. et al. (University Medical Center Groningen, Netherlands) вакцинировали Vvax001 18 пациенток с ВПЧ16+ CIN III и сделали вывод: «Кольпоскопическое исследование выявило уменьшение размеров поражения CIN3 у 17 из 18 (94%) пациентов, уже через 3 недели после последней иммунизации. Гистопатологический полный ответ (регресс до CIN 1 степени или отсутствие дисплазии) наблюдался у 9 из 18 пациентов (50%) и клиренс от ВПЧ-16 у 10 из 16 пациентов (63%). Vvax001 не индуцировал выведение других типов ВПЧ. На сегодняшний день рецидивов не наблюдалось, при этом медиана и самая длительная безрецидивная выживаемость составила 20 и 30 месяцев соответственно. Серьезных нежелательных явлений не наблюдалось» [75].

В пилотном исследовании пациенты с ВПЧ 16+ CIN II-III получили ДНК-вакцину рnGVL4a-CRT/E7 (Detox): «32 пациентки были включены, иммуногенность была оценивалась через 2 года, у 30% женщин, после вакцинации и конизации, зафиксирована полная гистологическая регрессия до NILM, у всех вакцинированных пациенток наблюдалось увеличение CD8+ Т-клеток» [91].

Sig/E7(Detox)/Hsp70 — ДНК-вакцина, кодирующая эндоплазматическую ретикулумную сигнальную последовательность (Sig), связанная с ослабленной формой ВПЧ 16 E7 с Hsp70. Вакцина вводилась внутримышечно 3 раза с повышением дозы (от 0,5 до 3 мг/дозу) с интервалом в 4 недели и у 15 пациентов с CIN II-III (все ВПЧ 16+), конизацию проводили на 15 неделе [91]. Гистологический ответ NILM наблюдался у 0/6 пациенток при низкой дозе и у 3/9 (33%) в высоких дозах. Специфические антитела IgG E6/E7 были обнаружены у 13 и 20% пациенток при

поступлении и не повышались после вакцинации, корреляции с гистологическим ответом не наблюдалось.

Вакцины на основе живых векторов

Вакцины на основе живых векторов классически включают вирусные векторы (аденовирус, вирус ВПЧ) и бактериальные векторы (листерия, лактобациллы). Как и вакцины на основе белка, они доставляют антиген к дендритным клеткам, экспрессируя таким образом ВПЧ Е6 и/или Е7. Эти вакцины демонстрируют сильную иммуногенность благодаря их способности реплицироваться внутри клеток-хозяев и облегчать распространение антигена внутри клеток. Тем не менее, активация нейтрализующих антител клеток хозяина во время вакцинации может снизить эффективность повторных иммунизаций [83, 95].

Естественные вирусные векторы

Среди вирусных векторов вирус ВПЧ является самым востребованным из-за высокой эффективности антиген-специфического ответа. Было показано, что вирус, кодирующий Е7, вызывает сильный иммунный ответ у мышей, но не смог продемонстрировать какую-либо клиническую реакцию, что возможно, связано с толерантностью инфицированных ВПЧ клеток [83, 103]. TA-HPV, рекомбинантный вектор вакцины, кодирующий копротеин ВПЧ 16/18 Е6/Е7 оценивали в клинической фазе 1/2 испытаний: «зафиксирована индукция Т-клеточно-опосредованного иммунного ответа у женщин с раком шейки матки» (испытаний у пациенток с CIN не проводилось) [83, 95].

Модифицированная вакцина Ankara (MVA) разработана, как вектор вакцины с нуклеотидной последовательностью, кодирующей белок Е2 ВПЧ (MVA-E2), или белки ВПЧ 16 Е6 и Е7 (MVA-E6-E7). После инъекции в шейку матки MVA-E2 (Lemery, Mexico), пациентки продуцировали антитела против нее с развитием специфического цитотоксического ответ Т-лимфоцитов (CTL) против ВПЧ-трансформированные клеток [83]. Оригинальность рекомбинантной вакцины MVA E2 заключается в том, что он активирует иммунную систему против антигена Е2;

который играет важную роль, активируя E6 и E7. Однако проведенные исследования не продемонстрировали, что MVA E2 индуцировал E2-специфический иммунный ответ. Вакцина вводилась интрацервикально 6 раз (1 раз в неделю): 34 пациентки с CIN III (все ВПЧ 16/18+) с конизацией через 12 недель [83]. Клинический ответ был полным (NILM) у 19 пациенток (56%) и частичное (уменьшение размеров поражения при кольпоскопии >50%) у 11 (32%); гистологический ответ (без CIN) был получен у 20 пациенток (59%). У всех пациенток был гуморальный и клеточный опосредованный иммунный ответ с появлением антител MVA E2 IgG и специфических цитотоксических Т-лимфоцитов. ВПЧ отрицателен был у 12 пациенток (35%) и вирусная нагрузка снижена на 95% у 5 (15%).

Многоцентровое рандомизированное двойной слепой, плацебо-контролируемое клиническое исследование фазы 2b было проведено для оценки эффективности и безопасности применения MVA-E6-E7 у 206 пациентов с CIN II-III [74]. Гистологическое разрешение (без CIN) через 6 месяцев было достигнуто у 11/55 (20%) вакцинированных пациенток (в контрольной группе — 1/27 (4%)). Вирусный клиренс был значительно выше у вакцинированных — 20/52 (38%) (в контрольной — 2/23 (9%)).

Синтетические вирусные векторы

Химерные вирусоподобные частицы (CVLP) могут быть получены с использованием той же технологии, что и для профилактических вакцин против ВПЧ, поскольку они просты в изготовлении, способны к уплотнению ДНК и нацеливанию специфические клеточные рецепторы. ВПЧ 16 L1-E7 CVLP состоит из карбокси-терминально усеченного белка ВПЧ 16 L1 соединенного с аминотерминальной частью белка ВПЧ 16 E7. Было показано, что L1-E7 CVLP индуцирует E7-специфический клеточный иммунитет у мышей [107]. Проводилось рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое клиническое исследование у пациенток с ВПЧ 16+, связанным с CIN II-III — CVLP вводился 4 раза в течение 12 недель в двух дозах (75 или 250 мкг) 23 пациенткам (12 получали плацебо): гистологический ответ (NILM)

наблюдался у 9 вакцинированных (39%) и 3 контрольных (25%); отсутствие ВПЧ 16 при биопсии выявлено у 6/16 вакцинированных (37%) и 1/7 контроля (14%) – высокая степень корреляции. Антитела к ВПЧ 16 Е7 (исходно отрицательные) на были положительными у 10 привитых пациенток (42%), специфичный для Е7 Т-клеточного ответа наблюдался у 22% вакцинированных, но не коррелировал с гистолоответом: выявлялись антитела с высокими титрами против ВПЧ 16 L1 и низкие титры против ВПЧ 16 Е7 [107].

Бактериальные векторы

Было показано, что вакцины на основе листерий способны к активации CD8+ и CD4+ иммунных реакций, а также к индуцированию опухолевой регрессии на животных моделях [91]. Lm-LLO-E7, также называемый ADXS11-001 («Lovaxin C», Advaxis, USA) имеет живой аттенуированный вектор *Listeria monocytogenes*, секретирующий ВПЧ 16 Е7. Эта вакцина оценена, как безопасная в первой фазе испытаний и способной индуцировать иммунные реакции у пациенток с CIN III и CIS [91, 92]. Рандомизированное слепое плацебо-контролируемое исследование фазы 2 дало оценку безопасности и эффективности Lovaxin C для терапии CIN II-III. Вакцина вводилась внутривенно с двухкратным наращиванием дозы 4 недели (NCT01116245), но результаты данного исследования остаются недоступны.

Ослабленную *Lactobacillus casei* экспрессирующую модифицированный полноразмерный белок ВПЧ 16 Е7 оценивали у 10 пациенток с ВПЧ 16-ассоциированным CIN II-III - вакцина вводилась перорально [101]. После 9 недель терапии понижение неопластического процесса до CIN II зафиксировано в 70% случаев; зафиксированы Е7 клеточно-опосредованные иммунные реакции в цервикальных лимфоцитах, которые напрямую коррелировали с неоплазией.

Таким образом, большинство исследованных вакцин продемонстрировали способность вызывать специфический ответ Т-клеток Е6/Е7, но не показали корреляции, связывающей гистологический или вирусологический ответ. Эффективность вакцин определяется регрессией CIN II-III варьировалось от 17 до

59%. Однако критерии включения (CIN II-III) и патологического ответа (нет CIN или CIN I) обычно используемые в клинических отчетах являются достаточно спорными: Диагноз CIN II во многих случаях субъективный в том смысле, что зависит от кольпоскопии, и связан с вариабельностью патологоанатомических заключений. Хотя CIN II и CIN III входят в один и тот же высокий уровень цервикального поражения – CIN II, как известно, является гетерогенным образованием, включающим как реальный CIN III, так и кондиломатозное поражение или CIN I [57, 64, 85, 92]. Именно по этой причине воспроизводимость для диагноза CIN II достаточно низкая. Кольпоскопия также имеет присущие ей ограничения и может приводить к неправильному диагнозу некоторых CIN II-III. Чувствительность кольпоскопии классически не превышает 65-80%, однако специфичность ниже, так как кольпоскопия также обнаруживает более клинически незначимую низкую степень поражения [57, 85]. В некоторых клинических испытаниях оценивалась вирусная регрессия и клинический ответ после иммунотерапии, но и тут результаты спорные: только три исследования показали корреляцию между гистологическим и вирусологическим ответом [69, 87, 93], два исследования продемонстрировали высокую долю клиренса ВПЧ, в то время как частота патологического ответа была низкой [71, 107], одно исследование не смогло продемонстрировать вирусный клиренс при излечении [88]. Ни одно из клинических испытаний, не смогло предложить производство и маркетинг таргетной иммунотерапии против CIN II-III в ближайшее время. Однако до тех пор, пока иммунотерапия может продемонстрировать эффективность по сравнению с наблюдением без выраженных побочных эффектов, исследования и разработки этой концепции должны поощряться. Альтернативы конизации необходимы для того, чтобы сохранить репродуктивный исход и избежать ВПЧ-персистенции.

1.6. Первичная профилактика рака шейки матки (вакцинация против ВПЧ)

В 2006 году началась вакцинация против вируса папилломы человека. Мировые эксперты рекомендуют использовать три профилактические рекомбинантные

вакцины, созданные на основе вирусоподобных частиц, без содержания вирусной ДНК — вакцинация этими препаратами целесообразна для обеспечения защиты от вирусных инфекций у лиц обоего пола, начиная с 9 лет (профилактика предраковых поражений и рака вульвы, влагалища, шейки матки, полового члена и ануса, вызванных ВПЧ ВКР): двух- (ВПЧ 16 и 18), четырех- (ВПЧ + 6 и 11), девятивалентная (ВПЧ + 31, 33, 45, 52 и 58) вакцина [33, 80, 92, 107].

Уже накоплено значительное количество сведений, свидетельствующих об эффективности вакцинации против ВПЧ в снижении распространённости высокоонкогенных типов вируса, а также в профилактике развития аногенитальных бородавок и предраковых изменений вульвы, влагалища и шейки матки, таких как VIN и CIN II+, с определенными доказательствами защиты от непрививочных типов [75, 83, 121]. Свежий систематический обзор с участием 60 миллионов человек (наблюдение в течение 8 лет после вакцинации) показали, что через 5–8 лет после ее проведения значительно снизились следующие исходы: 1) распространённость ВПЧ 16 и 18 на 83% (ОР 0,17; 95% ДИ, 0,11–0,25) у девочек в возрасте 13–19 лет и на 66% (ОР 0,34; 95% ДИ, 0,23–0,49) у женщин в возрасте 20–24 лет; 2) распространённость ВПЧ 31, 33 и 45 на 54% (ОР 0,46; 95% ДИ, 0,33–0,66) у девочек в возрасте 13–19 лет; 3) аногенитальные бородавки на 67% (ОР 0,33; 95% ДИ, 0,24–0,46) у девочек в возрасте 15–19 лет, на 54% (ОР 0,46; 95% ДИ, 0,36–0,60) у женщин в возрасте 20–24 лет и на 31% (ОР 0,69; 95% ДИ, 0,53–0,89) у женщин в возрасте 25–29 лет. CIN II+ значительно снизился на 51% (ОР 0,49; 95% ДИ, 0,42–0,58) среди обследованных девочек в возрасте 15–19 лет и на 31% (ОР 0,69; 95% ДИ, 0,57–0,84) среди женщин 20–24 лет [92].

В ходе недавнего исследования (Bosch F., Castellsague X., 2018) в котором были проанализированы данные о 1672 983 девочках и женщинах в возрасте 10-30-ти лет, собранные в период с 2006 по 2017 год, было обнаружено существенное уменьшение вероятности развития рака шейки матки (РШМ) после вакцинации против ВПЧ — из 1672983 вакцинированных участниц исследования только у 19 был выявлен РШМ, в

то время как среди невакцинированных этот показатель составил 538 женщин [69]. Недавние исследования показали доказательства эффективности одной дозы в предотвращении инфекций ВПЧ высокого канцерогенного риска, аналогичных трем или двум дозам [79, 81, 123]. Ожидаются результаты текущих специально разработанных, проспективно рандомизированных клинических испытаний, оценивающих эффективность и иммуногенность однодозовой вакцинации против ВПЧ по сравнению с используемыми в настоящее время графиками, что еще больше прояснит роль одной дозы в профилактике цервикальной неоплазии.

По оценкам специалистов, без вакцинации глобальное бремя рака шейки матки среди молодых девушек, родившихся в период с 2005 по 2014 год, составит 11,6 миллиона случаев к 2094 году; большинство из этого количества придется на 25 стран Африки (5,6 миллиона случаев) и Азии (4,5 миллиона случаев). Было подсчитано, что во всем мире вакцинация против ВПЧ с высоким охватом может предотвратить около 8,7 миллиона случаев к 2094 году [124].

1.7. Вторичная профилактика рака шейки матки

Цервикальный скрининг — это важный инструмент в борьбе с раком шейки матки на глобальном (планетарном) уровне. Если вакцинация против ВПЧ направлена на то, чтобы предотвратить заражение этими типами вируса, то скрининг помогает в детекции как ранних неопластических процессов (CIN I-II), так предраковых поражений, таких как высокоактивная дисплазия шейки матки (CIN III) и карцинома *in situ* (CIS), на ранней стадии. Это позволяет эффективно лечить их и предотвращать развитие инвазивного рака. Поэтому скрининг будет оставаться ключевым элементом профилактики рака шейки матки на протяжении многих лет [2, 16, 74, 91].

Сейчас применяются несколько стратегий цервикального скрининга: традиционная цитология (мазок Папаниколау — Pap-тест), жидкостная цитология, тестирование на ВПЧ и кольпоскопия [1, 14, 27, 41, 80, 93, 121]. Хотя регулярный цитологический скрининг позволил значительно снизить риск развития рака шейки

матки в относительно «богатых» странах, этот метод достаточно является ресурсоёмким и требует высокой компетенции специалистов [17, 24, 85].

Вирусологический скрининг (детекция самого ВПЧ) отличается высокой чувствительностью и специфичностью, но, в то же время, является относительно дорогостоящим и не показывает стадию развития процесса (диагностика вирусной нагрузки в настоящий момент является контраверсионным вопросом) [9, 21, 55, 93, 117].

В плане снижения заболеваемости ВПЧ-инфекциями среди вакцинированных групп населения многие системы здравоохранения переходят к первичному скринингу на ВПЧ — такой подход позволяет увеличить интервалы между скрининговыми обследованиями или даже проводить их в условиях ограниченного финансирования, что связано с более высоким отрицательным прогностическим значением [18, 26, 39, 85, 120]. В настоящее время в большинстве стран с развитой системой здравоохранения осуществляется внедрение скрининга на ВПЧ на национальном уровне, что, само собой, привело к увеличению частоты направления на кольпоскопическое исследование, но также способствовало более высокому уровню выявления поражений CIN II-III, CIS и рака шейки матки. [62, 70, 85, 111].

Внедрению программы скрининга РШМ в стране должны предшествовать разработка и утверждение политических и управленческих руководящих принципов, которые будут чётко определять целевую возрастную группу, периодичность проведения скринингового теста, способы охвата целевых женщин, порядок действий в отношении скрининг-положительных женщин, методы лечения цервикальных поражений, а также критерии терапии распространённых случаев рака, выявленных в результате скрининга [26, 31, 44, 65, 81, 90, 118]. Наличие адекватной инфраструктуры и подготовленных профессиональных ресурсов имеет решающее значение для инициирования и поддержания различных вкладов в данную программу. Информационная система, поддерживаемая базой данных и связью с другими системами, такими как регистрация рака, регистры смертности и базы данных

медицинского страхования, имеет важное значение для мониторинга и оценки. Рациональное сочетание вакцинации против ВПЧ и скрининга обладает значительным потенциалом для искоренения рака шейки матки в ближайшем будущем.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационная работа, проведенная в период с 2019 по 2023 гг., выполнялась на клинических базах кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии №1 ФГБОУ «Кубанский государственный медицинский университет» МЗ РФ (350069, г. Краснодар, ул. Седина, д. 4) (заведующая кафедрой д.м.н., профессор Куценко И.И.): университетская клиника КубГМУ, женские консультации №4 и №5 и перинатальные центры — Детской краевой клинической больницы и Краевой клинической больницы №2 (схема 2.1).

Основная часть лабораторных исследований, таких как иммуногистохимическое, цитоморфологическое выполнялись на базах клиник «KDL» и «ОХУ-center».

2.1. Этапы, объем, методы исследований и наблюдения (ретроспективное исследование)

На первом этапе проведен эпидемиологический анализ заболеваемости латентными и субклиническими формами ПВИ — аналитическая модель — территория Краснодарского края; методический комплекс — социо-медико-географический, клинико-микробиологический, биохимический, цитоморфологический, иммунологический. При изучении женщин с латентными и субклиническими ПВИ вначале проведено изучение тенденций данных показателей пятилетней динамике (2019–2023 гг.) с выделением территориальных особенностей. Комплексному анализу подвергнуты сведения 6239 латентных, 1806 случаев субклинических форм ПВИ и 75335 — цервикальных интраэпителиальных неоплазий: анализ годовых отчетов Министерства здравоохранения Краснодарского края и медицинской документации женских консультаций и поликлинических отделений региона, позволил изучить частоту этих форм папилломавирусной инфекции среди женского населения (медико-социальная характеристика).



Схема 2.1 — Дизайн исследования

Также проведен анализ состояния первичной профилактики раков, ассоциированных с ВПЧ, в регионе и, в частности, состояние вакцинации против ВПЧ (отчеты Краевого центра вакцинации).

2.2. Селекция и рандомизация пациенток с формированием групп (проспективное исследование)

Второй (проспективный) этап исследования (2020–2023 гг.) заключался в менеджменте (наблюдение, обследование и лечение пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ); в контрольной (иммуноцитобиохимический контроль) группе приняли участие 30 здоровых женщин, сопоставимых по возрасту, которые обратились для прохождения профилактических осмотров.

Оценка этического комитета КубГМУ: «В исследовании соблюдаются этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией (пересмотр 2013 Форталеза, Бразилия), правила Надлежащей клинической практики (Good экспорт Clinical Practice; 2016 Астана), Правила клинической практики РФ (Приказ №200н, 2016). Все пациентки дали информированное согласие на участие в исследовании, публикацию результатов в открытой печати» (протокол №54 от 24.09.2022 г.).

Одним из требований протокола исследования являлось использование барьерных методов контрацепции (презервативов) пациентками на протяжении всего времени их участия в исследовании, а также объяснена необходимость ведения дневника, с отметками о возможных побочных эффектах лечения. Через месяц, то есть во время второго визита, проводилось повторное комплексное исследование, включавшее кольпоскопию, Pap-тест и ВПЧ ПЦР-тест (ВПЧ высокого канцерогенного риска). Через 6 и 12 месяцев, а также через каждые 12 месяцев (всего шесть визитов в течение 36 месяцев) проводилось аналогичное исследование. При этом проверялись записи о лекарственных средствах, принимаемых на протяжении исследования. COMPLIANCE препаратов оценивался по степени выраженности нежелательных явлений.

Таблица 2.1 — График проведения исследований и манипуляций у пациенток

ВИЗИТ	B0	B1	B2	B3-4	B5-6
оценка критериев включения/исключения → включение в группы		+			
расширенная кольпоскопия	+		+	+	+
Рар-тест	+		+	+	+
ВПЧ- тестирование (ПЦР)	+		+	+	+
исследование цервикальной микробиоты		+	+	+	+
назначение лечения		+			
контроль эффективности терапии			+	+	+

2.2.1. Критерии включения, невключения, исключения в проспективное исследование

В ходе исследования существовала вероятность досрочного прекращения участия в нём по решению пациентки или исследователя (табл. 2.2).

Таблица 2.2 — Критерии отбора пациенток

Критерии включения
наличие латентной или субклинической формы ПВИ
добровольное согласие на участие в исследовании → способность выполнять требования протокола
Критерии невключения
возраст <18 и >45 лет
беременность и кормление грудью на момент включения в исследование
сопутствующая тяжелая экстрагенитальная патология
наличие онкологической патологии любой локализации
ВИЧ-позитивный статус и другие системные иммунодефицитные состояния
наличие хронического вирусного гепатита и/или сифилиса в анамнезе
наличие трансплантированных органов
Критерии исключения
положительный тест на беременность или планирование беременности в период наблюдения
гиперчувствительность к предлагаемым ЛС
отказ от продолжения наблюдения на любом этапе исследования, отзыв добровольного информированного согласия
низкий комплаенс пациентки

2.2.2. Социально-anamнестическая оценка групп пациенток, включенных в проспективное исследование

Женщины с латентными и субклиническими формами ПВИ были ранжированы на три возрастные группы (средний возраст $29,7 \pm 3,6$ лет): наиболее часто эти формы диагностировались в возрасте 21–30 лет — 77,8% (168/216) и 60,3% (140/232) соответственно, при этом статистически достоверная значимость ($\chi^2=15,08$; $p=0,008$) была выявлена у пациенток с субклиническими формами ПВИ (табл. 2.3).

Таблица 2.3 — Возраст пациенток

возраст группы	18–20 лет		21–30 лет		31–45 лет	
	п	%	п	%	п	%
латентная форма ПВИ (n=216)	19	8,8	168	77,8	29	13,4
субклиническая форма ПВИ (n=232)	11	4,7	140	60,3	81	34,9
контроль (n=30)	1	3,3	25	83,3	4	13,3
χ^2	2,919		3,91		15,08	
p	0,5		0,5		0,008	

Не выявлено статистически значимой ($p>0,05$) разницы между семейным положением, социальным статусом и образованием пациенток основной и контрольной групп (табл. 2.4–2.5; рис. 2.1).

Таблица 2.4 — Семейное положение

параметры	замужем	
	п	%
латентная форма ПВИ (n=216)	93	43,0
субклиническая форма ПВИ (n=232)	87	37,5
контроль (n=30)	16	53,3
χ^2	0,388	
p	0,5	

Почти половина ($49,9 \pm 1,3\%$) пациенток основной группы официально не работали ($\chi^2=2,91$; $p=0,5$), имели средне-специальное образование — $39,4 \pm 1,4\%$ ($\chi^2=1,054$; $p=0,6$) и статистически значимо не отличались от контрольной группы (рис. 2.1).

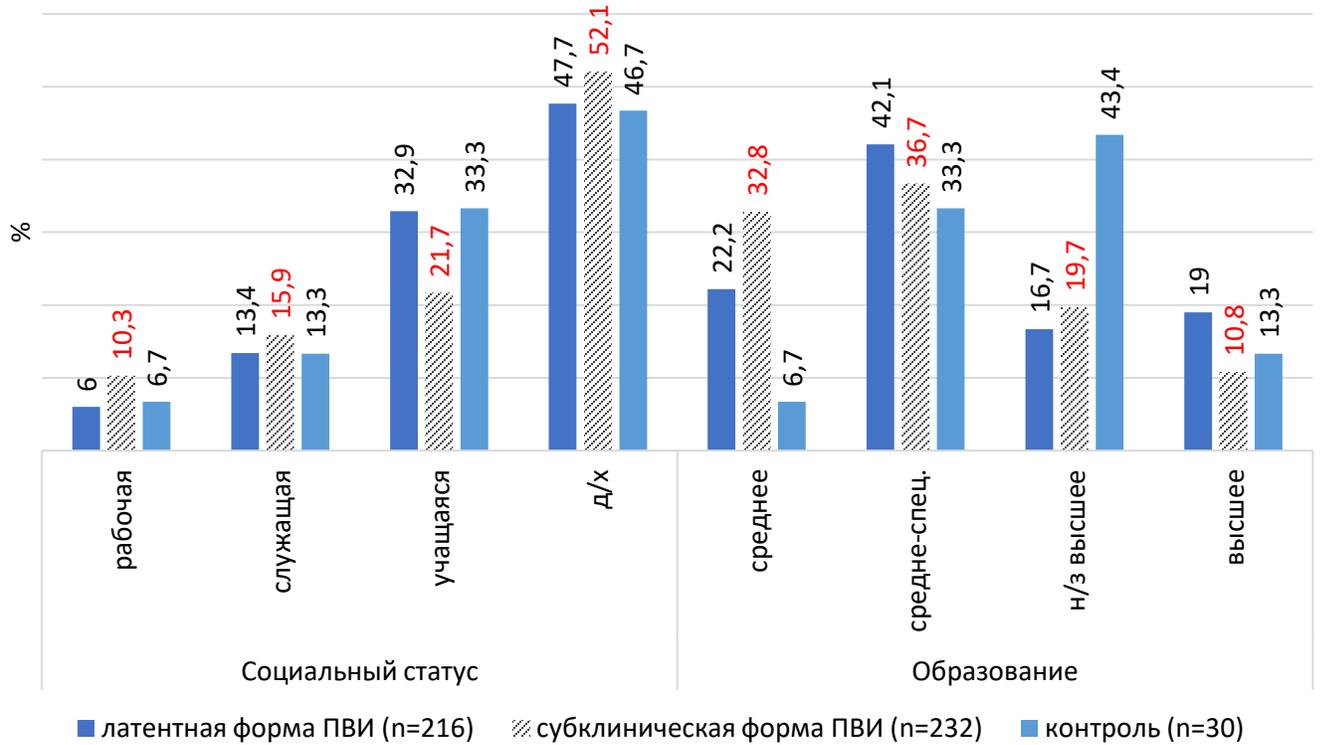
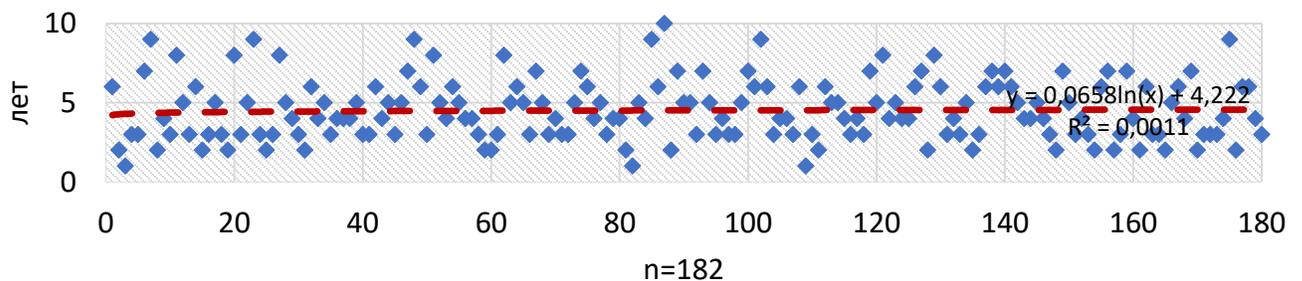


Рисунок 2.1 — Социальное ранжирование женщин с латентными и субклиническими формами ПВИ (медиана — \bar{x}) по сравнению с контрольной группой

В группе женщин с латентными формами ПВИ средний возраст начала половой жизни составляет $17,4 \pm 1,6$ лет (95%ДИ 14; 27), а в группе с субклиническими формами — $17,1 \pm 1,9$ лет (95%ДИ 12; 25). В среднем интервал между началом менструального цикла и началом половой жизни у женщин с латентными формами ПВИ составляет $4,7 \pm 1,4$ года и $4,2 \pm 1,6$ лет с субклиническими формами, в группе контроля $5,4 \pm 1,2$ года ($p < 0,05$) (табл. 2.6, рис 2.2-2.4). Хотя статистический анализ показал значимые различия в интервале между менархе и началом половой жизни у женщин с латентными и субклиническими формами ПВИ по сравнению с контрольной группой ($\chi^2 = 25,689$; $p = 0,012$), предположение о том, что более ранний половой дебют является фактором, повышающим риск инфицирования ВПЧ, нуждается в дополнительных подтверждениях.

Таблица 2.5 — Сексуальное поведение

сексуальный дебют	до 15 лет		15–18 лет		19–22 лет		старше 23 лет	
	п	%	п	%	п	%	п	%
латентная форма ПВИ (n=182)	6	3,3	117	64,2	48	26,4	11	6,0
субклиническая форма ПВИ (n=254)	13	5,1	149	58,2	80	31,5	12	4,7
контроль (n=30)	1	3,3	16	53,3	11	36,7	2	6,6
χ^2	—		1,017		1,683		0,327	
p	0,5		0,5		0,5		0,5	
интервал между менархе и сексдебютом	3–4 года		5–6 лет		>6 лет			
	п	%	п	%	п	%		
латентная форма ПВИ (n=182)	49	26,9	106	58,2	27	14,8		
субклиническая форма ПВИ (n=254)	96	37,8	121	47,6	37	14,6		
контроль (n=30)	3	10,0	24	80,0	3	10,0		
χ^2	25,689							
p	0,012							
количество партнеров	1		2		≥ 3			
	п	%	п	%	п	%		
латентная форма ПВИ (n=182)	90	49,4	73	40,1	19	10,4		
субклиническая форма ПВИ (n=254)	122	48,0	94	37,0	38	15,0		
контроль (n=30)	17	56,7	10	33,3	3	10,0		
χ^2	2,788							
p	0,3							

Рисунок 2.2 — Корреляция между возрастом менархе и сексуальным дебютом (латентные формы ПВИ) ($R^2=0,0011$)

Зависимость возраста менархе, полового дебюта и количества половых партнеров (в течение 1 года) у пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ не выявлена ($\chi^2=2,788$; $p=0,5$) (табл. 2.5; рис. 2.2-2.5).

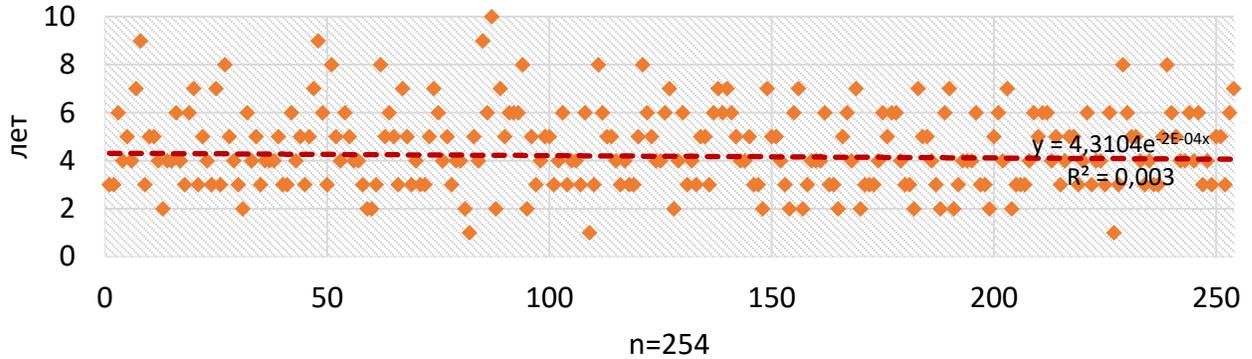


Рисунок 2.3 — Корреляция между возрастом менархе и сексуальным дебютом (субклинические формы ПВИ) ($R^2=0,0019$)

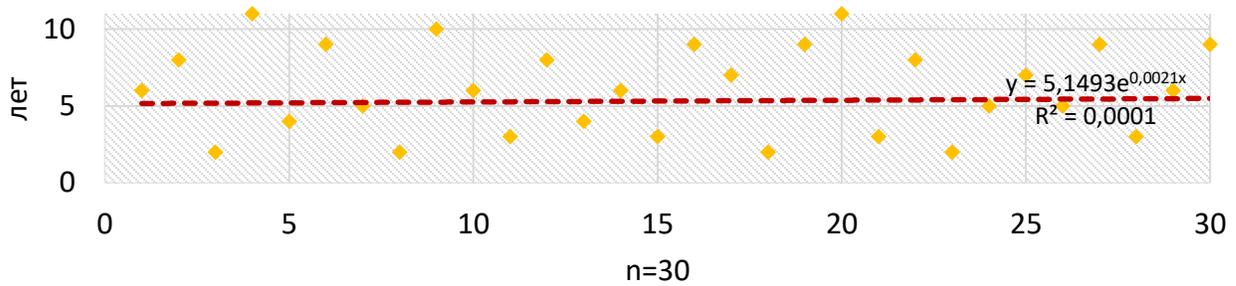


Рисунок 2.4 — Корреляция между возрастом менархе и сексуальным дебютом (контрольная группа) ($R^2=0,0011$)

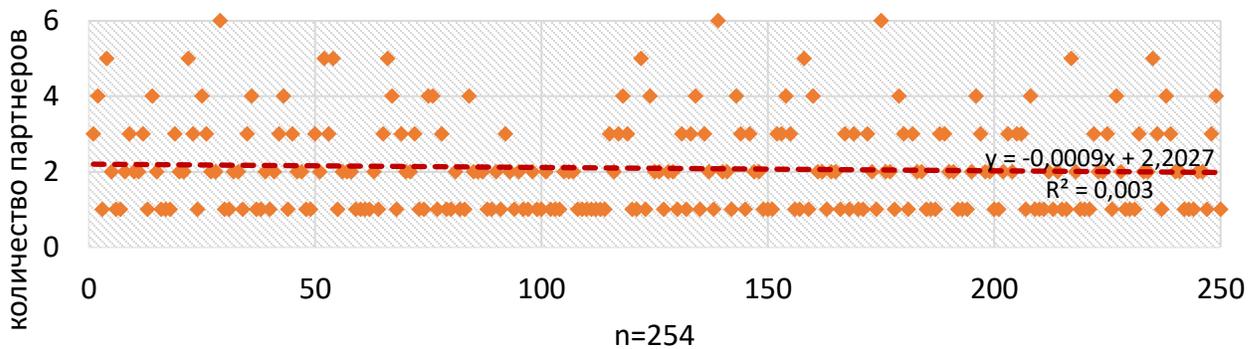


Рисунок 2.5 — Корреляция количества половых партнеров пациенток с субклиническими формами ПВИ ($R^2=0,003$)

В основной группе (латентные и субклинические формы ПВИ) 70,8% женщин применяли средства контрацепции. Большинство из них использовали методы с низкой эффективностью, такие как календарный метод (Индекс Перля (ИП) — 9), прерванный половой акт (ИП — 4) и другие. Барьерной контрацепцией пользовались 19,9% женщин (ИП — 2), а гормональной — 15,6% женщин (ИП — 0,3) (рис. 2.6).

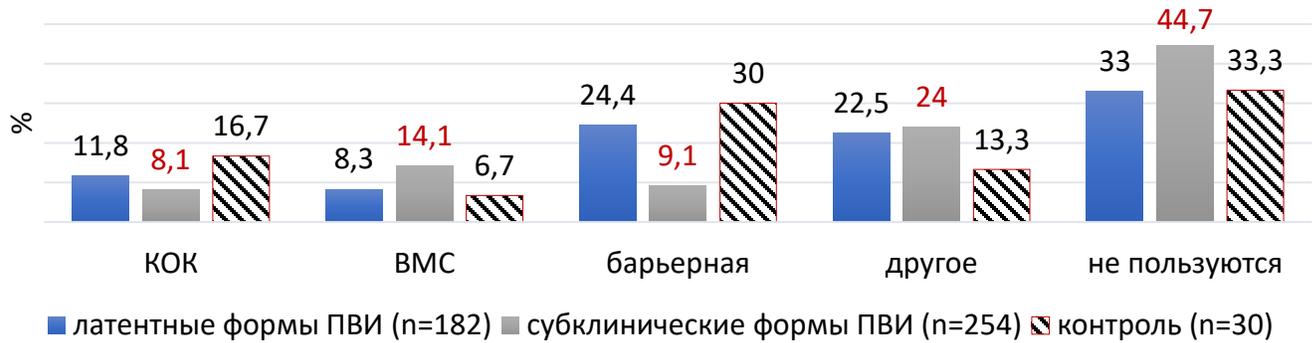


Рисунок 2.6 — Контрацепция пациенток в группах

В сексуальном поведении наших пациенток не выявлено значительных расхождений по большинству критериев (за исключением периода между началом менструаций и началом сексуальной жизни — $p > 0,01$).

Никотиновая зависимость (выкуривание более двух сигарет в день) отмечена у $12,65 \pm 0,4\%$ пациенток обеих групп, но при этом $30,9 \pm 1,6\%$ респонденток указало на альтернативные методы курительной зависимости (электронные сигареты и их аналоги), действие которых на репродуктивную систему женщины еще недостаточно изучено (рис. 2.7). Алкогольная и наркотическая зависимости не отличались от общепопуляционных значений.



Рисунок 2.7 — Вредные привычки пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ

Средний индекс массы тела в группе женщин с латентными и субклиническими формами ПВИ составил $27,3 \pm 3,6$, в группе контроля — $24,8 \pm 1,9$ ($p=0,422$).

Анализ данных, полученных в ходе исследования, не выявил статистически значимой разницы в частоте хронических соматических заболеваний между женщинами с латентными и субклиническими формами ПВИ и контрольной группой — соответствующие показатели составили 133,3%, 158,6% и 80,0% ($\chi^2=13,347$; $p=0,016$) (табл. 2.6). Среди экстрагенитальных заболеваний у женщин с латентными и субклиническими формами ПВИ наиболее часто фиксировалась патология мочеполовой системы (хронический цистит и пиелонефрит — в среднем $59,5 \pm 7,2\%$) с достоверной разницей между основной и контрольной группой ($\chi^2=13,829$; $p=0,017$), также достаточно часто встречались хронический гастродуоденит, холецистопанкреатит — в среднем $47,2 \pm 2,8\%$ и хронический тонзиллит и синусит — в сумме $31,4 \pm 2,2\%$.

Таблица 2.6 — Хронические воспалительные соматические заболевания

параметры	контроль (n=30)		латентная форма ПВИ (n=216)		субклиническая форма ПВИ (n=232)		χ^2 (p)
	n	%	n	%	n	%	
ЖКТ (гастродуоденит, холецистит, панкреатит)	6	20,0	96	44,4	116	50,0	13,347 (0,016)
ЛОР (тонзиллит, синусит)	7	23,3	63	29,2	78	33,6	1,862 (0,44)
БЛС (бронхит, ХОБЛ)	2	6,7	16	7,4	19	8,2	0,15 (0,52)
МПС (цистит, пиелонефрит)	9	30,0	113	52,3	141	66,8	13,829 (0,017)
всево		80,0		133,3		158,6	25,971 (0,009)

Эндокринная патология, как фактор, оказывающий влияние на большинство звеньев репродуктивной системы женщины, обладает способностью потенцировать пролиферативные процессы, способствовать девиации иммунных реакций).

Таблица 2.7 — Распространенность гинекологической патологии

параметры	контроль (n=30)		латентная форма ПВИ (n=216)		субклиническая форма ПВИ (n=232)		χ^2 (p)
	n	%	n	%	n	%	
инфекционзависимая патология							
вульвовагинит	6	20,0	194	89,8	228	98,3	53,218 (0,004)
эндометрит	3	10,0	12	5,55	24	10,3	1,681 (0,46)
сальпингоофорит	2	6,7	16	7,4	31	13,4	2,957 0,084
эндокринзависимая патология							
полипы эндометрия	0	0,0	11	5,1	19	8,2	0,33 (0,40)
гиперплазия эндометрия	1	3,3	9	4,2	12	5,2	
кисты яичников	4	13,3	24	11,1	33	14,2	0,395 (0,38)
фибромиома матки	4	13,3	38	17,6	45	19,4	1,31 (0,12)
эндометриоз	2	6,7	18	8,3	25	10,8	0,993 (0,16)
нарушения менструального цикла	4	13,3	21	9,7	28	12,1	0,575 (0,54)
мастопатии	2	6,7	14	6,5	20	8,6	0,368 (0,40)
метаболический синдром	3	10,0	31	14,3	49	21,1	4,142 (0,06)
всего		103,3		179,5		221,6	42,772 (0,006)

При оценке структуры эндокринзависимой патологии в основной группе выявлено недостоверно более широкое распространение заболеваний, ассоциированных с гиперэстрогенией: миома матки — $18,5 \pm 0,9\%$ ($\chi^2=1,31$; $p=0,12$), эндометриоз — $9,55 \pm 1,25\%$ ($\chi^2=0,993$; $p=0,16$) (табл. 2.7). Метаболический синдром, который может быть одной из причин нарушения локального вагинального гомеостаза из-за проблем с выработкой стероидных гормонов, был обнаружен у значительного числа пациенток основной группы, что превышает показатели в общей

популяции и в группе контроля — $17,7 \pm 3,4\%$ против $10,0\%$ ($\chi^2=4,142$; $p=0,06$). Наиболее распространёнными гинекологическими заболеваниями у женщин основной группы были инфекции органов малого таза, такие как хронический эндометрит и сальпингоофорит (в сумме $18,3 \pm 3,9\%$). Статистический анализ выявил значимые различия в распространённости гинекологических заболеваний между контрольной группой и пациентками с латентными и субклиническими формами ПВИ — $\chi^2=42,772$ ($p=0,006$).

Таблица 2.8 — Генитальные инфекции (в том числе передаваемые половым путем)

параметры	контроль (n=30)		латентная форма ПВИ (n=216)		субклиническая форма ПВИ (n=232)		χ^2 (p)
	n	%	n	%	n	%	
вульвовагинальный кандидоз	17	56,7	153	70,8	207	89,2	4,042 (0,06)
хламидийная инфекция (<i>Cl.trachomatis</i>)	2	6,7	26	12,0	39	16,8	4,316 (0,06)
микоплазменная инфекция (<i>M.genitalium</i>)	4	13,3	34	15,7	46	19,8	1,328 (0,12)
трихомонадная инфекция	0	0,0	3	1,4	11	4,7	—
гонорея	0	0,0	2	0,9	6	2,6	—
генитальный герпес	2	6,7	27	12,5	41	17,7	4,924 (0,05)
неспецифический вульвовагинит	8	26,7	118	54,6	194	83,6	29,453 (0,008)
всего		110,1		257,7		332,7	109,866 (0,002)

Количество анамнестически зарегистрированных генитальных инфекций у женщин с латентными и субклиническими формами ПВИ значительно отличалось от контрольной группы — $294,85 \pm 14,5\%$ против $110,1\%$ ($\chi^2=109,866$; $p=0,002$): наиболее часто встречались неспецифический вульвовагинит — в среднем $69,1 \pm 14,5\%$ ($\chi^2=29,453$; $p=0,008$) и вульвовагинальный кандидоз — $80,0 \pm 9,2\%$ ($\chi^2=4,042$; $p=0,06$) (табл. 2.8).

Таким образом, у исследуемых пациенток (латентные и субклинические формы ПВИ) отмечено увеличение, по сравнению с общепопуляционными показателями), частоты гинекологической патологии (как воспалительной, так и гормональной), что может способствовать потенцированию, под влиянием папилломавирусной инфекции, развития патологических пролиферативных процессов в нижнем отделе репродуктивной системы.

2.3. Клинические методы исследования

Обследование пациенток носило характер, согласованный с существующим законодательством (стандарты оказания медицинской помощи по данной нозологии и приказы МЗ РФ №1130н от 20.10.2020 «Порядок оказания медицинской помощи по профилю акушерство и гинекология», №203н от 10.05.2017 «Об утверждении критериев оценки качества медицинской помощи»).

2.4. Оценка микробиоценоза влагалища и шейки матки

Первичный материал — соскоб из цервикального канала с изготовлением нативного мазка и с окраской по Граму, мазок на онкоцитологию. Определяли вагинальный pH («Кольпотест pH» (Биосенсор АН, РФ) — диапазон 3,0-7,0 (норма 3,8–4,4); шаг деления 0,2-0,3-0,5. Верификация диагноза «Вагинальный дисбиоз» проводилась на основании подсчета баллов по Ньюдженту.

2.4.1. Микроскопический (бактериоскопический) метод: оценивался клеточный состав вагинального секрета по показателям: количество лейкоцитов и эпителиальных клеток, сумма клеток, цитологический коэффициент. Вагинальный биоценоз анализировался при микроскопии окрашенного по Граму мазка по критериям Hay/Ison.

2.4.2. Полимеразная цепная реакция (система ПЦР-РВ — «АмплиПрайм®»), РФ): «набор реагентов для детекции ДНК *Gard. vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Lactobacillus spp.* и общего количества бактерий (*Bacteria* — *Staph. aureus*, *Strept. pyogenes*, *Strept. agalactiae*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *Myc. hominis*, *U. urealyticum*, *U. parvum*, *Myc. genitalium*, *Chlam. trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*,

Trich. vaginalis, *HSV*, *CMV*, *HPV*)» (Инструкция к системе, 2018). Далее происходит: «построение калибровочной прямой и расчет геномных эквивалентов ДНК, с определением коэффициентов соотношений (КС1, КС2 и КС3): КС1 — отношение концентраций *Lactobacillus* (Lac) и анаэробов *Gardn. vaginalis* и *Atopobium vaginae* (Gv+Av) — разница концентраций ДНК: $КС1 = \lg [\text{ДНК Lac}] - \lg [\text{ДНК (Gv+Av)}]$; КС2 — соотношение концентраций *Bacteria* и *Lactobacillus*: $КС2 = \lg [\text{ДНК Bac}] - \lg [\text{ДНК Lac}]$; КС3 - соотношение концентраций *Bacteria* и анаэробов: $КС3 = \lg [\text{ДНК Bac}] - \lg [\text{ДНК (Gv+Av)}]$ » [инструкция к системе]. Исследование с использованием теста «АмплиПрайм» позволяет оценить не только разнообразие и численность микроорганизмов, но и вклад каждого отдельного вида в общую картину вагинальной и цервикальной микробиоты.

2.5. Клинические и микробиологические методы исследования, ассоциированные с персистенцией вируса папилломы человека

Алгоритм диагностики (клинико-морфологические методы исследования выполнялись согласно существующим актуальным приказам, стандартам и клиническим протоколам):

1. Клинико-визуальная диагностика — включая осмотр в зеркалах.
2. Кольпоскопия (бинокулярные кольпоскопы экспертного класса: 3 ML LED LEISEGANG, CARL ZEISS 150FC и OPMI PICO (Germany); OLYMPYS OCS-500 (Japan)) с проведением пробы Шиллера и 3% уксусной кислотой. Интерпретация данных проводилась согласно «Кольпоскопической классификации Международного номенклатурного комитета Федерации по кольпоскопии и патологии шейки матки (IFCPC)» (Рио-де-Жанейро, 2011).
3. Цитологический метод (жидкостная цитология ThinPrep® 5000). Забор материала — цервикальная щеточка (cervix-brush) → транспортировка в контейнере с жидкой транспортной средой → окраска препаратов по Папаниколау (Pap-smear test) → оценка результатов (классификация Папаниколау).
4. ПЦР-РВ (система «АмплиПрайм®», РФ) — диагностика 13 типов ВПЧ высокого

- канцерогенного риска (ВКР) (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 и 68) — минимум двухкратный забор материала в течение полугодового мониторинга. Кроме того, для оценки вирусной нагрузки также применялся амплификационный метод диагностики — ВПЧ Digene-тест («HPV Digene-test®», Abbot-Digene, USA).
5. Определение онкобелка E7 (при выявлении ВПЧ 16 и 18 типов) в биоптатах шейки матки и цервикального канала проводили методом ПЦР с использованием комплектов реагентов НПО «ДНК-технология» (РФ).
 6. Определение молекулярно-генетических маркеров (мРНК функциональных генов человека (p16, Ki67, PGR) ВПЧ ВКР): определение экспрессии мРНК генов p16, Ki67, прогестеронового рецептора (PGR1) в соскобах эпителия шейки матки методом ПЦР (ДНК-Технология, РФ) — в качестве праймеров для обратной транскрипции использовали специфические олигонуклеотиды.
 7. Иммуногистохимическое исследование онкомаркеров p53mut, bcl-2, cerb-B2, PCNA: двухэтапный с демаскировкой антигена стрептавидин-биотинпероксидазным методом с использованием стандартных наборов антител («Dako», Denmark). Экспрессия p53mut, bcl-2 и PCNA определялась по отношению «+» окрашенных ядер и цитоплазмы к их общему числу. Оценка реакции c-erb-B2 включала интенсивность окрашивания цитолеммы: от низкой (+) до выраженной экспрессии белка (+++).
 8. Оценка экспрессии рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PgR) — метод оценки по шкале интенсивности ИГХ-окраски и проценту окрашенных клеток: от 0 (нет окрашивания) до 3 (сильное окрашивание) с формулой подсчета: «HS (Histochemical Score) = $\sum P_i \times i$; где P_i — % клеток, окрашенных с разной интенсивностью, i — интенсивность окрашивания выраженная (0-3 балла)».
 9. Соотношения метаболитов 2-OHE1/16- α OHE1 в моче — тест-система «ESTRAMET 2/16 ELISA» (конкурентный метод твердофазного ИФА).

2.6. Локальные параметры иммунной системы

2.6.1. Клетки мононуклеарно-фагоцитарной системы (цитохимические показатели)

Алгоритм диагностики: соскобы из цервикального канала (центрифугирование с 0,5% раствором Na_2 ЭДТА) → клеточный состав и активность миелопероксидазы (МПО), кислой фосфатазы (КФ) и неспецифической эстеразы (НЭ) макрофагов (иммуноцитохимический метод) → активность по среднему цитохимическому показателю (СЦП) (микроскопически визуальным полуколичественным методом по проценту ферментативно активных (окрашенных) клеток).

2.6.2. Цитокиновый статус цервикальной зоны

Определяли концентрацию цитокинов в цервикальной жидкости (IL-1 β , IL-8, TNF α , TGF- β , IFN γ , IL-4 и IL-10) — твердофазный иммуноферментный метод со стандартными моноклональными антителами и реагентом цветной реакции (3-диметиламинобензоат) с определением концентрацию цитокинов в образцах (Caltag Laboratories, USA).

2.7. Окислительные процессы в слизистой цервикальной зоны

Для этой оценки был использован метод электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) — определялись свободный оксид азота (NO), реактивные формы кислорода (супероксидрадикалы, O $_2^-$) и липидов (пероксидрадикалы, LOO $-$). Для регистрации ЭПР-спектров использовался радиоспектрометр РЭ-1307 (РФ).

2.8. Биохимический состав цервикального секрета

Анализ цитохимических, иммунобиохимических и ферментативных характеристик цервикального секрета при субклинических формах ПВИ позволяет идентифицировать изменения, играющие роль в прогрессировании ВПЧ-ассоциированных поражений шейки матки. В рамках биохимического анализа цервикального супернатанта было проведено измерение уровня общего белка, мочевины, креатинина, билирубина, глюкозы и триглицеридов, активность а-амилазы, АСТ, АЛТ, щелочной фосфатазы, γ -глутамилтрансферазы, лактоферрина и

креатинкиназы (анализатор «AlcyonAnalyzer-300», USA). Также измерена концентрация ионов кальция и магния («Nittek-SuperZ-818», USA).

2.9. Характеристика методов профилактической терапии, проводимой пациенткам с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции

Всем пациенткам, включенными в исследование, при выявлении дисбиотических девиаций вагинальной микробиоты за 1 месяц до начала предлагаемого сравнительного менеджмента проводилась этиотропная эмпирическая деконтаминационная и последующая контаминационная (местная) терапия. В соответствии с указанными выше критериями отбора были выбраны участницы исследования, которые дали добровольное согласие на участие.

«Пациентки с латентными формами ПВИ (n=216) были рандомизированы и разделены на 2 группы: **I группа** (n=123) — наблюдение в течение 3 лет (36 месяцев) с контролем вирусной нагрузки, онкоцитологией (Pap-тест) и кольпоскопией; **II группа** (n=93) — получала квадριвалентную рекомбинантную вакцину против ВПЧ (6, 11, 16, 18-го типов) — «Гардасил®» (суспензия для внутримышечного введения, 0,5 мл/доза — 3 дозы: вторая и третья дозы вводились через 1 и 3 месяца после первой («Merck Sharp and Dome Idea, Inc.», Switzerland).

Пациентки с субклиническими формами ПВИ (n=232) также были разделены на 2 группы: **III группа** (n=137) — наблюдение в течение 36 месяцев аналогичное I группе; **IV группа** (n=91) — квадριвалентная рекомбинантная вакцина против ВПЧ (6, 11, 16, 18-го типов) — 3 дозы по той же схеме.

Оценку эффективности лечения проводили на основе динамики показателей: результаты кольпоскопии; ВПЧ-ПЦР-тест с определением вирусной нагрузки; данные цитологического (Pap-тест) исследования» (Боровиков И.О., Куценко И.И., Горринг Х.И. и соавт., 2023, 2024) [13, 17].

2.10. Статистическая обработка материала

Анализ результатов и построение графиков осуществлялись на персональном компьютере с применением программного обеспечения IBM SPSS, а также таблиц Microsoft Excel 2020 (Windows Office 2010). В процессе работы использовались методы медико-биологической статистики и программа STATISTICA 6.0. В ходе исследования были обработаны количественные данные, полученные из анамнеза, а также клинические, лабораторные и инструментальные показатели. Для этого применялся метод вариационной статистики. Во всех случаях «использовался показатель SD, который представляет собой среднее квадратичное отклонение. Результаты были представлены в виде абсолютных (n) и относительных (%) величин. Для статистического анализа частотных показателей был использован метод углового преобразования Фишера (вычисление ФИ* критерия). Статистически значимыми считались отличия при $p < 0,05$ (95%-й доверительный интервал) и при $p < 0,01$ (99%-й доверительный интервал)» [59]. Для сравнения качественных данных определяли показатели частоты качественных признаков проверялась при помощи критерия Хи-квадрат.

Таблица 2.9 — Количество выполненных исследований

исследования	контроль (n=30)		латентные формы ПВИ (n=216)		субклинические формы ПВИ (n=232)	
	n	%	n	%	n	%
общий и биохимический анализ крови	30	100	216	100	232	100
общий анализ мочи	30	100	216	100	232	100
вагинальный и цервикальный мазок	30	100	864	400	928	400
микробиологическое исследование (цервикальный канал)	30	100	216	100	232	100
ПЦР оценка цервикальной микробиоты	30	100	864	400	928	400
ПЦР ВПЧ-тест	30	100	864	400	928	400
Pap-тест	0	0	864	400	928	400
p16ink4a, p53mut, bcl-2, c-erb-B2, PCNA	0	0	864	400	928	400
рецепторы эстрогенов и прогестерона (ER; PgR)	30	100	216	100	232	100
метаболиты 2-OHE/16a-OHEi (моча)	30	100	864	400	928	400
онкопротеин E7 (ПЦР)	0	0	216	100	232	100
расширенная кольпоскопия	30	100	864	400	928	400
УЗИ органов малого таза	30	100	216	100	232	100
оксидативный статус слизистой шейки матки	0	0	216	100	232	100
иммуногистохимия цервикального секрета	30	100	94	43,5	156	67,2
всего	330	1100	7776	3600	8352	3600

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В данной главе диссертационного исследования, носящего ретроспективный и проспективный характер с многоаспектным сплошным социально-статистическим и клиническим анализом, включающим 3 этапа, вначале был проведен анализ эпидемиологической ситуации, связанной с ВПЧ-ассоциированной инфекцией (латентные и субклинические формы) у женщин в Краснодарском крае, и оценку эффективности текущих мер профилактики рака шейки матки. С целью разработки алгоритма ведения пациенток с латентной или субклинической ПВИ проводилось проспективное рандомизированное исследование, включающее комплексное обследование — основной задачей была оценка эффективности применения вакцины против ВПЧ в качестве элемента вторичной профилактики рака шейки матки.

3.1. Результаты собственного ретроспективного исследования

3.1.1. Эпидемиологический анализ латентных и субклинических форм папилломавирусной инфекции (женское население Краснодарского края)

Первый этап — анализ статистических данных за пятилетний период (2019–2023 гг.) — количество женщин с латентными и субклиническими формами ПВИ в Краснодарском крае. В ходе исследования были проанализированы данные о структуре заболеваемости и динамике показателей. Были рассчитаны общие показатели заболеваемости этими формами ПВИ и их уровень в зависимости от места проживания (город или село), изучены возрастные показатели инфекции и их динамика. Единица наблюдения и объект исследования — случай латентной или субклинической формы ПВИ. Источники информации: статистические данные (Росстат, Министерство здравоохранения Краснодарского края). Объем исследования по региону: 7004 латентных и 1782 случаев субклинических форм ПВИ.

Вторым этапом статистического ретроспективного исследования явилось изучение особенностей территориального распределения латентных и субклинических форм ПВИ по 45 административных районам региона. В 2019 году в крае было зафиксировано 19,4 случая заболевания раком шейки матки на 100000

женщин (в среднем по РФ — $15,1 \pm 0,7$). При этом в 2023 году отмечается отрицательная динамика — рост до 21,7 (Росстат, МЗ КК, 2024). Это означает, что, несмотря на увеличение показателя в целом по стране (16,4), он остаётся высоким даже по сравнению с общероссийскими данными. Рост заболеваемости ВПЧ-ассоциированной патологией шейки матки в виде CIN и рака имеет прямую пропорциональную связь с увеличением количества латентных и субклинических форм ПВИ, но, к сожалению, учет данных форм патологии в РФ не ведется, что не позволяет судить о динамике этих состояний в целом о стране и в регионе. В данном исследовании мы попытались, на основании амбулаторных карт женских консультаций Краснодарского края, в которых велся учет ВПЧ-носительства (латентные формы ПВИ) и кольпоскопически визуализируемой патологии вульвы, влагалища и шейки матки (субклинические формы ПВИ), проанализировать пятилетнюю динамику этой патологии в регионе в зависимости от географии, возраста и социальных данных. За 5 лет количество носителей вируса увеличилось в 1,7 раза, а субклинических форм возросло в 5,1 раза (рис. 3.1).

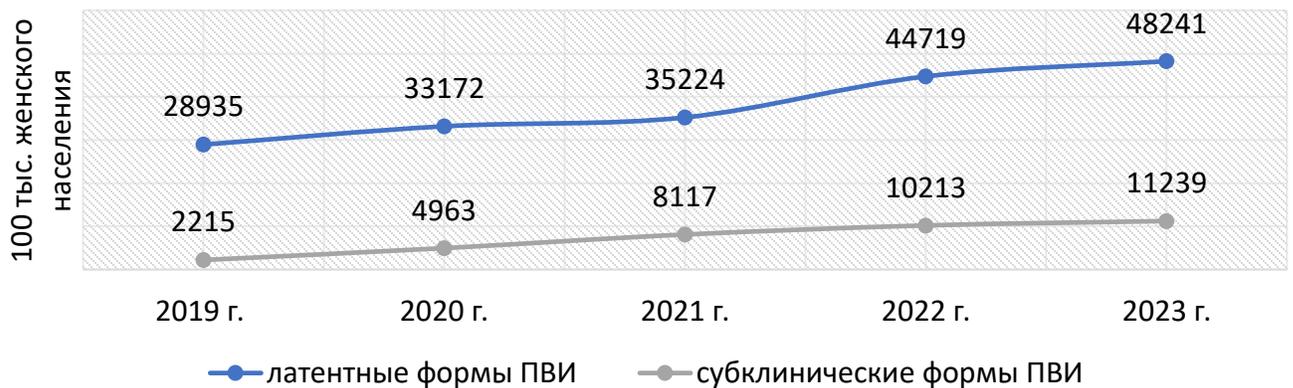


Рисунок 3.1 — Динамика показателей латентных и субклинических форм ПВИ в Краснодарском крае

Данные показатели, по нашему мнению, хотя и косвенно связаны с увеличением ВПЧ-инфицированности населения и низким уровне первичной профилактики в регионе, но, в большинстве случаев, говорят об улучшении выявляемости данной инфекции в регионе за счет оптимизации мониторинга пациенток с урогенитальными

инфекциями, кольпоскопического скрининга, повышения профессионального уровня специалистов не только в центре, но и в регионах. В дальнейшем это должно позволить выявлять ВПЧ-инфекцию на ранних стадиях, проводить необходимые мероприятия по вторичной профилактике рака вульвы и шейки матки с динамическим наблюдением и своевременным скринингом.

При сопоставлении данных о распространённости ВПЧ и обнаружении «скрытых» форм папилломавирусной инфекции среди жителей города и села в определённом регионе была обнаружена существенная связь с местом проживания женщин — в городах она была достоверно ($p < 0,05$) выше. В 2019 году в городах доля латентных и субклинических форм ПВИ составила соответственно 19017 и 1453 случаев на 100000 женского населения, а в сельской местности — 9918 и 762 (табл. 3.1). При этом за последние 5 лет все более нивелируется разница в детекции вышеназванных форм папилломавирусной инфекции и в 2023 г. количество выявленных латентных и субклинических форм ПВИ в городе составило уже 30134 и 18106 случаев, а на селе — 7836 и 3403 соответственно.

Таблица 3.1 — Детектированные латентные и субклинические формы ПВИ среди городских и сельских женщин Краснодарского края

на 100000 женского населения		2019 г.	2020 г.	2021 г.	2022 г.	2023 г.
латентные формы ПВИ	город	19017	21538	21139	26004	30134
	село	9918	11634	14085	18715	18106
субклинические формы ПВИ	город	1453	3171	5826	7031	7836
	село	762	1792	2291	3182	3403

В городах выявлено $23566,4 \pm 2223,4$ случаев латентных форм ПВИ, а в сельской местности — $14491,6 \pm 1643,6$ случаев, что в 1,6 раза меньше, субклинических форм соответственно $5063,4 \pm 1276,6$ и $2286,3 \pm 528,2$ (в 2,2 раза ниже) (рис. 3.2). Увеличение числа выявленных случаев ПВИ может указывать на обнаружение признаков инфекции на ранних этапах, что требует их активного мониторинга и своевременной вторичной профилактики.

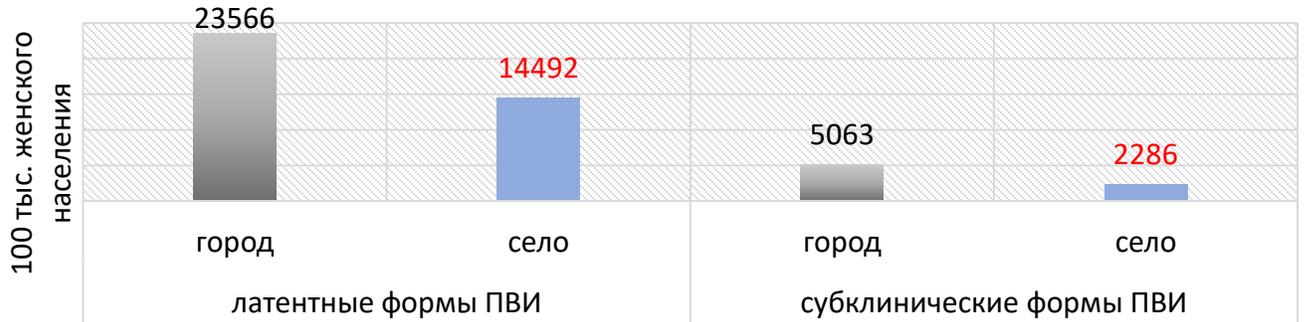


Рисунок 3.2 — Медиана (\bar{x}) латентных и субклинических форм ПВИ в Краснодарском крае (город — село) (2019-2023 гг.)

Это может предотвратить переход инфекции в неконтролируемое состояние. Относительно небольшое количество диагностированных случаев ПВИ в сельской местности может быть связано как с нехваткой современного медицинского оборудования и квалифицированных кадров, так и с низкой обращаемостью населения за медицинской помощью.

Исследование, проведённое в Краснодарском крае, показало, что у женщин, которые являются латентными носителями ВПЧ или имеют субклинические формы ПВИ, заражение происходит в основном в начале половой жизни.

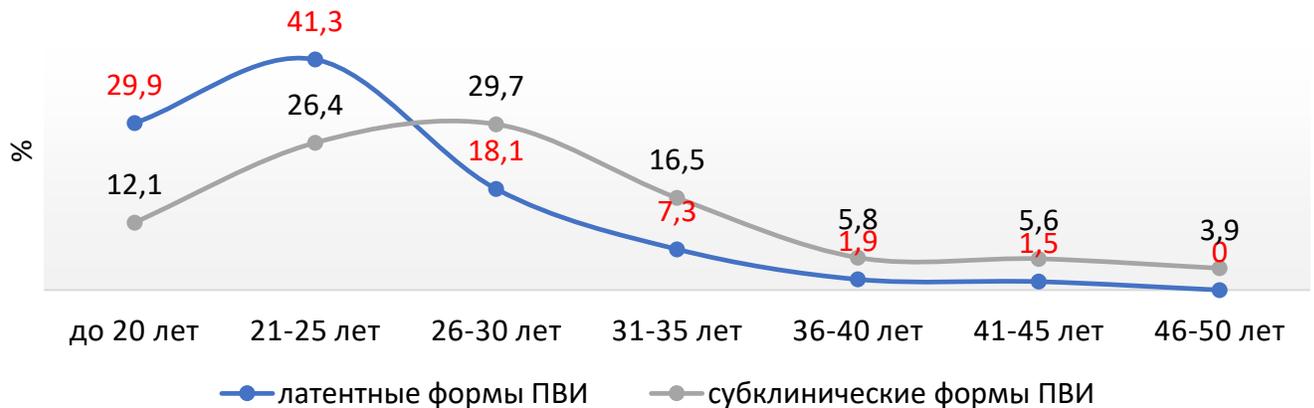


Рисунок 3.3 — Данные о распространённости латентных и субклинических форм ПВИ в Краснодарском крае в зависимости от возраста (медиана за 5 лет)

Персистирующие формы ПВИ в основном обнаруживается в возрастной период 18-25 лет — 71,2% латентных и 38,5% — субклинических (при этом разница между возрастными показателями этих двух форм ПВИ была достоверной — $\chi^2=9,16$;

$p=0,096$). С возрастом количество как латентных, так и субклинических форм ПВИ постепенно снижается, и к 26–30 годам в среднем достигает $23,9 \pm 5,8$ (пик их обнаружения женщин с субклиническими формами ПВИ — 26–30 лет — 29,7%) (рис. 3.3).

При оценке статуса женщин региона не выявлено различий ($p > 0,05$) по социальному статусу ($\chi^2=3,866$; $p=0,074$), семейному положению ($\chi^2=0,098$; $p=0,28$) и уровню образования ($\chi^2=4,331$; $p=0,062$) между группами (табл. 3.2).

Таблица 3.2 — Социальный «портрет» женщин с латентными и субклиническими формами ПВИ

показатели		латентные формы ПВИ (n=48241)		субклинические формы ПВИ (n=11239)		χ^2 (p)
		n	%	n	%	
семейное положение (замужем)		24699	51,2	5294	47,1	0,098 (0,28)
социальный статус	рабочая	2943	6,1	1158	10,3	0,624 (0,31)
	служащая	11337	23,5	2664	23,7	0,014 (0,74)
	учащаяся	15534	32,2	2383	21,2	1,872 (0,12)
	д/х	18428	38,2	5035	44,8	0,378 (0,44)
образование	среднее	11385	23,6	3619	32,2	1,036 (0,16)
	средне-специальное	14520	30,1	2484	22,1	0,938 (0,21)
	н/з высшее	12350	25,6	2428	21,6	0,19 (0,46)
	высшее	9986	20,7	2709	24,1	0,128 (0,53)

Специфик менструального цикла в группах не обнаружено, при этом значение интервала времени «возраст менархе/половой дебют» составило в группах — 3,0 (2,0–5,0) лет. Моногамность (один половой партнер) в группе вирусоносителей встречалась у 58,4% женщин, а в группе с субклиническими формами — в 56,9% (разница недостоверна; $p > 0,05$) (табл. 3.3).

Таблица 3.3 — Сексуальное поведение женщин в группах

показатели	латентные формы ПВИ (n=48241)	субклинические формы ПВИ (n=11239)	χ^2 (p)
------------	-------------------------------	------------------------------------	--------------

		п	%	п	%	
половой дебют (лет)	до 15	1109	2,2	348	3,1	>0,05
	15-18	28800	59,7	7148	63,6	0,068 (0,64)
	19-22	15871	32,9	3383	30,1	0,052 (0,72)
	старше 23	2508	5,2	360	3,2	>0,05
количество половых партнеров	1	21183	58,4	6395	56,9	0,002 (0,88)
	2	17608	36,5	4248	37,8	0,002 (0,88)
	3 и более	2460	5,1	596	5,3	0,062 (0,69)

Никотиновая зависимость выявлена у 20,8% ВПЧ-носителей и у 26,9% женщин с субклиническими формами. Обращает на себя внимание возрастающее с каждым годом использование для курения альтернативных способов (аналоги электронных сигарет, «стики» и др.), которые в обеих группах достигают до $53,7 \pm 4,1\%$ (в открытых научных источниках почти нет информации о том, как эти альтернативные методы курения влияют на развитие и реализацию ПВИ). Хотя, по нашему мнению, альтернативные способы курения можно рассматривать, как кофактор активации белков, ответственных за неопластическую трансформацию клеток и, соответственно, прогрессии вирусного поражения.

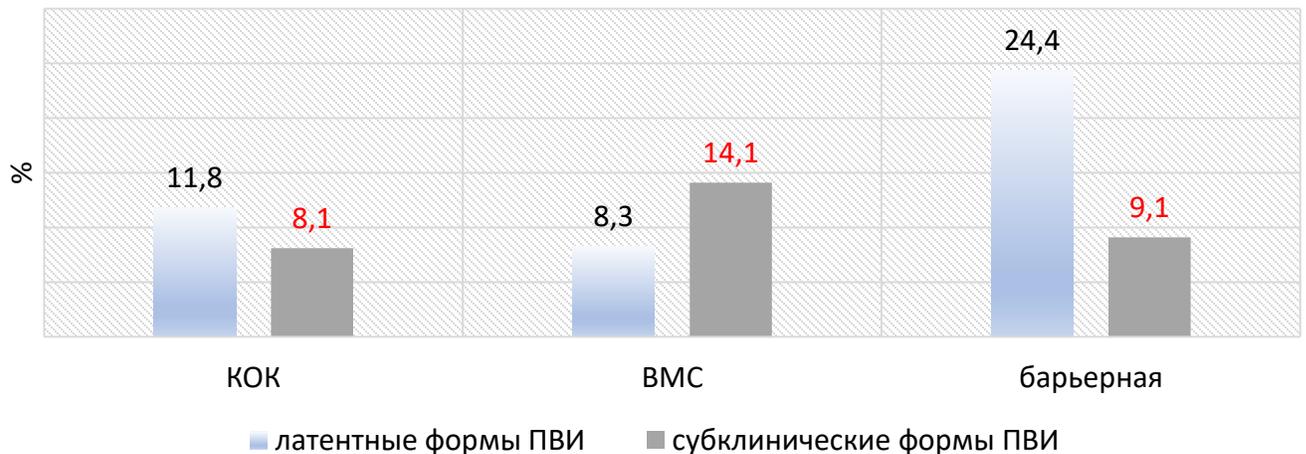


Рисунок 3.4 — Контрацепция женщин в группах

Среди женщин с латентными и субклиническими формами ПВИ 44,1% и 31,3% соответственно применяли средства контрацепции: из них 11,6% и 8,1% использовали

гормональные методы, 8,1% и 14,1% — внутриматочные, а 24,4% и 9,1% — барьерные (презервативы) (рис. 3.4).

Данный анализ свидетельствует, что Краснодарский край относится к регионам с высоким уровнем персистенции среди населения вируса папилломы человека, а также высоким уровнем заболеваемости, ассоциированной с ним патологией нижнего отдела женских гениталий. При этом ВПЧ-инфицирование чаще происходит с половым дебютом и является серьезным фактором, способствующим реализации в дальнейшем (через 5–10 лет) неопластических процессов.

3.1.2. Эпидемиологический анализ заболеваемости цервикальными интраэпителиальными неоплазиями в Краснодарском крае

Также был проведен анализ статистических данных за пятилетний период (2019–2023 гг.) — количество женщин с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями в Краснодарском крае. Проанализирована демографическая ситуация, изучены показатели и структура заболеваемости женского населения CIN. Рассчитаны показатели: уровень заболеваемости CIN среди женского населения Краснодарского края; динамика частоты заболеваемости CIN за 5 лет; возрастные показатели заболеваемости CIN. Объем исследования: 75335 случаев заболевания CIN.

За 5 лет количество женщин Краснодарского края, у которых диагностирована цервикальная интраэпителиальная неоплазия, остается примерно на одном уровне (рис 3.5). В подавляющем большинстве первично диагностируются CIN легкой степени ($10145,4 \pm 735,2$ случаев на 100 тысяч женского населения), CIN II в среднем за 5 лет диагностирован в $3710,8 \pm 314,6$, а CIN III — в $1210,8 \pm 174,1$ случаев на 100 тысяч женского населения (рис 3.6). Анализ данного показателя позволяет сделать вывод о развитии в стране, и, в частности, в Краснодарском крае, клинических подразделений, специализирующихся на патологии шейки матки. Функционирование данных кабинетов обеспечивает возможность осуществления цервикального скрининга, что способствует ранней диагностике цервикальной интраэпителиальной неоплазии.

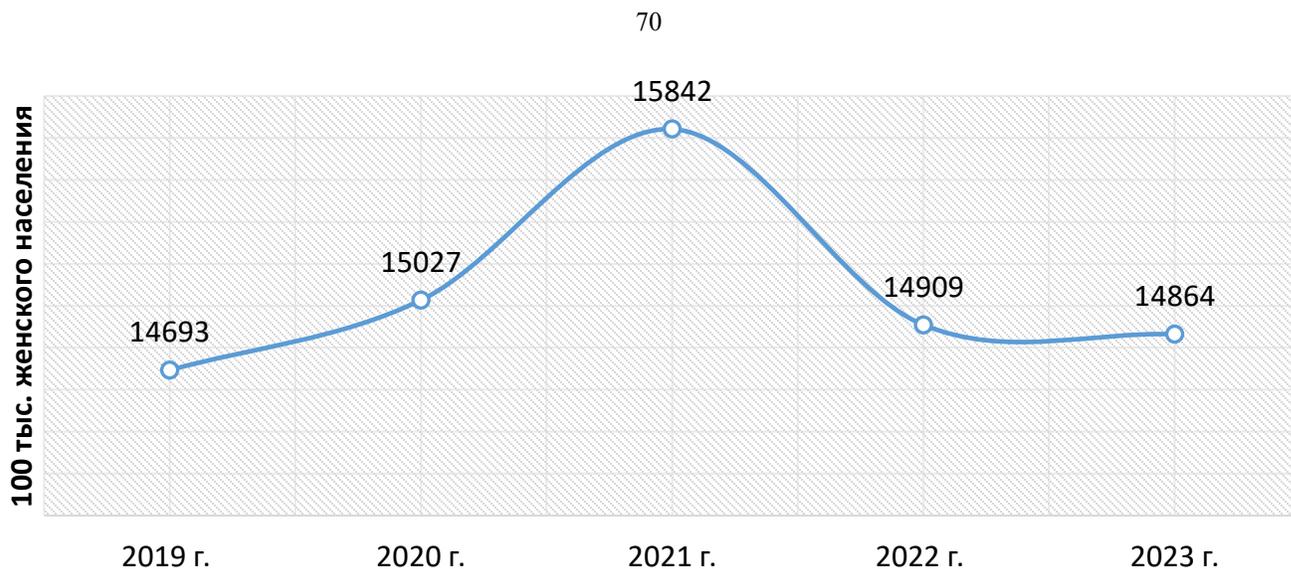


Рисунок 3.5 — Динамика показателей заболеваемости CIN в регионе

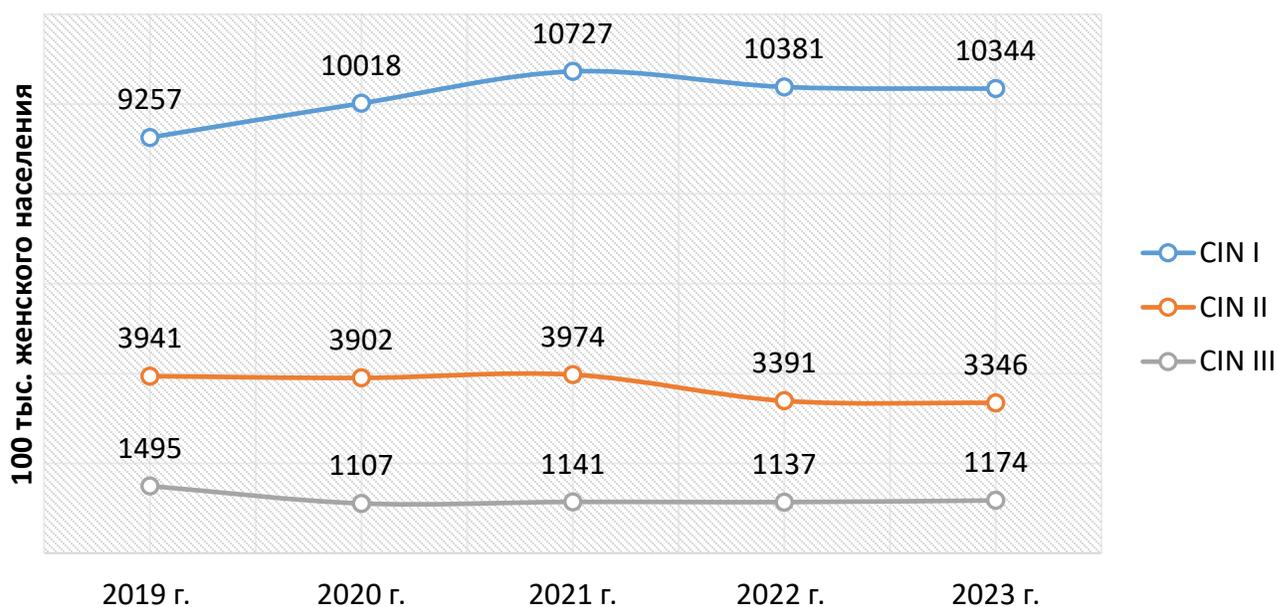


Рисунок 3.6 — Динамика показателей заболеваемости CIN разной степени тяжести в регионе

Одновременно с этим, данная ситуация коррелирует с недостаточным уровнем первичной профилактики ВПЧ-инфекции в региональном масштабе. Однако, наблюдаемая стабилизация распространенности CIN служит основанием для осторожного оптимизма в отношении прогноза заболеваемости раком шейки матки.

Анализ заболеваемости и CIN в регионе в возрастном аспекте дал следующие результаты (рис. 3.7). Результаты исследования показали, что максимальная частота

обнаружения цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) наблюдается в возрастной когорте 26-35 лет (среднее значение — 34,9 года). Медианный возраст пациенток с CIN был определен как $27,6 \pm 2,9$ года. Таким образом, латентный период от инфицирования вирусом папилломы человека (ВПЧ) до развития CIN составляет в среднем $5,4 \pm 1,2$ года.

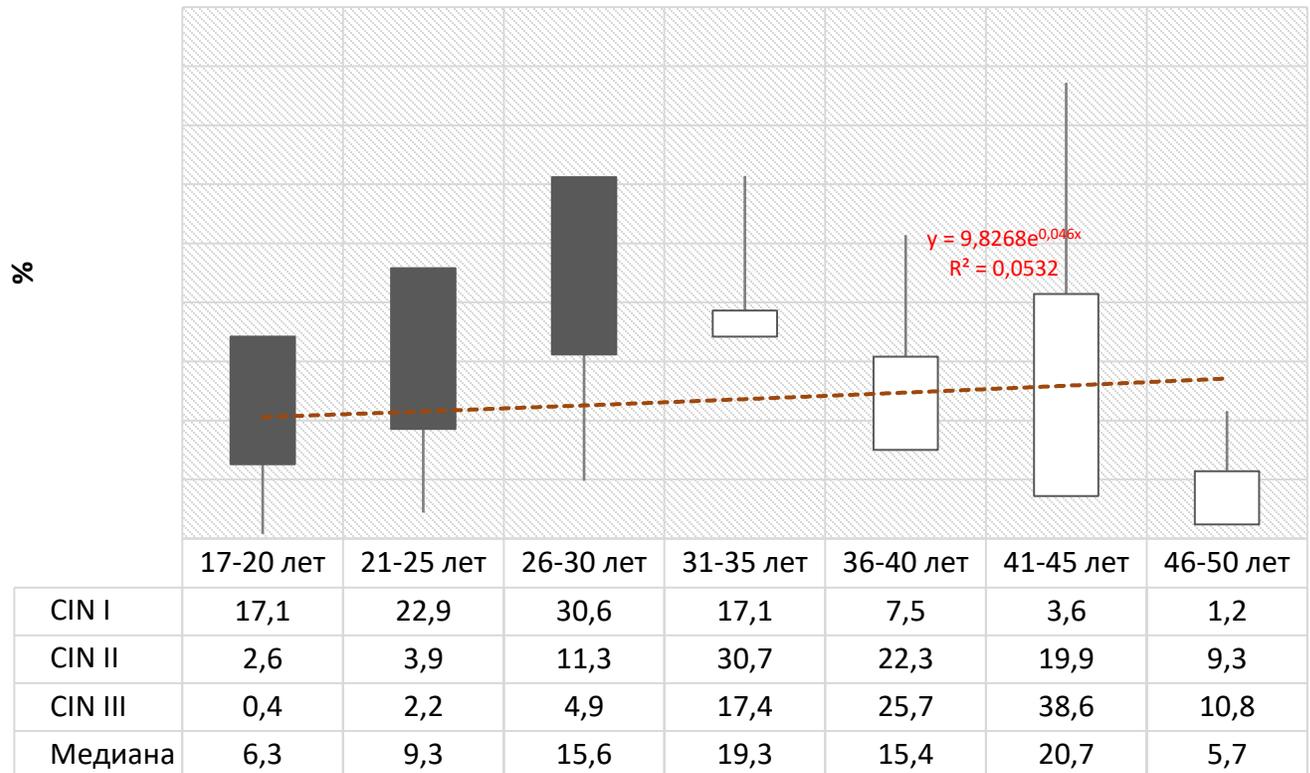


Рисунок 3.7 — Повозрастная оценка детекции CIN различной степени тяжести в регионе (в среднем за 5 лет)

Эпидемиологический анализ свидетельствует о том, что Краснодарский край входит в число регионов с повышенной заболеваемостью цервикальными интраэпителиальными неоплазиями, этиологически связанными с ВПЧ. При этом первичная инфекция ВПЧ, часто приобретаемая с началом половой активности, является основным предиктором развития цервикальной патологии в последующем (через 5-10 лет).

3.1.3. Территориальное картографирование латентных и субклинических форм папилломавирусной инфекции (Краснодарский край)

Для оценки особенностей географического распространения латентных и субклинических форм ПВИ на административных территориях региона были определены эти показатели для женского населения каждого населенного пункта и района края (2019-2023 гг.), а картографический анализ коэффициентов пространственного распределения позволил установить 5 уровней риска заболеваемости ВПЧ-ассоциированной патологией шейки матки.

В крае можно выделить пять групп районов, которые отличаются по количеству зарегистрированных случаев ПВИ (Боровиков И.О., Куценко И.И., Горринг, Х.И. и соавт., 2022, 2023): «в первую группу входят три района, где уровень латентных и субклинических форм ПВИ низкий — до 15000 на 100000 женского населения (эти районы можно считать «благоприятными»); во вторую — девять районов, где уровень ПВИ ниже среднего по региону — от 15000 до 20000 (эти районы можно отнести к «удовлетворительным»); третья группа включает 12 районов со средним уровнем ПВИ — от 20000 до 30000 (эти районы можно считать «напряжёнными»); четвёртая группа состоит из 14 районов, где уровень ПВИ выше среднего — от 30000 до 40000 (эти районы можно отнести к «острым»); пятая группа включает восемь районов с высоким уровнем ПВИ — от 40000 и выше (эти районы можно считать «критическими»)» [17, 20].

Картограмма помогает оценить особенности территориального распространения изучаемых форм ПВИ в регионе одновременно демонстрируя неравномерность распространения по регионам, с четким выделением северной и, особенно, южной зоны высокого риска заболевания (входят 21 район края). Данные регионы развитой химической промышленностью и сельским хозяйством и (север), а также захватывают курортную (южную) зону (повышенная концентрация сексуально активного населения) (рис. 3.8).

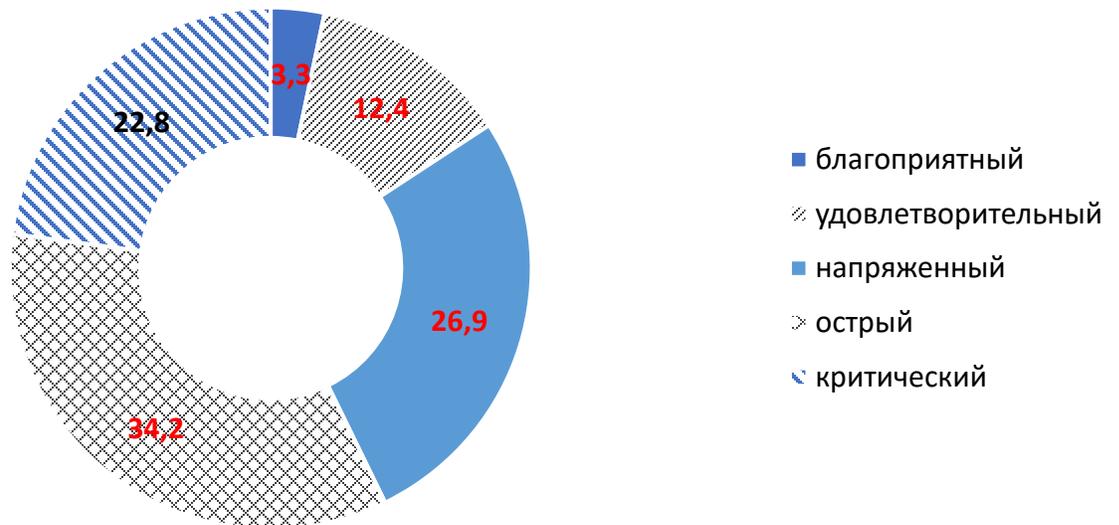


Рисунок 3.8 — Зоны распространённости латентных и субклинических форм ПВИ у женщин Краснодарского края (%)

Проведенный анализ с применением геоинформационного подхода и картирования местности со стратификацией территории региона по уровню риска заболеваемости ВПЧ-индуцированной патологией, позволил сформировать 3 distinct-зоны, демонстрирующие повышенный риск заболеваемости: «I (центральная) зона, включающая 14 районов, расположенных к востоку и югу от центральной части региона, включая Краснодар; II (западная) зона — 3 района; III (северная) зона — 4 района. В общей сложности из 45 районов Краснодарского края в зоны риска попали 18 районов, что составляет 40,0% территории края» [17, 20].

3.1.4. Анализ вагинального микробиома у пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ

Проанализированы данные 7004 медицинских карт пациенток Краснодарского края с латентным ВПЧ-носительством, а также 1782 — с субклиническими формами ПВИ (двукратный забор материала в течение полугодового мониторинга) (табл. 3.4, рис 3.9).

Таблица 3.4 — Распространенность разных видов вируса папилломы человека в регионе

показатели		латентные формы ПВИ (n=7004)		субклинические формы ПВИ (n=1782)		χ^2 (p)
		п	%	п	%	
ВПЧ высокого онкогенного риска	16 тип	1793	25,6	829	46,5	5,492 (0,021)*
	18 тип	1217	17,4	711	23,1	0,546 (0,61)
	31 тип	292	4,2	228	12,8	3,398 (0,059)
	33 тип	216	3,1	94	5,2	>0,05
	35 тип	925	13,2	186	10,4	0,138 (0,88)
	39 тип	181	2,6	73	4,1	>0,05
	45 тип	259	3,7	89	5,0	>0,05
	51 тип	806	11,5	504	28,3	6,272 (0,019)*
	52 тип	821	11,7	293	16,4	0,486 (0,74)
	56 тип	313	4,7	58	3,2	>0,05
	58 тип	270	3,8	35	2,0	>0,05
	59 тип	143	2,0	41	2,3	>0,05
	68 тип	197	2,8	49	2,7	>0,05
ВПЧ низкого онкогенного риска	6 тип	2209	31,5	806	45,2	2,102 (0,16)
	11 тип	3138	44,8	593	33,3	0,938 (0,19)
	42 тип	426	6,1	51	2,9	>0,05
	43 тип	164	2,3	43	2,4	>0,05
	44 тип	207	2,9	49	2,7	>0,05

*Примечание — разница между группами достоверна ($p < 0,05$)

В ходе исследования было выявлено преобладание у наших пациенток высокоонкогенных типов ВПЧ: 16-го (25,6% латентные и 46,5% субклинические формы — $\chi^2=5,492$; $p=0,0021$ — разница между группами значима), 18-го (17,4% и 23,1% — $\chi^2=0,546$; $p=0,61$) и 51-го (11,5% и 28,3% соответственно — $\chi^2=6,272$; $p=0,019$). Эти типы ВПЧ встречались как самостоятельно, так и в различных комбинациях у 65,2% (4630/7004) носителей вируса и у 83,9% (2044/1782) пациенток с субклиническими формами ПВИ ($\chi^2=2,102$; $p=0,092$ — разница между группами не

значима).



Рисунок 3.9 — ВПЧ высокого и низкого канцерогенного риска при латентных и субклинических формах в Краснодарском крае

Оценка инфицированности другими генитальными инфекциями у наших пациенток показала, что у 81,7% женщин-ВПЧ-носителей и у 90,1% с субклиническими формами обнаружены нарушения вагинальной микробиоты с преобладанием условно-патогенной микрофлоры.

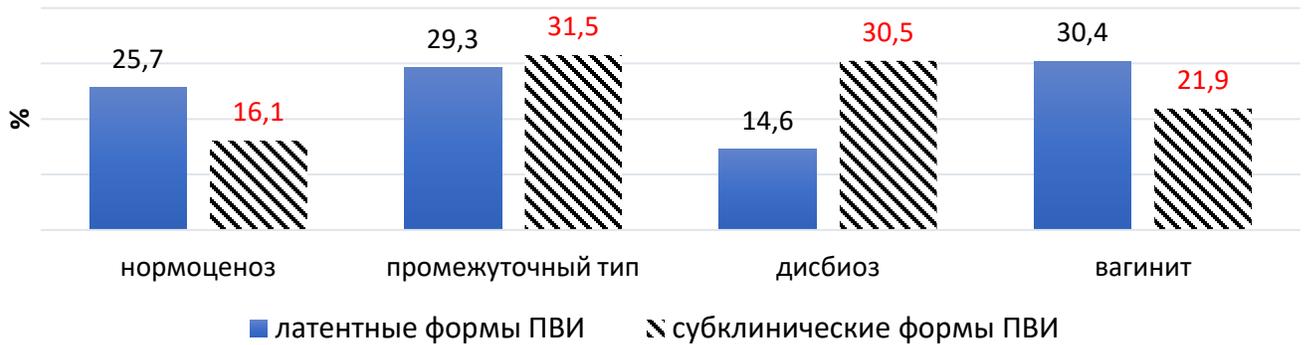


Рисунок 3.10 — Микробиологическая характеристика пациенток (классификация Е.Ф. Кира, 2001)

Результаты микроскопии вагинальных мазков показали, что при субклинических формах ПВИ количество пациенток с вагинальным нормоценозом было в 1,5 раза ниже, чем случае латентного носительства ВПЧ (16,1 и 25,7% соответственно), а влагалищных дисбиозов снижено в два раза при латентном ВПЧ-носительстве по сравнению с субклиническими формами ПВИ: в первом случае процент заболеваемости составляет 14,6%, тогда как во втором — 30,5% (рис. 3.10).

3.1.5. Прогноз количества случаев возникновения цервикальных неоплазий, связанных с вирусом папилломы человека, в Краснодарском крае

Прогнозирование предполагает необходимость планирования уровня заболеваемости — в качестве основы используются расчётные данные о предполагаемой географической, половой и возрастной структуре населения региона (данные Краснодарского краевого статистического управления). Были рассчитаны показатели заболеваемости ВПЧ-ассоциированной с патологией шейки матки на 2024–2025 гг. (95% вероятная оценка). Прогноз был сделан на основе информации за период с 2018 по 2023 год, при этом предполагалось, что до этого момента сохранится тенденция к постепенному росту числа заболевших — так называемая «прямолинейная тенденция динамики заболеваемости» с использованием экстраполяции и выравниванием динамического ряда, что позволило определить закономерности, скрытые под действием случайных факторов. Сравнение расчетных годовых показателей ВПЧ-ассоциированной патологии шейки матки среди женщин Краснодарского края в 2024–2026 гг., путем экстраполяции тренда показателей заболеваемости субклиническими формами папилломавирусной инфекции и ВПЧ-носительства в 2018–2023 гг., доказало эффективность применения модели прогнозирования ($R^2 < 0,05$) (рис. 3.11-3.13).



Рисунок 3.11 — Латентные формы ПВИ в Краснодарском крае

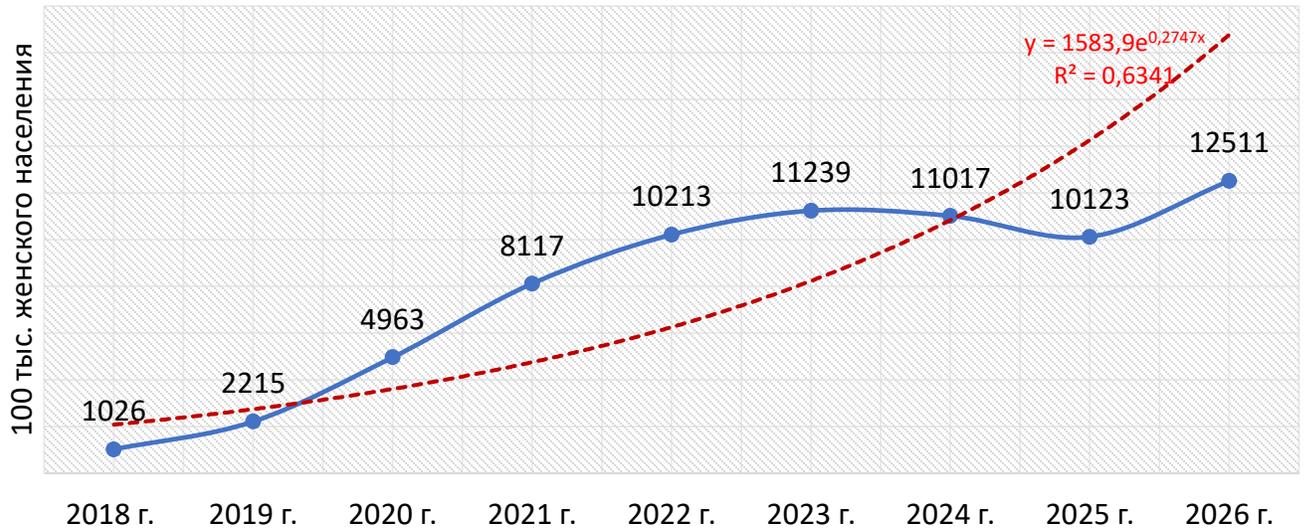


Рисунок 3.12 — Субклинические формы ПВИ в Краснодарском крае

Исследование демонстрирует, что в период с 2024 по 2026 год можно ожидать некоторого роста числа случаев заболеваний, связанных с вирусом папилломы человека ($R^2=0,133-0,7443-0,5373$). Это связано, во-первых, с тем, что уже выявленные случаи заболевания проходят скрининг, а во-вторых, с текущей эпидемиологической и социальной ситуацией (рис. 3.13).

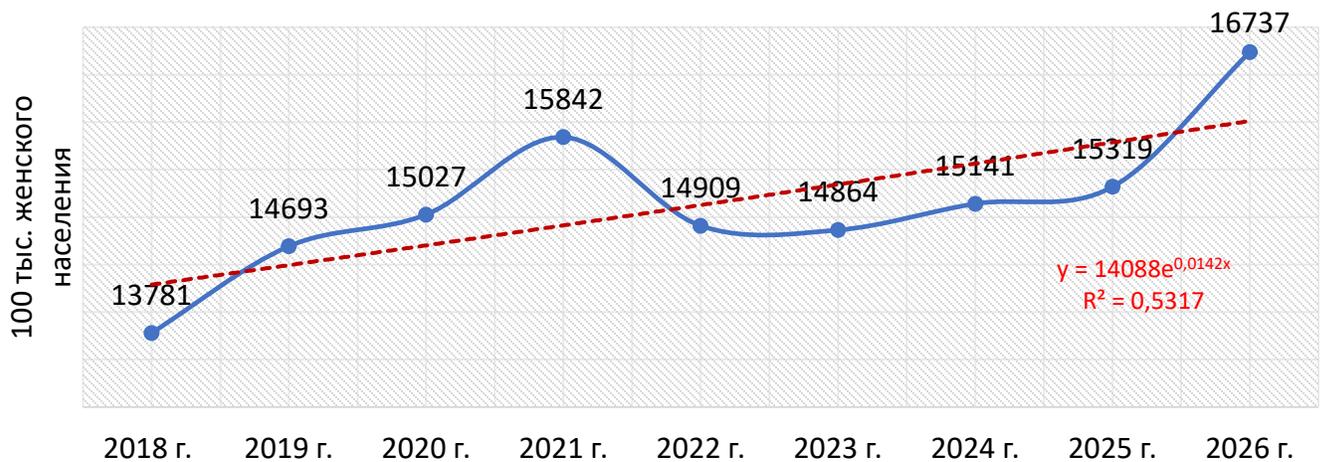


Рисунок 3.13 — ВПЧ-ассоциированные заболевания (CIN I-III) в Краснодарском крае

С целью прогноза развития возможной реализации персистирующих форм ПВИ в CIN, мы изучили ряд показателей с созданием таблицы, позволяющей оценить данную вероятность (см. приложение 1-2). Рассчитаны диагностические коэффициенты (ДК) — метод последовательного анализа Вальда: «(ДК=10LgP 1/P 2);

где ДК — диагностический коэффициент; P_1 — относительная частота признака при первом верифицируемом состоянии, выраженная в долях единицы (ДЕ); P_2 — при втором состоянии» [https://vuzlit.com/2242287/posledovatelnyy_analiz_kriteriy_valda]. Информативность — формула дивергенции Кульбака-Лейблера (оценка степени различия между распределениями): « $J = ДК \times \frac{1}{2}(P_1 - P_2)$; где J — информативность; P_1 — относительная частота признака при первом верифицируемом состоянии; P_2 — при втором состоянии» [<https://ru.statisticseasily.com>]. Это исследование позволило выявить наиболее значимые показатели для прогнозирования развития неопластических процессов в шейке матки: «при значениях ДК от -16 до +12 бит можно ожидать благоприятного исхода, то есть отсутствие перехода ВПЧ-носительства в CIN. При значениях ДК от +13 до +23 бит вероятность такого перехода составляет 95%, а при значениях ДК более +23 бит — 99%» (Куценко И.И., Боровиков И.О., Горринг Х.И. и соавт., 2022, 2023) [13, 15, 17, 47].

В ходе дальнейшего исследования в таблицу были добавлены молекулярно-биологические и индикаторы ВПЧ-ассоциированной неоплазии (иммуногистохимические маркеры экспрессии и апоптоза) (приложение 1-2). При этом целесообразность использования одной из представленных таблиц диктуется возможностями клинической лаборатории учреждения, где наблюдается пациентка и экономической составляющей.

3.1.6. Вакцинация против вируса папилломы человека в Краснодарском крае

Программа первичной профилактики рака шейки матки, включающая вакцинацию против ВПЧ, не входит в национальный и региональный календарь прививок, поэтому не проводится бесплатно. Также в социальных сетях активно распространяется информация, направленная против вакцинации, что препятствует эффективной профилактике рака, вызванного ВПЧ. Именно эти факторы объясняют неутешительную статистику вакцинации против ВПЧ в регионе (рис. 3.14). Анализ данных о количестве привитых девушек в регионе за последние 12 лет показал, что динамика была нестабильной, с заметным ростом в период с 2015 по 2018 год.

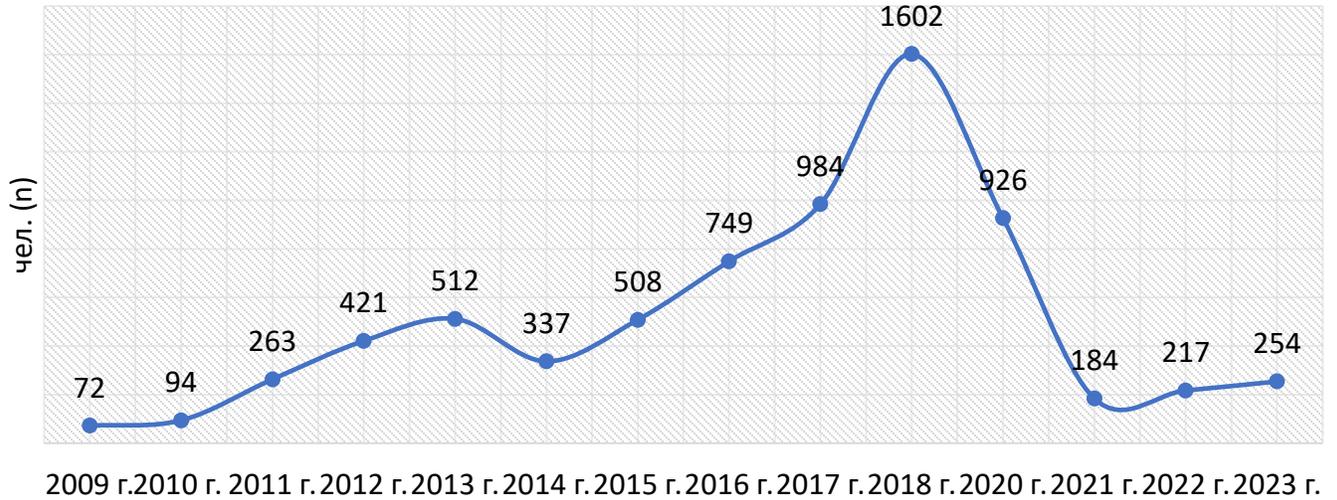


Рисунок 3.14 — Динамика ВПЧ-вакцинации в Краснодарском крае

В 2018 году было зафиксировано наибольшее количество вакцинированных — 7123 человека, после этого число вакцинированных начало снижаться, что, вероятно, связано с ограничениями, введёнными в период пандемии COVID-19. Всего за 14 лет от ВПЧ привились 6523 человека, что составляет 0,24% от общего числа женщин в регионе.

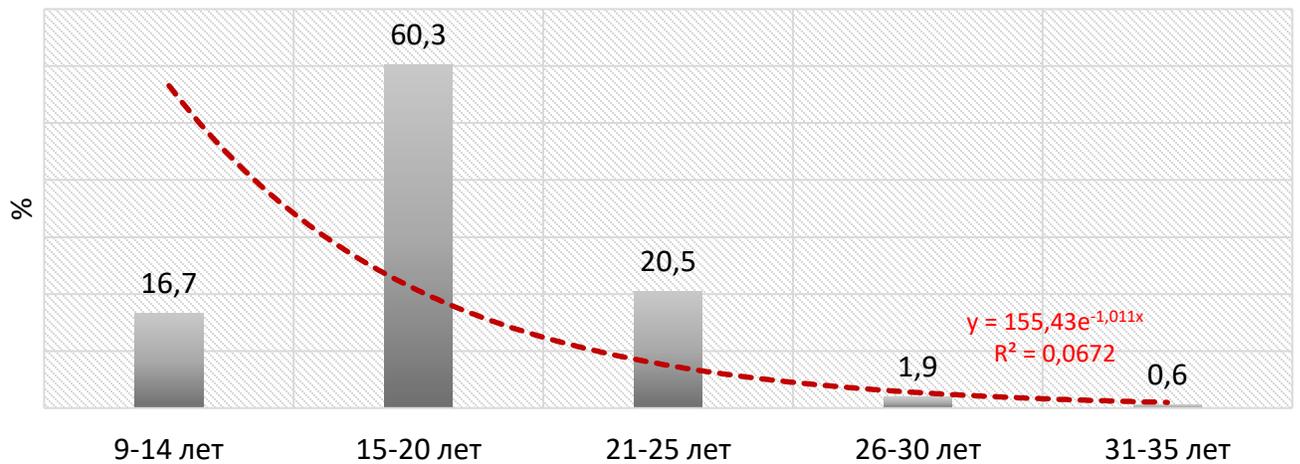


Рисунок 3.15 — Возрастные группы вакцинированных (медиана 2009–2023 гг.)

Анализ возрастного распределения вакцинированных выявил преобладание лиц в возрасте 15-20 лет (77,0%). Вместе с тем наблюдается тенденция к увеличению доли вакцинированных в возрастных группах 9–14 лет (с 16,7% до 22,3%) и 26–30 лет (с 1,9% до 8,2%) (рис. 3.15).

Все мероприятия, проводимые на настоящем этапе недостаточны и малоэффективны, с учетом непрерывного роста больных цервикальными неоплазиями и раком шейки матки.

Полученные данные свидетельствуют о недостаточном уровне профилактики ВПЧ-ассоциированных заболеваний у женщин в Краснодарском крае, что характерно для большинства регионов Российской Федерации. Особую тревогу вызывает ситуация с первичной профилактикой, в частности, с охватом населения вакцинацией против ВПЧ, что требует, в первую очередь, изменения административной стратегии и включения вакцинации против ВПЧ в национальные и региональные календари прививок. По моему мнению, скорая сертификация отечественной вакцины против ВПЧ существенно ускорит этот процесс.

3.2. Результаты проспективного исследования

3.2.1. Клинический и цитоморфологический анализ пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции

В поле нашего внимания находились 216 женщин с латентной формой и 232 с субклинической формой ПВИ (код по МКБ-Х — А63.0). В разделе «Материалы и методы исследования» мы подробно описали социально-анамнестический статус участниц исследования.

До составления клинического «портрета» пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ проводилась оценка анамнестических провоцирующих факторов, при этом у большинства женщин не выявлено связи ВПЧ-инфицирования ни с одним из них (331/448; 73,9%), другие (74/448; 16,5%) отмечали сочетание нескольких (рис. 3.16).

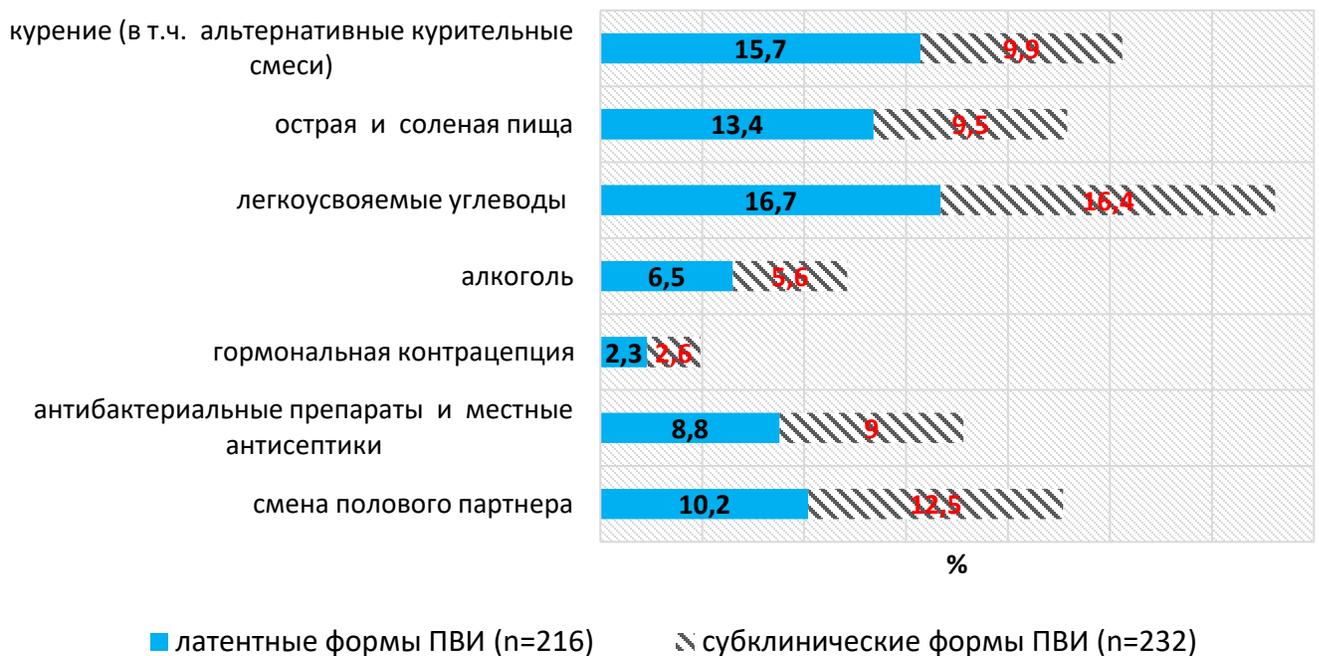


Рисунок 3.16 — Провоцирующие анамнестические факторы у женщин с латентными (n=216) и субклиническими (n=232) формами ПВИ

В случае отсутствия субъективной симптоматики латентных и субклинических ПВИ, связанных с сопутствующими заболеваниями, основное внимание уделялось симптомам, среди которых наиболее часто встречались нарушения вагинальной

микрофлоры с характерными клиническими проявлениями. Эти нарушения стали причиной обращения к специалисту у 25,4% пациентов с латентными формами ПВИ (55/216) и у 33,6% пациентов с субклиническими формами ПВИ (78/232). Среди анамнестических факторов, наиболее часто упоминались смена полового партнера — 22/216 (10,2%) — латентные и 29/232 (12,5%) — субклинические формы ПВИ ($\chi^2=0,074$; $p=0,64$), применение антибактериальных лекарственных средств — 19/216 (8,8%) и 21/232 (9,0%) ($\chi^2=0,036$; $p=1,02$), девиации пищевого и алкогольного поведения (в сумме — 79/216; 36,6% и 73/232; 31,4%) ($\chi^2=0,26$; $p=0,32$), а также курение — 34/216 (15,7%) и 22/232 (9,5%) ($\chi^2=1,074$; $p=0,09$).

Кроме того, в группах зарегистрирован, хоть статистически и не отличающийся от группы контроль, но все же более высокий индекс массы тела (ИМТ): средний вес в группе женщин с латентными формами ПВИ составил $74,3 \pm 5,7$ кг, а ИМТ $28,4 \pm 3,9$, с субклиническими формами — $77,1 \pm 5,5$ кг (ИМТ $29,2 \pm 3,7$), а в группе контроля — $59,6 \pm 3,8$ кг (ИМТ $24,8 \pm 2,5$).

В начале оценки клинического «портрета» проводился сбор жалоб с активным опросом. Клиническая картина у наших пациенток либо отсутствовала, либо, в большинстве случаев, не была выраженной.

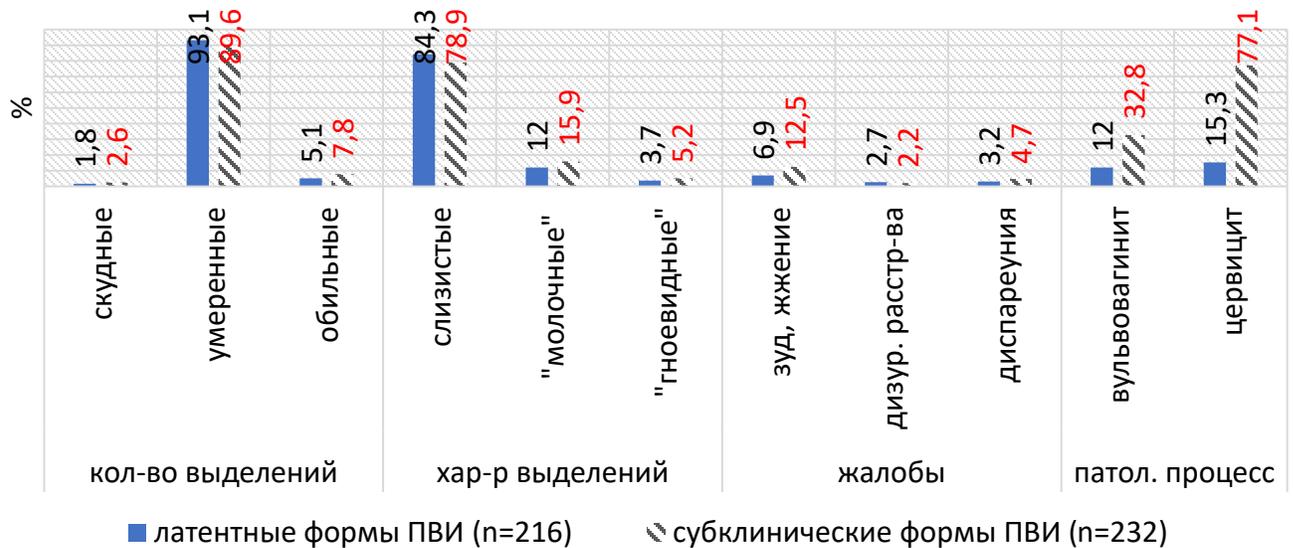


Рисунок 3.17 — Клиническая характеристика пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции

У 73,6% (159/216) латентных и 64,2% (149/232) субклинических форм ПВИ жалобы отсутствовали ($\chi^2=0,512$; $p=0,26$), у 11,1% (24/216) женщин с латентными и 15,1% (35/232) субклиническими формами жаловались на патологические бели различного характера ($\chi^2=0,344$; $p=0,19$) и 6,9% (15/216) и 12,5% (29/232) — ощущения в виде зуда, жжения ($\chi^2=1,09$; $p=0,08$), 3,2% (7/216) и 4,7% (11/232) диспареунии (рис. 3.17). При этом объективная картина часто не соответствовала предъявляемым жалобам — так при осмотре признаки вульвовагинита отмечены у 12,0% (26/216) исследуемых с латентными и 32,8% (76/232) субклиническими формами ПВИ ($\chi^2=8,75$; $p=0,006$), а цервицит — у большинства пациенток с субклиническими формами — 77,1% (179/232), при латентных формах — в 15,3% (33/216) ($\chi^2=40,006$; $p=0,0004$). При кольпоскопии признаки, характерные для вагинита и цервицита, наблюдались у большинства женщин двух групп — 37,5% (81/216) при латентных и 93,1% (216/232) при субклинических формах ПВИ с достоверно большим количеством в последней группе ($\chi^2=22,826$; $p=0,0009$).

Pap-Smear test проводился для подтверждения диагноза субклинической формы ПВИ. При этом у женщин с латентной формой ПВИ на фоне отсутствия атипической (койлоцитарной) трансформации эпителиальных клеток слизистой шейки матки в 31,5% (68/216) случаев результаты цитологического исследования были в пределах нормы (NILM), в 67,6% (146/216) случаев — воспалительная реакция, а у 0,9% (2/216) — детекция ASC-US (рис. 3.18).

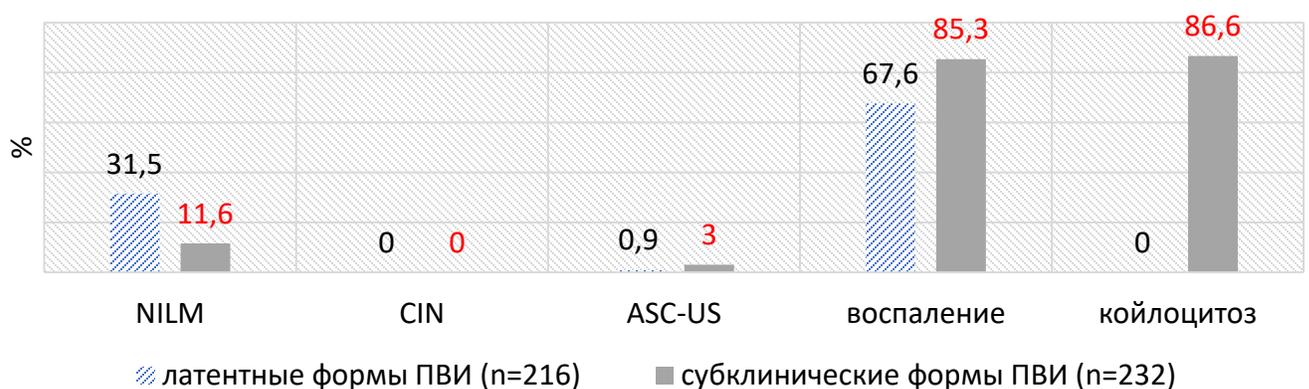


Рисунок 3.18 — Цитоморфология пациенток исследуемых групп

Анализ цитоморфологии эндоцервикса у пациенток с субклиническими формами ПВИ показал наличие атипичных клеток (койлоциты), характерных для ВПЧ — у 86,6% (201/232). Локализация соскоба и степень зоны трансформации определяли попадание в материал неизмененных клеток многослойного плоского и цилиндрического эпителия, свидетельствующих о хроническом воспалении. Анализ биоптатов экзо- и эндоцервикса также установил, что основным морфологическим субстратом субклинических форм ПВИ был цервицит, по-видимому, смешанной бактериально-вирусной этиологии (85,3%; 198/232) ($\chi^2=1,824$; $p=0,07$), ASC-US детектировался у 3,0% (7/232) пациенток.

Проанализированные данные указывают на системное воздействие ВПЧ на организм и свидетельствуют о совокупности социо-клинических факторов, которые повышают вероятность перехода доклинических форм ПВИ в клинически манифестную стадию.

3.2.2. Результаты вирусологического анализа латентных и субклинических форм папилломавирусной инфекции

Оценка персистирования ВПЧ — двукратная детекция одного и того же типа ВПЧ высокого онкогенного риска в течение шести месяцев. Подтверждено, что основными вирусными агентами ВПЧ-ассоциированной патологии шейки матки, являются ВПЧ ВКР, которые в исследуемых группах встречались в 72,4±5,8% (рис. 3.19–3.20).

В группах наиболее распространёнными были следующие типы ВПЧ: 16 (62,85±3,55%), 18 (21,3±2,8%), 6 (54,35±8,95%), 11 (35,1±4,1%), 31 (11,85±0,75%) и 51 (14,6±2,3%). В 56,35±7,1% образцов из шейки матки было обнаружено несколько видов ВПЧ (рис. 3.16). Статистически значимой разницы между группами по преобладанию того или иного вида ВПЧ не наблюдалось ($p>0,05$).



Рисунок 3.19 — Частота ВПЧ (в зависимости от онкогенного риска)

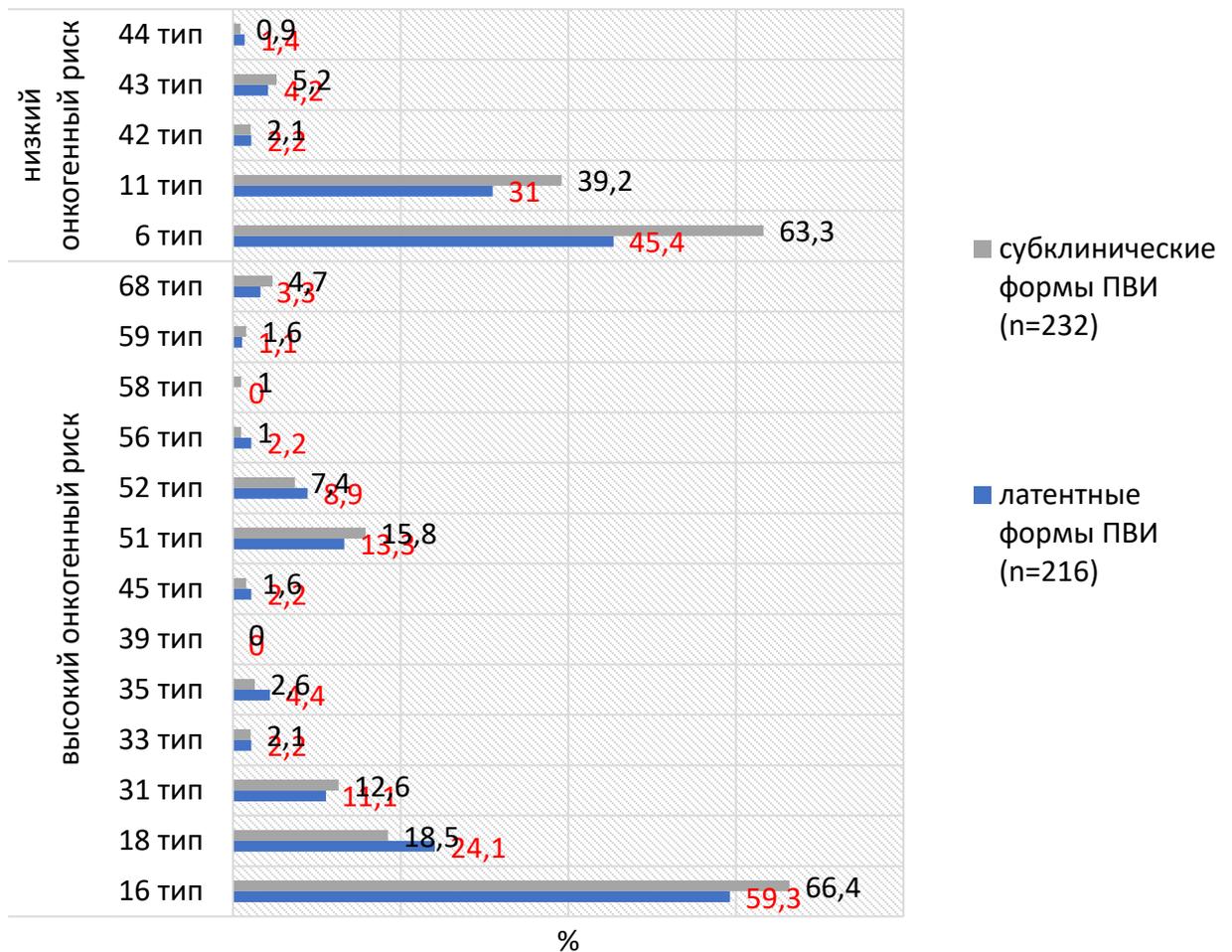


Рисунок 3.20 — Детекция вирусов папилломы человека в группах (ПЦР-тест)

Анализ вирусной нагрузки (ВН) ВПЧ ВКР 16, 18, 31 и 51 типов проведен 201 пациенткам (92 с латентной и 109 с субклинической формами ПВИ): высокая ВН для ВПЧ 16 установлена у $60,25 \pm 3,85\%$ пациенток двух групп ($\chi^2=0,628$; $p=0,11$); для ВПЧ

18 — в $47,45 \pm 3,95\%$ ($\chi^2=0,502$; $p=0,13$); ВПЧ 31 — в $28,5 \pm 1,9\%$ ($\chi^2=0,138$; $p=0,17$) образцов, без статистически значимой разницы между латентными и субклиническими формами ПВИ ($p>0,05$) (рис. 3.21).

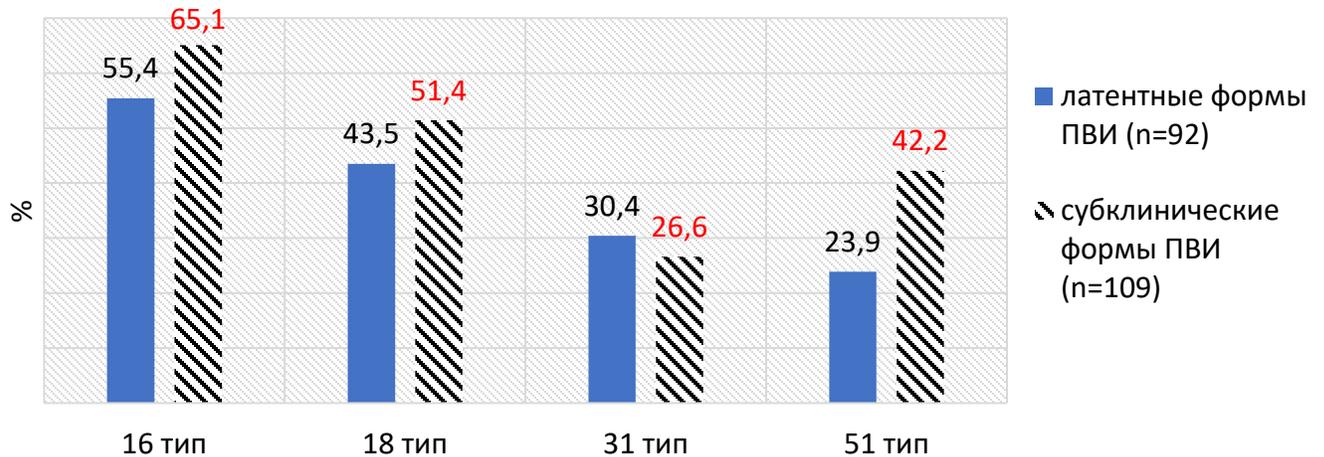


Рисунок 3.21 — Детекция высокой (≥ 5 lg) ВН ВПЧ

Для 51 типа высокая ВН определена в среднем в $33,05 \pm 9,15\%$ образцов с достоверной ($\chi^2=4,528$; $p=0,041$) разницей между группами (латентная форма — 23,9%, субклиническая — 42,2%).

Как показало наше исследование, переход латентных и субклинических форм ПВИ в клинически значимую форму неоплазии требует наличия высокой вирусной нагрузки, что подтверждает данные других авторов [4, 16, 32, 50, 94], при этом, в настоящее время, всё большее значение приобретают другие высококанцерогенные вирусы, такие как 31 и 51, что может утяжелить в дальнейшем клиническую картину (особенно при сочетании различных типов ВПЧ) и ускорить неопластические изменения в эпителиальных клетках нижнего отдела гениталий.

3.2.3. Интерпретация результатов иммуноцитохимического исследования пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции

Онкобелок E7

Количество пациенток обследованных на мРНК вирусного онкогена E7 16, 18 и 31 ВКР типов ВПЧ составило в двух группах $55,35 \pm 11,85\%$ ($p<0,05$) (43,5% (94/216) с

латентной и 67,2% (156/232) с субклинической формой ПВИ). Положительный тест зарегистрирован в этих группах в $12,15 \pm 5,75\%$ — в группе с субклинической формой их было в 2,8 раза больше (рис. 3.22).

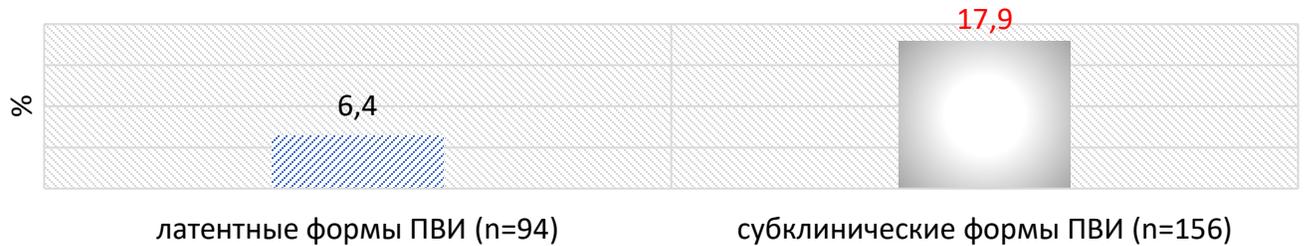


Рисунок 3.22 — Положительный тест на онкобелок E7 16, 18 и 31 типов в группах

Онкобелок E7 наиболее часто определялся при ВПЧ 16, 18 и 31 типов — $12,2 \pm 5,9\%$ и $10,1 \pm 5,05\%$ соответственно ($p < 0,05$) (табл. 3.5).

Таблица 3.5 — Экспрессия мРНК+ онкопротеина E7 у 16, 18 и 31 типов ВПЧ при латентных и субклинических формах ПВИ

показатели	ВПЧ 16 тип	ВПЧ 18 тип	ВПЧ 31 тип
	n (%)	n (%)	n (%)
латентные формы ПВИ (n=94)	5 (6,3)	4 (5,1)	1 (1,3)
субклинические формы ПВИ (n=156)	31 (18,1)	26 (15,2)	13 (7,6)
χ^2 (p)	4,78 (0,039)	4,078 (0,042)	—

В целом детекция онкобелка E7, с одной стороны, может свидетельствовать о длительности персистенции ВПЧ ВКР (чаще всего 16 и 18 типов), с другой — о неблагоприятном прогнозе перехода от персистенции вируса в клинические формы. При этом в настоящее время валидные тест-системы детекции онкобелков не распространены в клинической практике и требуют соответствующей доработки.

Экспрессия p53 и bcl-2

Гены p53 и bcl-2 являются одними из основных регуляторов запуска программы апоптоза, а мутации в гене p53, препятствуют его функционированию и ведут к гиперэкспрессии bcl-2, его тормозящего. Проведенное иммуноцитохимическое исследование экспрессии мутантного p53 (p53mut) в неизменном цервикальном эпителии латентных носителей ВПЧ (n=94) показали его отсутствие, а у пациенток с субклиническими формами ПВИ (n=156), частота его детекции хоть и составила

12,1±3,6%, но с достаточно низким уровнем экспрессии — 2,4±0,8 (табл. 3.6).

Таблица 3.6 — Экспрессия p53mut при латентных и субклинических формах ПВИ (%)

показатели	позитивные случаи	уровень экспрессии
латентные формы ПВИ (n=94)	0,0	0,0
субклинические формы ПВИ (n=156)	12,1	2,4±0,8

Таким образом, позитивные цифры экспрессии p53mut косвенно свидетельствуют о нарушении апоптоза в эпителиальных клетках шейки матки. Это может способствовать развитию неопластического процесса и рассматриваться как один из ключевых индикаторов прогрессирования ВПЧ-ассоциированных заболеваний.

Ген bcl-2, выполняющий противоположную функцию, отвечает за подавление процесса апоптоза. Анализ экспрессии этого гена позволяет оценить потенциальную способность клеток к запрограммированной гибели и определить, насколько изменились механизмы программы, связанные с повреждением гена-супрессора p53. ИЦХ-исследование показало в подавляющем количестве случаев (97,9±0,9%) bcl-2-позитивными мазки с без экспрессии p53mut с преимущественной локализацией положительно окрашенных клеток в базальной зоне пролиферации. В случае субклинических форм ПВИ уровень экспрессии bcl-2 составил 87,5±5,8% незначительно отличаясь от контроля и латентных форм — минимальные значения bcl-2-негативации (табл. 3.7).

Таблица 3.7 — Экспрессия bcl-2 при латентных и субклинических формах ПВИ

показатели	позитивные случаи (%)	негативные случаи (%)	уровень экспрессии
латентные формы ПВИ (n=94)	93,9	6,1	1,9±0,5
субклинические формы ПВИ (n=156)	86,3	13,7	4,7±0,7
χ^2 (p)	2,442 (0,068)		

Вышеперечисленные данные о взаимно противоположных параметрах экспрессии двух генов (p53mut и bcl-2) показывают, что уже при субклинических формах ПВИ возможна активация противоапоптотических механизмов воздействия

вируса на клетки эпителия, что служит неблагоприятным прогностическим фактором, требующим терапевтических воздействий.

Экспрессия c-erb-B2

Протоонкоген c-erb-B2, который также называют c-erbB2-рецептором эпидермального фактора роста, играет важную роль в регуляции процессов пролиферации и дифференцировки эпителиальных клеток — его избыточная активность стимулирует процессы клеточного роста, с возможной способностью для неограниченного деления. В группах не было обнаружено различий в частоте детекции c-erb-B2: в эпителии шейки матки у пациенток с латентными формами ПВИ c-erb-B2 экспрессировался 16,1% образцов, при субклинических формах — в 26,3% наблюдений ($\chi^2=1,996$; $p=0,092$) (табл. 3.8).

Таблица 3.8 — C-erb-B2 при латентных и субклинических формах ПВИ (%)

показатели	+	++	+++
латентные формы ПВИ (n=94)	16,1	0	0
субклинические формы ПВИ (n=156)	21,4	4,9	0
χ^2 (p)	1,996 (0,092)		

При этом, как в случае латентных, так и при субклинических формах ПВИ окрашивание c-erb-B2 наблюдалось только в эпителиальных клетках базального слоя, причём уровень экспрессии практически во всех случаях был низким. Для более точного прогнозирования развития неопластических процессов рекомендуется использовать дополнительные молекулярно-биологические маркеры, такие как bc1-2, p53 и p16ink4a.

Экспрессия PCNA

Пролиферативная активность клеток — это важный показатель, который используется в клинической и морфологической диагностике неопластических процессов. Один из таких показателей — это оценка экспрессии PCNA, ядерного белка, который синтезируется в делящихся клетках на всех стадиях митотического цикла. Исследование экспрессии PCNA в эпителии шейки матки при латентных и субклинических формах ПВИ показал его средний уровень детекции — $5,5 \pm 2,15\%$ при

отсутствии статистически значимых отличий (несмотря на более высокий (в 2 раза) уровень данного белка при субклинических формах ПВИ) между группами, с преимущественным окрашиванием клеток базального и парабазального слоев (табл. 3.9).

Таблица 3.9 — Экспрессия PCNA при латентных и субклинических формах ПВИ

показатели	PCNA (%)
латентные формы ПВИ (n=94)	3,6
субклинические формы ПВИ (n=156)	7,4

Исследование экспрессии PCNA является важным в понимании процессов, происходящих в эпителиальных клетках под воздействием ВПЧ, в то же время высокая экспрессия данного маркера при латентных и субклинических формах ПВИ, скорее всего, может свидетельствовать об упущении более тяжелого клинического процесса, например, в высокой зоне цервикального канала и требует дополнительного исследования.

Экспрессия p16ink4D и Ki-67

Если в образцах для иммуноцитохимического исследования обнаруживалась экспрессия p16ink4 α и Ki-67, то её оценивали количественно (диффузная/фокальная или гиперэкспрессия): определяли, насколько интенсивно экспрессируются белки. Также оценивалась коэкспрессия p16ink4 α и Ki-67. Положительных p16ink4 α пациенток в двух группах выявлено 14,7 \pm 4,2% (5,4% с латентными и 24,1% субклиническими формами ПВИ — в 4,5 раза больше) ($\chi^2=10,62$; $p=0,008$) (рис. 3.23).

Также оценивали, насколько активно экспрессируются белки p16ink4 α и Ki-67 одновременно. При латентных формах ПВИ гиперэкспрессия p16ink4 α отсутствовала, а при субклинических формах она выявлена у 4,8% пациенток, что может указывать на неблагоприятный прогноз в отношении ВПЧ-активации.

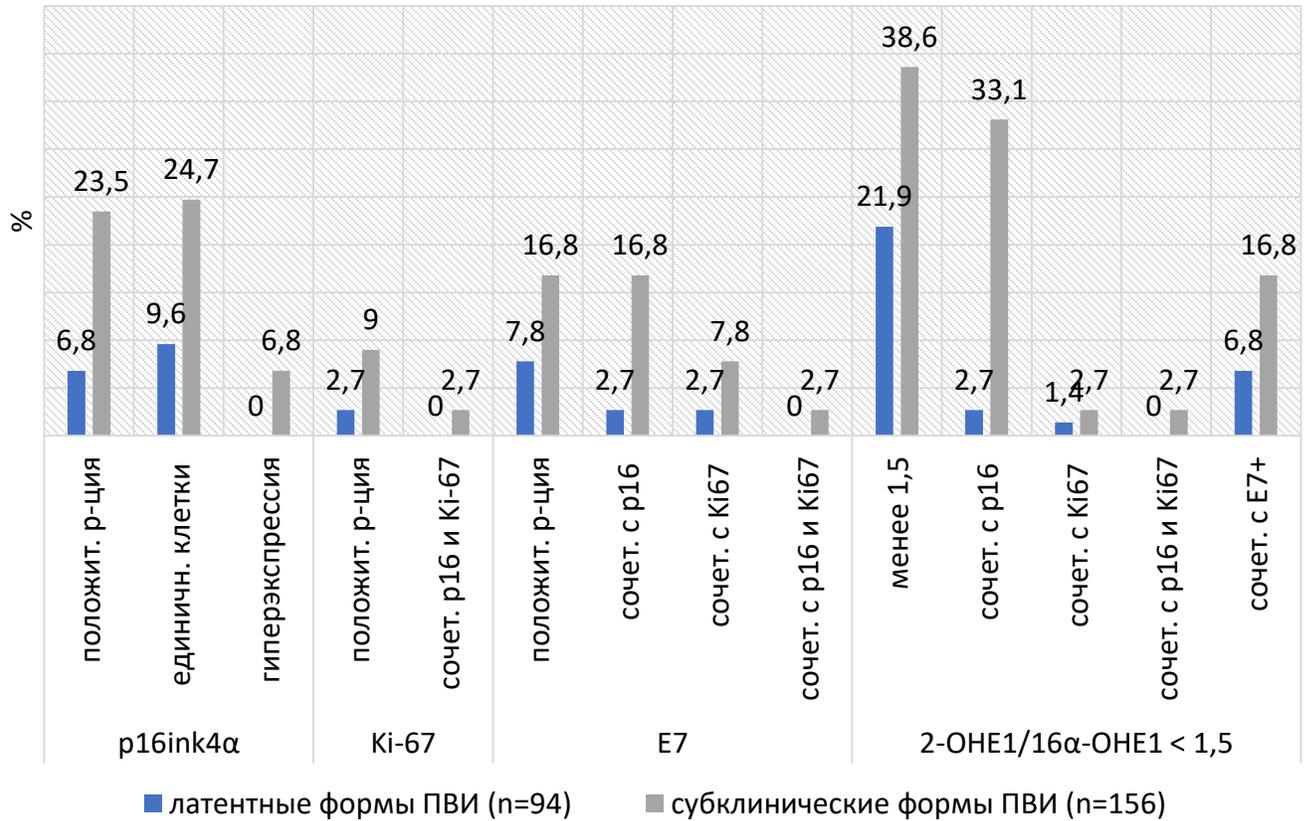


Рисунок 3.23 — Коэкспрессия p16ink4α, Ki67 и E7 в группах

Хотя уровень Ki-67 у пациенток с субклиническими формами ПВИ значительно превышал уровень этого маркера у пациенток с латентными формами (11,2% против 2,7%) ($\chi^2=4,046$; $p=0,061$), в обеих группах он не превышал 10% клеток. При этом, совместная экспрессия p16ink4α и Ki-67 практически не выявлялась вне зависимости от формы ПВИ (латентной или субклинической) (2,7% и 9,5% соответственно) ($\chi^2=2,758$; $p=0,094$).

Соотношения метаболитов 2-гидроксиэстрогена и 16-α-гидроксиэстрогена (2-OHE1/16α-OHE1)

Одним из ключевых аспектов патологических изменений при инфицировании ВПЧ в эпителиальных клетках слизистых оболочек цервикального канала является нарушение метаболизма метаболитов эстрогенов 2-OHE1 и 16α-OHE1. Их соотношение у пациенток с персистенцией ВПЧ 16, 18 и 31 типов (n=250), показало, что только 58,5% (55/94) женщин с латентной формой ВПЧ и у 39,1% (61/156)

пациенток с субклиническими проявлениями ПВИ ($48,8 \pm 9,7\%$; $\chi^2=3,468$; $p=0,067$) имеют нормальные показатели (табл. 3.10; рис. 3.24). Среднее значение соотношения метаболитов 2-ОНЕ1/16 α ОНЕ у пациенток с субклиническими формами ПВИ было измененным ($1,16 \pm 0,09$) со значимым ($p < 0,05$) превышением уровня 16 α -ОНЕ1.

Таблица 3.10 — Метаболиты эстрогенов в группах ($X \pm m$)

показатели	латентные формы ПВИ (n=94)	субклинические формы ПВИ (n=156)	χ^2 (p)
2-ОНЕ1 (нг/мл)	$11,02 \pm 1,11$	$8,15 \pm 1,04$	0,168 (0,127)
16 α ОНЕ1 (нг/мл)	$4,91 \pm 0,09$	$7,02 \pm 1,15$	0,1 (0,5)
2-ОНЕ1/16 α ОНЕ1	$2,24 \pm 0,06$	$1,16 \pm 0,09$	—

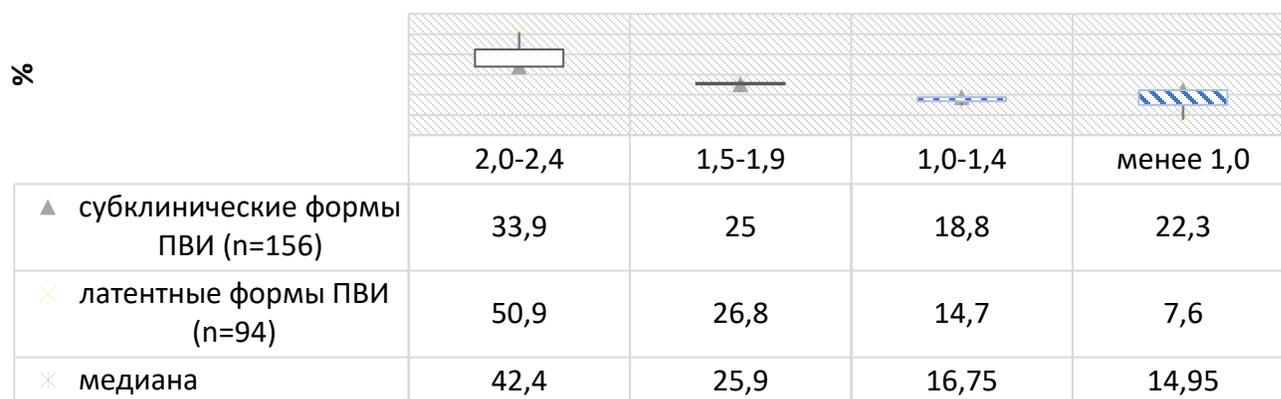


Рисунок 3.24 — Коэффициент 2-ОНЕ1/16 α -ОНЕ1 в группах

Средний коэффициент 2-ОНЕ1/16 α -ОНЕ1 у женщин с латентной ВПЧ-инфекцией был $2,24 \pm 0,06$, а превышение уровня 16 α -ОНЕ1 над 2-ОНЕ1 зарегистрировано в 7,6% (6/79) случаев (почти в 3 раза меньше, чем при субклинических формах ПВИ). При этом наибольшее количество измененных соотношений метаболитов эстрогенов ($2\text{-ОНЕ1}/16\alpha\text{-ОНЕ1} \leq 1,5$) определялось у женщин с высоким индексом массы тела (более 30) и наличием признаков метаболического синдрома (в группе женщин с латентной формой ПВИ их было 41,3%, с субклинической — 58,1%).

Рецепция эстрогенов (ER) и прогестерона (PgR)

Исследование рецепторного статуса эстрогенов и прогестерона в цервикальном эпителии у женщин с латентными и субклиническими формами ПВИ (в сравнении с

контрольной группой) позволило определить процентное соотношение пациенток с различными типами рецепторного статуса. Выявлены следующие типы статуса этих рецепторов: «ER+PgR+ — экспрессия обоих рецепторов; ER+ — экспрессия только рецептора эстрогена; PgR+ — экспрессия только рецептора прогестерона; ER-PgR- — отсутствие экспрессии обоих рецепторов» [17]. Рецепторы половых стероидов в эпителии шейки матки выявлялись во всех образцах контрольной группы и у пациенток с латентными формами ПВИ. При этом частота их сочетанной экспрессии у женщин с латентной формой ПВИ составила 71,7%, ER+ — 19,8% и PgR+ — 5,3%.

%				
	ER+PgR+	ER+PgR-	ER-PgR+	ER-PgR-
▲ субклинические формы ПВИ (n=156)	43,4	39,3	12,2	5,1
✕ латентные формы ПВИ (n=94)	71,7	19,8	5,3	3,2
✕ медиана	57,55	29,55	8,75	4,15

Рисунок 3.25 — Рецепторы эстрогенов и прогестерона в группах (частота детекции)

При субклинических формах ПВИ доля пациенток, у которых наблюдалась активность обоих рецепторов, составила 43,4%, при этом частота ER+/PgR+ имела статистически значимые различия с пациентками, у которых ВПЧ-инфекция протекала в латентной форме — $\chi^2=6,476$ ($p=0,048$) (рис. 3.25).

Итак, интегративный анализ экспрессии маркеров, вовлеченных в патогенез ВПЧ-ассоциированных заболеваний (включая E7, p53mut, bc1-2, c-erb-B2, PCNA, p16ink4D и Ki-67), в сочетании с определением гормонального профиля (соотношение 2-гидроксиэстрогена и 16- α -гидроксиэстрогена, и рецепторный статус эстрогенов и прогестерона), позволяет верифицировать стадию заболевания (форму ПВИ), прогнозировать его течение и, соответственно, дифференцированно подходить к выбору терапевтических тактик.

3.2.4. Оценка цервико-вагинального микробиоценоза у пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции

Эпидемиологический анализ, проведенный в рамках исследования, был направлен на изучение распространенности сопутствующих урогенитальных инфекций, учитывая, что в исследуемых группах количество случаев инфекций генитальной зоны значительно превышало среднестатистические показатели и достигало $84,9 \pm 7,8\%$.

рН-метрия вагинального отделяемого

рН-экспресс-тест FemExam определяет рН в диапазоне 3,0–7,0 (норма 3,8–4,4). Среднее значение рН при латентных формах ПВИ было $4,29 \pm 1,65$, а при субклинических формах повышалось до патологических значений — $4,88 \pm 3,12$ ($p < 0,05$) (рис. 3.26–3.27).

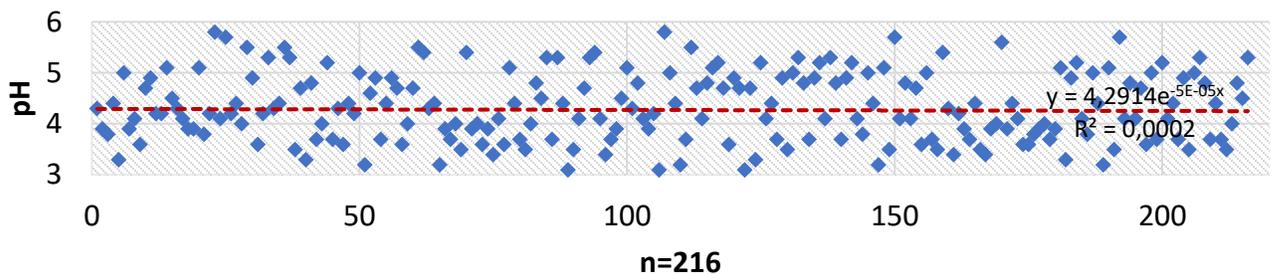


Рисунок 3.26 — рН вагинального секрета пациенток с латентными формами ПВИ (линия тренда $4,29 \pm 1,65$; $R^2 = 0,0004$)

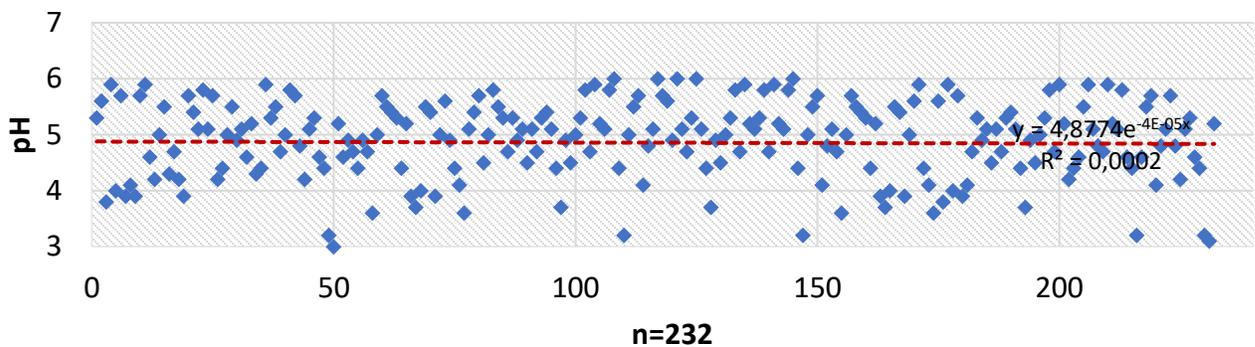


Рисунок 3.27 — рН вагинального секрета пациенток с субклиническими формами ПВИ (линия тренда $4,88 \pm 3,12$; $R^2 = 0,0003$)

Полученные данные косвенно подтверждают гипотезу о том, что нарушение экологического равновесия микробиоты влагалища и шейки матки играет критическую роль в патогенезе неопластических трансформаций, обусловленных вирусной инфекцией, вызванной ВПЧ.

Исследование влагалищных мазков

Значимые отличия в количестве лейкоцитов (более 10 в поле зрения) между латентными и субклиническими формами ПВИ отсутствовали — $\chi^2=0,606$ ($R^2=0,2712$; $p=0,18$), (среднее $18,55 \pm 1,6\%$) (рис. 3.25).

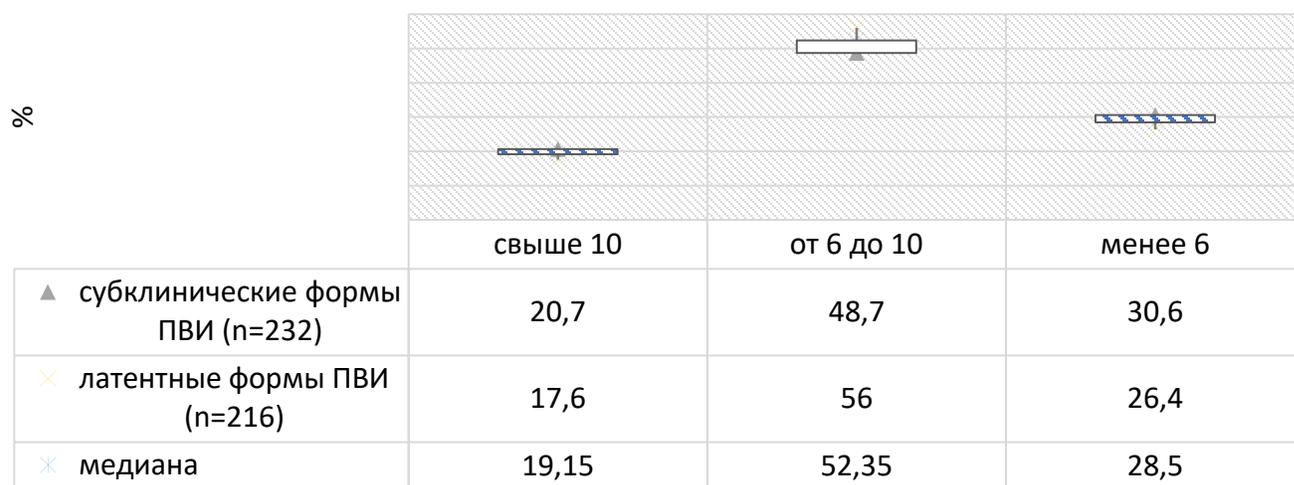


Рисунок 3.25 — Лейкоцитарная реакция вагинальных мазков пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ

Исследование клеточного состава вагинальных мазков у женщин с латентными и субклиническими проявлениями ПВИ не выявило статистически значимых различий как между этими двумя формами инфекции, так и при сопоставлении с контрольной группой, что свидетельствует об отсутствии выраженных изменений в цитологической картине: при латентных формах незначительно возросло количество лейкоцитов (КЛ) — до $5,4 \pm 2,6$ и эпителиальных клеток (КЭК) — до $4,7 \pm 1,9$, соответственно возросла сумма клеток (СК) — $10,1 \pm 2,3$, а цитологический коэффициент (ЦК) был чуть ниже уровня контроля. У пациенток с субклинической формой ПВИ также отсутствовали достоверные изменения данных параметров: КЛ — $9,2 \pm 4,6$; КЭК — $7,7 \pm 2,2$; СК — $16,9 \pm 3,4$; ЦК — $1,2 \pm 0,2$. При субклинических

формах ПВИ нормальных вагинальных мазков было почти в 3 раза меньше, чем при латентных — 9,4% против 26,9% ($\chi^2=7,5$; $p=0,0086$) — среднее количество таких мазков в двух группах — $18,15 \pm 5,2\%$ (табл. 3.11).

Таблица 3.11 — Клеточный состав вагинальной жидкости

параметры	латентные формы ПВИ (n=216)	субклинические формы ПВИ (n=232)	χ^2 (p)
КЛ	$5,4 \pm 2,6$	$9,2 \pm 4,6$	1,758 (=0,094)
КЭК	$4,7 \pm 1,9$	$7,7 \pm 2,2$	1,69 (=0,182)
СК	$10,1 \pm 2,25$	$16,9 \pm 3,4$	4,097 (=0,065)
ЦК	$1,1 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,2$	—

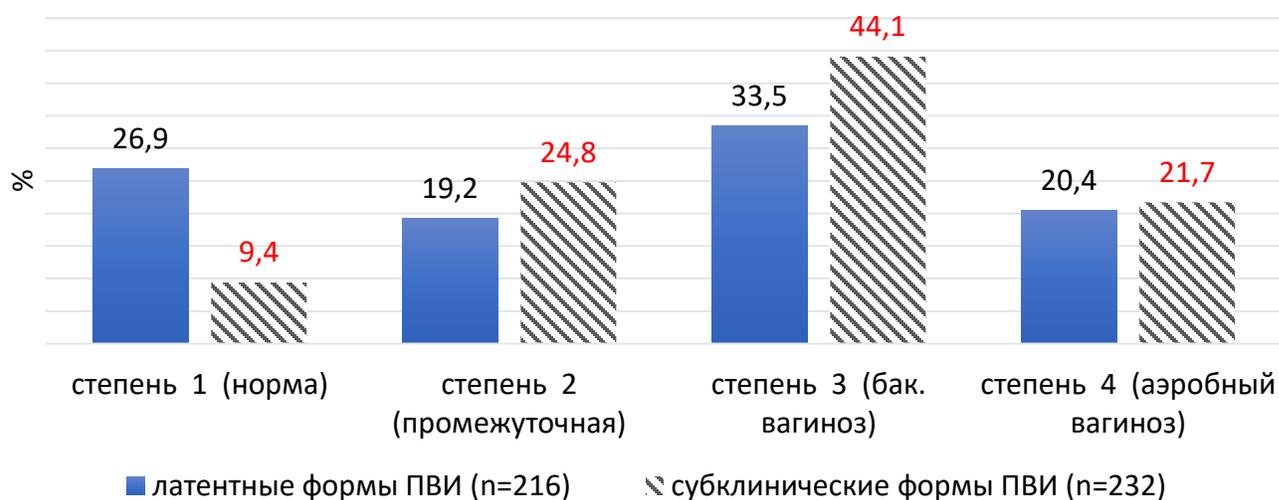


Рисунок 3.28 — Микробиом влагалища (критерии Hau/Ison)

Также при латентных и субклинических формах оценка критериев дисбиоза (Hau/Ison) показало 2-ю (промежуточную) степень у 19,2% и 24,8% соответственно ($\chi^2=0,48$; $p=0,21$), 3-ю (бактериальный вагиноз) — у 33,5% и 44,1% ($\chi^2=1,188$; $p=0,097$), и 4-ю (анаэробный вагиноз) — у 20,4% и 21,7% ($\chi^2=0,002$; $p=0,35$) женщин (рис. 3.28).

У пациенток с субклиническими формами ПВИ обнаружено, что частота дисбиозов с преобладанием анаэробных и грамотрицательных кокковых микроорганизмов выше, чем у женщин с латентными формами инфекции (и, соответственно, контролем). При этом достоверная разница — $p=0,0086$ ($\chi^2=7,5$) выявлена лишь в количестве нормальных мазков, которых при субклинических формах ПВИ было в 2,9 раз меньше.

Микробиом цервикального канала

Согласно разработанному протоколу, была проведена интерпретация результатов ПЦР-анализа цервикального биоматериала, полученного от пациенток, участвующих в нашем исследовании (система «АмплиПрайм®», РФ): КС1 в среднем в двух группах был $0,68 \pm 0,3$ (латентные формы ПВИ — 0,91, субклинические — 0,46) (КС1 < 0,5 — баквагиноз); КС2 — $1,37 \pm 0,43$ (латентные формы ПВИ — 0,82, субклинические — 1,93), а КС3 — $0,85 \pm 0,16$ (латентные формы ПВИ — 0,76, субклинические — 0,94) (дисбиоз неуточненной этиологии) ($p > 0,05$) (табл. 3.12). Этот метод оценки микробиоты влагалища показал, что у женщин с латентной формой ПВИ число вагинальных нормоценозов было почти в 2 раза больше, чем у тех, у кого эта инфекция протекала в субклинической форме (30,7% против 16,1%).

Таблица 3.12 — Микробиом цервикального канала (lg; ГЭ/мл)

показатели	<i>Lactobacillus</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Atopobium vaginae</i>	<i>Bacteria</i>
латентные формы ПВИ (n=216)	$6,3 \pm 1,3$	$2,8 \pm 1,1$	$3,9 \pm 2,4$	$4,1 \pm 1,9$
субклинические формы ПВИ (n=232)	$5,0 \pm 1,4$	$4,8 \pm 2,4$	$5,8 \pm 2,2$	$8,8 \pm 1,5$

Также обращает на себя внимание высокое количество в группах детектируемых вирусов простого герпеса (I-II типы) и цитомегаловируса (в сумме $68,1 \pm 6,9\%$ у латентных носителей ПВИ и в $88,6 \pm 9,4\%$ при субклинических формах).

Таким образом, оценка микробиоценоза влагалища показала, что для реализации папилломавирусной инфекции необходима компрометация организма в виде нарушений вагинального микробиоценоза, как кофактора развития неопластических процессов в эпителии нижнего отдела гениталий. Наиболее часто это проявляется в виде смешанных дисбиозов с преобладанием анаэробной микрофлоры, длительно персистирующей в цервикальной зоне с изменением pH вагинальной жидкости, конкуренцией за ресурсы, хроническим воспалительным процессом на фоне измененного иммунитета, что и ведет к активации эпителиальной пролиферации.

3.2.5. Биохимический анализ цервикальной слизи у пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции

Цервикальный секрет в норме обладает свойствами, способствующими поддержанию нормального гомеостаза, начиная от защитных свойств за счет активации перекисных процессов, и заканчивая микроэлементами и ферментами эпителиоцитов, участвующими в метаболических процессах данной области. Анализ биохимических свойств цервикальной слизи показал следующие результаты (рис. 3.29): отмечено уменьшение H_2O_2 и молочной кислоты при субклинических формах — в среднем на $40,1 \pm 5,3\%$ (разница между группами достоверна — $\chi^2=9,022$; $p=0,0084$) и $19,0 \pm 2,2\%$ (разница недостоверна — $\chi^2=1,492$; $p=0,096$), связанное с изменениями микробиоценоза и падением количества лактобактерий, обеспечивающих их образование.

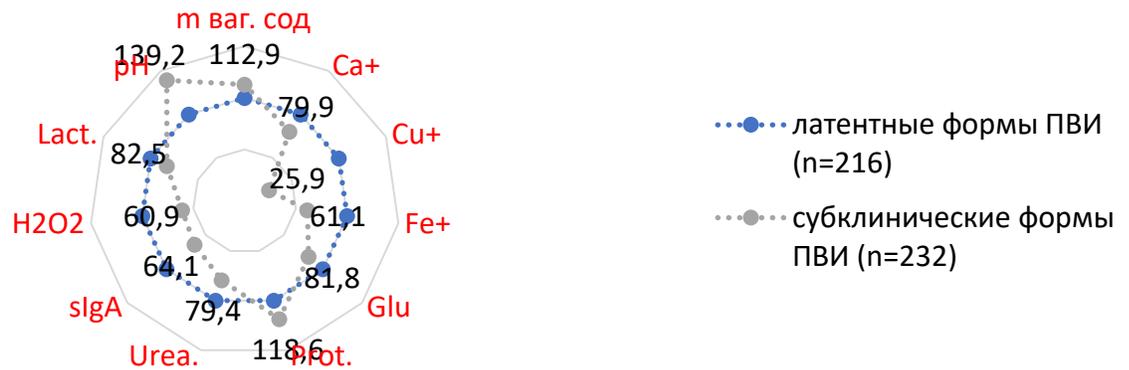


Рисунок 3.29 — Биохимический состав цервикальной слизи (% от латентных форм)

При субклинических формах ПВИ зарегистрировано значимое снижение уровня глюкозы (на 14,1% по сравнению с латентными), железа (на 39,7%) и меди (на 68,4%). Снижение уровня глюкозы — маркера гликогена в эпителии ($2,74 \pm 0,32$ моль/л при субклинических против $3,16 \pm 0,18$ — латентные формы ПВИ), отражает девиации, происходящие на локальном уровне при преобладании условно-патогенной микрофлоры, а железо и медь, необходимые для существования большинства

микроорганизмов (особенно анаэробных), теряются при конкурентных взаимоотношениях между ними.



Рисунок 3.30 — Активность ферментов цервикальной слизи (% от латентных форм)

Исследование показало увеличение активности внутриклеточных цитолитических ферментов при субклинических формах ПВИ (рис. 3.30): активность АЛТ увеличилась в 3,9 раза, АСТ — в 2,5 раза, а амилазы — в 2,7 раза. Усиление активности в клетках шейки матки обусловлено, как минимум, двумя параллельными процессами: воздействием метаболических отходов микрофлоры и началом неопластических изменений в тропном эпителии, характеризующихся повышенной цитолитической активностью.

Результаты оценки биохимического состава цервикального секрета показали наличие изменений, потенциально свидетельствующих об активации неопластических процессов в эпителии шейки матки.

3.2.6. Исследование местного иммунитета при латентных и субклинических формах папилломавирусной инфекции

Активность цитокинов цервикальной зоны

Цитокиновый статус цервикальной зоны у наших пациенток показал, ряд различий в их уровнях между субклиническими и латентными формами ПВИ. Так, при субклиническом течении наблюдалось существенное увеличение концентраций IL-8 и TNF α ($p < 0,01$). Уровень IFN γ был существенно снижен (вдвое) относительно латентного течения ($p < 0,05$). Хотя уровень IL-1 β при субклинических формах был

вдвое ниже, чем при латентных ($p>0,05$) (табл. 3.13; рис. 3.31). IL-4 имел тенденцию к повышению (в 1,5 раза), но также оставался статистически незначимым ($p>0,05$).

При субклинических формах IL-10 демонстрировал высокий вариационный коэффициент — до 40-46%. В то же время, стимулирующий преимущественно гуморальное звено иммунитета TGF β у пациенток с латентными формами ПВИ не отличался от параметров контроля, а при субклинических формах более чем в два раза превышал свои значения как по показателям контроля, так и латентных форм ($p=0,133$). Причем наиболее высокий уровень TGF β определялся у пациенток с высококанцерогенными типами ВПЧ.

Таблица 3.13 — Содержание цитокинов в цервикальной слизи (pg/ml)

показатели	IL-1 β	TNF α	TGF β
латентные формы ПВИ (n=216)	52,7 \pm 14,9	32,5 \pm 2	48,7 \pm 9,8
субклинические формы ПВИ (n=232)	24,9 \pm 15,2	71,3 \pm 16,8	152,4 \pm 16,6
средний % от латентных форм	47,2	45,6	312,9
χ^2 (p)	9,256 (0,0054)	13,766 (0,0048)	52,448 (0,0012)

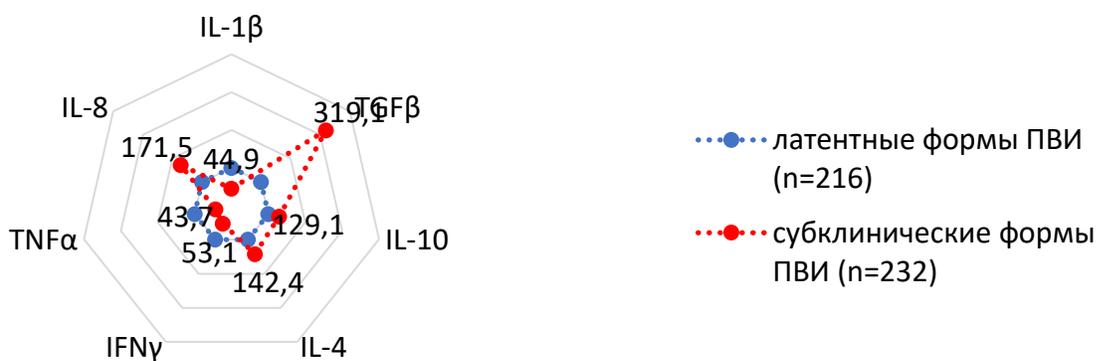


Рисунок 3.31 — Концентрация цитокинов в цервикальной зоне (% от латентных форм)

Таким образом, обнаруженные изменения цитокинового статуса в виде снижения концентрации IL-1 β и IFN γ , повышения IL-8 и TNF α , могут быть использованы для оценки девиаций воспалительных и иммунных реакций, характерных для ВПЧ-инфекции нижнего отдела гениталий, а, учитывая выявленную корреляцию между начальными проявлениями неопластического процесса и TGF β ,

возможно его применение с целью определения прогностической значимости утяжеления процесса.

Активность ферментов макрофагов цервикальной зоны

Активность миелопероксидазы (МПО), которая в присутствии H_2O_2 оказывает выраженный микробицидный эффект, у пациенток с субклиническими формами ПВИ была более чем в 2,5 раза ($\chi^2=45,948$; $p=0,0028$) ниже, чем у женщин с латентными формами. Активность кислой фосфатазы (КФ), коррелирующая с усилением бактерицидных свойств макрофагов, при латентных и субклинических формах ПВИ была практически на одном уровне (табл. 3.16).

Таблица 3.14 — Ферменты макрофагов цервикальной зоны (средний цитохимический показатель — СЦП)

показатели	миелопероксидаза	кислая фосфатаза	неспецифическая эстераза
латентные формы ПВИ (n=216)	166,9±13,5	151,5±19,3	93,7±13,2
субклинические формы ПВИ (n=232)	63,1±7,1	143,3±11,4	39,4±9,6
средний % от латентных форм	37,8	94,6	42,0
χ^2 (p)	45,948 (0,0028)	0,176 (0,098)	21,344 (0,0064)

Детекция неспецифической эстеразы (НЭ) при субклинических формах ПВИ была значимо (в 2,4 раза) ниже ($\chi^2=21,344$; $p=0,0064$). Все это указывает на снижение активности макрофагального звена локальной иммунной защиты.

3.2.7. Окислительные процессы слизистой шейки матки при латентных и субклинических формах папилломавирусной инфекции

Локальный оксидативный статус тесно связан с иммунными и биохимическими процессами, происходящими на фоне персистенции той или иной формы микрофлоры, кроме того при воздействии ВПЧ на пролиферативную активность эпителиоцитов, изменения окислительных процессов могут свидетельствовать об активации неопластической трансформации клеток. В случае субклинических форм интенсивность сигнала пероксидадикалов (LOO-) выросла примерно в 1,5 раза

(122%) ($p < 0,05$), на фоне детекции сигналов супероксидрадикалов (O_2^-). NO-сигнал также повысился на 171% (рис. 3.32).

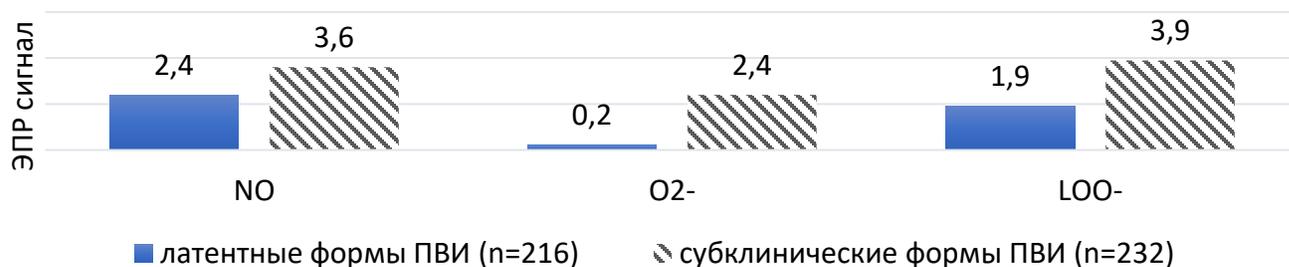


Рисунок 3.32 — Свободный оксид азота (NO), реактивные формы кислорода (O_2^-) и липиды (LOO^-) слизистой цервикальной зоны

Исследование иммуноокислительного баланса демонстрирует, что даже субклиническое течение ВПЧ-ассоциированного заболевания сопровождается существенной модификацией соответствующих показателей, которые могут привести к сдвигу в сторону Th1-девиации. Это проявляется в снижении уровня провоспалительных и изменении направленности действия регуляторных цитокинов и усилении окислительных процессов, которые могут повредить молекулярные и субклеточные структуры.

3.2.8. Расчет прогностических критериев заболеваемости, связанной с папилломавирусной инфекцией

Проведенное исследование позволило дополнить таблицу прогностических критериев, что позволило выявить наиболее информативные показатели оценки вероятности перехода латентных и субклинических форм ПВИ в цервикальную неоплазию (приложение 1-2).

Расчет ДК показал: «ДК от -26 до +18 бит (благоприятный исход) наблюдался у $32,5 \pm 9,3\%$ женщин, при этом у пациенток с латентными формами ПВИ он встречался в 1,8 раза чаще, чем у тех, у кого инфекция протекала в субклинической форме. ДК от +19 до +26 бит (95% риска перехода в CIN) был обнаружен в среднем у $47,8 \pm 3,1\%$ женщин и ДК свыше 26 бит (99% риска перехода в CIN) наблюдался у $10,4 \pm 2,6\%$ пациенток, при этом у женщин с субклинической формой ВПЧ он встречался чаще:

ДК +19+26 — $52,8 \pm 3,4\%$, ДК <26 — $24,0 \pm 2,9\%$, чем у тех, у кого инфекция протекала латентно» (Боровиков И.О., Горринг Х.И., Куценко И.И., 2021-2023) [18, 20, 47] (рис. 3.33).

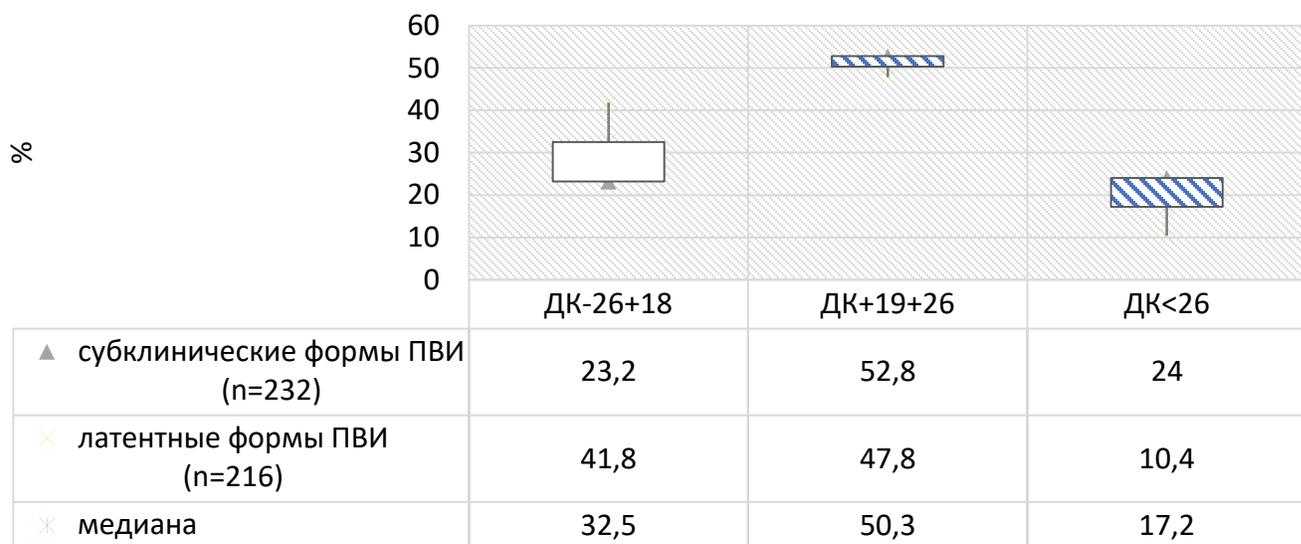


Рисунок 3.33 — Диагностические коэффициенты при латентных и субклинических формах ПВИ (%)

То есть, выявлены достоверные различия между латентными и субклиническими формами ПВИ в диагностических коэффициентах, прогнозирующих как благоприятный — $\chi^2=4,766$ ($p=0,071$), так и наиболее неблагоприятный — $\chi^2=4,616$ ($p=0,048$) исход. В результате, суммарно риск реализации латентных форм ПВИ в CIN более 95% выявился у 58,2% женщин, а субклинических форм у 76,8% пациенток — в общей сложности это составило $67,5 \pm 16,5\%$ ($R^2=0,3476$).

В дальнейшем мы упростили подсчет диагностических коэффициентов, для большей комплаентности использования в клинической практике практическими врачами (см. практические рекомендации, приложение 1–2).

3.3. Рандомизация пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции

Как говорилось выше: «методом случайной выборки все пациентки с латентными (n=216) и субклиническими (n=232) формами папилломавирусной инфекции в дальнейшем были разделены на 4 группы: I группа (n=123) — латентные формы ПВИ — наблюдение в течение 3 лет с ежегодным контролем вирусной нагрузки, кольпоскопией и взятием мазков на онкоцитологию; II группа (n=93) — латентные формы ПВИ — квадριвалентная рекомбинантная вакцина против ВПЧ 6, 11, 16, 18-го типов; III группа (n=137) — субклинические формы ПВИ — мониторинг в течение 3 лет; IV группа (n=91) — субклинические формы ПВИ — вакцина против ВПЧ. Оценку эффективности лечения проводили через 6, 12, 24 и 36 месяцев после окончания профилактической терапии» (Горринг Х.И., Куценко И.И., Боровиков И.О., 2021-2023) [17, 18, 20].

3.3.1. Сравнительная эффективность профилактической терапии пациенток с латентными формами папилломавирусной инфекции

Для обеспечения достоверности результатов мониторинга, пациенткам с выявленными дисбиотическими вагинальными нарушениями, предварительно осуществлялась их нормализация. Динамика трёхлетнего наблюдения женщин с латентными формами ПВИ: 1-й год — в I группе выявлено 4,9% (6/123) случаев субклинической формы ПВИ и 1,6% (2/123) — с ASC-US; CIN — 0,0%; 36 месяцев (I группа) — у 17,9% (22/123) ВПЧ-носительство перешло в субклиническую форму, а у 8,9% (11/123) пациенток этой группы были выявлены неопластические процессы в шейке матки, соответствующие CIN I (рис. 3.34). В группе женщин, прошедших вакцинацию (II), согласно вышеперечисленной схеме, не было выявлено реализации в CIN за весь период наблюдения, при этом за данный период было диагностировано 7,5% (7/93) субклинических форм ПВИ, а ASC-US был обнаружен у 2,1% (2/93) пациенток.

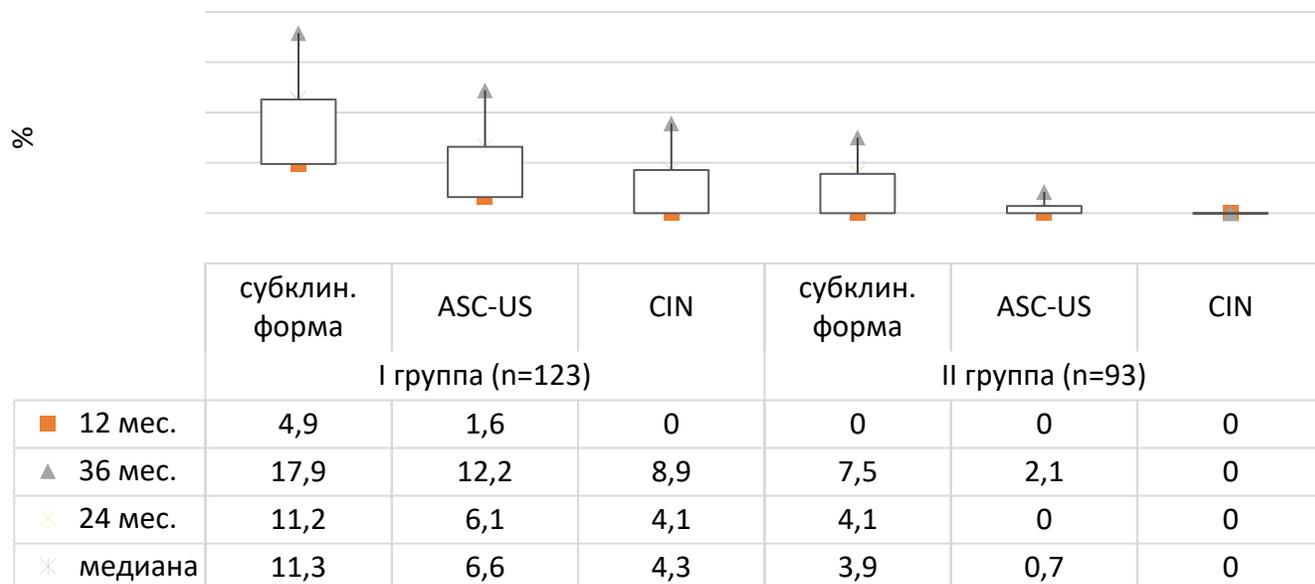


Рисунок 3.34 — Варианты реализации вирусносительства у пациенток I и II групп

Оценка типов ВПЧ (36 месяцев мониторинга): у 71,5% (88/123) пациенток I группы и у 16,1% (15/93) II группы ВПЧ ВКР сохранились — у большинства наблюдалось сохранение выявленных при рандомизации генотипов ВПЧ (51,2% — I и 11,8% — II группа), а также заражение, возможно, новыми генотипами ВПЧ (17,1 и 5,4% соответственно) (табл. 3.15). Касательно случаев повторного заражения среди женщин, прошедших вакцинацию, которые составили всего 5,4%, следует отметить, что они были связаны с генотипами ВПЧ, не входящими в состав квадривалентной вакцины (44, 45 и 58). В то же время, среди женщин из I группы были обнаружены генотипы ВПЧ ВКР (16 и 18), что увеличивает риск развития неопластических процессов. Медиана значимой вирусной нагрузки (≥ 5 lg) при трехлетнем мониторинге ВПЧ ВКР 16, 18, 31 и 51 типов при латентных формах ПВИ показала в I группе — $29,8 \pm 4,5\%$ (в начале периода наблюдения $45,6 \pm 5,1\%$), при этом в группе с профилактическим применением вакцины против ВПЧ (II) ВН оказалась почти в 6 раз ниже — $5,3 \pm 2,1$ (в начале мониторинга $44,8 \pm 4,6\%$) (рис 3.35).

Таблица 3.15 — Инфицированность ВПЧ (исходные и новые типы) в процессе мониторинга (36 месяцев) пациенток с латентными формами ПВИ

типы ВПЧ	I группа (n=123)		II группа (n=93)		χ^2 (p)	
	n	%	n	%		
персистенция исходных типов ВПЧ						
всего	72	59,1	10	9,75	34,048 (0,0044)	
16	27	21,9	5	5,4	8,8 (0,0092)	
18	14	11,4	3	2,15	5,019 (0,041)	
31	9	7,3	0	0,0	U-критерий Манна-Уитни — 2 (p≤0,05) — зона незначимости	
33	3	2,4	1	1,1		
45	2	1,6	0	0,0		
51	7	5,7	1	1,1		
52	2	1,6	0	0,0		
56	3	2,4	0	0,0		
58	4	3,2	0	0,0		
66	1	1,6	0	0,0		
новые генотипы ВПЧ						
всего	24	19,4	5	5,4		6,814 (0,059)
16	9	7,3	0	0,0	U-критерий Манна-Уитни — 13 (6 — p≤0,01; 11 — p≤0,05) — зона незначимости	
18	5	4,1	0	0,0		
44	0	0,0	3	3,2		
45	2	1,6	1	1,1		
51	3	2,4	0	0,0		
56	2	1,6	0	0,0		
58	3	2,4	1	1,1		

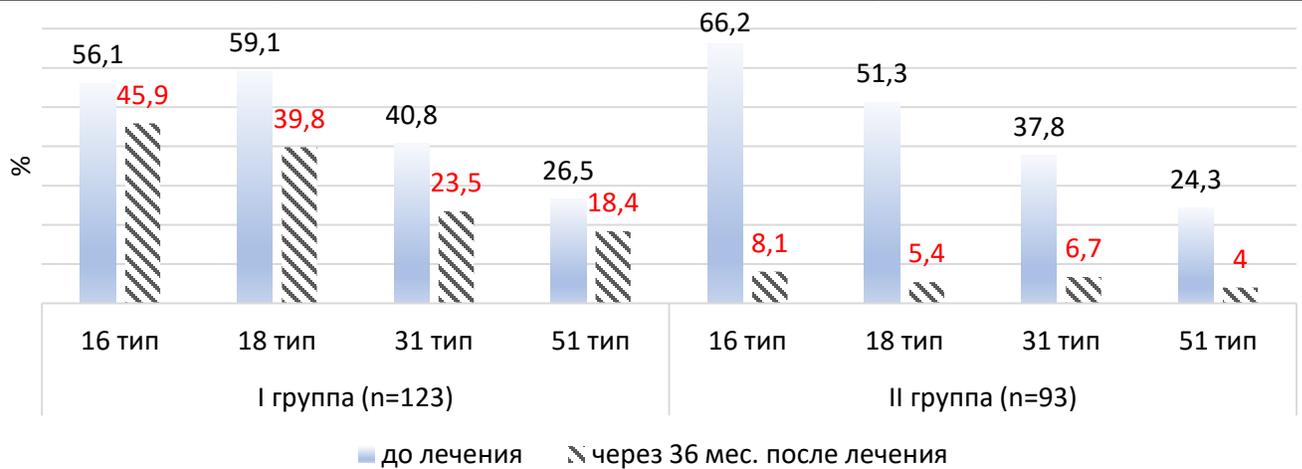


Рисунок 3.35 — Медиана высокой вирусной нагрузки значимых типов ВПЧ ВКР (латентная форма ПВИ; 3 года)

При оценке динамики метаболитов эстрогенов выявлена тенденция во II группе к снижению числа пациенток с соотношением 2-ОНЕ1/16 α -ОНЕ1 менее 1,5: в среднем в 1,7 раза за 36 месяцев, в I группе данный показатель даже несколько вырос — различия между группами достоверны ($\chi^2=15,51$; $p=0,0064$) (рис. 3.36).

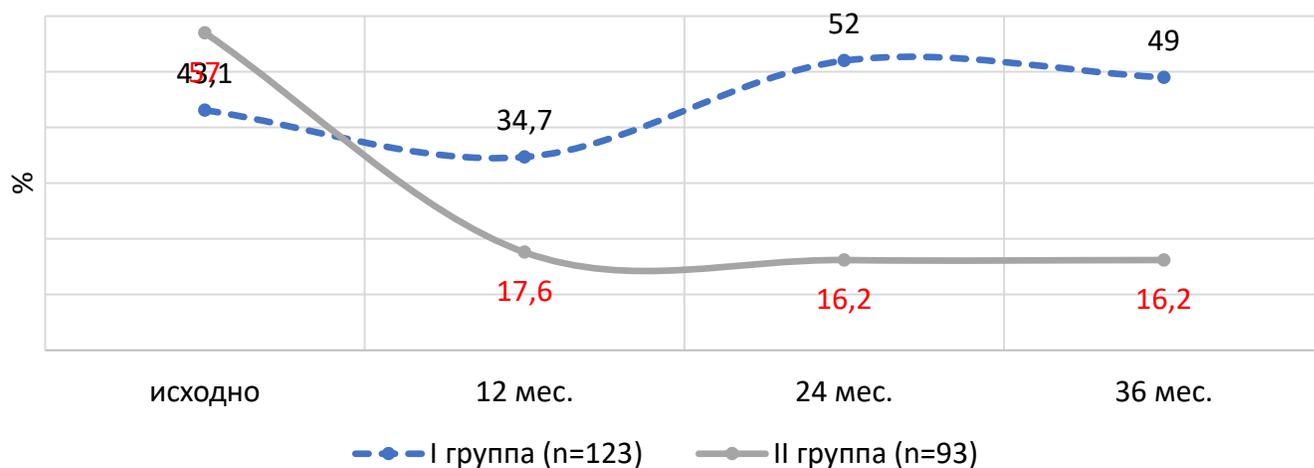


Рисунок 3.36 — Динамика частоты обнаружения низкого (менее 1,5) коэффициента 2-ОНЕ1/16 α -ОНЕ1 при латентных формах ПВИ

Вероятно, «при вакцинации, которая косвенно снижает вирусную нагрузку в HPV-позитивных клетках, наблюдается блокировка фосфорилирования белков, кодируемых вирусным геномом, одновременно, воздействие на систему цитохрома P450 способствует преобладанию метаболизма эстрогенов по пути 2-гидроксилирования, что выражается в повышенном синтезе 2-гидроксиэстрогенов и дефиците 16-гидроксиэстриола» [17, 20]. Это приводит к нормализации уровня этих веществ в эпителии слизистых оболочек цервикального канала.

Вакцинация против ВПЧ продемонстрировала выраженный профилактический эффект у женщин с латентным ВПЧ-носительством. Анализ данных, полученных в течение 36 месяцев наблюдения за группой вакцинированных пациенток (II), выявил значительное положительное влияние вакцинации на заболеваемость ВПЧ-ассоциированными инфекциями, а именно: снижение частоты субклинических форм ПВИ в 2,8 раза и полное отсутствие случаев цервикальной неоплазии по сравнению с контрольной группой. Кроме того, наблюдалось значительное снижение таких

показателей, как персистенция ВПЧ (в 4,5 раза), появление новых генотипов вируса (в 3 раза) и вирусная нагрузка ВПЧ ВКР (в 6 раз). Дополнительно, после вакцинации наблюдалось статистически значимое увеличение доли женщин с нормальным метаболизмом эстрогенов, что отразилось в трехкратном уменьшении числа случаев, когда коэффициент ОНЕ1/16 α -ОНЕ1 не превышал 1,5.

3.3.2. Сравнительная эффективность терапии пациенток с субклиническими формами папилломавирусной инфекции (цитология и кольпоскопия)

В ходе первичного обследования с использованием кольпоскопии у женщин с субклиническими проявлениями ПВИ были обнаружены признаки воспаления слизистой оболочки, вызванные сопутствующей инфекцией, а также кольпоскопические картины, характерные для субклинических форм ПВИ в виде нежной мозаики — 17,9 \pm 0,3%, пунктации — 11,7 \pm 1,5% (табл. 3.16).

Таблица 3.16 — Динамика кольпоскопических признаков субклинических форм ПВИ

показатели	III группа (n=137)				IV группа (n=91)				χ^2 (p) после лечения
	до лечения		через 36 мес.		до лечения		через 36 мес.		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
плоские кондиломы	113	82,4	81	59,1	83	91,2	9	9,8	33,858 (0,0018)
ацетобелый эпителий	34	24,8	17	12,4	21	23,1	2	2,2	5,798 (0,021)
цервицит	133	97,1	89	64,9	86	94,5	10	11,0	36,87 (0,0011)
нежная мозаика	25	18,2	14	10,2	16	17,6	3	4,4	1,578 (0,084)
нежная пунктация	14	10,2	7	5,1	12	13,2	2	2,2	—

В ходе изучения динамики изменений кольпоскопической картины у пациенток с субклиническими формами ПВИ выявлено, что в группе женщин, за которыми наблюдали в течение 36 недель и проводили кольпоскопию, цитологическое и вирусологическое исследования (III группа) наблюдались определённые изменения: плоские кондиломы исчезли у 32/113 (28,3%) пациенток, ацетобелый эпителий — у 17/34 (50,0%), специфический цервицит — у 89/133 (66,9%) (в среднем

кольпоскопические признаки, характерные для ВПЧ-персистирования в шейке матки, исчезли у $40,3 \pm 10,7\%$ пациенток). При этом во IV группе плоские кондиломы исчезли у $66/74$ ($89,2\%$) пациенток, ацетобелый эпителий — у $17/19$ ($89,5\%$), специфический цервицит — у $67/76$ ($88,2\%$) (в среднем кольпоскопические признаки, характерные для ВПЧ-персистирования, исчезли у $85,5 \pm 3,4\%$ женщин, то есть в 2,1 раза больше, чем в III группе) (рис. 3.37-3.38).

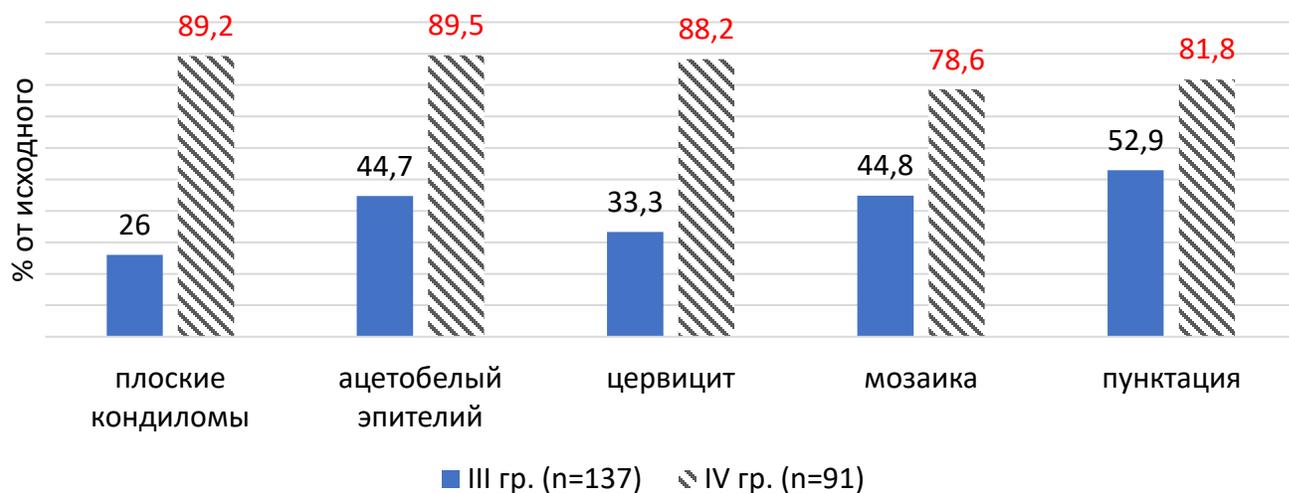


Рисунок 3.37 — Нивелирование кольпоскопических признаков субклинических форм ПВИ в ходе мониторинга (36 месяцев)

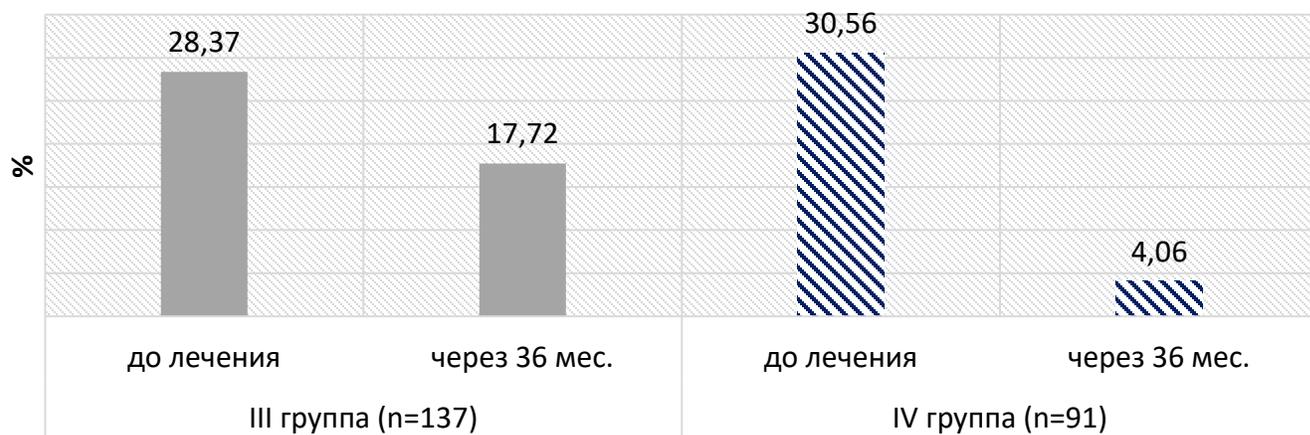


Рисунок 3.38 — Медиана нивелирования кольпоскопических признаков субклинических форм ПВИ в ходе мониторинга (36 месяцев)

После трёх лет мониторинга пациенток группы III, нормальная кольпоскопическая и морфологическая (NILM) картина была зафиксирована у $71,5\%$

женщин (125/137). Эта цифра ниже, чем показатели, наблюдавшиеся через 12 (91,2%) и 24 месяца (81,0%) после начала наблюдения. При этом ухудшение картины, соответствующее обнаружению CIN I, выявлено у 22,6% (31/137) пациенток (через 12 месяцев мониторинга их было 5,1%, через 24 месяца — 12,4%) (табл. 3.17). В когорте IV, при проведении ежегодных оценок, зафиксирована исключительная результативность вакцинации в поддержании нормального кольпоскопического профиля — через год после вакцинации, 100% обследованных женщин демонстрировали отсутствие кольпоскопических отклонений. К 24 месяцам данный показатель несколько снизился — до 94,5% (86/91), и через 36 месяцев это цифра сохранилась, что указывает на устойчивый эффект вакцинации.

Таблица 3.17 — Динамика морфо-кольпоскопических признаков у пациенток с субклиническими формами ПВИ в процессе мониторинга (3 года)

показатели	III группа (n=137)		IV группа (n=91)		χ^2 (p)
	n	%	n	%	
12 месяцев					
NILM	125	91,2	91	100,0	0,326 (0,32)
ASC-US	5	3,6	0	0,0	—
→ в CIN (LSIL)	7	5,1	0	0,0	—
24 месяца					
NILM	111	81,0	86	94,5	0,89 (0,36)
ASC-US	9	6,6	3	3,3	—
→ в CIN (LSIL)	17	12,4	2	2,2	—
36 месяцев					
NILM	98	71,5	86	94,5	2,916 (0,12)
ASC-US	8	5,8	1	1,1	—
→ в CIN (LSIL)	31	22,6	4	4,4	10,958 (0,021)

Также в рамках трёхлетнего исследования были обнаружены женщины, у которых результаты кольпоцитологического анализа соскоба из шейки матки не позволяют сделать однозначные выводы (ASC-US): во III группе — 5,8% (8/137), в IV — 1,1% (1/91). Всем пациенткам, у которых было зарегистрировано ухудшение цервикальной кольпо-цито-морфологической картины, в дальнейшем была проведена

эксцизионная терапия, после которой в контрольных микробиологических исследованиях зафиксировано отсутствие ВПЧ ВКР.

Итак, анализ морфо-кольпоскопических признаков ВПЧ-поражения у женщин с субклиническими формами ПВИ, за которыми наблюдали в течение трёх лет, показал, что пассивный мониторинг с коррекцией микробиоценоза не предотвратил ВПЧ-поражения в виде LSIL (CIN I) у 22,6% пациенток. В то же время при вакцинации против ВПЧ, которая стимулирует процесс элиминации вирусов, LSIL наблюдалась лишь у 4,4% пациенток — меньше в 5,1 раза ($\chi^2=10,958$; $p=0,021$).

Таблица 3.18 — Инфицированность ВПЧ (исходные и новые типы) в процессе мониторинга (36 месяцев) пациенток с субклиническими формами ПВИ

типы ВПЧ	III группа (n=137)		IV группа (n=91)		χ^2 (p)
	n	%	n	%	
персистенция исходных типов ВПЧ					
всего	92	67,1	14	15,4	31,158 (0,0062)
16	51	37,2	7	7,7	8,8 (0,0092)
18	9	6,6	1	1,1	U-критерий Манна-Уитни — 2 ($p \leq 0,05$) — зона незначимости
31	6	4,4	2	2,2	
33	4	2,9	1	1,1	
45	1	0,7	0	0,0	
51	11	8,0	2	2,2	
52	1	0,7	0	0,0	
56	2	1,5	0	0,0	
58	6	4,4	1	1,1	
66	1	0,7	0	0,0	
новые генотипы ВПЧ					
всего	21	15,2	7	7,7	18,09 (0,0098)
16	11	8,0	0	0,0	U-критерий Манна-Уитни — 13 (6 — $p \leq 0,01$; 11 — $p \leq 0,05$) — зона незначимости
18	3	2,2	0	0,0	
44	1	0,7	2	2,2	
45	1	0,7	2	2,2	
51	4	2,9	0	0,0	
56	1	0,7	2	2,2	
58	0	0,0	1	1,1	

Проведение генотипирования ВПЧ и количественной оценки вирусной нагрузки у пациенток с субклиническими формами ПВИ позволило установить

значимые различия в частоте элиминации вируса между III и IV группами: ПЦР-негативация ДНК ВПЧ была верифицирована у 74,7% (68/91) пациенток IV группы, что превосходит аналогичный показатель в III группе, где элиминация вируса зафиксирована лишь у 18,2% (25/137) (разница в 4,1 раза) ($\chi^2=33,156$; $p=0,0054$) (табл. 3.18). Результаты исследования демонстрируют существенные различия в частоте персистенции ВПЧ между группами: персистирование генотипов, зафиксированных при рандомизации, наблюдалось у 67,1% пациенток III группы и лишь у 15,4% пациенток IV группы (со статистически значимой разницей в 4,4 раза, $\chi^2=31,158$; $p=0,0062$). Частота реинфицирования генотипами ВПЧ у вакцинированных пациенток была минимальной (7,7%) и преимущественно ассоциирована с генотипами 44, 45 и 56, не включенными в состав квадριвалентной вакцины. Результаты анализа вирусной нагрузки в этих группах показали, что высокая ВПЧ нагрузка ($>5 \text{ Lg}$) наблюдалась у 46,7% (64/137) пациенток III группы и 8,8% (8/91) — IV группы (в 5,3 раз больше) ($\chi^2=24,534$; $p=0,0069$).

Оценка сравнительной эффективности профилактических вмешательств при латентных и субклинических формах папилломавирусной инфекции показала, что вакцинация против ВПЧ обладает большей эффективностью по сравнению с тактикой динамического наблюдения. Комбинированный анализ данных по достижению ПЦР-негативного статуса и снижению вирусной нагрузки позволил установить, что вакцинация в среднем в 4,8 раза более эффективна.

Глава 4. Обсуждение полученных результатов

Папилломавирусная инфекция, локализующаяся в нижнем отделе гениталий, представляет собой одно из наиболее распространённых заболеваний среди женщин репродуктивного возраста. Региональные особенности распространения данной патологии играют значительную роль в её развитии. К сожалению, существующие данные не могут полностью отразить реальные масштабы ВПЧ-инфицированности населения, поскольку не все случаи заболевания регистрируются. Это связано с тем, что латентные и субклинические формы инфекции не подлежат обязательной регистрации [2, 15, 28, 34, 51, 89, 106]. Кроме того, на данный момент не существует общепринятой стратегии лечения женщин, у которых нет симптомов, связанных с ПВИ. Варианты ведения могут варьироваться от пассивного наблюдения до назначения курсов иммуностимулирующих и противовирусных препаратов. Это затрудняет выработку единого подхода к лечению и может привести к увеличению числа интраэпителиальных неоплазий [7, 12, 59, 65, 108].

Безусловно, определение типа ВПЧ не может служить индикатором злокачественных процессов в шейке матки, поскольку вирус имеет свойство быстро исчезать из организма многих женщин. В связи с этим до сих пор не достигнуто единого мнения о том, какую роль в развитии рака играют молекулярно-биологические и иммунные маркеры, такие как апоптоз и пролиферация, при папилломавирусной инфекции. Наиболее перспективным направлением исследований в этой области является изучение онкогенов и продуктов их экспрессии [9, 20, 85, 103]. Особый интерес представляет длительная персистенция вирусов и, связанный с этим, коканцерогенный эффект других патогенов, с инициацией многостадийного процесса трансформации, что предполагает, прогрессирующее неопластических процессов в эпителии нижнего отдела гениталий [6, 11, 30, 72, 104].

В настоящее время для профилактики латентных и субклинических форм ВПЧ используются консервативные методы, которые не обеспечивают полное избавление от вируса с высокой степенью эффективности [12, 35, 41, 66]. После использования

разнообразных неспецифических противовирусных и иммуностимулирующих средств в 26–82% случаев происходит повторное заражение или присоединение ВПЧ другого типа, что увеличивает риск развития неопластической трансформации эпителиальных клеток [4, 16, 39, 92, 101]. Поэтому в данный момент продолжается работа над поиском новых методов эффективной борьбы с персистентным ВПЧ — интересным и многообещающим подходом является применение вакцины против ВПЧ [61, 83]. Так стали появляться отдельные статьи, в которых рассматривается вопрос о том, как вакцинация может снизить вероятность повторного появления цервикальных неоплазий после операции, в которых зарегистрировано значимое снижение частоты рецидивов после эксцизионных методов терапии CIN [15, 16].

В рамках этой диссертационной работы мы реализовали двухэтапный план: на первом этапе, носившем ретроспективный характер, мы провели пятилетнее исследование в регионе Краснодарского края.

К сожалению, информация, касающаяся сексуального анамнеза, не всегда объективна, но нами не обнаружено достоверных отличий ни в среднем возрасте полового дебюта, ни в количестве половых партнеров от значений контроля. Особенности менструальной, репродуктивной и гормональной функций не выявлено.

Обращает внимание возрастающее использование для курения альтернативных способов (аналоги электронных сигарет, «стики» и др.), которые в обеих группах доходят до $52,3 \pm 3,6\%$ ($p=0,0002$), при этом в научной литературе практически не встречается данных об их влиянии на реализацию ПВИ.

Анализ типов ВПЧ показал, что в регионе наиболее распространены высокоонкогенные типы вируса — они были обнаружены у 69,4% носителей вируса в латентной форме и у 82,8% с субклинической формой ПВИ.

За 14-летний период реализации программы вакцинации против ВПЧ в регионе наблюдалась выраженная волатильность, характеризующаяся значительным увеличением числа вакцинированных в период с 2015 по 2018 год, с последующим

снижением объемов вакцинации (всего за 14 лет привились 7123 человека, что составляет 0,24% от общего числа женщин в регионе).

Основной акцент предлагаемой модели вторичной профилактики злокачественных новообразований нижнего отдела гениталий, позволяющая выделить риски прогрессирования неопластических процессов, делается на комплексную диагностику. Вторым (ключевым) компонентом предлагаемого подхода является структурированная стратегия ведения женщин с персистирующей ПВИ.

Второй этап: рандомизация (216 пациенток с латентными и 232 — субклиническими формами ПВИ) и комплексное исследование. Жидкостная цитология цервикальных соскобов у всех женщин с латентными формами ПВИ не выявлено атипической трансформации эпителиальных клеток: в 33,9% (86/254) случаев результаты цитологического исследования были в пределах нормы (NILM), в 61,4% (156/254) случаев была обнаружена воспалительная реакция, а у 4,7% (12/254) — ASC-US. При субклинических формах 42,2% пациенток показали NILM (в 52,2% отмечена воспалительная реакция, у 5,6% ASC-US), койлоцитарная атипия клеток, инфицированных ВПЧ — у 84,2% (214/254) пациенток, основным морфологическим субстратом был цервицит (83,1%; 211/254), по-видимому, смешанной бактериально-вирусной этиологии. Вирусологический анализ (ПЦР-РВ ВПЧ) показал, что наиболее распространёнными были следующие типы: 16 (54,4±3,1%), 18 (18,65±2,4%), 31 (11,85±1,9%) и 51 (14,6±1,4%). В 61,55±6,05% образцов из шейки матки было обнаружено несколько видов ВПЧ.

Многочисленные исследования свидетельствуют, что одним из наиболее существенных факторов реализации неопластических процессов является нарушение микробиоценоза с превалированием патогенной и условно-патогенной микрофлоры, в результате растет пролиферативная активность эпителия с хронизацией процесса. Согласно нашим исследованиям при субклинических формах ПВИ нормальных вагинальных мазков было почти в 3 раза меньше, чем при латентных — 9,4% против 26,9% ($\chi^2=7,5$; $p=0,0086$) — среднее количество таких мазков в двух группах —

18,15±5,2%. Также при латентных и субклинических формах оценка критериев дисбиоза (Hay/Ison) показало 2-ю (промежуточную) степень у 19,2% и 24,8% соответственно ($\chi^2=0,48$; $p=0,21$), 3-ю (бактериальный вагиноз) — у 33,5% и 44,1% ($\chi^2=1,188$; $p=0,097$), и 4-ю (анаэробный вагиноз) — у 20,4% и 21,7% ($\chi^2=0,002$; $p=0,35$) женщин. При этом среднее значение рН при латентных формах ПВИ было 4,29±1,65, а при субклинических формах повышалось до патологических значений — 4,88±3,12. ПЦР-анализ вагинального микробиоценоза показал, что у женщин с латентной формой ПВИ число вагинальных нормоценозов было почти в 2 раза больше, чем у тех, у кого эта инфекция протекала в субклинической форме (30,7% против 16,1%). Также обратило на себя внимание высокое количество в группах вирусов HSV и CMV — в сумме 68,1±6,9% при латентных и 88,6±9,4% при субклинических формах ПВИ. Возможно, что ВПЧ-поражение эпителиальных клеток в их присутствии способствует более эффективной реализации патогенного эффекта ВПЧ в результате развития локального иммунодефицита, что может приводить к изменению экспрессии протоонкогенов, затрудняя распознавание инфицированных эпителиоцитов иммунокомпетентными клетками, увеличению темпов клеточного обновления с замедлением терминальной дифференцировки клеток. Установление ассоциации нарушений микробиоты с развитием неопластических изменений в нижнем отделе гениталий позволяет оценивать возможную ее взаимосвязь с клиническими особенностями и прогнозом дальнейшего развития ВПЧ-инфекции.

Анализ биохимических свойств цервикальной слизи показал уменьшение перекиси водорода и молочной кислоты у пациенток с субклиническими формами — на 40,1±5,3% (разница между группами достоверна — $\chi^2=9,022$; $p=0,0084$) и 19,0±2,2% (разница недостоверна — $\chi^2=1,492$; $p=0,096$). Также при субклинических формах ПВИ зарегистрировано значимое снижение уровня глюкозы (на 14,1% по сравнению с латентными — $\chi^2=0,924$; $p=0,12$), железа (на 39,7% — $\chi^2=9,342$; $p=0,0086$) и меди (на 68,4% — $\chi^2=34,52$; $p=0,0014$). Снижение уровня глюкозы — маркера гликогена в эпителии (2,74±0,32 моль/л при субклинических против 3,16±0,18 — латентные

формы ПВИ), отражает девиации, происходящие на локальном уровне при преобладании условно-патогенной микрофлоры, а железо и медь, необходимые для существования большинства микроорганизмов (особенно анаэробных), теряются при конкурентных взаимоотношениях между ними.

Не вызывает сомнений, что регрессия или прогрессия обусловленных вирусами изменений эпителия нижнего отдела гениталий определяется не только ВПЧ-генотипом, но и зависит от состояния иммунного статуса. Доказано, что при достаточно продолжительной персистенции ВПЧ, может формироваться иммуносупрессия, связанная с воздействием на функциональную полноценность иммунокомпетентных клеток, ингибирующим влиянием продуктов деструкции клеток, и с дисбалансом цитокиновой регуляции. Отмечены изменения выработки провоспалительных (TNF) и регуляторных (IL-10) цитокинов в присутствии ВПЧ со снижением IL-1 β и IFN γ в цервикальном секрете (у женщин с субклиническими формами ПВИ они были в среднем в 2 раза ниже, чем при латентных), повышением IL-8, IL-4 и TNF α и, что особенно характерно, двукратным ростом TGF β .

Уменьшение апоптоза рассматривается как возможный фактор, способствующий увеличению атипии клеток эпителия. Важнейшая роль в регуляции этого процесса отводится определенным генам-протеинам, определяющим судьбу клетки: проапоптотическому — p53, и подавляющему апоптоз — bcl-2, которые могут рассматриваться как прогностические факторы при диспластических поражениях эпителия нижнего отдела гениталий. Девиация апоптоза наступает при нарушении секреции p53, связанной с его блокадой определенными вирусными протеинами (в частности, E6) и получении мутантного типа — p53mut. Мы обнаружили, что в нормальной эпителии шейки матки нет мутаций в гене p53, однако при субклинических формах ПВИ их частота составила $11,6 \pm 3,8\%$ ($p < 0,05$), что может указывать на нарушение процесса апоптоза в эпителиальных клетках шейки матки. Такие нарушения могут способствовать развитию неоплазии и рассматриваться как один из ключевых маркеров прогрессирования ВПЧ-ассоциированных заболеваний.

Регистрация проапоптозной активности мутантного гена p53 также связано с другим протоонкогеном — bcl-2, имеющим противоположную направленность. Снижение экспрессии bcl-2 при субклинических формах ПВИ может служить маркером появления атипических изменений в эпителии, а также свидетельствовать о снижении интенсивности апоптоза при гиперэкспрессии bcl-2. При этом нами была обнаружена взаимосвязь между экспрессией этого онкопротеина и продукцией TGF β , что подтверждает его участие в качестве модулятора апоптоза. Таким образом, основной точкой приложения онкогенов и онкосупрессоров является регуляция апоптоза, при этом подавление его индукции при ВПЧ-инфицировании, может повышать жизнеспособность клеток, и, таким образом, повышает риск сохранения генетических мутаций, вызывая нестабильность генома клеток и способствуя развитию опухолевых процессов.

Продукция клетками факторов роста является одной из причин их неконтролируемого роста и, взаимодействуя со специфическими рецепторами, индуцирует их пролиферацию. В их число входят EGF и TGF α , которые связываются с общим рецептором эпидермального фактора роста (EGFR), одним из которых является c-erb-B2. В группах не было обнаружено статистически значимых различий в частоте экспрессии c-erb-B2: при латентных формах ПВИ — в 20,0 \pm 12,6% случаев, при субклинических — в 19,1 \pm 4,1%.

ВПЧ-инфицирование с реализацией неопластического процесса в большинстве случаев ассоциируется с повышением TGF β , как основного индуктора bcl-2 и деактиватора p53 — антиапоптотическое действие с активацией клеточного деления. При этом прослеживается прямая связь между уровнем PCNA, TGF β и экспрессией bcl-2. Прогрессия неопластического процесса сопровождается последовательным усилением экспрессии PCNA, а уровень дифференцировки клеток напрямую связан с темпами клеточного роста. В исследовании экспрессии PCNA в эпителии шейки матки было установлено, что его средний уровень определения составлял 5,15 \pm 0,95%.

Положительный ПЦР-тест мРНК E7, проведенный у пациенток с ВПЧ генотипов 16, 18 и 31 (54,8%: 40,1% с латентной и 65,3% с субклинической формами ПВИ) зарегистрирован в 14,5±6,3%, при этом в группе с субклиническими формами их было в 2,6 раза больше.

ИГХ-анализ рецепторного статуса сочетания рецепторов эстрогенов и прогестерона в цервикальном эпителии — распределение на рецепторпозитивных (ER+ PgR+), с экспрессией одного из рецепторов и рецепторнегативных (ER- PgR-) показали частоту сочетанной экспрессии в латентной группе — 59,7±6,9%, ER+ — 30,8±8,3% и PgR+ — 11,4±3,5%. При субклинических формах ПВИ экспрессия этих рецепторов отмечалась в 90,2±5,9% со статистически незначимым количеством рецепторнегативных образцов (1,8±0,6%); случаев ER+ PgR+ было 44,6±5,4%, при этом частота выявления ER+ и PgR+ статистически незначима как по сравнению с контролем, так и группой пациенток с латентными формами ПВИ. Основываясь на информации из научных источников и результатах собственных изысканий, мы разработали концептуальную модель патогенеза формирования цервикальной неоплазии (схема 4.1).

В рамках исследования разработан инновационный инструмент для стратификации риска развития CIN на фоне персистирующего течения ПВИ: «прогностическая таблица, учитывающая ключевые анамнестические, клинические и лабораторные данные — этот инструмент позволяет дифференцировать пациенток по степени риска неопластической трансформации. Анализ ДК выявил, что у 67,5±16,55% женщин с латентными и субклиническими формами ПВИ риск развития CIN превышал 95%» (Горринг Х.И., Куценко И.И., Боровиков И.О., 2021-2023) [17, 18, 20]. Важно отметить, что у пациенток с субклинической формой инфекции высокие ДК встречались в 2,3 раза чаще ($\chi^2=4,616$; $p<0,05$), чем у женщин с латентной формой заболевания.

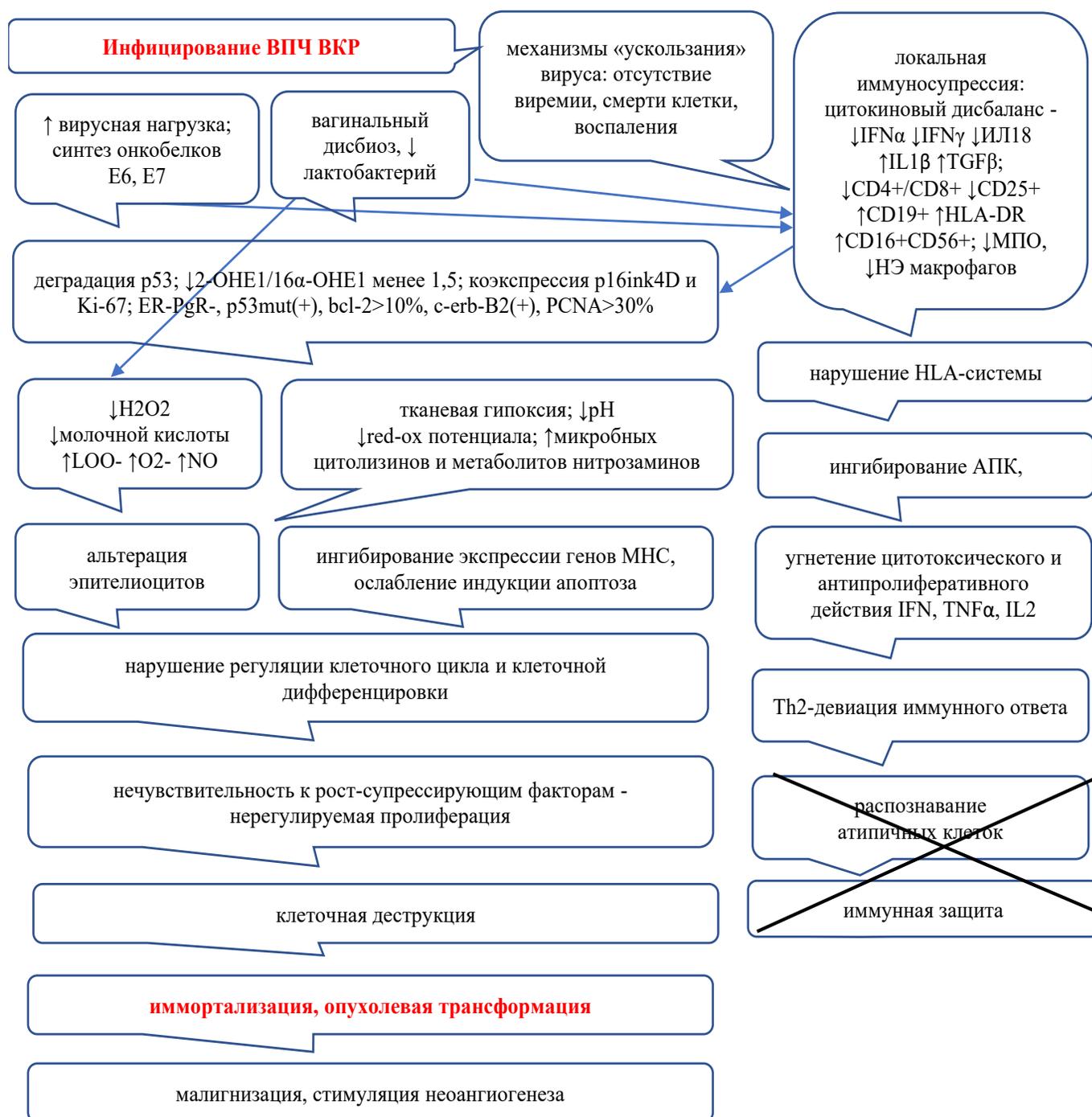


Схема 4.1 — «Патогенетические механизмы формирования интраэпителиального поражения шейки матки при папилломавирусной инфекции» (Горринг Х.И., Боровиков И.О., Куценко И.И., 2024) [17]

На сегодняшний день исследователи сосредоточены на разработке новых профилактических подходов, направленных на предотвращение трансформации латентных и субклинических инфекций, вызванных папилломавирусом, в клинически

манифестные формы. Мы полагаем, что вакцинация против ВПЧ обладает наибольшим потенциалом в качестве профилактической меры. В литературе представлены единичные публикации, посвященные оценке ее влияния на CIN после оперативного лечения, в которых отмечено уменьшение частоты рецидивов заболевания. Хотя и существуют отдельные работы, в которых рассматривается потенциальная эффективность адъювантной вакцинотерапии при лечении CIN, до сих пор нет единства в механизмах действия вакцин на ВПЧ-инфицированный организм [18, 76, 79, 102]. Рассматривается несколько вариантов их действия, некоторые из которых косвенно подтверждены в нашем исследовании: это и формирование перекрёстного иммунного ответа на различные типы ВПЧ, что происходит, когда в организме присутствуют антитела к другим типам ВПЧ, которые активируются после введения вакцины, в результате происходит уничтожение поражённых вирусом клеток эпителия; также возможность вакцины стимулировать клеточный иммунный ответ, активируя регуляторные цитокины, с реверсией его направленности,; кроме того, содержащийся в вакцине белок, воздействующий на онкобелок E, активирует неспецифический иммунитет хозяина, что препятствует ВПЧ-поражению клеток; и, наконец, — это изменение вектора реакций белков, то есть смена направленности процессов метапластического роста в пользу процесса, контролирующего пролиферацию. Результаты исследования, посвящённого изучению механизмов развития латентных и субклинических форм ПВИ, послужили основанием для применения вакцины против ВПЧ в качестве средства профилактики и лечения. Причиной выбора вакцинации, как метода профилактической терапии, явилось наличие ее плейотропных воздействий на различные звенья иммунной системы и возможность повышения защиты здоровых эпителиоцитов от ВПЧ-инфицирования и прогрессирования процесса. В рамках работы было проведено исследование, посвященное оценке профилактического потенциала вакцинации против ВПЧ. Согласно методологии исследования, описанной в предыдущих разделах, все пациентки с диагностированными латентными (группы I-II; n=216) и

субклиническими (группы III-IV; n=232) формами ПВИ были стратифицированы на 4 группы. При 36-месячном мониторинге пациенток с латентными формами ПВИ в I группе обнаружено, что у 17,9% (22/123) женщин носительство ВПЧ перешло в субклиническую форму, а у 8,9% (11/123) пациенток этой группы были выявлены неопластические процессы в шейке матки, соответствующие CIN I. При этом, в группе женщин, прошедших вакцинацию (II), не было выявлено реализации в CIN за весь период наблюдения, а также было диагностировано 7,5% (7/93) субклинических форм ПВИ. У 71,5% (88/123) пациенток I группы и у 16,1% (15/93) II группы были обнаружены ВКР типы ПВИ, при этом у большинства пациенток обеих групп наблюдалось сохранение типов ВПЧ, которые были выявлены при рандомизации (54,1%), а также заражение, возможно, новыми генотипами ВПЧ (16,3%). Касательно случаев повторного заражения среди женщин, прошедших вакцинацию, которые составили всего 5,4%, следует отметить, что они были связаны с генотипами ВПЧ, не входящими в состав квадριвалентной вакцины (44, 45 и 58). В то же время, среди женщин из I группы были обнаружены генотипы ВПЧ ВКР (16 и 18), что увеличивает риск развития неопластических процессов. Исследование метаболитов эстрогенов показало, что в группе II произошло снижение числа женщин с соотношением 2-ОНЕ1/16 α -ОНЕ1 менее 1,5 (в среднем оно уменьшилось в 1,7 раза за 36 месяцев), тогда как в группе I оно оставалось стабильным или даже немного увеличивалось — различия между группами достоверны ($\chi^2=15,51$; $p<0,01$). В результате трёхлетнего наблюдения за женщинами с латентными формами ПВИ, вакцинированными против ВПЧ (II группа), выявлено, более редкий (в 2,8 раза) их переход в субклинические формы, и отсутствие их реализации в CIN. Также в результате вакцинации удалось добиться уменьшения персистенции ВПЧ инфекции — наблюдалось сокращение количества случаев в 4,5 раза (интересно, что в то же время отмечалось трехкратное увеличение частоты выявления новых генотипов ВПЧ, что может указывать на изменение динамики распространения вируса). Вакцинация также привела к шестикратному снижению ВН ВПЧ ВКР. Параллельно с этим, количество пациенток,

демонстрирующих низкий уровень соотношения ОНЕ1/16α-ОНЕ1, сократилось втрое.

В начале исследования у большинства пациенток с субклиническими формами ПВИ обнаружены кольпоскопические изменения слизистых, характерные для цервицита, а также картины в виде нежной мозаики — $17,9 \pm 0,3$, пунктации — $11,7 \pm 1,5\%$. В ходе наблюдения в течение 36-ти недель в III группе плоские кондиломы исчезли у 33/127 (26,0%) пациенток, ацетобелый эпителий — у 17/34 (50,0%), специфический цервицит — у 89/133 (66,9%) (в среднем кольпоскопические признаки, характерные для ВПЧ-персистирования в шейке матки, исчезли у $40,3 \pm 10,7\%$ пациенток). При этом во IV группе плоские кондиломы исчезли у 66/74 (89,2%) пациенток, ацетобелый эпителий — у 17/19 (89,5%), специфический цервицит — у 67/76 (88,2%) (в среднем кольпоскопические признаки, характерные для ВПЧ-персистирования, исчезли у $85,5 \pm 3,4\%$ женщин, то есть в 2,1 раза больше, чем в III группе). В III группе NILM была зафиксирована у 75,3% женщин (119/158). В когорте IV, при проведении ежегодных оценок, зафиксирована исключительная результативность вакцинации в поддержании нормального кольпоскопического профиля — через год после вакцинации, 100% обследованных женщин демонстрировали отсутствие кольпоскопических отклонений, к 36 месяцам — до 92,4% (63/79), что указывает на устойчивый, но несколько снижающийся со временем положительный эффект вакцинации. Проведенное исследование морфологических и кольпоскопических параметров у женщин с субклиническими проявлениями ПВИ позволило установить, что пассивное ведение пациенток, включающее мероприятия по нормализации микрофлоры влагалища и шейки матки, не обеспечивает адекватной защиты от прогрессирования ВПЧ-ассоциированных поражений — в группе пассивного наблюдения частота выявления LSIL составила 19,6%, в то время как в группе, получившей вакцинацию против ВПЧ, данный показатель снизился до 3,8%, демонстрируя 5,2-кратное превосходство иммунопрофилактики ($\chi^2=9,36$; $p<0,05$). Установлено, что у 72,1% пациенток IV группы наблюдалась элиминация ранее

идентифицированных типов ВПЧ, что в 7 раз превышает аналогичный показатель в группе III (10,1%). Риск повторного инфицирования генотипами, входящими в состав вакцины, был минимален (6,3%), при этом большинство случаев повторного заражения было обусловлено не-вакцинными типами (ВПЧ типы 45, 52 и 66).

Исследование динамики экспрессии p16ink4a у пациенток с субклиническими формами ПВИ показало следующие результаты: в течение 12 месяцев p16ink4a в III группе снизился в 2 раза (с 6,7 до 3,1%), в последующие 24 месяца, несмотря на некоторый его рост, средние значения за 3 года составили $4,1 \pm 0,95\%$ (снизились в 1,6 раз за время наблюдения). В группе IV через 12 месяцев p16ink4a не детектировался, в дальнейшем его уровень был в 7,7 раз ниже исходного — $0,9 \pm 0,1\%$.

Одним из маркеров активности ВПЧ может служить в качестве диагностического критерия как активности процесса, так и тяжести поражения при субклинических и клинических цервикальных неопластических процессах эпителия, концентрация в цервикальной слизи цитокина TGFβ, что позволяет предсказать переход от простой персистенции ВПЧ к клиническим формам: если уровень TGFβ у ВПЧ-позитивных пациенток не превышает 150 пкг/мл, то следует проводить лишь ежегодный скрининг. Если же уровень TGFβ выше, то необходимо дополнительное цитоморфологическое исследование и назначение соответствующего лечения. В нашем исследовании анализ динамики локальной концентрации TGFβ в исследуемых группах, где использовались только методы наблюдения за пациентками с латентными и субклиническими формами ПВИ, средние значения TGFβ за три года лечения были следующими: $78,6 \pm 24,9$ пг/мл в I группе и $155,1 \pm 51,1$ пг/мл во III группе. Это означает, что показатели увеличились в 2,3 и 1,5 раза соответственно (рис. 4.1). В группах, где применялась вакцинация против ВПЧ через 36 месяцев уровень данного цитокина снизился до $19,5 \pm 8,3$ пг/мл в II группе и $57,1 \pm 36,4$ пг/мл во IV группе — снижение в 2,6 и 2,5 раза соответственно.

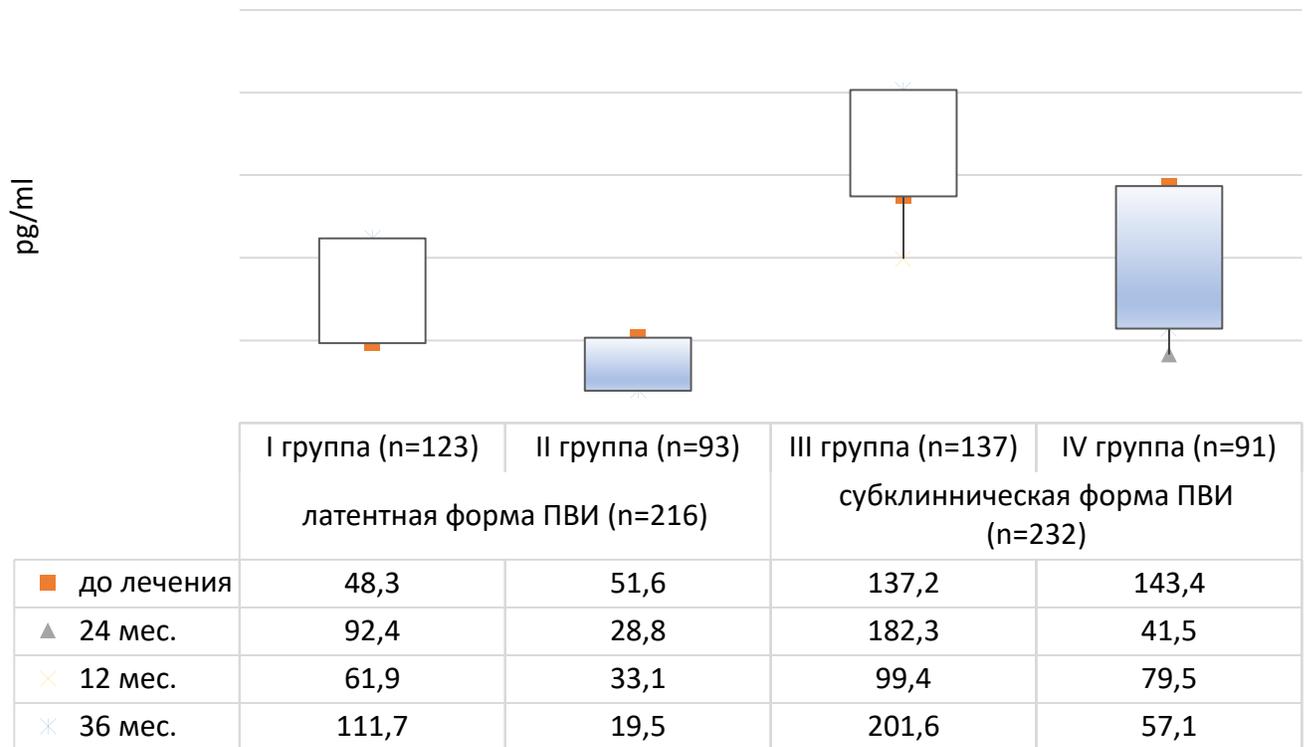


Рисунок 4.1 — Динамика TGFβ в группах в процессе терапии

Сравнительное исследование различных подходов к менеджменту пациенток с субклинической формой ПВИ выявило, что предлагаемая стратегия комплексной профилактики с использованием вакцинации против ВПЧ обладает значимо большей эффективностью. Вакцинация способствует регрессии кольпоскопических маркеров, ассоциированных с субклинической ПВИ, и демонстрирует протективный эффект в отношении прогрессирования в цервикальную неоплазию.

Глава 5. Алгоритм ведения пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции

На основе анализа клинических, микробиологических, иммунологических, цитохимических и молекулярно-биологических данных, связанных с цервикальным поражением ВПЧ, был создан алгоритм лечения пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ, способствующий улучшению результатов их менеджмента (схема 5.1). В контексте управления этими формами ПВИ можно выделить три ключевых аспекта: 1) выявление ВПЧ (особенно ВКР); 2) подтверждение наличия неопластического процесса и оценка его тяжести; 3) разработка индивидуального подхода к ведению таких пациенток.

В настоящее время в РФ, как и в большинстве стран рекомендуется проведение комплексного исследования, включающего кольпоскопию, цитологическое исследование (предпочтительно жидкостной Pap-тест) и типирование ВПЧ. Особого внимания заслуживает активно используемое в последнее время первичной диагностике ПЦР ВПЧ-тестирование, которое в отличие от цитологии, является более объективным с низкой лабораторной вариабельностью. К числу современных методов относится ПЦР-анализ с определением вирусной нагрузки и установлением порога клинически значимого количества вируса, что, по нашему мнению, может служить не только для диагностики, но и для прогнозирования успешного исхода лечения.

При таких вариантах ВПЧ-процесса, как латентная и субклиническая формы ПВИ целью является — определить активность вируса и своевременно диагностировать его реализацию в клиническую форму. Один из способов оценки прогрессирования ВПЧ-поражения может являться уровень TGF β в цервикальном секрете — это позволяет контролировать качество лечения — если уровень TGF β менее 150 пкг/мл можно проводить скрининг раз в год, если же он выше, нужно дополнительно делать цитологическое исследование с возможным применением вакцинации против ВПЧ.

Разработанная стратификационная система, основанная на диагностических коэффициентах, позволяет дифференцировать пациенток по степени риска развития интраэпителиальных неоплазий, что, в свою очередь, создает предпосылки для выбора наиболее эффективной стратегии менеджмента. Использование данной системы способствует прогнозированию течения патологического процесса и повышению эффективности мониторинга терапии.

Кроме вышеперечисленных мер, необходим обязательный анализ состояния вагинальной микробиоты с проведением этиотропной контаминационной и деконтаминационной терапии.

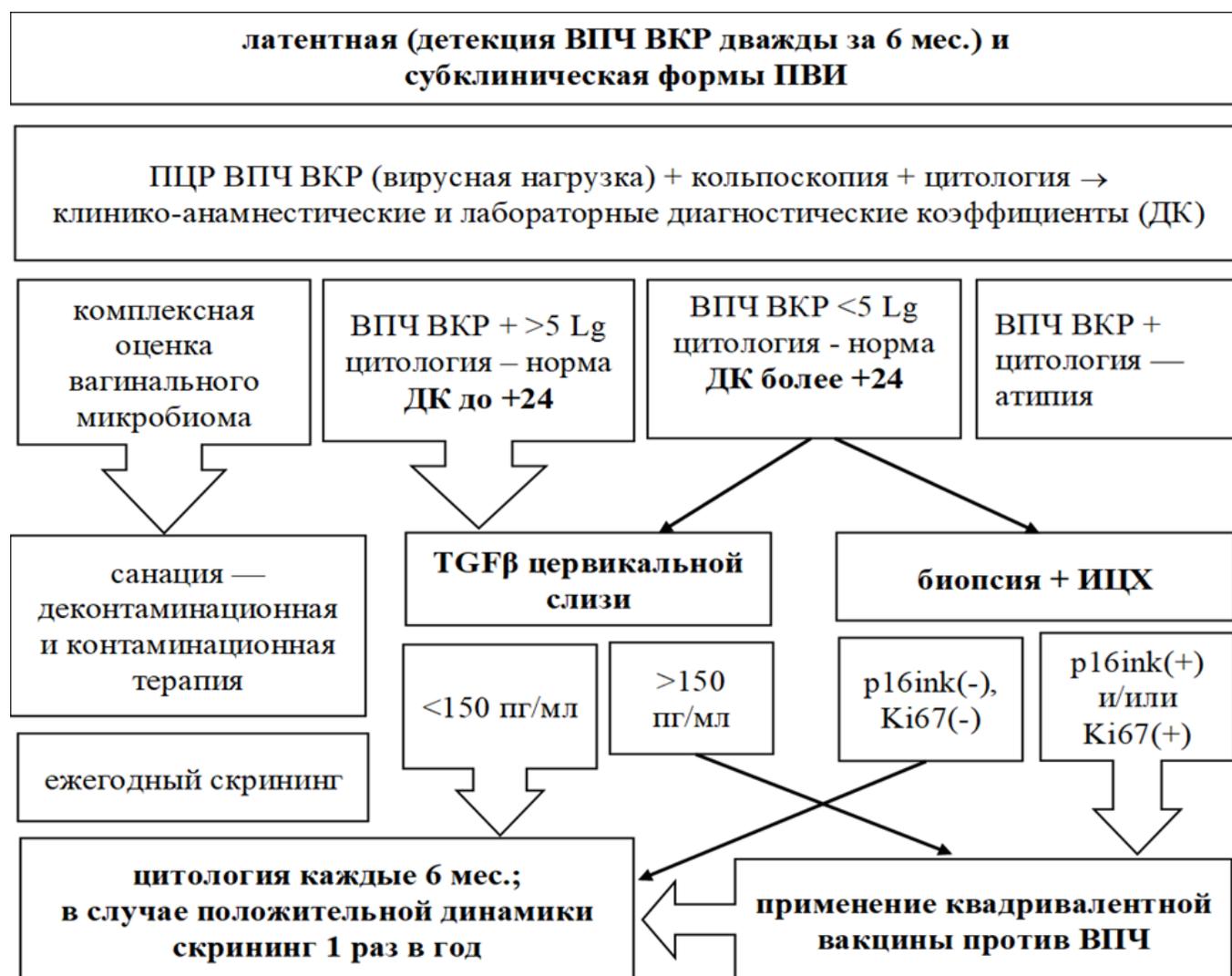


Схема 5.1 — Алгоритм ведения пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции

ВЫВОДЫ

1. Эпидемиологическая ситуация в Краснодарском крае характеризуется значительным ростом ВПЧ-ассоциированной патологии: с 2019 по 2023 гг. носительство ВПЧ увеличилось практически вдвое (с 28935 до 48241 на 100000 женского населения), а субклинических форм — продемонстрировал пятикратный рост (с 2215 до 11239 на 100000). При этом распространенность CIN на настоящий момент стабилизирована в регионе (14693 на 100000 женского населения в 2019 г., 14864 в 2023 г.). Преимущественно обнаруживались ВПЧ ВКР 16-го (25,6% латентные и 46,5% субклинические формы), 18-го (17,4% и 23,1%) и 51-го (11,5% и 28,3% соответственно, встречающиеся в различных комбинациях у 65,2% носителей вируса и у 83,9% пациенток с субклиническими формами ПВИ. Усилия по первичной профилактике ВПЧ-инфицирования недостаточны: лишь 7123 женщины (0,59% женского населения региона возраста от 9 до 45 лет) были вакцинированы за последние 14 лет.
2. Созданная нами байесовская модель математического прогноза «прямолинейной тенденции динамики заболеваемости» показала ожидаемую тенденцию продолжения роста числа случаев заболеваний, связанных с ВПЧ (CIN): с 15319 в 2024 г. до 16737 на 100000 женского населения в 2026 г. (в среднем на $8,1 \pm 1,4\%$).
3. Развитие неопластических процессов в эпителии шейки матки тесно ассоциировано с изменениями локального гомеостаза цервика-вагинальной зоны, в частности дисбиотическими девиациями микробиома — альтерация соотношения лактобацилл и условно-патогенной микрофлоры с изменением кислотности цервикального секрета (среднее pH при латентных формах ПВИ составило $4,29 \pm 1,65$, при субклинических — $4,88 \pm 3,12$), с изменением биохимического состава вагинального секрета со снижением концентрации протекторных факторов (перекись водорода — на $40,1 \pm 5,3\%$ и молочная кислота — на $19,0 \pm 2,2\%$), глюкозы (на 14,1%), микроэлементов (железа — на 39,7% и меди — на 68,4%) и увеличением активности гидролитических ферментов (амилазы —

в 2,7 раза и внутриклеточных протеаз: АЛТ — в 3,9 раза, АСТ — в 2,5 раза), что создает благоприятную нишу для развития неоплазии.

4. При латентных и, особенно, субклинических формах ПВИ на фоне изменённой микроэкологии влагалища, запускается каскад иммунных девиаций: снижается выработка провоспалительных цитокинов (IFN- γ , IL-1 β и TNF- α), при одновременном повышении уровня их антагониста — TGF β , превышающем контрольные значения более чем в 3 раза (48,7 \pm 9,8 против 152,4 \pm 16,6 pg/ml), подавляется активность ферментов миелопероксидазы (в 2,6 раза) и неспецифической эстеразы (в 2,4 раза) в цервикальных макрофагах — эти нарушения способствуют развитию оксидативного стресса, интенсификации липопероксидации (активность LOO- повысилась в 1,5 раза) и избыточной продукции реактивных форм кислорода и азота в клетках эпителия, что, в конечном итоге, создает условия для перехода ПВИ в клинически манифестную стадию.
5. Более точно определить стадию инфицирования, прогнозировать развитие неоплазий и выбрать подходящие меры вторичной профилактики позволяет исследование коэкспрессии p16ink4 α /Ki-67 и цитокина TGF β , стимулирующего преимущественно гуморальное звено иммунитета.
6. Определение диагностических коэффициентов вероятности перехода начальных стадий ПВИ в неопластические процессы шейки матки позволяет прогнозировать их дальнейшее развитие. Вероятность перехода латентных форм ПВИ в CIN составила более 95% у 58,2% женщин, а для субклинических форм этот показатель достиг 76,8% — суммарно 67,5 \pm 16,55% ($R^2=0,3476$);
7. Применение квадριвалентной рекомбинантной вакцины против ВПЧ 6, 11, 16, 18 типов на фоне коррекции дисбиоза влагалища в случае латентных форм ПВИ позволило в ходе трехгодичного мониторинга отметить отсутствие их реализации в цервикальную неоплазию (в группе без вакцинации CIN выявлен у 8,2% женщин), предотвратить переход в субклинические формы ПВИ в 2,4 раза по

сравнению с группой без вакцинации, снизить персистенцию ВПЧ в 6,1 раза (исходная персистенция) и в 3,6 раза (новые генотипы), вирусную нагрузку — в 5,6 раз.

8. В случае субклинических форм ПВИ вакцинация продемонстрировала высокую результативность — в среднем кольпоскопические признаки, характерные для ВПЧ-персистирования, исчезли у $85,5 \pm 3,4\%$ женщин, то есть в 2,1 раза больше, чем в группе пассивного наблюдения — $40,3 \pm 10,7\%$ пациенток). ВПЧ-поражения в виде LSIL в группе наблюдения зарегистрировано у 19,6% женщин, а в группе вакцинированных против ВПЧ — у 3,8% пациенток — эффективность выше в 5,2 раза ($\chi^2=9,36$; $p=0,016$);
9. Комплексный алгоритм ведения пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ, объединяющий диагностические коэффициенты и вакцинопрофилактику против ВПЧ, способствует оптимизации и персонификации процесса диагностики и лечения, обеспечивая более эффективное решение проблемы, что ведет к снижению вероятности трансформации в CIN.

Практические рекомендации

1. С целью выявления заболеваний, обусловленных ВПЧ у женщин, целесообразно последовательное выполнение кольпоскопии, цитологического исследования и ПЦР для определения наличия ВПЧ высокого онкогенного риска.
2. Прогнозирование прогрессирования латентных и субклинических инфекций, вызванных ПВИ, требует комплексного подхода, учитывающего как анамнестические сведения, так и результаты лабораторных анализов. На основе этих данных формируются индивидуальные диагностические показатели, представляющие собой сумму полученных информационных единиц — битов (приложение 1-2). Для повышения точности прогноза рекомендуется оценивать концентрацию TGF β в цервикальном секрете — уровень TGF β , выше 150 пкг/мл, может являться основанием для проведения комплексной оценки экспрессии ИГХ-маркеров, таких как p16ink4 α и Ki-67. В ситуациях, характеризующихся

невозможностью применения молекулярных и иммуногистохимических методов для диагностики неопластических заболеваний, принятие клинических решений должно базироваться на комплексной оценке клинико-anamнестических параметров.

3. Для пациенток с латентным или субклиническим течением ПВИ рекомендуется проводить микробиологическую санационную терапию и ежегодно контролировать наличие вируса папилломы человека высокого канцерогенного риска. В рамках мониторинга необходимо цитологическое исследование и кольпоскопия. В случае, если прогнозируемый риск развития заболевания (ДК) превышает 95% согласно таблице прогностических признаков, целесообразно рассмотреть возможность вакцинации против ВПЧ, предварительно получив информированное согласие пациентки (схема 5.1).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абухалтам Ахмад, Д.А., Совершенствование терапии латентных форм папилломавирусной инфекции / Д.А. Абухалтам Ахмад, И.В. Полеско, А.А. Халдин, Д.Г. Ким // Клиническая дерматология и венерология. — 2024. — №23(5). — С. 575-580. DOI: 10.17116/klinderma202423051575
2. Абухалтам Ахмад, Д.А. Возможности применения препарата рекомбинантного интерферона альфа-2b с антиоксидантами у взрослых пациентов с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции / Д.А. Абухалтам Ахмад, А.А. Халдин, Д.Г. Ким // Вестник последипломного медицинского образования. — 2024. — №1. — С. 28-33.
3. Аكوпова, Е.С. Ассоциированная патология гениталий: актуальные вопросы диагностики и лечения / Е.С. Аكوпова, С.И. Роговская, Т.Н. Бебнева // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2018. — №4. — С. 94-98.
4. Аполихин, О.И. Вакцинопрофилактика заболеваний, вызванных вирусом папилломы человека / О.И. Аполихин, А.А. Баранов, Н.В. Зароченцева // Методические рекомендации для врачей. Москва, 2021.
5. Аполихина, И.А. Лечебные и профилактические аспекты папилломавирусной инфекции гениталий / И.А. Аполихина, Е.Д. Денисова // Эффективная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии. — 2019. — №1. — С. 26-28.
6. Артемьева, Е.А. Возможности применения иммуноцитохимического двойного окрашивания p16/Ki-67 в диагностике интраэпителиальных поражений шейки матки / Е.А. Артемьева, М.И. Пахарукова, Ю.Г. Лагерева // Лабораторная служба. — 2023. — №12(4). — С. 37-43. DOI: 10.17116/labs20231204137
7. Ашрафян, Л.А. Современные возможности профилактики и ранней диагностики предрака и рака репродуктивных органов / Л.А. Ашрафян, В.И. Киселев // Акушерство и гинекология. — 2019. — №4. — С. 50-52.

8. Ашрафян, Л.А. Принципы лечения пре- и инвазивного рака шейки матки / Л.А. Ашрафян, Н.В. Харченко, В.Л. Огрызкова // Практическая онкология. — 2020. — №3(3). — С. 173-177.
9. Бахидзе, Е.В. Роль вируса папилломы человека в диагностике, мониторинге и прогнозе рака шейки матки / Е.В. Бахидзе, И.Л. Аршавская // Сибирский онкологический журнал. — 2018. — №3(51). — С. 34-40.
10. Бебнева, Т.Н. Папилломавирусная инфекция и патология шейки матки / Т.Н. Бебнева, В.П. Прилепская // Гинекология. — 2017. — №3(3). — С. 77-81.
11. Блатова, О.Л. Анализ частоты выявления онкогенных типов вируса папилломы человека у женщин с гинекологической патологией / О.Л. Блатова, К.Н. Конторщикова, Л.Д. Андросова // Вестник дерматовенеролога. — 2017. — №1. — С. 66-68.
12. Боровиков, И.О. Коррекция нарушений цитобioхимических процессов в слизистой шейки матки при цервикальной интраэпителиальной неоплазии / И.О. Боровиков, Е.Э. Герасименко // РМЖ. Мать и Дитя. — 2018. — №1(2). — С. 108-111. DOI: 10.32364/2618-8430-2018-1-2-108-111
13. Боровиков, И.О. Вакцинация женщин при латентных и субклинических формах папилломавирусной инфекции / И.О. Боровиков, Х.И. Горринг // Научные исследования 2023. — 2023. — С. 156-158.
14. Боровиков, И.О. Преконцепционная подготовка женщин с рецидивирующим генитальным кондиломатозом / И.О. Боровиков, Х.И. Горринг // Материалы III Общероссийской конференции с международным участием "Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству". С-Петербург. — 2017. — С. 40-42.
15. Боровиков, И.О. Профилактическая терапия пациенток с латентными формами папилломавирусной инфекции / И.О. Боровиков, Х.И. Горринг, М.В. Галустян // Материалы X юбилейного регионально-образовательного форума "Мать и дитя". Геленджик. — 2017. — С. 9-10.

16. Боровиков, И.О. Место аммония глицирризината в лечении и профилактике ВПЧ-ассоциированных поражений шейки матки / И.О. Боровиков, Е.И. Кравцова Е.И., В.П. Булгакова // Медицинский совет. Акушерство и гинекология. — 2017. — №2. — С. 116-121.
17. Боровиков, И.О. Вакцинация при латентных формах папилломавирусной инфекции: экспериментальное рандомизированное проспективное открытое контролируемое исследование / И.О. Боровиков, И.И. Куценко, Х.И. Горринг // Кубанский научный медицинский вестник. — 2024 — №31(4). — С. 30-41.
18. Боровиков, И.О. Опыт применения иммуномодулирующего препарата в терапии папилломавирусной инфекции гениталий у женщин / И.О. Боровиков, И.И. Куценко, Х.И. Горринг // Акушерство и гинекология. — 2018. — №3. — С. 122-128. DOI: 10.18565/aig.2018.3.122-128
19. Боровиков, И.О. Опыт клинического применения дииндолилметана в лечении ассоциированного с вирусом папилломы человека цервикального поражения низкой степени / И.О. Боровиков, И.И. Куценко, Х.И. Горринг, А.С. Магай, А.А. Горбулина // Медицинский Совет. — 2020. — №3. — С. 25-31.
20. Боровиков, И.О. Вакцинация против вируса папилломы человека после адьювантной терапии цервикальных интраэпителиальных неоплазий / И.О. Боровиков, И.И. Куценко, Х.И. Горринг, О.И. Боровикова // Кубанский научный медицинский вестник. — 2022. — №29(3). — С. 103-120.
21. Вирус папилломы человека: этиология, патогенез, роль и значение в развитии рака шейки матки / Зиганшин, А.М. [и др.] // Гинекология. — 2023. — №25(1). — С.17-21. DOI: 10.26442/20795696.2023.1.202070
22. Вишневский, А.С. Дискуссионные вопросы лечения папилломавирусной инфекции шейки матки / А.С. Вишневский, Н.Р. Сафронникова // Практическая онкология. — 2020. — №3(3). — С. 166-172.
23. Вонский, М.С. Канцерогенез, ассоциированный с инфекцией вирусами папилломы человека, его механизмы и возможности иммунотерапии / М.С.

- Вонский, М.Г. Шабаева, А.Н. Рунов // Биохимия. — 2019. — №84(7). — С. 995-1015.
24. Гинекология: национальное руководство \ Под ред. Г.М. Савельевой, Г.Т. Сухих, В.Н. Серова, В.Е. Радзинского, И.Б. Манухина; 3-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР Медиа, 2021. — С. 1017
25. Давыдов, А.И. Хирургическое и послеоперационное лечение патологии шейки матки, ассоциированной с вирусом папилломы человека / А.И. Давыдов, М.Н. Шахламова, В.А. Лебедев // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2019. — №18(1). — С. 11-19. DOI: 10.20953/1726-1678-2019-1-11-19
26. Долгушина, В.Ф. Распространенность различных генотипов ВПЧ при патологии шейки матки / В.Ф. Долгушина, О.С. Абрамовских // Акушерство и гинекология. — 2017. — №4. — С. 69-74.
27. Долгушина, В.Ф. Персистенция папилломавирусной инфекции у женщин с хроническим цервицитом / В.Ф. Долгушина, А.Н. Ахматова, Л.Ф. Телешева // Уральский медицинский журнал. — 2017. — №3(68). — С. 91-94.
28. Долгушина, В.Ф. Клинико-иммунологическое обоснование иммунотропной терапии хронического цервицита, ассоциированного с папилломавирусной инфекцией / В.Ф. Долгушина, А.Н. Ахматова, Л.Ф. Телешева // Уральский медицинский журнал. — 2019. — №3(57). — С. 58-62.
29. Достижения и перспективы в профилактике рака шейки матки в России / Л.С. Намазова-Баранова [и др.] // Профилактика рака шейки матки: руководство для врачей / под редакцией Г.Т. Сухих и В.Н. Прилепской, М: МЕДпресс-информ, — 2017. — 182 с.
30. Евстигнеева, Н.П., Кузнецова, Ю.Н., Герасимова, Н.М. Способы диагностики папилломавирусной инфекции. Описание изобретения к патенту. 2018;1-14.
31. Енаева, М.В. Лабораторные методы исследования в мировой практике скрининга рака шейки матки / М.В. Енаева, К.К. Носкова // Российский онкологический журнал. — 2021. — №26(5). — С. 177-187. DOI: 10.17816/onco111127

32. Заридзе, Д.Г. Рак шейки матки и другие ВПЧ ассоциированные опухоли в России / Д.Г. Заридзе, Д.М. Максимович, И.С. Стилиди // Вопросы онкологии. — 2020. — №66(4). — С. 325-335. DOI: 10.37469/0507-3758-2020-66-4-325-335
33. Зароченцева, Н.В. Мониторинг пациенток с цервикальной интраэпителиальной неоплазией после эксцизионных методов лечения / Н.В. Зароченцева, Л.К. Джиджихия, В.Н. Набиева // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2021. — №20(1). — С. 113–120. DOI: 10.20953/1726-1678-2021-1-113-120
34. Зароченцева, Н.В. Рецидивы цервикальных интраэпителиальных неоплазий после применения эксцизионных методов лечения / Н.В. Зароченцева, Л.К. Джиджихия, В.Н. Набиева // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2020. — №19(2). — С. 68-77. DOI: 10.20953/1726-1678-2020-2-68-77
35. Зароченцева, Н.В. Эффективность вакцинации против ВПЧ в профилактике рецидивов цервикальных интраэпителиальных неоплазий после эксцизионных методов лечения / Н.В. Зароченцева, Л.К. Джиджихия, В.Н. Набиева // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2021. — №20(4). — С. 38–44. DOI: 10.20953/1726-1678-2021-4-38-44
36. Зароченцева, Н.В. Эффективность программы экстракорпорального оплодотворения при бесплодии у пациенток с вирусом папилломы человека / Н.В. Зароченцева, К.В. Краснопольская, К.М. Исакова // Проблемы репродукции. — 2021. — №27(4). — С. 108-116.
37. Киселев, В.И. Этиологическая роль вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки: генетические и патогенетические механизмы / В.И. Киселев // Цитокины и воспаление. — 2017. — №2(4). — С. 31-38.
38. Киселева, В.И. Инфицирование вирусом папилломы человека высокого канцерогенного риска и прогноз рака шейки матки / В.И. Киселева, Л.И. Крикунова, Л.В. Любина // Вопросы онкологии. — 2020. — №56(2). — С. 185-190.

39. Климов, Е.А. Интеграция вирусов папилломы человека в геном клетки хозяина и патогенез рака шейки матки / Е.А. Климов // Успехи современной биологии. — 2020. — №130(4). — С. 381-389.
40. Клиническая морфология вариантов конизации шейки матки по поводу плоскоклеточных интраэпителиальных поражений высокой степени тяжести / Кардава, И.В. [и др.] // Архив патологии. — 2024. — №86(6). — С. 43-48. DOI: 10.17116/patol20248606143
41. Коломиец, Л.А. Клинико-морфологические аспекты цервикальной папилломавирусной инфекции / Л.А. Коломиец // Вопросы онкологии. — 2016. — №48(1). — С. 43-46.
42. Комарова, Е.В. Вирус папилломы человека — тестирование и генотипирование в диагностике цервикальных интраэпителиальных неоплазий / Е.В. Комарова, Г.Н. Минкина, М.В. Гаврикова // Акушерство и гинекология. — 2018. — №1. — С. 54-61.
43. Короленкова, Л.И. Снижение вирусной нагрузки, определённой методом гибридного захвата, у больных тяжелыми интраэпителиальными неоплазиями шейки матки, как результат эффективной предэксцизионной терапии аллокином-альфа / Л.И. Короленкова // Акушерство и гинекология. — 2016. — №4(2). — С. 78-82.
44. Краснопольский, В.И. Инфицированность вирусом папилломы человека среди девочек-подростков в Московской области / В.И. Краснопольский, Ю.М. Зароченцева, О.Ю. Белая // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2017. — №10(5). — С. 46-49.
45. Кубанов, А.А. Факторы риска инфицирования вирусом папилломы человека и молекулярные механизмы злокачественной трансформации инфицированных тканей / А.А. Кубанов // Вестник дерматологии и венерологии. — 2017. — №3. — С. 21-24.

46. Кузнецова, Ю.Н. Комплексная терапия манифестных проявлений папилломавирусной инфекции уrogenитального тракта / Ю.Н. Кузнецова, Н.П. Евстигнеева, Т.А. Обоскалова // Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. — 2019. — №3(6). — С. 27-31.
47. Куценко, И.И. Профилактика неопластических процессов в шейке матки при латентных формах папилломавирусной инфекции / И.И. Куценко, И.О. Боровиков, Х.И. Горринг // Исследования и практика в медицине. — 2017. — №2. — С. 32-33.
48. Мальцева, Л.И. Генитальные кондиломы у женщин: факты и противоречия / Л.И. Мальцева, Л.Н. Фаррахова, В.А. Кучеров // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2017. — №2. — С. 78-80.
49. Минкина, О.В. Генитальная папилломавирусная инфекция и возможность её профилактики / О.В. Минкина // Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. — 2017. — №1(3). — С. 3-10.
50. Молочков, А.В. Противовирусная терапия в лечении генитальной папилломавирусной инфекции / А.В. Молочков, А.Н. Хлебникова, Г.Э. Баграмова // Эффективная фармакотерапия в дерматовенерологии и в дерматокосметологии. — 2018. — №2. — С. 3-6.
51. Ниезова, Ш.Х. Оценка провоспалительных цитокинов иммунной системы в зависимости от вариантов сопроводительной иммунотерапии у больных раком шейки матки / Ш.Х. Ниезова // International Journal of Medicine and Psychology. — 2019. — №2(4). — С. 77-82
52. Перспективы клинического применения фотодинамической терапии для лечения заболеваний шейки матки / М.В. Рябов, Л.В. Михалева, Е.Ф., Странадко Р.А. Дуванский // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2020. — №19(6). — С. 34-40.
53. Подзолкова, Н.М., Роговская, С.И., Фадеев, И.Е. Папилломавирусная инфекция в акушерстве и гинекологии: практическое руководство для врачей. — Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2017. — 134 с.

54. Прилепская, В.Н., Костава, М.Н. Возможности терапии папилломавирусной инфекции / В.Н. Прилепская, М.Н. Костава // Гинекология. — 2019. — №17(1). — С. 16-19.
55. Прилепская, В.Н. Вакцинация как эффективный метод профилактики заболеваний шейки матки, ассоциированных с вирусом папилломы человека (обзор литературы) / В.Н. Прилепская, К.И. Гусаков, Н.М. Назарова // Гинекология. — 2019. — №21(2). — С. 23–27.
56. Роговская, С.И. Клинико-морфологические особенности папилломавирусной инфекции гениталий у женщин // Гинекология. — 2018. — №6(2). — С. - 36-42.
57. Росюк, Е.А. Иммунология шейки матки в норме и при патологии (обзор литературы) // Проблемы репродукции. — 2024. — №30(5). — С. 108-117. DOI: 10.17116/repro202430051108
58. Серов, В.Н. Папилломавирусная инфекция гениталий: основные принципы лечения / В.Н. Серов, М.А. Твердикова, В.Л. Тютюнник // РМЖ. Мать и дитя. Акушерство и гинекология. — 2019. — С. 1170-1174.
59. Современные возможности иммуноцитохимических исследований в диагностике интраэпителиальных поражений шейки матки / Шамаракова, М.В. [и др.] // Новости клинической цитологии России. — 2020. — №24(2). — С. 18-26.
60. Тер-Минасян, В.А. Возможности применения искусственного интеллекта в кольпоскопии в рамках скрининговых программ // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. — 2024. — №13(4). — С. 66-71.
61. Трухачева, Н.В. Медицинская статистика: учебное пособие. — М.: Изд-во «Феникс», 2017. — 152 с.
62. Унанян, А.Л. Вопросы патогенеза и терапии заболеваний шейки матки, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией / А.Л. Унанян, И.С. Сидорова, Ю.М. Коссович // Акушерство, гинекология и репродукция. — 2019. — №1. — С. 27-30.

63. Фейгина, А.М. Современные возможности использования фотодинамической терапии с внутривенным введением сенсбилизатора как альтернативы хирургическому лечению: клинический случай успешного лечения CIN II / А.М. Фейгина, Е.А. Росюк, Е.М. Вишнёва // Проблемы репродукции. — 2024. — №30(6). — С. 149-155. DOI: 10.17116/repro202430061149
64. Хрянин, А.А. Новые возможности профилактики папилломавирусной инфекции / А.А. Хрянин, О.В. Решетников, Л.А. Коломиец // Вестник дерматологии и венерологии. — 2019. — №5. — С. 49-55.
65. Хрянин, А.А. Современные представления о папилломавирусной инфекции: эпидемиология и тактика ведения пациентов с аногенитальными бородавками / А.А. Хрянин, Н.И. Тапильская, Г.Ю. Кнорринг // Клиническая дерматология и венерология. — 2020. — №19(5). — С. 719-728. DOI: 10.17116/klinderma202019051719
66. Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки: клинические рекомендации. — М. — 2021 — С.45.
67. Чулкова, О.В. Диагностика и лечение фоновых и предраковых заболеваний вульвы / О.В. Чулкова, Е.Г. Новикова, В.В. Соколова // Сибирский онкологический журнал. — 2017. — №5(53). — С. 18-22.
68. Эксцизионные методы лечения цервикальных интраэпителиальных неоплазий / Н.В. Зароченцева [и др.] // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. — 2020. — №8(4). — С. 37-47. DOI: 10.24411/2303-9698-2020-14005
69. Adjuvant Human Papillomavirus Vaccine to Reduce Recurrent Cervical Dysplasia in Unvaccinated Women: A Systematic Review and Meta-analysis / K. Lichter [et al.] // Obstetrics & Gynecology. — 2020. — Vol. 135 (5). — P. 1070-1083. DOI: 10.1097/AOG.0000000000003833
70. Antinyan, A. Cervical cancer screening invitations in low and middle-income countries: evidence from Armenia / A. Antinyan, M. Bertonib, L. Corazzini // Soc Sci Med. 2021. — 273. — 113739. DOI: 10.1016/j.socscimed.2021.113739

71. Application of deep learning to the classification of uterine cervical squamous epithelial lesion from colposcopy images combined with HPV types / Miyagi Y. [et al.] // *Oncol Lett.* — 2020. — Vol. 19 (2). — P. 1602-1610. DOI: 10.3892/ol.2019.11214
72. Arbyn, M. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis / M. Arbyn, E. Weiderpass, L. Bruni // *Lancet Glob Health.* — 2020. — Vol. 8 (2). — e191-e203. DOI: 10.1016/s2214-109x(19)30482-6
73. Artificial intelligence in healthcare: transforming the practice of medicine / J. Bajwa [et al.] // *Future Healthc J.* — 2021. — Vol. 8 (2). — e188-e194. DOI: 10.7861/fhj.2021-0095
74. Athanasiou, A. Comparative efficacy and complication rates after local treatment for cervical intraepithelial neoplasia and stage 1a1 cervical cancer: protocol for a systematic review and network meta-analysis from the CIRCLE Group / A. Athanasiou, A. Veroniki, O. Efthimiou // *BMJ Open.* — 2019. — Vol. 9 (8). — 028008. DOI: 10.1136/bmjopen-2018-028008
75. A trial of SGN-00101 (HspE7) to treat high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive individuals / J. Palefsky [et al.] // *AIDS.* — 2023. — Vol. 20 (8). — P. 1151-1155, DOI: 10.1097/01.aids.0000226955.02719.26
76. Barken, S. Long-term adherence to follow-up after treatment of cervical intraepithelial neoplasia: nationwide population-based study / S. Barken, E. Lynge, E. Andersen // *Acta Obstet Gynecol Scand.* — 2019. — Vol. 92 (7). — P. 852-7. DOI: 10.1111/aogs.12116
77. Basu, P. Management of cervical premalignant lesions / P. Basu, K. Taghavi, S. Hu // *Curr Probl Cancer.* — 2018. — Vol. 42 (2). — P. 129-136. DOI: 10.1016/j.currproblcancer.2018.01.010
78. Bedell, S. Cervical cancer screening: past, present, and future / S. Bedell, L. Goldstein, A. Goldstein // *Sex Med Rev.* — 2020. — Vol. 8 (1). — P. 28-37. DOI: 10.1016/j.sxmr.2019.09.005
79. Bosch, F. HPV and cervical cancer: screening or vaccination? / F. Bosch, X. Castellsague // *British Journal of Cancer.* — 2018. — Vol. 98. — P. 15-21.

80. Bosch, F. The causal relation between papillomavirus and cervical cancer / F. Bosch, A. Lorinez, N. Munos // *Journal of clinical partology*. — 2020. — Vol. 55 (4). — P. 244-265.
81. Brimer, N. Human papillomavirus type 16 E6 induces cell competition / N. Brimer, Pol S. Vande // *PLoS Pathogens*. — 2022. — Vol. 18 (3). — e1010431. DOI: 10.1371/journal.ppat.1010431.
82. Cancer statistics, 2021 / R. Siegel [et al.] // *CA Cancer J Clin*. — 2021. — Vol. 71 (1). — P. 7-33. DOI: 10.3322/caac.21654
83. Chen, L. Analysis of recurrence and its influencing factors in patients with cervical HSIL within 24 months after LEEP / L. Chen, L. Liu, X. Tao // *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. — 2021. — Vol. 152 (1). — P. 64-81.
84. Cervical cancer: Epidemiology, risk factors and screening / S. Zhang [et al.] // *Chin J Cancer Res*. — 2020. — Vol. 32 (6). — P. 720-728. DOI:10.21147/j.issn.1000-9604.2020.06.05
85. CCL22-Polarized TAMs to M2a Macrophages in Cervical Cancer In Vitro Model / Q. Wang [et al.] // *Cells*. — 2022. — Vol. 11 (13). — P. 2027. DOI: 10.3390/cells11132027
86. Cuschieri, K. HPV testing in the context of post-treatment follow up (test of cure) / K. Cuschieri, R. Bhatia, M. Cruickshank // *J Clin Virol*. — 2018. — Vol. 76 (1). — P. 56-61. DOI: 10.1016/j.jcv.2015.10.008
87. De Vuyst, H. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: A meta-analysis // *Int. J. Cancer*. — 2019. — Vol. 124 (7). — P. 1626-1636.
88. Dual staining for p16/Ki-67 to detect high-grade cervical lesions: Results from the Screening Triage Ascertaining Intraepithelial Neoplasia by Immunostain Testing study / M. El-Zein [et al.] // *Int J Cancer*. — 2021. — Vol. 148. — P. 492-501. DOI: 10.1002/ijc.33250

89. Einstein M. Heat shock fusion protein-based immunotherapy for treatment of cervical intraepithelial neoplasia III // *Gynecologic Oncology*. — 2022. — Vol. 106 (3). — P. 453-460.
90. Fairley, C. What can surveillance of genital warts tell us? / C. Fairley, B. Donovan // *Sexual health*. — 2020. — Vol. 7 (3). — P. 325-337.
91. Falcaro, M. The effects of the national HPV vaccination programme in England, UK, on cervical cancer and grade three cervical intraepithelial neoplasia incidence: a register-based observational study / M. Falcaro, A. Castañon, K. Soldan // *Lancet*. — 2021. — Vol. 398 (10316). — P. 2084-2092. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)02178-4
92. Fernandes, S. Validation of CINtec® PLUS cytology kit in the diagnosis of persistent HPV infections — Cohort study in the Portuguese population / S. Fernandes, R. Silva // *J Cytol*. — 2021. — Vol. 38. — P. 94-100. DOI: 10.4103/joc.joc_173_20
93. Fertility and Pregnancy Outcomes after Conservative Management of Adenocarcinoma in Situ of the Cervix / S. Bell [et al.] // *Journal of Lower Genital Tract Disease*. — 2021. — Vol. 25 (4). — P. 270-275. DOI: 10.1097/LGT.0000000000000621
94. Fontham, E. Cervical cancer screening for individuals at average risk: 2020 guideline update from the American Cancer Society / E. Fontham, A. Wolf, T. Church // *CA Cancer J Clin*. — 2020. — Vol. 70 (5). — P. 321-346. DOI: 10.3322/caac.21628
95. Global estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2020: A baseline analysis of the WHO Global Cervical Cancer Elimination Initiative / D. Singh [et al.] // *Lancet Glob Health*. — 2023. — Vol. 11 (2). — e197-e206. DOI: 10.1016/s2214-109x(22)00501-0
96. Hariprasad, R. Role of colposcopy in the management of women with abnormal cytology / R. Hariprasad, S. Mittal, P. Basu // *Cytojournal*. — 2022. — Vol. 19. — P. 40. DOI: 10.25259/CMAS_03_15_2021
97. Holmstrom, O. Point-of-care digital cytology with artificial intelligence for cervical cancer screening in a resource-limited setting / O. Holmstrom, N. Linder, H. Kaingu //

- JAMA Netw Open. — 2021. — Vol. 4 (3). — e211740. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2021.1740
98. Hughes, S. Consortium for Assessing Immunity across the Menstrual Cycle. Changes in concentrations of cervicovaginal immune mediators across the menstrual cycle: a systematic review and meta-analysis of individual patient data / S. Hughes, R. Katz, E. Lokken // BMC Medicine. — 2022. — Vol. 20 (1). — P. 353. DOI: 10.1186/s12916-022-02532-9
99. Human papillomavirus in the setting of immunodeficiency: Pathogenesis and the emergence of next-generation therapies to reduce the high associated cancer risk / R. Hewavisenti [et al.] // Frontiers in Immunology. — 2023. — Vol. 14. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1112513
100. Human papillomavirus vaccination in women undergoing excisional treatment for cervical intraepithelial neoplasia and subsequent risk of recurrence: A systematic review and meta-analysis / Eriksen D. [et al.] // Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica. — 2022. — Vol. 101 (6). — P. 597-607. DOI: 10.1111/aogs.14359
101. Increased risk of cervical dysplasia in females with autoimmune conditions-Results from an Australia database linkage study / E. Foster [et al.] // PLoS One. — 2020. — Vol. 15 (6). — e0234813. DOI: 10.1371/journal.pone.0234813
102. Irvine, D. Shaping humoral immunity to vaccines through antigen-displaying nanoparticles / D. Irvine, B. Read // Current Opinion in Immunology. — 2020. — Vol. 65. — P. 1-6. DOI: 10.1016/j.coi.2020.01.007
103. Ito, K. A comparison of liquid-based and conventional cytology using data for cervical cancer screening from the Japan Cancer Society / K. Ito, R. Kimura, H. Konishi // Jpn J Clin Oncol. — 2020. — Vol. 50 (2). — P. 138-144. DOI: 10.1093/jjco/hyz161
104. Ito, Y. An artificial intelligence-assisted diagnostic system improves the accuracy of image diagnosis of uterine cervical lesions / Y. Ito, A. Miyoshi, Y. Ueda // Mol Clin Oncol. — 2022. — Vol. 16 (2). — P. 27. DOI: 10.3892/mco.2021.2460

105. Jach, R. COLPOSCOPY PROTOCOLS: a summary of the clinical expert's consensus guidelines of the Polish society of colposcopy and cervical pathophysiology and the Polish society of gynecologists and obstetricians / R. Jach, M. Mazurec, M. Trzeszcz // *Ginekol Pol.* — 2020. — Vol. 91 (6). — P. 362-371. DOI: 10.5603/GP.2020.0075
106. Kengsakul, M. Experiences in the prevention and screening of cervical cancer within Thailand / M. Kengsakul, P. Laowahutanont, S. Wilailak // *International Journal of Gynecology & Obstetrics.* — 2021. — Vol. 152 (1). — P. 48-52. DOI: 10.1002/ijgo.13481
107. Khamdamova, M. Innovative methods of treatment of background and precancerous diseases of the cervix / M. Khamdamova, M. Barotova // *New Day in Medicine.* — 2021. — Vol. 1 (33). — P. 194-197.
108. Kim, S. Role of artificial intelligence interpretation of colposcopic images in cervical cancer screening / S. Kim, H. Lee, S. Lee // *Healthcare (Basel).* — 2022. — Vol. 10 (3). — P. 468. DOI: 10.3390/healthcare10030468
109. Laser vaporization of the cervix is associated with an increased risk of preterm birth and rapid labor progression in subsequent pregnancies / K. Nitahara [et al.] // *Archives of Gynecology and Obstetrics.* — 2021. — Vol. 304 (4). — P. 895-902. DOI: 10.1007/s00404-021-06025-7
110. Li, Y. Computer-aided cervical cancer diagnosis using time-lapsed colposcopic images / Y. Li, J. Chen, P. Xue // *IEEE Trans Med Imaging.* — 2020. — Vol. 39 (11). — P. 3403-3415. DOI: 10.1109/tmi.2020.2994778
111. Liu, Y. Research Progress on Tumor-Associated Macrophages and Inflammation in Cervical Cancer / Y. Liu, L. Li, X. Zhao // *BioMed Research International.* — 2020. — Vol. 29. — P. 6842963. DOI: 10.1155/2020/6842963
112. Loopik, D. The risk of cervical cancer after cervical intraepithelial neoplasia grade 3: A population-based cohort study with 80,442 women / D. Loopik, R. Ebisch // *Gynecol Oncol.* — 2020. — Vol. 157 (1). — P. 195-201. DOI: 10.1016/j.ygyno.2020.01.023

113. Outcomes of the First Pregnancy after Fertility-Sparing Surgery for Early-Stage Cervical Cancer / R. Nitecki [et al.] // *Obstetrics and Gynecology*. — 2021. — Vol. 138 (4). — P. 565-573. DOI: 10.1097/AOG.0000000000004532
114. Paavonen, J. Efficacy of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04 - adjuvant vaccine against cervical infection and precancer caused by oncogenic HPV types (PATRICIA): final analysis of a double-blind, randomized study in young women / J. Paavonen, P. Naud, J. Salmeron // *Lancet*. — 2019. — Vol. 374. — P. 301-314.
115. Penna, C. Laser CO2 conization in postmenopausal age: risk of cervical stenosis and unsatisfactory follow-up / C. Penna, M. Fambrini, M. Fallani // *Gynecol Oncol*. — 2017. — Vol. 96 (3). — P. 771-775. DOI: 10.1016/j.ygyno.2017.11.012
116. Promoter hypermethylation analysis of host genes in cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancers on histological cervical specimens / L. Shi [et al.] // *BMC Cancer*. — 2023. — Vol. 23 (1). — P.168. DOI: 10.1186/s12885-023-10628-5
117. Quinlan, J.D. Human Papillomavirus: Screening, Testing, and Prevention // *Am Fam Physician*. — 2021. — Vol. 104 (2). — P. 152-159.
118. Reich, O. Cervical intraepithelial neoplasia III: long-term follow-up after cold-knife conization with involved margins / O. Reich, M. Lahousen, H. Pickel // *Obstet Gynecol*. — 2019. — Vol. 99 (2). — P. 193-196. DOI: 10.1016/s0029-7844(01)01683-0
119. Rezende, G. Low-cost interventions to improve cervical cancer screening: an integrative review / G. Rezende, M. Rezende, C. Carneiro // *Oncol Nurs Forum*. — 2022. Vol. 50 (1). — P. 59-78. DOI: 10.1188/23.ONF.59-78
120. Rijkaart, D. Human papillomavirus testing for the detection of high - grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer: final results of the POBASCAM randomized controlled trail / D. Rijkaart, J. Berkhof, L. Rozendaal // *Lancet Oncol*. — 2019. — Vol. 13. — P. 78-88.
121. Roman, L. A phase II study of Hsp-7 (SGN-00101) in women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia / L. Roman, S. Wilczynskid, L. Muderspach // *Gynecologic Oncology*. — 2022. — Vol. 106 (3). — P. 558-566. DOI: 10.1016/j.ygyno.2007.05.038

122. Role of FoxP3-positive regulatory T-cells in regressive and progressive cervical dysplasia / A. Vattai [et al.] // *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. — 2022. — Vol. 148 (2). — P. 377-386. DOI: 10.1007/s00432-021-03838-6
123. Sandoval-Colin, D. Cervicovaginal Cytokines to Predict the Onset of Normal and Preterm Labor: a Pseudo-longitudinal Study / D. Sandoval-Colin, M. Godines-Enriquez, J. Beltrán-Montoya // *Reproductive Sciences*. — 2023. — Vol. 30, №1. — P. 221-232. DOI: 10.1007/s43032-022-01007-9
124. Sung, H. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / H. Sung, J. Ferlay, R. Siegel // *CA Cancer J Clin*. — 2021. — Vol. 71 (3). — P. 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660
125. Takahashi, T. Development of a prognostic prediction support system for cervical intraepithelial neoplasia using artificial intelligence-based diagnosis / T. Takahashi, H. Matsuoka, R. Sakurai // *J Gynecol Oncol*. — 2022. — Vol. 33 (5). — e57. DOI: 10.3802/jgo.2022.33.e57
126. Tan, X. Automatic model for cervical cancer screening based on convolutional neural network: a retrospective, multicohort, multicenter study / X. Tan, K. Li, J. Zhang // *Cancer Cell Int*. — 2021. — Vol. 21 (1). — P. 35. DOI: 10.1186/s12935-020-01742-6
127. The effects of different instruments and suture methods of conization for cervical lesions / X. Wang [et al.] // *Sci Rep*. — 2019. — Vol. 9 (1). — P. 19114. DOI: 10.1038/s41598-019-55786-4
128. Vaginal microbiota and innate immunity after local excisional treatment for cervical intraepithelial neoplasia / Mitra A. [et al.] // *Genome Medicine*. — 2021. — Vol. 13 (1). — P. 176. DOI: 10.1186/s13073-021-00977
129. Valls, J. ESTAMPA study group. Performance of standardised colposcopy to detect cervical precancer and cancer for triage of women testing positive for human papillomavirus: results from the ESTAMPA multicentric screening study / J. Valls, A. Baena, G. Venegas // *Lancet Glob Health*. — 2023. — Vol. 11 (3). — e350-e360. DOI: 10.1016/S2214-109X(22)00545-9

130. Vvax001, a Therapeutic Vaccine, for Patients with HPV16-Positive High-grade Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Phase II Trial / Eerkens A. [et al.] // *Clin Cancer Res.* — 2025. — P. 1078-0432. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-24-1662
131. Velentzis, L. Recurrent disease after treatment for cervical pre-cancer: determining whether prophylactic HPV vaccination could play a role in prevention of secondary lesions / L. Velentzis, J. Brotherton, K. Canfell // *Climacteric.* — 2019. — Vol. 22 (6). — P. 596-602. DOI: 10.1080/13697137.2019.1600500
132. Wang, C. Artificial intelligence-assisted fast screening cervical high-grade squamous intraepithelial lesion and squamous cell carcinoma diagnosis and treatment planning / C. Wang, Y. Liou, Y. Lin // *Sci Rep.* — 2021. — Vol. 11 (1). — P. 16244. DOI: 10.1038/s41598-021-95545-y
133. CCL22-Polarized TAMs to M2a Macrophages in Cervical Cancer In Vitro Model / Q. Wang [et al.] // *Cells.* — 2022. — Vol. 11 (13). — P. 2027. DOI: 10.3390/cells11132027
134. Wu, A. Artificial intelligence in colposcopic examination: a promising tool to assist junior colposcopists / A. Wu, P. Xue, G. Abulizi // *Front Med (Lausanne).* — 2023. — Vol. 10. — 1060451. DOI: 10.3389/fmed.2023.1060451
135. Xue, P. Development and validation of an artificial intelligence system for grading colposcopic impressions and guiding biopsies / P. Xue, C. Tang, Q. Li // *BMC Med.* — 2020. — Vol. 18 (1). — P. 406. DOI: 10.1186/s12916-020-01860-y
136. Yuan, C. The application of deep learning based diagnostic system to cervical squamous intraepithelial lesions recognition in colposcopy images / C. Yuan, Y. Yao, B. Cheng // *Sci Rep.* — 2020. — Vol. 10 (1). — P. 11639. DOI: 10.1038/s41598-020-68252-3
137. Zhao, Y. The performance of artificial intelligence in cervical colposcopy: a retrospective data analysis / Y. Zhao, Y. Li, L. Xing // *J Oncol.* — 2022. — 4370851. DOI: 10.1155/2022/4370851
138. Zhonghua, F. *Comprehensive Cervical Cancer Control: A Guide to Essential Practice* / F. Zhonghua, K. Chan, Z. Zhi // Third edition. Geneva: World Health Organization;

2019. — 2019. — Vol. 54 (8). — P. 534-540. DOI: 10.3760/cma.j.issn. 0529-567x.2019.08.006.

139. Zimmer-Stelmach, A. The application of artificial intelligence-assisted colposcopy in a tertiary care hospital within a cervical pathology diagnostic unit / A. Zimmer-Stelmach, J. Zak, A. Pawlosek // *Diagnostics (Basel)*. — 2022. — Vol. 12 (1). — P. 106. DOI: 10.3390/diagnostics12010106

Список сокращений

1. ВН – вирусная нагрузка
2. ВПЧ ВКР – вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска
3. ИБ - индекс бактерицидности
4. ИППП – инфекции, передающиеся половым путем
5. ИФ - интерферон
6. ИФА – иммуноферментный анализ
7. МКА – моноклональные антитела
8. ПВИ – папилломавирусная инфекция
9. ПЦР – полимеразная цепная реакция
- 10.РШМ – рак шейки матки
- 11.ASC – American Society of Cancer (Американское общество по раку)
- 12.ASCUS – Atypical squamous cells of undetermined (атипические клетки плоского эпителия неопределенной значимости)
- 13.bcl-2 – ген регулятор апоптоза
- 14.CD – маркер кластера дифференцировки
- 15.CDC – Center of Disease Control (Центр по контролю за болезнями)
- 16.c-erb-B2 – протоонкоген, кодирующий рецептор 2 эпидермального фактора роста человека
- 17.CIN – Cervical Intraepithelial Neoplasia (цервикальная интраэпителиальная неоплазия)
- 18.CIS – carcinoma in situ
- 19.CMV - цитомегаловирус
- 20.E7, E6, E5 – ранние онкобелки, контролирующие репликацию вируса, транскрипцию и клеточную трансформацию
- 21.EBV – вирус Эпштейн-Барра
- 22.EUROGIN – European Organization of Genital Infections & Neoplasia (Европейское общество по ИППП и неоплазиям)

- 23.HSIL – High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions (плоскоклеточное интраэпителиальное поражение высокой степени тяжести)
- 24.IARC – International Agency of Cancer Research
- 25.IFN γ - γ - интерферон
- 26.Ig – иммуноглобулин
- 27.IL – интерлейкин
- 28.IRF – interferon regulatory factor
- 29.ISSDV – International Society for Study Vulvar Disease
- 30.LSIL - Low-Grade Squamous Intraepithelial Disease (плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени тяжести)
- 31.MTHFR – метилентетрагидрофолатредуктаза
- 32.NILM – negative for intraepithelial lesion or malignancy (интраэпителиальные изменения и злокачественные процессы отсутствуют)
- 33.p53mut – мутантный ген-супрессор клеточной трансформации
- 34.Пап-мазки – мазки по Папаниколау
35. PCNA - ядерный антиген пролиферирующей клетки
- 36.TGF β – трансформирующий фактор роста
- 37.TNF α - фактор некроза опухолей

Приложение 1 — Таблица прогностических критериев реализации латентных и субклинических форм папилломавирусной инфекции в CIN (без молекулярно-биологических иммунных маркеров неоплазии)

№№	ПРИЗНАК	ДК
	Анамнестические признаки	
1	Начало половой жизни (лет)	
	до	+6
	15–17	+3
	18–20	+1
2	Возраст (лет)	
	до	+4
	21–25	+3
	26–30	-2
	свыше	+4
3	Интервал менархе — сексуального дебюта (лет)	
	2–3	+4
	4–5	-1
	6 более	-4
4	Количество половых партнеров	
	0	-7
	1	-2
	2	+3
	3 более	+6
5	Курение	+6
6	Прием КОК (более 5 лет)	+1
7	ВМС	+3
8	Отягощенная онкологическая наследственность	+3
9	Метаболический синдром	+6
	Клинико-лабораторные признаки	
10	Аногенитальные бородавки	+7
11	Хронический цервицит	+5
12	Вагинит/вагиноз	+4
13	pH>5,5	+6
14	Инфекции, передаваемые половым путем	+4
	Гонококковая, трихомонадная инфекция	+3
	Хламидийная микоплазменная инфекция	+6
	Урогенитальный герпес, цитомегаловирус	+8
	Урогенитальный кандидоз	+3
	Микстинфицирование	+8
	Неспецифическая условно-патогенная микрофлора	+6
15	Вагинальный биоценоз	
	Вагинит	+3
	Дисбиоз	+7
16	ВПЧ высокого онкогенного риска	+3
	Микстинфицирование высокоонкогенными типами	+7

Расчет диагностического коэффициента (ДК):

ДК до +12 битов — благоприятный исход (перехода латентных и субклинических форм ПВИ в CIN не предвидится)

ДК от +13 до +20 битов — вероятность реализации интраэпителиального поражения нижнего отдела гениталий 95%

ДК более +20 битов — вероятность реализации интраэпителиального поражения нижнего отдела гениталий 99%.

Приложение 2 — Таблица прогностических критериев реализации латентных и субклинических форм папилломавирусной инфекции в CIN

№№	ПРИЗНАК	ДК
	Анамнестические признаки	
1	Начало половой жизни (лет)	
	до	+6
	15–17	+3
	18–20	+1
2	Возраст (лет)	
	до	+4
	21–25	+3
	26–30	-2
	свыше	+4
3	Интервал менархе — сексуального дебюта (лет)	
	2–3	+4
	4–5	-1
	6 более	-4
4	Количество половых партнеров	
	0	-7
	1	-2
	2	+3
	3 более	+6
5	Курение	+6
6	Прием КОК (более 5 лет)	+1
7	ВМС	+3
8	Отягощенная онкологическая наследственность	+3
9	Метаболический синдром	+6
	Клинико-лабораторные признаки	
10	Аногенитальные бородавки	+7
11	Хронический цервицит	+5
12	Вагинит/вагиноз	+4
13	pH>5,5	+6
14	Инфекции, передаваемые половым путем	+4
	Гонококковая, трихомонадная инфекция	+3
	Хламидийная микоплазменная инфекция	+6
	Урогенитальный герпес, цитомегаловирус	+8
	Урогенитальный кандидоз	+3
	Микстинфицирование	+8
	Неспецифическая условно-патогенная микрофлора	+6
15	Вагинальный биоценоз	
	Вагинит	+3
	Дисбиоз	+7
16	Молекулярно-биологические иммунные маркеры неоплазии	
	Онкобелок	+6
	Экспрессия p53, bc1-2 c-erb-B2	+9
	Экспрессия PCNA	+6

	Гиперэкспрессия p16ink4 α	+13
	Экспрессия Ki-67	+15
	Коэффициент 2-ONE1/16 α -ONE1	
	- выше	-5
	- 1,5-2,0	+4
	- менее	+10
	ER+ PgR+	-5
	ER- PgR-	+10
	Повышение TGF β	+16
17	Вирусная нагрузка (ВПЧ высокого онкогенного риска)	
	низкая (<5)	-5
	высокая (>5)	+2
	Микстинфицирование высокоонкогенными типами диапазоном	+7

Расчет диагностического коэффициента (ДК):

ДК до +18 битов — благоприятный исход (перехода латентных и субклинических форм ПВИ в CIN не предвидится)

ДК от +19 до +26 битов — вероятность реализации интраэпителиального поражения нижнего отдела гениталий 95%

ДК более +26 битов — вероятность реализации интраэпителиального поражения нижнего отдела гениталий 99%.