

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ ИМЕНИ  
АКАДЕМИКА В.И. КУЛАКОВА»

*На правах рукописи*

**СЫЧЕВА Елена Геннадьевна**

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РИСКА РАЗВИТИЯ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ  
ПРЕДРАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ ПРИ «МАЛЫХ»  
ФОРМАХ ПОРАЖЕНИЯ ЭПИТЕЛИЯ, АССОЦИИРОВАННЫХ С  
ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ**

14.01.01 – акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:  
доктор медицинских наук  
Назарова Н.М.  
доктор биологических наук  
Бурменская О.В.

Москва 2020

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ В ДИАГНОСТИКЕ «МАЛЫХ» ФОРМ ПОРАЖЕНИЯ ШЕЙКИ МАТКИ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ (обзор литературы).....	12
1.1 «Малые» формы поражения шейки матки: распространенность, этиопатогенетические аспекты.....	13
1.2 Вирус папилломы человека – биология, классификация, эпидемиология.....	17
1.3 Качество жизни пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки.....	25
1.4 Методы диагностики и предикторы прогноза течения «малых» форм поражений шейки матки.....	29
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	33
2.1 Материал исследования.....	33
2.2. Методы исследования.....	34
2.3 Методы статистической обработки.....	46
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	51
3.1 Результаты ретроспективного исследования.....	51
3.2 Клиническая характеристика исследуемых женщин.....	55
3.3 Результаты ВПЧ-генотипирования.....	62
3.4 Кольпоскопическая картина исследуемых пациентов.....	67
3.5 Результаты динамического наблюдения у пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки.....	72
3.6 Результаты экспрессии мРНК генов по группам.....	86
3.7 Ведение пациенток с морфологически подтвержденной CIN+.....	109
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	112
ВЫВОДЫ.....	125
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	127
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	128
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	130
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	147
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	148
ПРИЛОЖЕНИЕ В.....	150

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Рак шейки матки (РШМ) занимает четвертое место в мире в структуре онкологических заболеваний женщин [95]. Доказано, что вирус папилломы человека высокоонкогенного риска (ВПЧ ВР) выявлен в 97% случаев гистологически подтвержденных цервикальных раков [96; 97]. В настоящее время известно более 200 типов ВПЧ, из них полностью секвенированы 150 типов, 60 типов поражают аногенитальную область, 15 из которых являются высокоонкогенными типами (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 и 82) [12]. В настоящее время наиболее изучены ВПЧ 16, 18, 31, 33, 58 типов. Согласно результатам ряда исследований, ВПЧ 16 и 18 типов обнаруживаются более чем в 60-80% случаев HSIL (CINII/III) и РШМ [31; 41; 100]. У части пациенток наблюдается длительная персистенция вируса, которая, в свою очередь, способна вызвать ряд клеточных изменений, приводящих к развитию «малых» форм поражений эпителия шейки матки с последующим развитием предрака и РШМ в 27% случаев.

Американское общество по кольпоскопии и цервикальной патологии (American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, ASCCP) рекомендовало использовать термин «lesser abnormalities» («малые» формы поражения) для обозначения групп пациенток с цитологическими заключениями «атипические клетки плоского эпителия неясного значения» (Atypical squamous cells undertermined significance, ASCUS), «низкая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения» (Low grade squamous intraepithelial lesion, LSIL) и при обнаружении ВПЧ 16/18 типов и/или персистенции ВПЧ ВР [30]. Результаты цитологического исследования не предоставляют возможности предположить, какая часть пациентов окажется в группе высокого риска по прогрессированию заболевания, а у какой части произойдет элиминация ВПЧ-инфекции, приводящая к регрессу

патологического процесса. Известно, что в 10% случаев цервикальная интраэпителиальная неоплазия легкой степени (CINI) может прогрессировать до цервикальной интраэпителиальной неоплазии тяжелой степени (CINIII) и РШМ. Поэтому для многих врачей акушеров-гинекологов выбор тактики ведения пациенток различного возраста с «малыми» формами поражения шейки матки и применения методов лечения вызывает значительную сложность.

L. Bruni и соавторы провели анализ частоты выявления ВПЧ-инфицированных женщин в различных странах мира. Результаты мета-анализа показывают, что распространенность ПВИ в мире неоднородна. Так, в Африке, Северной, Южной и Центральной Америке, а также странах островных государств, прилегающих к Австралии, частота выявления ВПЧ ВР достигла более 20% среди женского населения [31]. Высокая частота встречаемости ВПЧ ВР выявлена в государствах с недавней реализацией скрининговых программ: в странах Африки (24%), Восточной Европы (21,4%), Латинской Америки (16,1%) [85].

Результаты метаанализов продемонстрировали высокую частоту выявления пациенток с ВПЧ-инфекцией и сопутствующей аномальной цитограммой. Так, цитологическое заключение ASCUS встречалось от 5,9% до 12,7%, LSIL – от 7,57% до 11,6%, NILM – у 28,6% пациенток [31; 44; 53]. У пациенток с цитологически верифицированными при скрининге «малыми» формами поражения шейки матки при проведении патоморфологического исследования заключение HSIL (CINII-III) у 5%, РШМ – у 1% [44]. Результаты многочисленных исследований позволяют сделать выводы, что количество пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки преобладает среди ВПЧ-положительных женщин, часть из которых находилась в группе риска прогрессии заболевания, другая часть – исходно имела более тяжелые поражения (HSIL).

Как известно, развитие злокачественного процесса происходит из-за нарушения внутриклеточных механизмов, которые на разных этапах своего развития приводят к молекулярно-генетическим изменениям, проявляющимся в нарушении дифференцировки и созревания клеток многослойного плоского эпителия шейки матки [97; 102; 103]. Единичные исследования свидетельствуют о высоком риске формирования тяжелой неоплазии у 26,7% пациенток с персистенцией ВПЧ 16/18 типов [87]. Однако риск формирования HSIL (CINIII) в зависимости от персистенции других типов ВПЧ у пациенток с «малыми» поражениями шейки матки не изучен.

Ряд авторов предполагает, что выявление онкобелков E6/E7 у ВПЧ-положительных женщин с цитологическим заключением ASCUS/LSIL может свидетельствовать о прогрессировании патологического процесса [49]. В настоящее время установлено, что повышенная экспрессия мРНК генов *MKI67(Ki67)*, *CDKN2A(p16)* является маркером, указывающим на гиперпролиферативные процессы в плоском эпителии. М. Del Pino и соавторы выявили связь уровня экспрессии мРНК генов *CDKN2A(p16)*, *BIRC5*, *MMP9*, *TOP2A*, *MCM5* и *MKI67(Ki67)* со степенью тяжести поражения шейки матки. Чувствительность метода для выявления HSIL (CINIII) составила 81% [79].

Таким образом, изучение уровня экспрессии мРНК генов у пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки может иметь высокую прогностическую ценность для оценки исхода патологических состояний и раннего выявления групп с высоким риском прогрессирования заболевания.

Страх перед онкологическими заболеваниями и потеря работоспособности оказывает влияние на КЖ в целом. Беспокойство, дискомфорт, боль и депрессия часто наблюдаются у пациенток с «малыми» поражениями шейки матки, однако изучение качества жизни (КЖ) в сравнительном аспекте не проводилось. Исследования Н.С. Lang и соавторов выявили статистически значимое снижение уровня КЖ, охватывающее все аспекты здоровья пациенток с РШМ [9]. Единичные исследования

свидетельствуют о снижении показателей КЖ у пациенток с ВПЧ-инфекцией и наличием аномальных результатов цитологического заключения [128; 129].

Таким образом, вышеизложенное определяет актуальность работы, посвященной совершенствованию тактики ведения пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки, ассоциированными с ВПЧ, для ранней диагностики неопластического процесса и определения группы высокого риска по развитию HSIL и РШМ.

### **Цель исследования**

Повысить эффективность диагностики и разработать дифференцированную тактику ведения пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки в зависимости от степени и риска прогрессии патологического процесса на основании клинических, морфологических, молекулярно-генетических методов исследования.

### **Задачи исследования**

1. Определить частоту встречаемости «малых» форм поражений шейки матки среди ВПЧ-позитивных женщин, обратившихся в научно-поликлиническое отделение, с последующей оценкой качества их жизни.
2. Изучить частоту встречаемости различных типов ВПЧ при «малых» формах поражениях шейки матки у пациенток репродуктивного возраста.
3. Определить частоту встречаемости типов и групп ВПЧ (классификация IARC), участвующих в формировании цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN+), у пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки.
4. Изучить уровень экспрессии мРНК генов при «малых» поражениях шейки матки для определения групп высокого риска по

прогрессии заболевания с формированием «тяжелых» поражений в ходе динамического наблюдения.

5. На основе многофакторного анализа уровня экспрессии мРНК генов разработать модель прогноза течения «малых» форм поражения и раннего определения «тяжелых» поражений шейки матки.

6. Разработать алгоритм ведения пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки для оценки динамики процесса (прогресс/регресс) с учетом клинических и морфологических методов, а также молекулярно-генетических предикторов.

### **Научная новизна**

Установлена высокая частота встречаемости «малых» форм поражения шейки матки среди ВПЧ-позитивных женщин репродуктивного возраста.

Определены наиболее значимые типы ВПЧ канцерогенного риска, персистенция которых способствует формированию неопластической трансформации и прогрессированию заболевания у пациенток с «малыми» поражениями шейки матки.

Выявлены различия уровней экспрессии мРНК генов, дифференцирующих «малые» и другие состояния эпителия шейки матки.

С помощью методов многофакторного анализа разработана модель расчета индекса риска прогрессии (ИРП) ВПЧ-ассоциированных заболеваний, учитывающая уровни экспрессии мРНК 11 генов *MKI67*, *CDKN2A*, *CCNB1*, *MYBL2*, *EXO1*, *ANLN*, *UBE2T*, *PGR*, *ESR1*, *BAG1*, *BCL2* и наличие ВПЧ ВР. Значение ИРП более 50 баллов (ИРП>50) у пациенток с «малыми» формами поражения свидетельствует о высоком риске прогрессирования патологического процесса до развития HSIL и РШМ.

Выявлено снижение уровня эмоционального и психологического компонентов качества жизни у пациенток с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки.

Разработан алгоритм ведения пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки с учетом значений ИРП и наличия ВПЧ высокого канцерогенного риска.

### **Практическая значимость**

Разработана профилактическая тактика ведения женщин с наличием ВПЧ канцерогенного риска с учетом модели расчета Индекса риска прогрессии, включающей мРНК 11 генов *MKI67*, *CDKN2A*, *CCNB1*, *MYBL2*, *EXO1*, *ANLN*, *UBE2T*, *PGR*, *ESR1*, *BAG1*, *BCL2*. Установлены наиболее значимые типы ВПЧ ВР, участвующие в неопластической трансформации у пациенток с «малыми» формами поражения и обладающие высокой канцерогенной способностью. Определена типовая принадлежность ВПЧ у пациенток с «малыми» поражениями, участвующего в формировании CIN+.

Определены показания для индивидуального подхода ведения пациенток с морфологическим диагнозом LSIL (CINI) с учетом разработанной модели ИРП.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Частота встречаемости «малых» форм поражения шейки матки среди ВПЧ-позитивных женщин репродуктивного возраста составляет 80,6%. У пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки выявлено статистически значимое снижение уровня психологического компонента качества жизни, обусловленное чувством тревоги, боязнью развития РШМ, страхом инвазивных манипуляций, сексуальной дисфункцией.

2. Формированию цервикальных интраэпителиальных неоплазий (CIN+) у пациенток с «малыми» формами поражения способствовала персистенция ВПЧ 16, 58, 39, 18, 51, 68, 56, 82, 35, 52, 53, 66, 45, 33, 59, 73, 31 типов более 24 месяцев. Типы ВПЧ высокого канцерогенного риска (группа 1) встречались в 79,1% случаев, вероятно и возможно канцерогенного риска (группы 2А, 2В) – в 5,5% и 15,4%.



3. Определены специфические маркеры – мРНК 11 генов *MKI67*, *CDKN2A*, *CCNB1*, *MYBL2*, *EXO1*, *ANLN*, *UBE2T*, *PGR*, *ESR1*, *BAG1*, *BCL2* и наличие ВПЧ ВР, позволяющие при «малых» формах поражения шейки матки прогнозировать течение процесса и исходно выявлять пациенток с высоким риском развития CIN+. При выявлении риска рекомендуется сокращение сроков динамического наблюдения, проведение расширенной кольпоскопии и биопсии шейки матки, а также индивидуальный подход в выборе деструктивной терапии.

### **Личный вклад автора**

Автор принимал непосредственное участие в выборе направления и определении темы научной работы, формировании ее дизайна, формулировке цели и постановке задач исследования. Диссертантом лично были проведены анализ и систематизация литературных данных по теме исследования, по результатам которого был подготовлен обзор литературы. Автором был осуществлен отбор пациенток в исследование, проведены клиничко-лабораторные обследования, динамическое наблюдение, определена тактика ведения и лечение. Автор самостоятельно осуществлял сбор биологического материала, проводил анализ медицинской документации, научное обобщение, статистическую обработку и интерпретацию полученных результатов.

### **Апробация диссертации**

Диссертационная работа доложена на межклинической конференции (14 июня 2019 г.) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России (24.06.2019 г., протокол №8).

Основные положения диссертации и результаты работы представлены и

доложены на российских конференциях: XX Юбилейный Всероссийский научно-образовательный форум «Мать и Дитя», 25-27 сентября 2019 года, Москва; XII региональный научно-образовательный форум «Мать и дитя» и Пленум Правления РОАГ, 26-29 июня 2019 г., Сочи; XXV Юбилейный Всероссийский конгресс с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы», 2-4 апреля 2019 г., Москва; III Национальный научно-образовательный конгресс «Онкологические проблемы от менархе до менопаузы» 12-14 февраля 2019 г., Москва; Научно-практическом семинаре «Актуальные проблемы акушерства и гинекологии», 20 сентября 2018 г., XIX Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя», 26-28 сентября 2018 года, Москва; 3-й научно-практической конференции Северо-Кавказского Федерального округа «Актуальные проблемы акушерства и гинекологии», посвященной 80-летию Ставропольского государственного медицинского университета, 2 июня 2018 года, Ессентуки; Научно-практическом семинаре «Актуальные проблемы акушерства и гинекологии», 12 апреля 2018 г., Москва; XXIV Всероссийском конгрессе с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья» 3-5 апреля 2018 года, Москва; II Национальном научно-образовательном конгрессе «Онкологические проблемы от менархе до постменопаузы» 14-16 февраля 2018 года, Москва; XII Международном конгрессе по репродуктивной медицине, 16–19 января 2018 г., Москва; XVIII Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя», 27–29 сентября 2017 г., Москва; XXV Юбилейном международном конгрессе «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» с курсом эндоскопии, 6–9 июня 2017 г., Москва; XXIII Всероссийском конгрессе с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья», 4-6 апреля 2017 г., Москва; I Национальном научно-образовательном конгрессе «Онкологические проблемы от менархе до

постменопаузы», 13-15 февраля 2017 г., Москва; XI международном конгрессе по репродуктивной медицине, 17–20 января 2017 г., Москва.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты исследования позволили сформировать панель молекулярно-генетических маркеров для выявления групп с высоким риском прогрессии заболевания при «малых» формах поражения, а также выявлять пациенток, имеющих исходно более «тяжелые» поражения шейки матки. Результаты исследования в настоящее время применяются в качестве дополняющих методик в ранней диагностике предраковых заболеваний шейки матки.

По теме диссертации опубликовано 19 научных работ, из них 6 в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных высшей аттестационной комиссией (ВАК).

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа состоит из введения, 4-х глав, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа изложена на 151 странице, содержит 26 таблиц, 29 рисунков, 3 приложения. Библиографический указатель содержит 132 источников, из них 9 отечественных и 123 зарубежных.

**ГЛАВА 1. НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ В ДИАГНОСТИКЕ  
«МАЛЫХ» ФОРМ ПОРАЖЕНИЯ ШЕЙКИ МАТКИ,  
АССОЦИИРОВАННЫЕ С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ  
(обзор литературы)**

Этиологическим фактором возникновения рака шейки матки (РШМ) является инфицирование вирусом папилломы человека высокоонкогенного риска (ВПЧ ВР) базальных клеток эпителия шейки матки. Взаимосвязь между развитием рака шейки матки и наличием ВПЧ ВР впервые была выявлена более тридцати лет назад Н. zur Hausen [43]. В результате проведенных эпидемиологических и молекулярно-генетических исследований было установлено, что основной причиной развития РШМ является инфицирование женщин высокоонкогенными типами ВПЧ [1; 14; 15; 59]. По данным статистического анализа, у пациенток с HSIL (CINII-III) в 90% случаев, а у пациенток с РШМ в 95-97% случаев выявлен ВПЧ ВР [96; 97]. Известно, что 82% женщин инфицируются ВПЧ через 2 года после сексуального дебюта. Проведение скрининговых программ в объеме ВПЧ-типирования и/или цитологического исследования позволяет вовремя выявлять группы высокого риска по формированию предраковых заболеваний шейки матки. Важнейшим критерием эффективности скрининга является соблюдение регламентированных интервалов обследования, стандартизация диагностических протоколов, широкий охват населения согласно возрастным критериям. Известно, что длительная персистенция ВПЧ ВР может привести к повышенной пролиферативной активности клеток с гиперэкспрессией онкобелков и формированию дисплазии шейки матки [30; 97; 101-103]. Одно из основных отличий между LSIL (CINI) и HSIL (CINII/III) заключается в глубине ВПЧ-пораженного эпителия: LSIL (CIN I) на 1/3; HSIL (CINII) на 2/3 глубины эпителия; HSIL (CIN III) – в более глубокие слои эпителия. Когда неопластические процессы затрагивают подлежащую строму, HSIL (CINIII) переходит в инвазивный РШМ.

По данным Минздрава, в 2017 г. было зарегистрировано 17303 злокачественных новообразований шейки матки. Прирост заболеваемости за период с 2007 по 2017 гг. составил 24,6%. Удельный вес больных с опухолевым процессом I-II стадий увеличился с 58,3 (в 2007 г.) до 65,7 (в 2017 г.) на 100 тыс. населения, III стадии снизился: в 2007 г. он составил 30, в 2017 г. – 23,1 на 100 тыс. населения [2]. Проведение своевременных скрининговых программ, разработка алгоритма ведения пациентов с «малыми» формами поражения шейки матки, заблаговременное лечение CIN позволят снизить уровень заболеваемости РШМ.

Однако в настоящее время алгоритм ведения пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки не определен.

### **1.1. «Малые» формы поражения шейки матки: распространенность, этиопатогенетические аспекты**

Американское общество по кольпоскопии и цервикальной патологии (American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, ASCCP) предложило использовать термин «малые» формы поражения эпителия шейки матки для обозначения пациенток:

- 1) с ВПЧ 16 или 18 типов и/или персистенцией ВПЧ ВР;
- 2) с цитологическими заключениями мазков:
  - ASCUS (Atypical squamous cells undertermined significance) атипичные клетки неясного значения;
  - LSIL (Low grade squamous intraepithelial lesion) плоскоклеточные интраэпителиальные поражения низкой степени тяжести [30].

Согласно Всемирной организации здравоохранения (World Health Organization, WHO), одним из основных инструментов для проведения скрининга патологии шейки матки является обследование пациентов на наличие ВПЧ ВР [106; 107]. Определение ВПЧ ВР у женщин характеризуется

высокой клинической чувствительностью, объективностью результатов и их информативностью, возможностью получения результата в кратчайшие временные сроки независимо от объема выборки [107-109].

По результатам исследований D.C. Rijkaart и соавторов установлено, что в среднем 42% ВПЧ-инфицированных женщин с аномальными результатами цитологического исследования и 5% женщин с цитологическим заключением NILM подвержены прогрессированию заболевания до HSIL (CINIII) [83]. Результаты исследования M. Schiffman и соавторов позволяют сделать выводы, что при персистенции ВПЧ ВР более 3-х лет и цитологическом заключении ASCUS в 5,2% случаев формируется дисплазия «тяжелой» степени – HSIL (CINIII) [81]. В связи с этим динамическое наблюдение за пациентками с ВПЧ-инфекцией и ранняя диагностика поражений эпителия шейки матки позволят снизить уровень заболеваемости предраковыми поражениями шейки матки – дисплазией тяжелой степени (HSIL (CINIII)) – до 1,6% [82-84]. Y.J. Tai и соавторы провели анализ наиболее информативных исследований и малоинвазивных манипуляций в ранней диагностике поражений шейки матки. При проведении цитологического исследования в динамике или эксцизии шейки матки статистически реже наблюдалось прогрессирование заболевания до HSIL (CINIII) по сравнению с группой, в которой была проведена только кольпоскопия или однократная биопсия шейки матки. Однако в данном исследовании не был учтен характер течения ПВИ [8; 124].

В 2019 г. в Японии был проведен сравнительный анализ результатов патоморфологического заключения у пациенток с аномальными результатами цитологического исследования (ASCUS/ВПЧ ВР и LSIL/ВПЧ ВР). Цервикальные интраэпителиальные неоплазии (CIN+) в группе с ASCUS/ВПЧ ВР составили 63,2%, из них: LSIL (CINI) – в 81,8%, HSIL (CINII) – 16,4%, HSIL (CINIII) – в 4,8%. Обнаружение CIN+ в группе с LSIL/ВПЧ ВР составило 66,8%. При этом у большей части обследованных женщин

дисплазия шейки матки легкой степени (LSIL (CINI)) была подтверждена морфологически – в 76,6%, дисплазия умеренной степени (HSIL (CINII)) – в 18,6%, дисплазия тяжелой степени (HSIL (CINIII)) – в 4,8% случаях. Статистически значимых различий в результатах патоморфологических заключений между группами LSIL/ВПЧ ВР и ASCUS/ВПЧ ВР не было выявлено [111]. Аналогичные данные были опубликованы в 2017 г. в Корее, согласно которым результаты морфологического исследования у ВПЧ-положительных женщин с аномальными цитологическими заключениями ASCUS или LSIL в 0,7% случаев соответствовали РШМ, в 3,5% – HSIL (CINIII), в 10,7% – HSIL (CINII), в 52,4% – LSIL (CINI) [44]. По данным G.G. Oliveira и соавторов, у пациенток с цитологическим заключением ASCUS в 13,33% случаев был морфологически верифицирован HSIL (CINIII) [45].

Пациентки с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки являются группой риска по развитию тяжелых поражений и формированию РШМ. В настоящее время тактика ведения пациенток данной группы активно обсуждается среди врачей клиницистов. В соответствии с рекомендациями ASCCP (2012 г.), тактика ведения пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки зависит от их возраста. Многочисленные исследования выявили закономерность обнаружения более «тяжелых» поражений шейки матки и РШМ в группах женщин старше 30 лет. Однако наивысший процент инфицирования ВПЧ замечен в возрасте до 25 лет [52; 69; 108; 110]. Поэтому, если у женщины в возрасте от 21 до 24 лет выявлена аномальная цитологическая картина – ASCUS или LSIL, повторное цитологическое исследование должно быть проведено через 12 месяцев. Только при двух цитологических заключениях, соответствующих норме, пациентка может вернуться к рутинному скринингу. Однако, если на одном из этапов исследования (через 12 или 24 месяца) цитологическое заключение будет соответствовать ASCUS-H или HSIL, пациентке незамедлительно проводится расширенная кольпоскопия с решением вопроса о проведении прицельной

биопсии шейки матки. Пациенткам более старшего возраста (от 24 лет и старше) с цитологическим заключением ASCUS, LSIL и/или наличием ВПЧ ВР рекомендовано проведение расширенной кольпоскопии. При отсутствии изменений при кольпоскопии возможно динамическое наблюдение с проведением ко-теста через 12 мес. При длительном сохранении LSIL (CINI) и персистенции ВПЧ ВР (более двух лет) рекомендовано проведение деструктивного лечения шейки матки [8].

Результаты некоторых исследований свидетельствуют, что в течение 6 месяцев наблюдений после проведенной биопсии шейки матки и верификации диагноза LSIL (CINI) в 7%-23% случаев наблюдается прогрессирование заболевания до HSIL (CINIII), в 31%-35% – персистенция ВПЧ и стойкая картина плоскоклеточных изменений, характерных для LSIL (CINI), в 45%-49% – регресс заболевания с элиминацией ВПЧ [65; 123]. Результаты этих исследований подтверждают существующие риски прогрессирования заболевания до CINIII и РШМ у пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки. В то же время невозможно предсказать, какая часть женщин окажется в группе высокого риска по прогрессированию заболевания до HSIL (CINIII) и РШМ, а в какой части произойдет элиминация ВПЧ с полным регрессом заболевания. Поэтому для многих врачей акушеров-гинекологов вопрос о тактике ведения пациентов с «малыми» формами поражения шейки матки и о целесообразности применения радикальных методов лечения остается нерешенным. В этой связи существует необходимость определения специфических биомаркеров, которые могли бы внести вклад в диагностику и прогноз течения «малых» форм поражения эпителия шейки матки.



## **1.2 Вирус папилломы человека – биология, классификация, эпидемиология**

Геном вируса человека представлен двуспиральной кольцевой ДНК, включающей 8000 пар нуклеотидов, и состоит из двух кодирующих областей, содержащих 8 открытых рамок считывания и 1 некодирующую регуляторную область. Кодирующая область содержит ранние (E1, E2, E4, E5, E6, E7) и поздние (L1, L2) гены. Ранняя область включает гены E1 и E2, ответственные за репликацию вируса. Ген E4 участвует в процессе созревания вирусных частиц, а гены E5, E6 и E7 обладают трансформирующим потенциалом. Главными вирусными преобразующими генами являются E6 и E7, которые воздействуют на белки-супрессоры p53 и pRb (белок ретинобластомы), индуцирующие апоптоз, активацию патологической пролиферации, неоангиогенез и опухолевую трансформацию. Онкобелок E6 взаимодействует с p53 и ВАК (активатором апоптоза) и снижает апоптоз. Онкобелок E7 образует комплекс с pRb и тем самым способствует его разрушению, активации транскрипционного фактора E2F (приводит к репликации ДНК) и гиперэкспрессии p16(INK4a). Онкобелок E7 взаимодействует с регуляторами клеточного цикла cdk2 (циклинзависимые протеинкиназы), p21 и p27 (ингибиторы циклинзависимых киназ), приводя к опухолевому процессу. Уровни экспрессии мРНК вирусных E6, E7 и человеческого гена p16INK4A повышаются по мере нарастания степени тяжести поражения [37; 98; 101-103].

В 2014 г. по результатам Международного справочного центра было обнаружено 202 типа ВПЧ. Однако 4 типа были исключены из классификационного ряда (ВПЧ 46, 55, 64 и 79), но их цифровое место не было занято другими типами для исключения возникновения ошибок [12; 104; 105]. В настоящее время наивысшим диагностируемым типом является ВПЧ 225.

Учитывая историю четырех ранее описанных типов ВПЧ, общее количество выявленных типов ВПЧ составляет 211 ([www.hpvcenter.se](http://www.hpvcenter.se)).

В соответствии с Международными эпидемиологическими исследованиями, выделяют высокоонкогенные типы ВПЧ, а именно: ВПЧ 16, 31, 33, 35, 52, 58, 67 типов, относящихся к группе А9; ВПЧ 18, 39, 45, 59, 68, 70, 85, 97 – группе А7; ВПЧ 26, 51, 69, 82 – А5; ВПЧ 30, 53, 56, 66 – А6; ВПЧ 34, 73 – А11 [28; 29; 46].

Международное агентство по изучению рака (International Agency for Research on Cancer, IARC) выделило 12 ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 и 59) (группа 1), ассоциированных с раком шейки матки. Эти 12 типов ВПЧ относятся к одной эволюционной ветви папилломавирусов групп А9, А7, А5, А6. Тринадцать дополнительных типов ВПЧ были классифицированы как вирусы возможно канцерогенного риска – группа 2В (ВПЧ 26, 69, 82, 30, 53, 66, 70, 85, 97, 67) – на основе их филогенетического родства с группой 1, а также ВПЧ 34, 73 (А11), за исключением ВПЧ 68 типа, который был внесен в группу вероятно канцерогенного риска – 2А [110] (Таблица 1).

Таблица 1

Группы канцерогенного риска в зависимости от типа ВПЧ (IARC, 2012 г.)

Группа канцерогенного риска	Типы ВПЧ
1	ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 и 59
2А	ВПЧ 68
2В	ВПЧ 26, 30, 34, 53, 66, 67, 69, 70, 73, 82, 85 и 97

По данным исследований, типы ВПЧ группы 1/2А встречаются в 96% случаев, диагностируемых РШМ, типы ВПЧ группы 2В – лишь в 2,6% случаев злокачественных заболеваний шейки матки [16; 42]. Исследования G. Nales и

соавторов подтвердили канцерогенный потенциал типов ВПЧ 26, 66, 70 и 82 в формировании РШМ так же, как и типов ВПЧ 1 группы канцерогенности [48].

Градация типов ВПЧ на группы в зависимости от канцерогенного потенциала является значимым фактором для прогнозирования течения инфекции. Однако многочисленные исследования подтверждают, что ВПЧ 16 типа является наиболее часто встречаемым типом ВПЧ среди женщин во всем мире [5; 31; 111; 112]. Обнаружена зависимость частоты инфицирования ВПЧ 16 типа от степени неоплазии. Так, ВПЧ 16 типа наиболее часто был выявлен у женщин с HSIL (CINII-CINIII) и РШМ. По данным исследований, в 55-60% случаев гистологически подтвержденных РШМ был выявлен ВПЧ 16 типа и в 40% случаев РШМ – другие 12 типов ВПЧ ВР [29; 56; 89].

Установлено, что папилломавирусы могут инфицировать только незрелые делящиеся клетки (базальный/парабазальный слой). При половом контакте микроскопические повреждения в наружной трети влагалища и шейке матки являются «входными воротами» для ВПЧ. Этим можно объяснить наибольшую частоту обнаружения патологически измененного эпителия на шейке матки в зоне трансформации и во влагалище. Внедрение ВПЧ происходит через микротравмы слизистой оболочки или на границе стыка двух эпителиев (цилиндрического и плоского).

Различают две стадии течения папилломавирусной инфекции: транзиторная (стадия репродуктивной или эписомальной инфекции), когда вирус находится в «свободном состоянии»; частично или полностью интегративная стадия, при которой геном ДНК вируса встраивается в геном инфицированных клеток.

Пребывание вируса в эписомальном состоянии характеризуется наличием вирусных частиц в организме женщины без цитологических, кольпоскопических и патоморфологических проявлений. Однако ряд авторов утверждают, что в 72,2% случаев гистологически верифицированных CIN I вирус находится в эписомальной форме [114]. На этой стадии вероятность

спонтанной ремиссии очень высока. В подавляющем большинстве случаев инфицирование не сопровождается появлением каких-либо серьезных патологических проявлений. По данным исследований W. Li и соавторов, полная элиминация ВПЧ происходит в течение 375-541,5 дней с момента инфицирования [80]. Выявлена тенденция к увеличению числа дней обнаружения ВПЧ у пациенток более старшего возраста. По данным исследований, транзитное течение инфекции подразделяют на варианты со стойким отрицательным ответом – это отрицательный ВПЧ-тест с промежутком в 12 мес., нестойким отрицательным ответом – обнаружение ВПЧ через 12 мес. и его элиминация через 24 месяца [60]. По данным ряда исследований, после момента инфицирования ВПЧ не определяется уже через 6 месяцев у 50% женщин, к концу первого года – у 61-75%, через 24 месяца – 85-90% [3; 61; 62; 127]. Обнаружение одного и того же типа ВПЧ более 2-х лет в большинстве случаев свидетельствует о персистенции инфекции, когда вирусный геном частично или полностью встраивается в геном инфицированной клетки. Этот процесс является ключевым моментом запуска процесса канцерогенеза. После проникновения внутрь эпителиальной клетки ДНК вируса происходит высвобождение вирусного генома из оболочечных структур и перемещение его ДНК в ядро клетки. Центральную роль в процессе репликационного цикла играют белки E6/E7. Механизмы их действия лежат в основе патогенеза развития болезни. Стойкая персистенция ВПЧ ВР является одним из показателей начального этапа канцерогенеза. J. Koshiol с соавторами выявлена взаимосвязь между транзитной ВПЧ-инфекцией и персистенцией ВПЧ ВР в развитии неопластических процессов и РШМ у женщин. Обнаружение одного и того же типа ВПЧ ВР на протяжении более 18 месяцев ассоциировалось с развитием CINII-III по сравнению с группой контроля (ДИ 92%, RR>3,0) [63; 64]. При CINII-III эписомально-интегрированная форма составляет 73,5%, при РШМ – до 81,8% [114]. Длительное нахождение одного и того же типа ВПЧ в организме женщины является неременным условием

для прогрессирования заболевания и развития РШМ [51]. Аналогичные данные получены S. Song с соавторами при анализе частоты прогрессирования заболевания до HSIL (CIN III) у женщин с транзиторным течением инфекцией и персистенцией папиллома вирусной инфекцией. Результаты проведенного исследования показали, что стойкая персистенция одного и того же типа ВПЧ ВР является предиктором развития CIN и РШМ независимо от возраста женщины [60]. В связи с этим для достоверного определения характера инфекционного процесса женщинам в группе высокого риска по прогрессированию заболевания необходимо проводить ВПЧ генотипирование совместно с цитологическим мазком.

По данным литературы, выделяют кофакторы, которые повышают вероятность персистенции ВПЧ-инфекции: курение, инфекции, передающиеся половым путем, ослабленная иммунная система и инфицирование вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) [66; 67].

Курение является фактором риска персистенции ВПЧ ВР. По данным исследования, у женщин, выкуривающих более 10 сигарет в сутки, статистически чаще наблюдалась персистенция ВПЧ ВР по сравнению с некурящими женщинами. Это позволяет сделать выводы о том, что вещества, содержащиеся в табачном дыме, провоцируют генетическую нестабильность генома с изменением жизненного цикла в клетках плоского эпителия и формированием «тяжелых» поражений шейки матки. Данные многочисленных исследований позволяют сделать выводы, что риск развития РШМ у курящих женщин был выше в 4 раза по сравнению с некурящими [66; 67].

W. Li и соавторы обнаружили взаимосвязь между типовой принадлежностью ВПЧ и длительностью нахождения вируса в организме женщины. Так, персистенция ВПЧ филогенетической группы А9 наблюдалась чаще по сравнению с другими группами А5/А6 и А7 [80]. F. Sand и соавторы провели анализ риска прогрессирования заболевания до HSIL (CINIII) у

пациенток с персистенцией ВПЧ ВР. В исследовании были определены 13 типов ВПЧ, проведена оценка канцерогенной способности в зависимости от типа ВПЧ. Длительность наблюдения составила 10 лет. Риск формирования HSIL (CINIII) зависел от типовой принадлежности вируса и варьировал от 3 до 55%. Высокий риск формирования HSIL (CINIII) был определен у пациенток, инфицированных ВПЧ 16, 18 и 31 типов, средний риск – ВПЧ 33, 52 и 45 типов, низкий риск – ВПЧ 35, 51, 59, 58, 68 и 56 типов [88]. Аналогичные данные были приведены в исследовании S.K. Kjaer и соавторов, где лидирующим типом в формировании HSIL (CINIII) явился ВПЧ 16. Прогрессирование заболевания до HSIL (CINIII) было выявлено при персистенции следующих типов: ВПЧ 16 типа – у 26,7% (95% CI=21,1%-31,8%), ВПЧ 18 – у 19,1% (95% CI=10,4%-27,3%), ВПЧ 31 – у 14,3% (95% CI=9,1%-19,4%), ВПЧ 33 – у 14,9% (95% CI=7,9%-21,1%). Риск формирования HSIL (CINIII) при персистенции других типов ВПЧ, за исключением ВПЧ 16, 18, 33, 31 типов, составил менее 6% (95% CI=3,8%-8,3%) [87].

По данным исследования W.D. Kang и соавторов, риск прогрессирования заболевания напрямую зависит от типовой принадлежности ВПЧ. Результаты исследования подтвердили данные доводы, где наблюдалась персистенция ВПЧ филогенетической группы А9, а именно таких типов ВПЧ, как 16, 33, 39, 52 и 58 [58]. Результаты исследований M. Schiffman и соавторов установили типовую принадлежность ВПЧ в формировании неопластических процессов шейки матки. Так, наибольшая частота прогрессии заболевания до HSIL (CINIII) у пациенток с ВПЧ ВР была выявлена у женщин с ВПЧ 16 типа – 16%, ВПЧ 18 – 7,4%, ВПЧ 31 – 7%, ВПЧ 33/58 – 7,1%; ВПЧ 52 – 4,3%; ВПЧ 45 – 3,9%; ВПЧ 51 – 2,7%; ВПЧ 39/68/35 – 1,6%; ВПЧ 59/56/66 типов – 1,3% [5; 81].

Проведен анализ прогрессирования заболевания до HSIL (CINIII) у пациенток с наличием ВПЧ 16/18 типов и цитологическими мазками ASCUS и LSIL. В исследование были включены 8587 пациенток с результатами

цитологического исследования ASCUS и 5284 с LSIL. Чувствительность теста для выявления HSIL (CINIII) составила 70%. Средний риск прогрессирования заболевания до HSIL (CINIII) и РШМ у пациенток, инфицированных ВПЧ 16/18 типов с ASCUS или LSIL, составил 17% и 19% соответственно. Для других типов ВПЧ ВР, за исключением ВПЧ 16/18 типов, риск формирования HSIL (CINIII) не превышал 5% [5; 57].

Прогрессирование заболевания до HSIL (CINII-III) у пациенток с цитологическим мазком ASCUS наблюдалось чаще у женщин с ВПЧ 16, 31, 52, 58 типов [58].

Взаимосвязь между типом ВПЧ и риском прогрессирования заболевания может помочь в разработке дизайна рекомендаций по скринингу патологии шейки матки (профилактических стратегий).

Сложность для врача-клинициста состоит в определении инфекционного процесса (транзиторная инфекция или персистенция ВПЧ). По данным J. Yang и соавторов, у ВПЧ-положительных пациенток с цитологическим заключением NILN в 5% случаев результаты патоморфологического исследования соответствовали HSIL (CINII-III) [68]. Результаты ряда работ показывают несоответствие цитологических заключений морфологическому диагнозу. Так, частота выявления HSIL (CINIII) у ВПЧ-инфицированных женщин с цитологическим заключением ASCUS составляет от 8,7% до 10,9%, с LSIL – от 14,4% до 16,7% [68; 70]. Среди аномальных цитологических заключений цитограмма ASCUS встречается в большинстве случаев. Однако лишь у 2/3 исследуемых женщин с цитологическим заключением ASCUS определяется ВПЧ ВР, 1/3 женщин – ВПЧ-негативны [71]. По данным ряда исследований, частота выявления ВПЧ ВР у женщин с цитологическим заключением ASCUS составила от 34,8% до 64,39% [72; 93]. Риск прогрессирования патологического процесса напрямую зависит от наличия или отсутствия ВПЧ-инфекции. Так, у ВПЧ-негативных пациенток с аномальным цитологическим мазком ASCUS формирование HSIL (CINIII) в

течение 5 лет не превышает 0,43%, РШМ – 0,05%. Это статистически ниже по сравнению с ВПЧ-позитивными женщинами. Риск прогрессирования заболевания до HSIL (CINIII) в течение 5 лет у ВПЧ-инфицированных женщин в возрастных группах от 21 до 24 лет составил 4,4%, от 25 до 29 лет – 7,1% ( $p < 0,0001$ ) и от 30 до 64 лет – 6,8% ( $p < 0,0001$ ) [73].

Анализ частоты выявления цитологических заключений ASCUS показал, что данная аномальная цитограмма свойственна пациенткам более молодого возраста. По данным исследований, возраст обследуемых в 78% не превышал 24 лет, и лишь в 32% это были женщины старше 35 лет [74; 94].

Результаты метаанализа показали, что наиболее часто встречающимися типами ВПЧ у пациенток с ASCUS были ВПЧ 16 – 22,9%, ВПЧ 52 – 10,1%, ВПЧ 31 – 9,4%, ВПЧ 51 – 8,8%, ВПЧ 18 – 8,4%, ВПЧ 58 – 7,8% [31].

У пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки степень выраженности патологического процесса по данным расширенной кольпоскопии коррелирует с результатами аномальной цитологии. Так, по данным А. Ciavattini и соавторов, изменения при расширенной кольпоскопии при ASCUS/LSIL наблюдаются в 57% случаев, из них слабовыраженные изменения – 88%, выраженные изменения – в 12% [76]. Кольпоскопическим признаком, характерным для «малых» форм поражения шейки матки, является тонкий ацетобелый эпителий, медленно проявляющийся на пробе с 3% уксусной кислотой, сочетающийся с нежной мозаикой и нежной пунктацией.

Внедрение молекулярных биомаркеров, отражающих нарушение регуляции клеточного цикла, позволит своевременно диагностировать SIL у пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки.



### **1.3 Качество жизни пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки**

Исследование качества жизни (КЖ) в медицине – это уникальный подход, позволивший принципиально изменить традиционный взгляд на проблему болезни и больного. Качество жизни, по определению ВОЗ, – это интегральная характеристика физического, психологического, эмоционального и социального функционирования человека, основанная на его субъективном восприятии [4]. КЖ является критерием для оценки состояния здоровья и факторов риска, оценки эффективности терапии и индивидуального динамического мониторинга, оценки экспертизы трудоспособности, анализа соотношения затрат и эффективности медицинской помощи и реабилитационных программ, выявления психологических проблем и т.п.

Ранние исследования КЖ затрагивали в основном онкологических больных. Исследования КЖ в онкологии проводятся с 1970-х гг. и играют важную роль в клинической практике. Согласно рекомендациям Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA) при внедрении новых лекарственных препаратов онкологическим больным необходимо проведение оценки КЖ. По результатам совместной конференции Национального института рака в США (National Cancer Institute, NCI) и Американского общества клинической онкологии (American Society of Clinical Oncology, ASCO) было сделано следующее заключение: исследование КЖ является вторым по значимости критерием оценки результатов противоопухолевой терапии после выживаемости [99].

В настоящее время исследования КЖ проводится во всех областях здравоохранения. В клинической практике широко изучается КЖ при

различных заболеваниях. Наиболее распространенными анкетами, предназначенными для оценки КЖ являются EUROQOL Group, MOS SF-36, Quality of Well-Being Index, EQ-5D (EuroQol) и др. [4].

В конце XX века начато изучение КЖ женщин с различными гинекологическими заболеваниями (климактерический синдром, хроническая тазовая боль и др.). Критериями изучения КЖ является оценка физического, психического, социального и эмоционального компонентов здоровья. КЖ пациенток с перечисленными выше гинекологическими заболеваниями изменяется в зависимости от степени выраженности заболевания.

Для унификации подходов оценки КЖ используют специально разработанные анкеты. Они подразделяются на общие и специальные. Специальные опросники применяются для характеристики КЖ в узких областях медицины (онкология, кардиология, гинекология, неврология и т.д.), а также для улучшения эффективности программ лечения, определения состояния больного (слабость, боль и т.д.).

К наиболее распространенным общим опросникам относят SF-36 и EQ-5D-5L (EuroQol). Последний из указанных опросников оценивает статус здоровья на основании пяти компонентов КЖ: подвижность, самообслуживание, активность в повседневной жизни, боль или дискомфорт, беспокойство или депрессия. Вторая часть данного опросника состоит из визуально-аналоговой шкалы. Данный опросник успешно используется за рубежом для оценки КЖ пациенток с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки.

В мире проведено большое количество работ по оценке КЖ пациенток с онкологическими заболеваниями. Н.С. Lang и соавторы провели исследование по оценке КЖ пациенток с РШМ с помощью анкеты EQ-5D (EuroQol). Исследование подтвердило приемлемость, надежность и объективность этого опросника. Известно, что диагноз РШМ эмоционально травмирует пациенток, а хирургические манипуляции совместно с химиотерапией оказывают

негативное влияние на общее состояние их здоровья. У всех женщин с ВПЧ-ассоциированным РШМ выявлено значительное снижение как физического, так и психологического компонентов КЖ. Тяжелые депрессивные состояния ведут за собой разлад в семейных отношениях. Особенно это отмечено у молодых женщин в связи с невозможностью реализации репродуктивных планов. Показатели КЖ по общему состоянию здоровья у пациенток с раком шейки матки соответствовали диапазону от 0,54 до 0,73, что статистически значимо ниже по сравнению с контрольной группой (средний балл 0,83,  $p < 0,001$ ) [9]. Результаты исследования Н. Murasawa и соавторов определили взаимосвязь между уровнем КЖ и степенью тяжести онкологического процесса. Доказано, что у пациенток, начиная со стадии Ib1 РШМ и по мере нарастания тяжести заболевания, выявлено снижение суммарного балла КЖ, охватывающее все аспекты здоровья: физическое, психическое, эмоциональное состояния ( $p < 0,05$ ). В группе со стадией РШМ IIb выявлено значительное различие в оценке КЖ до и после проводимого лечения ( $p = 0,01$ ) [79]. Авторами отмечено, что снижение КЖ после проведенного лечения по сравнению с уровнем КЖ на момент постановки диагноза, безусловно, связано с влиянием радикального метода лечения и с последующей химиотерапией. Это негативно сказывается на общем состоянии здоровья пациенток. Следует отметить, что изменения КЖ женщин с РШМ в разных возрастных группах (до 40 и после 40 лет) были неодинаковыми. В группе женщин до 40 лет установлены статистически значимые отличия по сравнению с группой женщин после 40 лет по двум шкалам: боль/дискомфорт, тревога/депрессия ( $p = 0,03$ ). Наиболее распространенной причиной психологической травмы у большинства пациенток до 40 лет была невозможность реализации репродуктивных планов. Это приводило к усугублению стрессового состояния и возникновению более тяжелых психологических проблем [50; 131]. Аналогичные данные были получены

D. Endarti и соавторами при исследовании уровня КЖ у женщин с РШМ. Так, у 67,8% женщин наблюдалась хроническая боль, у 57,5% – депрессия [86].

Показатели КЖ у пациенток с «тяжелыми» поражениями эпителия шейки матки соответствовали  $0,81 \pm 0,27$  баллов. Лечение таких пациенток предполагает только хирургическое вмешательство. Несмотря на то что оперативное лечение проводится под анестезией и в большинстве случаев не влияет на фертильность, пациентки испытывают чувство страха, которое может привести к депрессии. Боязнь реинфекции и повторных оперативных процедур ведет к серьезным психологическим проблемам в будущем и нарушению сексуальной активности. Статистически чаще наблюдалось снижение уровня КЖ в психологическом и эмоциональном компонентах по сравнению с группой здоровых женщин [130].

В 2014 г. в Японии было проведено исследование по изучению КЖ женщин с гистологическим диагнозом CIN-I-III с помощью опросника EQ-5D (EuroQol) на момент постановки диагноза и после проведенного им лечения. По данным исследования выявлено, что у пациенток с CIN уровень КЖ был снижен за счет показателей, отвечающих за психологический компонент КЖ ( $p < 0,05$ ) [129; 132]. Динамика изменений уровня показателей КЖ пациенток с «тяжелыми» поражениями эпителия шейки матки в период лечения (через 1, 3, 6 месяцев после проведенной конизации шейки матки) выявила значительное улучшение КЖ во всех аспектах ( $p < 0,01$ ) [26].

В 2015 г. А. Marcellusi и соавторы провели оценку КЖ у пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки. Несмотря на бессимптомное ВПЧ-носительство, пациентки с «малыми» поражениями шейки матки испытывали чувство тревоги, что являлось причиной неоднократных визитов к врачу. Средний показатель КЖ по опроснику EQ-5D контрольной группы соответствовал  $0,94 \pm 0,14$  баллов ( $p \leq 0,0001$ ), у пациенток с «малыми» поражениями (ASCUS и LSIL) –  $0,83 \pm 0,17$ . У данных пациенток в большей степени был задействован психологический компонент КЖ: тревога и

негативное влияние ВПЧ на дальнейшую фертильность, изменение качества сексуальной функции [130].

Таким образом, ВПЧ-ассоциированные заболевания шейки матки приводят к угнетению психического состояния, росту сексуальной дисфункции, ухудшению общего здоровья и КЖ женщины.

#### **1.4 Методы диагностики и предикторы прогноза течения «малых» форм поражений шейки матки**

Для диагностики патологии шейки матки используют цитологические, молекулярно-генетические исследования (генотипирование ВПЧ с определением вирусной нагрузки), расширенную кольповульвоскопию, иммуноцитохимию, гистологическое исследование биопсионного материала с возможным проведением иммуногистохимического анализа.

Процесс интеграции вирусной ДНК связан с гиперэкспрессией E6/E7 в результате утраты транскрипционного контроля над генами. Итогом разрыва вирусной ДНК в районе гена E2 является изменение фенотипа клетки с формированием патологических процессов и возможных злокачественных образований. J. Suzick и соавторы подтвердили, что гиперэкспрессия онкобелков E6/E7 ВПЧ ВР является неотъемлемой частью патологического процесса с формированием CIN. По данным мета-анализа, статистически значимо чаще прогрессирование заболевания до HSIL (CINIII) и РШМ наблюдалось в группе женщин с цитологическим заключением LSIL и гиперэкспрессией E6/E7. Таким образом, экспрессия вирусных генов E6/E7 может служить причиной увеличения количества «ошибок» в геноме клетки с последующей нестабильностью клеточного цикла [77].

Результаты исследования E.Y. Ki и соавторов продемонстрировали эффективность оценки уровня экспрессии белка L1 ВПЧ иммуноцитохимическим методом в определении групп риска по

прогрессированию патологического процесса у пациенток с цитологическим заключением ASCUS/LSIL. Отсутствие экспрессии белка L1 и наличие ВПЧ 16/18 типов у пациенток с ASCUS/LSIL явились прогностическими показателями прогрессирования заболевания до HSIL (CINII-III) [125].

В настоящее время с целью диагностики тяжести поражения SIL хорошо зарекомендовал себя иммуноцитохимический метод одновременного выявления клеточных белков *p16(INK4A)*, *Ki67*. Гиперэкспрессия протеинов *p16(INK4A)* и *Ki67* рассматривается как маркеры «тяжелых» поражений HSIL (CINII-III) и РШМ [6]. Данный диагностический инструмент используется в спорных ситуациях как дополнение при проведении стандартного цитологического исследования. J. Yu и соавторы проанализировали уровень экспрессии *p16(INK4a)/Ki67* иммуноцитохимическим методом у пациенток с цитологическими заключениями ASCUS и LSIL. Чувствительность одновременного выявления *p16(INK4a)* и *Ki67* для определения более «тяжелых» поражений (CINII-III) составила от 82,6% до 91,3% для пациенток с ASCUS и от 86,7% до 100% – с LSIL; специфичность – 88,8%-63,7% и 67,8%-20,7% соответственно. Результаты исследования J. Yu показали, что определение маркеров *p16(INK4a)/Ki-67* иммуноцитохимическим способом теста у пациенток с ASCUS/LSIL обеспечивает высокую чувствительность для выявления «тяжелых» поражений (CINII-III) [92].

Ключевым фактором развития CIN является подавление процесса апоптоза в клетке. Белки семейства *BCL2* отвечают за активацию апоптоза. *BAX* и *BAK* являются проапоптотическими белками. E. Klapsinou и соавторы выявили закономерность: у пациенток с аномальными цитологическими заключениями обнаружена гиперэкспрессия *BAK* и *BAX*, определяемая иммуноцитохимическим методом. Степень выраженности патологического процесса коррелировала с интенсивностью окраски *BAK* и *BAX* и процентом положительных клеток. Таким образом, авторами был сделан вывод о

возможности использования маркеров апоптоза в диагностике «тяжелых» поражений шейки матки [115].

Одной из причин развития SIL являются эпигенетические нарушения, связанные с инактивацией генов-супрессоров опухолевого роста.

Непрерывный мутагенез в опухолевой клетке изменяет спектр молекулярно-генетических маркеров, которые могут помочь в прогнозе и диагностике предраковых заболеваний шейки матки. По данным D. Gius и соавторов, процесс канцерогенеза состоит из сменяющих друг друга стадий: пролиферативной, проангиогенной и проинвазивной. В формировании CIN1 (пролиферативной стадии) участвуют гены клеточной пролиферации: *CDKN2A(p16)*, *CENPF*, *KIF23*, *ITGAV* и *ACAA1*. Переход к проангиогенной стадии характеризуется повышением уровня экспрессии генов *HINT1* и *TAGLN2*, а также снижением уровня экспрессии генов *MAP2K7*, *DAB2* и *TBX19* в клетках стромы. Проинвазивная стадия характеризуется формированием CIS с гиперэкспрессией генов *DSG3*, *MMP3*, *MMP14*, *BRWD1* и *TNFRSF12A*. В настоящее время данная модель имеет только теоретические основы и нуждается в подтверждении на практике [78].

Изменения уровня экспрессии мРНК генов человека у пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки представляет большой интерес. Определение мРНК функциональных генов человека, участвующих в развитии CIN, поможет выявить изменения эпителия на ранних этапах поражения. Обнаружение маркеров прогрессии заболевания позволит своевременно определять группу женщин с высоким риском прогрессирования заболевания. В настоящее время повышение экспрессии мРНК генов *MKI67(Ki67)* и *CDKN2A(p16)*, регулирующих пролиферативные процессы в клетке, рассматривается как маркеры прогрессии SIL.

Del Pino M. и соавторы привели пороговые значения чувствительности и специфичности определения экспрессии мРНК генов *CDKN2A(p16)*, *BIRC5*, *MMP9*, *TOP2A*, *MCM5* и *MKI67* у пациенток с гистологически

подтвержденным CINIII. Все вышеуказанные мРНК имели чувствительность выше 81%. Сочетание одновременного определения экспрессии мРНК генов *TOP2A* и *CDKN2A(p16)* показало высокую чувствительность в диагностике «тяжелых» поражений шейки матки (HSIL (CINII-III)) [32].

Таким образом, изучение молекулярно-генетических маркеров, в том числе мРНК генов, участвующих в клеточной регуляции, пролиферации, апоптозе и т.д., у пациенток с «малыми» поражениями шейки матки будет способствовать ранней диагностике РШМ, определению групп высокого риска по развитию HSIL (CINIII), сократит количество ненужных биопсий и поможет избежать отрицательного воздействия гипердиагностики и последовательного необоснованного деструктивного лечения у пациенток.



## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Материал исследования

Диссертационная работа проводилась в ФГБУ «НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России на базе научно-поликлинического отделения (заведующий отделением – профессор, д.м.н. В.Н. Прилепская), института репродуктивной генетики (директор – профессор, д.м.н., Д.Ю. Трофимов).

В период с декабря 2015 г. по март 2019 г. были обследованы 211 женщин. В соответствие с заданными критериями включения были отобраны 129 женщин с «малыми» формами ВПЧ-ассоциированных поражений эпителия шейки матки с динамической оценкой на протяжении 24 месяца и промежуточной явкой 6 месяцев. Контрольная группа – 51 пациентка с отсутствием ВПЧ-инфекции и NILM по результатам цитологического мазка; группа сравнения – 31 ВПЧ-позитивных женщины с HSIL по данным цитологического исследования. Все пациентки, участвующие в исследовании, подписали добровольное информированное согласие. Исследование было одобрено Комиссией по этике Центра (протокол № 4 от 12.10.2015 г.).

*Критериями включения в исследование являлись:*

*Основная группа и группа сравнения:*

1. Женщины в возрасте 18-45 лет;
2. Наличие ВПЧ высокого онкогенного риска;
3. Цитологическое заключение: NILM, ASCUS, LSIL, HSIL;
4. Регулярный менструальный цикл;
5. Способность выполнять требования протокола;
6. Подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

*Контрольная группа:*

1. Женщины в возрасте 18-45 лет;
2. Отсутствие ВПЧ-инфекции;
3. Регулярный менструальный цикл;
4. Способность выполнять требования протокола;
5. Подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критериями исключения являлись:

1. Беременность;
2. Послеродовый период и лактация;
3. Прием гормональных препаратов;
4. Наличие острых воспалительных заболеваний (специфической и неспецифической этиологии);
5. Нарушение функции почек, печени, легких в стадии декомпенсации;
6. Наличие психоневрологических заболеваний;
7. Отсутствие возможного следования протоколу.

**2.2 Методы исследования***Обязательные методы исследования:*

## 1. Клинико-anamнестический метод

Сбор и анализ жалоб пациенток, определение антропометрических (вес, рост, ИМТ) и анамнестических данных, учет перенесенных общих и гинекологических заболеваний, проведение общего и гинекологического осмотров.

## 2. Молекулярно-генетический метод

Типирование ВПЧ (21 тип) с определением вирусной нагрузки методом ПЦР в режиме реального времени проводилось всем пациенткам. Для

пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки ВПЧ-тестирование проводилось в динамике каждые 6 мес. в течение 24 мес.

### 3. Цитологическое исследование

Проводилось цитологическое исследование шейки матки всех пациенток. Пациенткам с «малыми» формами поражения шейки матки цитологическое исследование проводилось в динамике каждые 6 мес. в течение 24 мес.

### 4. Расширенная кольпоскопия

Расширенная кольпоскопия шейки матки проводилась всем пациенткам, участвующим в исследовании. Пациенткам с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки расширенная кольпоскопия проводилась через каждые 6 мес. в течение 24 мес.

### 5. Биопсия шейки матки

Прицельная биопсия шейки матки проводилась по показаниям для морфологической оценки подозрительных участков в отношении интраэпителиальных неоплазий. Показанием к проведению биопсии шейки матки явились случаи прогрессирования заболевания по данным цитологического исследования и/или ухудшение кольпоскопической картины по данным динамического осмотра и наличие ВПЧ ВР.

*Специальные методы исследования:*

#### 1. Молекулярно-генетический метод

Определение уровня экспрессии мРНК генов *MKI67*, *CDKN2A*, *PGR*, *MYBL2*, *UBE2T*, *EXO1*, *CCNB1*, *ESR1*, *BAG1*, *BCL2*, *ANLN*, *IFNAR1*, *IL1RN*, *SERPINB5*, *ITGAV*, *KIF14*, *OSM*, *OSMR*, *DROSHA*, *CDK1*, *TOP2A*, *MYC*,

*CCND1, PD-L1, CD166, EGFR* относительно референсных генов *B2M, GUSB, TBP*.

2. Оценка КЖ с помощью анкеты EQ-5D-5L (EuroQol).

### **Клинический осмотр**

С помощью специально разработанного опросника был осуществлен сбор клинико-anamnestических данных исследуемых женщин, включающий ФИО пациентки, дату и место рождения, регистрационные и контактные данные, уровень образования, профессиональную деятельность, семейное положение, наследственность, наличие вредных привычек, сведения о перенесенных заболеваниях и операциях, об особенностях менструального цикла, о возрасте начала половой жизни, о количестве половых партнеров, о методах контрацепции, о количестве беременностей и их исходах. Всем пациенткам был проведен анамnestический анализ клинико-лабораторных данных ВПЧ-инфекции (персистенция ВПЧ ВР, наличие заболевания, проводимая терапия и ее эффективность).

При гинекологическом осмотре оценивалось состояние шейки матки, влагалища, вульвы. Бимануальный осмотр предусматривал оценку положения, размера, формы, консистенцию и болезненность тела матки и придатков.

### **Молекулярно-биологические методы исследования**

Молекулярно-биологические методы исследования включали определение 21 типа ВПЧ (6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 44(55), 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82) с вирусной нагрузкой методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (наборы ООО «НПФ ДНК-Технология», Россия). Выделение ДНК проводили на сорбенте с использованием набора «Проба-ГС», ВПЧ-тестирование – с использованием набора «HPVквант-21», амплификация производилась в режиме «реального

времени» на детектирующем амплификаторе «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) с автоматической обработкой результатов.

#### Определение уровня экспрессии мРНК генов человека

Измерение уровней экспрессии мРНК генов *MKI67*, *CDKN2A*, *PGR*, *MYBL2*, *UBE2T*, *EXO1*, *CCNB1*, *ESR1*, *BAG1*, *BCL2*, *ANLN*, *IFNAR1*, *IL1RN*, *SERPINB5*, *ITGAV*, *KIF14*, *OSM*, *OSMR*, *DROSHA*, *CDK1*, *TOP2A*, *MYC*, *CCND1*, *PD-L1*, *CD166*, *EGFR* проводилось с использованием реактивов (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) методом количественной полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме реального времени с предварительной стадией обратной транскрипции (ОТ-ПЦР). Праймеры и зонды для полимеразной цепной реакции (ПЦР) были подобраны с учетом структуры генов таким образом, чтобы исключить отжиг на матрице геномной ДНК исследуемых и референсных генов. Это позволило не использовать дополнительный этап обработки нуклеиновых кислот ДНК-азой.

Для забора материала использовали эндоцервикальную щетку. Биоматериал брали из переходной зоны эпителия шейки матки. Щетку помещали в пробирку объемом 1,5 мл, содержащую 500 мкл транспортной среды, препятствующей деградации РНК (лизирующий раствор из набора реагентов «Проба НК»). Производили вращательные движения щетки в течение 10-15 сек. для смыва материала, далее щетку отжимали о стенки пробирки и утилизировали. Пробирку с биологическим материалом плотно закрывали и маркировали. Транспортировку образцов производили в течение 2-х часов после взятия материала. Образцы хранились в биобанке Центра при температуре минус 70°C.

Выделение нуклеиновых кислот из биологического материала проводилось с помощью реагентов «Проба-НК». Метод основан на лизисе клеток в растворе гуанидина тиоцианата и спиртовом осаждении нуклеиновых кислот.

Реакцию обратной транскрипции (ОТ) ставили в объеме 40 мкл в течение 30 минут при температуре 40°C; инактивация обратной транскриптазы при 95°C в течение 5 минут.

Реакцию амплификации кДНК проводили в объеме 12 мкл на детектирующем амплификаторе в формате автоматического микропланшетного раскапывания. Для повышения чувствительности и специфичности реакции применяли «горячий» старт, который обеспечивается использованием полимеразы с антителами (TechnoTaq). Активация фермента происходила после прогрева амплификационной смеси при 95°C в течение 5 минут. В реакционную смесь для амплификации вносили специфические ДНК-зонды, меченные FAM. Измерение уровня флуоресценции проводили на каждом цикле при температуре отжига праймеров.

Полученные в ходе реакции значения пороговых циклов (Ct) использовали для расчета уровня экспрессии мРНК исследуемых генов осуществлялась методом сравнения пороговых циклов (метод  $\Delta\Delta Ct$ ) относительно референсных генов B2M, GUSB, TBP. Экспрессию соответствующих генов выражали в относительных единицах (о.е.).

Статистическую обработку результатов исследования уровней экспрессии генов проводили с использованием методов непараметрического анализа. Исследованные количественные показатели представлены в виде Me (1Q-3Q), где Me – медиана, 1Q – нижний квартиль, 3Q – верхний квартиль. Значение медианы в контрольной группе (NILM/ВПЧ-) принимали равным 1.

Для сравнения двух групп по количественным признакам использован U-критерий Манна-Уитни для несвязанных совокупностей; и U-критерий Манна-Уитни для связанных совокупностей при сравнении результатов экспрессии в динамике. Различие между группами полагали статистически значимым при  $p < 0,05$ . Обработку полученных результатов проводили в программном пакете Stat Soft Statistica 6.0, SPSS Statistics версия 17.0.

При разработке модели определения «тяжелых» поражений эпителия шейки матки и прогрессирующих форм ВПЧ-ассоциированных заболеваний использовали метод логистической регрессии (программа SPSS Statistics версия 17.0.)

### **Цитологическое исследование мазков с шейки матки**

В исследовании использовалась жидкостная цитология (Liquid-based cytology) – инновационный метод, позволяющий оценить клеточный состав ткани и выявить атипичные клетки. Собранные с помощью цервикальной щетки клетки помещают в фиксирующий раствор и подвергают центрифугированию, осаждению и фильтрации с последующим приготовлением тонкослойных препаратов. Преимущество данного метода: получение мазков хорошего качества, отсутствие артефактов и возможность полной автоматизации процесса в условиях лаборатории.

Учитывая анатомическое строение шейки матки, материал для жидкостной цитологии был собран с поверхности переходной зоны, а именно стыка многослойного плоского и цилиндрического эпителиев. При наличии участка, вызывающего подозрение с точки зрения онкологической настороженности, материал был дополнительно взят и с его поверхности.

Взятие цитологического мазка производилось с помощью щетки-кисточки со съемной головкой типа цервикс-бранш.

Техника взятия жидкостной цитологии:

- после введения влагалищного зеркала с поверхности шейки матки сухим тампоном удаляется излишняя слизь;
- основание цервикс-бранша вводят в цервикальный канал, где производят 5 круговых вращений вокруг оси (360°) по часовой стрелке;
- щеточку с материалом опускают в специальный контейнер с транспортным раствором для фиксации клеток;
- в лаборатории полученный материал (биожидкость) автоматически перемешивают, проводят вакуумную фильтрацию с концентрацией

клеток на фильтре, их аппликацию на слайды с последующей окраской по Папаниколау (все операции проводятся внутри специального устройства по закрытой технологии);

- трактовка клеточного состава осуществляется автоматическим или ручным способом.

В настоящем исследовании анализ цитологических мазков осуществлялся с использованием классификации по системе Бетесда, учитывающей цитологические изменения эпителия шейки матки, вызванные ВПЧ (Таблица 2).

Таблица 2

Цитологическая классификация мазков по системе Бетесда  
(TBS – Terminology Bethesda System) (пересмотр в 2014 г.)

Английский термин	Аббревиатура	Перевод
Atypical glandular cells	AGC	Атипичные железистые клетки
Atypical glandular cells favor neoplastic	AGC favor neoplastic	Атипичные железистые клетки похожие на неопластические
Atypical squamous cells	ASC	Атипичные клетки плоского эпителия
Atypical squamous cells undertermined significance	ASC-US	Атипичные клетки плоского эпителия неясного значения
Atypical squamous cells cannot exclude HSIL	ASC-H	Атипичные клетки плоского эпителия, не позволяющие исключить HSIL
Cervical intraepithelial neoplasia grade 1, 2 or 3	CIN 1, 2, 3	Цервикальная интраэпителиальная неоплазия 1, 2 или 3 степени
Carcinoma in situ	CIS	Рак in situ
High grade squamous intraepithelial lesion	HSIL	Высокая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения



Low grade squamous intraepithelial lesion	LSIL	Низкая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения
Not otherwise specified	NOS	Без дополнительного уточнения
Squamous intraepithelial lesion	SIL	Плоскоклеточное интраэпителиальное поражение

### Расширенная кольпоскопия

Кольпоскопия – визуальный метод исследования состояния эпителия шейки матки с применением оптической системы и диагностических проб с использованием 3% раствора уксусной кислоты и 1% раствора Люголя.

В проведенном нами исследовании использовался кольпоскоп «Scanner МК-200» с цифровой видеосистемой. Оптическая система кольпоскопа имеет 5 степеней увеличения — 3,5; 5,3; 8,5; 13,6 и 22 при фокусном расстоянии 25-30 см. Основа расширенной кольпоскопии включает в себя осмотр вульвы, влагалища и шейки матки при различных увеличениях. Осмотр начинают с макроскопического исследования вульвы, затем влагалища и влагалищной части шейки матки. Ватным тампоном удаляется слизь. Во время кольпоскопии производится углубленная оценка состояния эпителия шейки матки и области стыка эпителия (Рисунок 1).

Проба с 3% раствором уксусной кислотой основана на кратковременном набухании, частичной денатурации белка. Проба позволяет четко дифференцировать два типа эпителия: плоский и цилиндрический. На пробе с 3% раствором уксусной кислоты цилиндрический эпителий выглядит как «гроздь винограда», многослойный плоский эпителий в норме не изменяется, однако при поражениях эпителия на пробе проявляется ацетобелость. Степень выраженности пораженного эпителия отражается в

протоколе в виде слабовыраженных и выраженных изменений согласно классификации кольпоскопической терминологии с учетом дополнений от 2017 г.

Проба с 1% раствором Люголя (проба Шиллера) основана на реакции гликогена клеток промежуточного слоя многослойного плоского эпителия. Интенсивность окрашивания плоского эпителия зависит от множества факторов. В норме реакция при окрашивании 1% раствором Люголя интенсивная, оттенок темно-коричневый.

Кольпоскопия позволяет оценить степень тяжести поражения эпителия шейки матки и выделить такие параметры, как слабовыраженные и выраженные изменения.

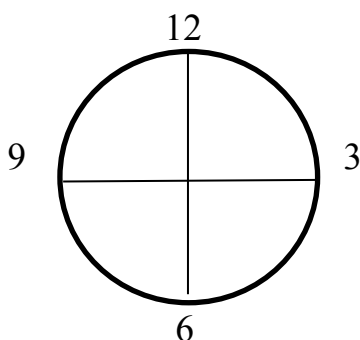


Рисунок 1. Локализация поражения согласно часовому циферблату

С целью стандартизации и преемственности между специалистами принято использовать кольпоскопические критерии:

- цвет, сосудистый рисунок и поверхность эпителия;
- локализация стыка эпителия;
- реакция на 3% раствор уксусной кислоты;
- реакция на 1% раствор Люголя;
- размеры и локализация образований;
- наличие и форма желез.

Классификация кольпоскопических терминов была предложена Номенклатурным комитетом (IFCPC) на 14-м Всемирном конгрессе в Рио-де-

Жанейро в июле 2011 г. Интерпретация проведенного исследования у всех пациенток была осуществлена графически в соответствии с Международной кольпоскопической классификацией (Таблица 3).

Таблица 3

Международная классификация кольпоскопических терминов IFCPS, Рио-де-Жанейро 2011 г. (дополненная в 2017 г.)

<b>Общие положения</b>		Полностью видимая, полностью невидимая (по причине: кровотечения, рубца, воспаления и т.д.) Стык между многослойный плоским и цилиндрическим эпителием полностью видимый, полностью невидимый	
Нормальная кольпоскопическая картина		Многослойный плоский эпителий (зрелый/атрофичный) Цилиндрический эпителий (эктопия) Метапластический эпителий (наботовы кисты, открытые устья желез) Дицидуоз (при беременности)	
Аномальные кольпоскопические картины	Общие принципы	Локализация поражения (в пределах или вне ЗТ; соответствие с циферблатом) Размеры области поражения (в процентном соотношении с экзоцервиксом)	
	Слабовыраженные изменения	Тонкий ацетобелый эпителий с неровными нечеткими краями	Нежная мозаика Нежная пунктация
	Выраженные изменения	Плотный ацетобелый эпителий с четкими контурами. Быстрое появление ацетобелости Изменение устья открытых желез	Грубая мозаика Грубая пунктация Граница поражения четкая, внутренняя бровка Симптом «горного хребта»
	Неспецифические признаки	Лейкоплакия (кератоз, гиперкератоз) Эрозия Окрашивание раствором Люголя: йодположительное/йоднегативное	
Подозрение на инвазию		Атипичные сосуды. Дополнительные признаки: «ломкие» сосуды; неровная поверхность; экзофитное поражение; области некроза, изъязвления	
Разное		Врожденная ЗТ	

	Стеноз. Кондилломы. Врожденные аномалии. Полипы. Последствия ранее проведенного лечения. Воспаление. Эндометриоз
--	--

Проведение расширенной кольпоскопии позволяет врачу-клиницисту наметить подозрительные участки в отношении SIL согласно часовому циферблату для проведения прицельной биопсии шейки матки и выскабливания цервикального канала (по показаниям).

### **Патоморфологические методы исследования биопсийного материала**

Согласно существующим клиническим рекомендациям, прицельная биопсия шейки матки проводилась при аномальных результатах цитологии, наличия и/или персистенции ВПЧ ВР, слабовыраженных и выраженных изменениях при кольпоскопии. Биопсия шейки матки производилась радиоволновым методом. Всем пациентки перед прицельной биопсией шейки матки было проведено комплексное клиничко-лабораторное обследование.

Процедура проводилась в манипуляционном кабинете патологии шейки матки в условиях асептики и антисептики.

#### *Техника выполнения прицельной биопсии шейки матки.*

Пациентка располагалась на гинекологическом кресле. Влагалище и шейка матки обнажались в зеркалах. Производилась обработка влагалища антисептическим раствором. Ватным тампоном удалялась слизь с поверхности шейки матки. Проводилась расширенная кольпоскопия, намечались участки, подозрительные в отношении интраэпителиальных неоплазий. Обезболивание проводилось с применением 2% раствора лидокаина. Биопсия шейки матки проводилась с использованием радиоволновой хирургии («Сургидрон»). Процедуру проводили с помощью петлевого электрода в режиме «резанье» на мощности 60-70 Вт. Подлежащую ткань коагулировали с помощью электрод-шарика. При проведении прицельной биопсии шейки матки соблюдались следующие условия: толщина биопсийного кусочка была не менее 3 мм с

захватом подлежащей стромы, фиксация полученного препарата производилась в кратчайшие сроки в растворе формалина.

Эндоцервикальный кюретаж проводился в случае цитологического заключения HSIL с помощью гинекологической кюретки. Инструмент вводился до эндоцервикса, режущая поверхность плотно прижималась к стенкам внутренней поверхности шейки матки. Движение кюретки были направлены от внутреннего зева к наружному. Полученный материал фиксировался в растворе формалина.

Гистологические образцы оценивались с использованием терминологии Lower Anogenital Squamous Terminology (LAST, 2012 г.). В нашем исследовании мы использовали двухуровневую гистопатологическую классификацию, согласно которой цервикальная интраэпителиальная неоплазия легкой степени (CINI) соответствовала термину LSIL (CINI), интраэпителиальная неоплазия умеренной и тяжелой степени (CINII-CINIII) обозначалась HSIL [13; 118]. Для постановки диагноза был использован код заболевания по МКБ 10 пересмотра.

### **Оценка КЖ с помощью анкеты EQ-5D-5L (EuroQol)**

Анализ КЖ женщин с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки проводился с помощью опросника EQ-5D-5L (EuroQol). Опросник состоит из пяти компонентов КЖ: подвижность, самообслуживание, активность в повседневной жизни, боль или дискомфорт, беспокойство или депрессия. Каждый компонент разделен на 5 уровней в зависимости от степени выраженности показателя. Таким образом, пять доменов с пятью уровнями оценки дают возможность определить до 3125 состояний здоровья, определяя удельный вес каждого состояния здоровья. Вторая часть опросника состоит из визуально-аналоговой шкалы: от 0 (нуля) – самое плохое состояние здоровья, до 100 – показатель наилучшего состояния здоровья. Исследование подтвердило приемлемость, надежность и объективность этого опросника.

Оценены в сравнительном анализе изменения как физического, так и эмоционального функционирования.

### 2.3 Методы статистической обработки

Обработка данных и статистический анализ выполнен на компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакетов прикладных программ «Statistica for Windows» v. 7.0, StatSoft Inc. (США) и SPSS v.17.0. Данные описательной статистики представлены в виде средних значений ( $M$ ) и их стандартных отклонений ( $\delta$ ). В качестве меры центральной тенденции всех количественных показателей использовали медиану ( $Me$ ), в качестве интервальной оценки – нижний  $Q1$  (0,25) и верхний  $Q3$  (0,75) квартили. Для качественных данных определяли показатели частоты (%).

Для определения статистических различий в исследуемых группах использовался метод t-критерий Стьюдента.

Формула t-критерий Стьюдента:

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$$

-где  $M_1$  – средняя арифметическая первой сравниваемой группы,  $M_2$  – средняя арифметическая второй сравниваемой группы,  $m_1$  – средняя ошибка первой средней арифметической,  $m_2$  – средняя ошибка второй средней арифметической.

Если полученное значение t-критерия Стьюдента равно или меньше критического ( $p \leq 0,05$ ), делаем вывод о статистической значимости различий между сравниваемыми величинами.

Анализ результатов КЖ проводился с использованием формулы Хи-квадрат Пирсона.

Формула Хи-квадрат Пирсона:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(m - m')^2}{m'}$$

- где  $m$  и  $m'$  – соответственно эмпирические и теоретические частоты рассматриваемого распределения;

$n$  – число степеней свободы.

Для подсчета результатов второй части анкеты, шкалы EQ VAS, применялись методы непараметрической статистики – U-критерий Манна-Уитни.

Формула U-критерий Манна-Уитни:

$$U = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_x \cdot (n_x + 1)}{2} - T_x$$

-где  $n_1$  – количество элементов в первой выборке, а  $n_2$  – количество элементов во второй выборке. Статистически значимыми считались различия при  $p \leq 0,05$  (95%-й уровень значимости).

## Дизайн исследования

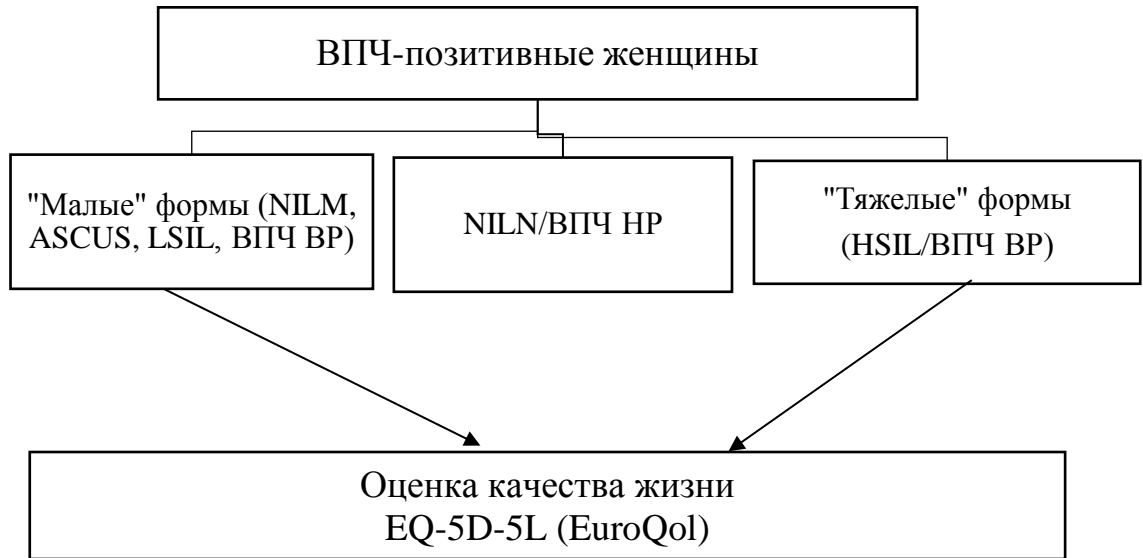


Рисунок 2. Дизайн исследования для задачи №1

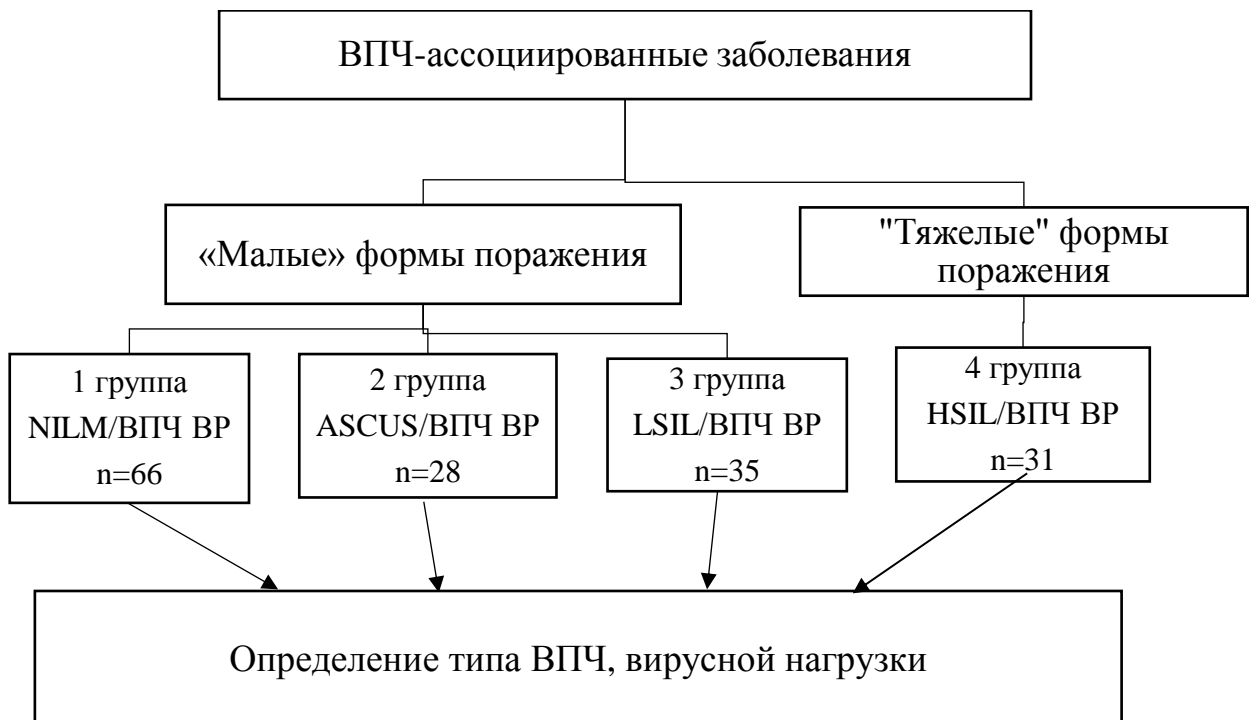


Рисунок 3. Дизайн исследования для задачи №2



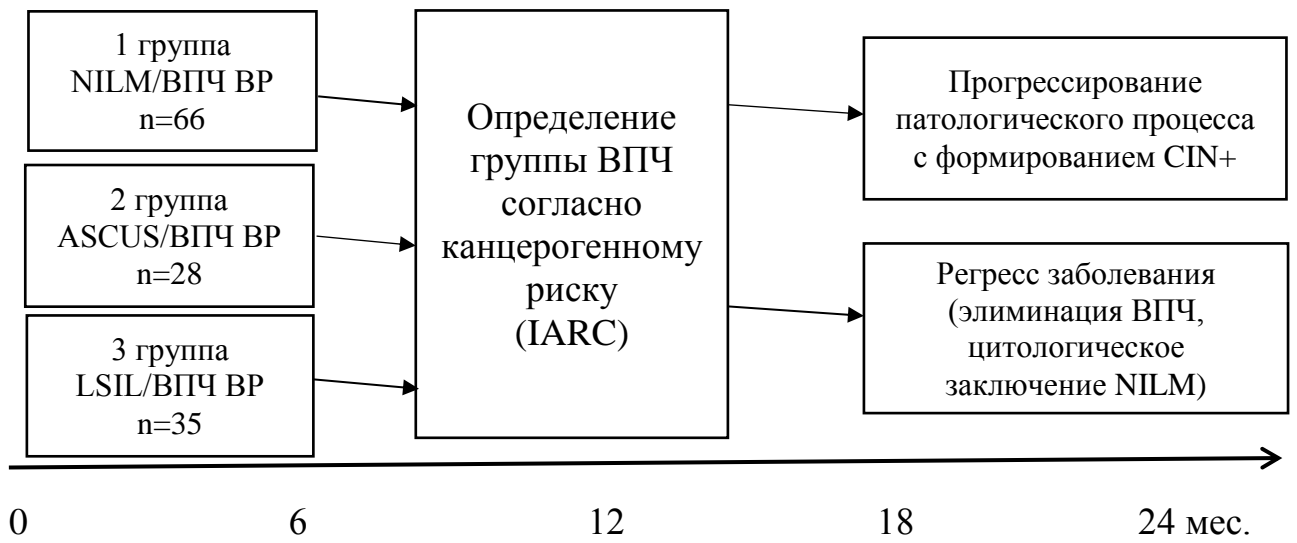


Рисунок 4. Дизайн исследования для задачи № 3

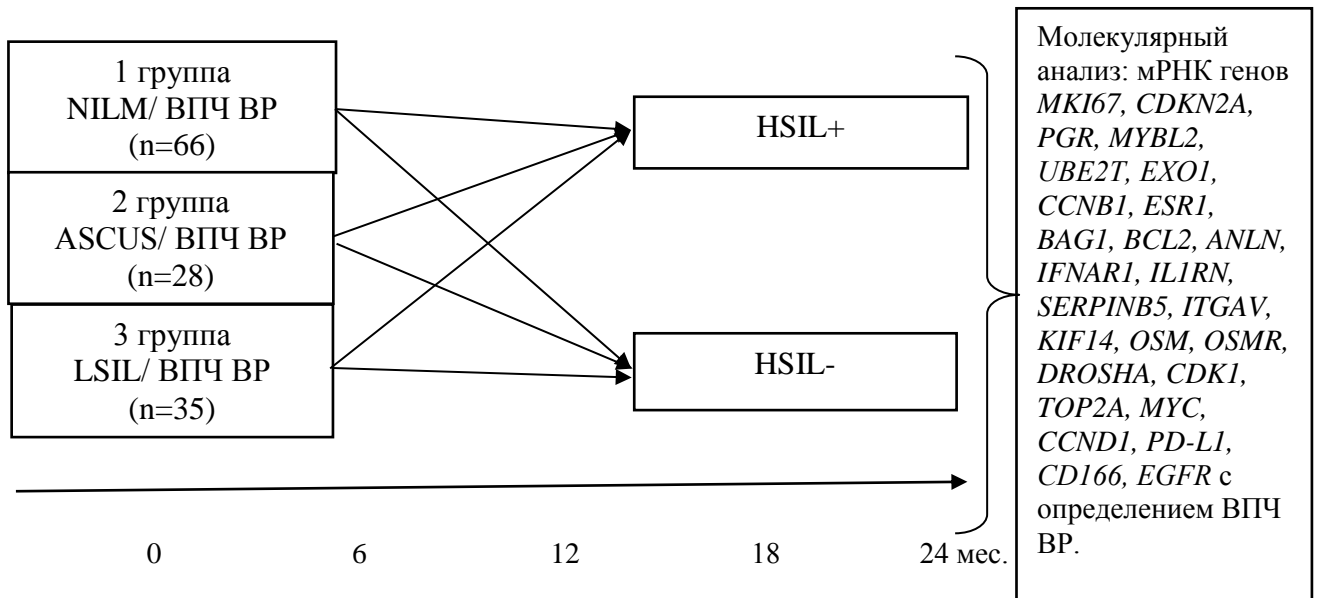


Рисунок 5. Дизайн исследования для задачи №4



Рисунок 6. Дизайн исследования для задачи № 5

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Результаты ретроспективного исследования

Нами проведен анализ 444 ВПЧ-положительных женщин с нормальными и аномальными результатами цитологического заключения, обратившихся в научно-поликлиническое отделение ФГБУ «НМИЦ АГП имени В.И. Кулакова» Минздрава России в период с 2017 – 2018 гг. Средний возраст пациенток составил  $38 \pm 4$  года. Для определения частоты встречаемости «малых» форм поражения по результатам ВПЧ-генотипирования исходно были сформированы 2 группы: пациентки с наличием ВПЧ ВР – 412 (92,8%) и ВПЧ низкоонкогенного риска (ВПЧ НР) – 32 (7,2%). Пациентки с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки встречались в большинстве случаев: NILM/ВПЧ ВР – 243 (54,7%), ASCUS/ВПЧ ВР – 36 (8,1%), (LSIL/ВПЧ ВР) – 79 (17,8%), HSIL/ВПЧ ВР – 54 (12,2%), NILM/ВПЧ НР – 32 (7,2%) (Рисунок 7).

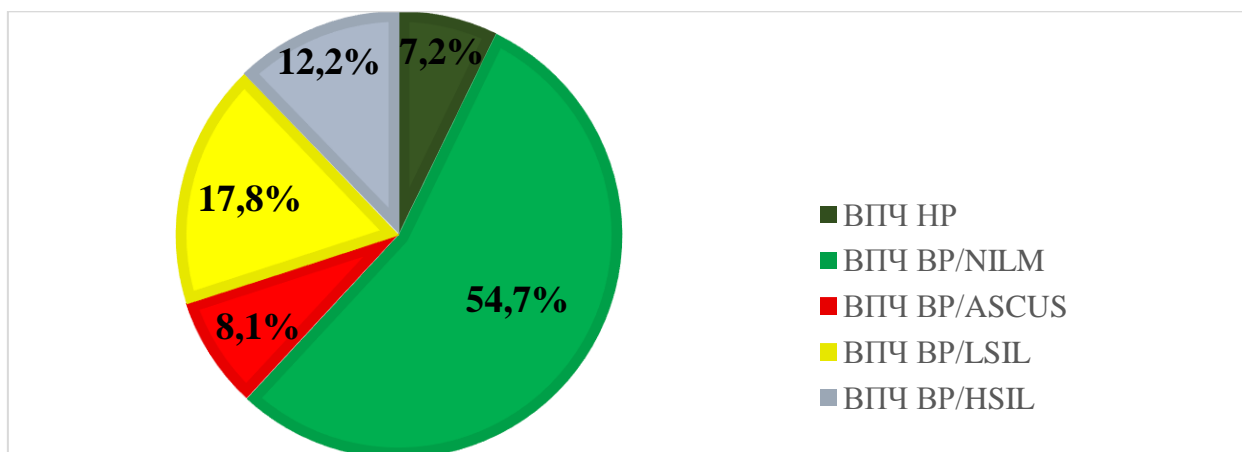


Рисунок 7. Результаты ВПЧ-генотипирования и цитологического заключения женщин репродуктивного возраста (по обращаемости)

### Оценка качества жизни женщин с «малыми» формами поражения шейки матки

Нами проведена сравнительная оценка качества жизни пациенток с ВПЧ-ассоциированными «малыми» и «тяжелыми» формами поражения эпителия шейки матки (анкета EQ-5D-5L, EuroQol).

Проведено анкетирование 274 женщины, разделенных на 5 групп в зависимости от наличия ВПЧ-инфекции и результатов цитологического заключения: 1 группа – NILM/ВПЧ ВР (n=150), 2 группа – ASCUS/ВПЧ ВР (n=19), 3 группа – LSIL/ВПЧ ВР (n=33); 4 группа – HSIL/ВПЧ ВР (n=20), 5 группа (контрольная) – NILM/ВПЧ-негативными результатами (n=42).

Таблица 4

Оценка КЖ в исследуемых группах по опроснику EQ-5D-5L (EuroQol)

Домены КЖ	номер вопроса	Группы пациентов					
		«Малые» формы поражения шейки матки			4 группа (HSIL/ВПЧ ВР) (n=20)	5 группа (NILM/ВПЧ-) (n=42)	
		1 группа (NILM/ВПЧ ВР) (n=150)	2 группа (ASCUS/ВПЧ ВР) (n=19)	3 группа (LSIL/ВПЧ ВР) (n=33)			
Физический компонент	1	1	149 (99,3%)	19 (100%)	33 (100%)	20 (100%)	52 (100%)
		2	-	-	-	-	-
		3	1 (0,7%)	-	-	-	-
		4	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-
	2	1	150 (100%)	19 (100%)	33 (100%)	20 (100%)	52 (100%)
		2	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-
		4	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-
Социальный компонент	3	1	138 (92,0%)	18 (94,7%)	30 (90,9%)	15 (85%)	52 (100%)
		2	11 (7,3%)	1 (5,3%)	3 (9,1%)	3 (15%)	-
		3	1 (0,7%)	-	-	-	-

		4	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-
Эмоциональный и психологический компоненты	4	1	92 (61,3%)	11 (57,9%)	17 (51,5%)	10 (50%)	50 (96,2%)
		2	57 (38,0%)	6 (31,6%)	16 (48,5%)	7 (35%)	1 (1,9%)
		3	1 (0,7%)	2 (10,5%)	-	3 (15%)	1 (1,9%)
		4	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-
	5	1	29 (19,3%)	1 (5,3%)	2 (6,1%)	1 (5%)	44 (84,6%)
		2	90 (60,0%)	12 (63,2%)	17 (51,5%)	7 (35%)	8 (15,4%)
		3	27 (18,0%)	5 (26,3%)	11 (33,3%)	8 (40%)	-
		4	3 (2,0%)	1 (5,3%)	3 (9,1%)	3 (15%)	-
		5	1 (0,7%)	-	-	1 (5%)	-

Отклонений в показателях физического функционирования в исследуемых группах не было обнаружено ( $p > 0,05$ ) (Таблица 4).

По данным исследования, отмечается тенденция к снижению активности в повседневной деятельности во 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) – у 12 (8%) женщин, во 2 (ASCUS/ВПЧ ВР) – у 1 (5,3%), в 3 (LSIL/ВПЧ ВР) – 3 (9,1%) и в 4 (HSIL/ВПЧ ВР) – у 3 (15%).

Эмоциональный дискомфорт выявлен во 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) у 58 (38,7%) женщин, во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) у 8 (42,1%), в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) у 6 (48,5%), в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) у 10 (50%) женщин. Чувство тревоги, депрессию испытывало большинство опрошенных женщин с наличием ВПЧ-инфекции: женщины в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) – 121 (71%), во 2 (ASCUS/ВПЧ ВР) – 18 (94,8%), в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) – 31 (93,9%), в 4 (HSIL/ВПЧ ВР) – 19 (95%). Выявлены статистически значимые отличия в психологическом компоненте КЖ у ВПЧ-позитивных пациенток по сравнению с группой контроля ( $p = 0,005$ ). Пациентки как с «малыми», так и с «тяжелыми» поражениями одинаково испытывали эмоциональный дискомфорт, депрессию и тревогу (Таблица 4).

Средний балл по шкале EQ VAS составил: в 1 (NILM/ВПЧ ВР) –  $78 \pm 12$  баллов, во 2 (ASCUS/ВПЧ ВР) –  $78 \pm 13$  баллов, 3 (LSIL/ВПЧ ВР) –  $69 \pm 15$  баллов, 4 (HSIL/ВПЧ ВР) группе –  $70 \pm 14$  баллов, в 5 группе контроля  $88 \pm 9$  баллов (Рисунок 8). Оценка по шкале EQ VAS показала статистически значимые отличия у ВПЧ-положительных пациенток исследуемых групп по сравнению с группой контроля: в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) ( $p=1,1 \times 10^{-3}$ ), во 2 (ASCUS/ВПЧ ВР) ( $p=3,8 \times 10^{-4}$ ), в 3 (LSIL/ВПЧ ВР) ( $p=1 \times 10^{-6}$ ), в 4 (HSIL/ВПЧ ВР) ( $p=1,4 \times 10^{-7}$ ) (Рисунок 8).

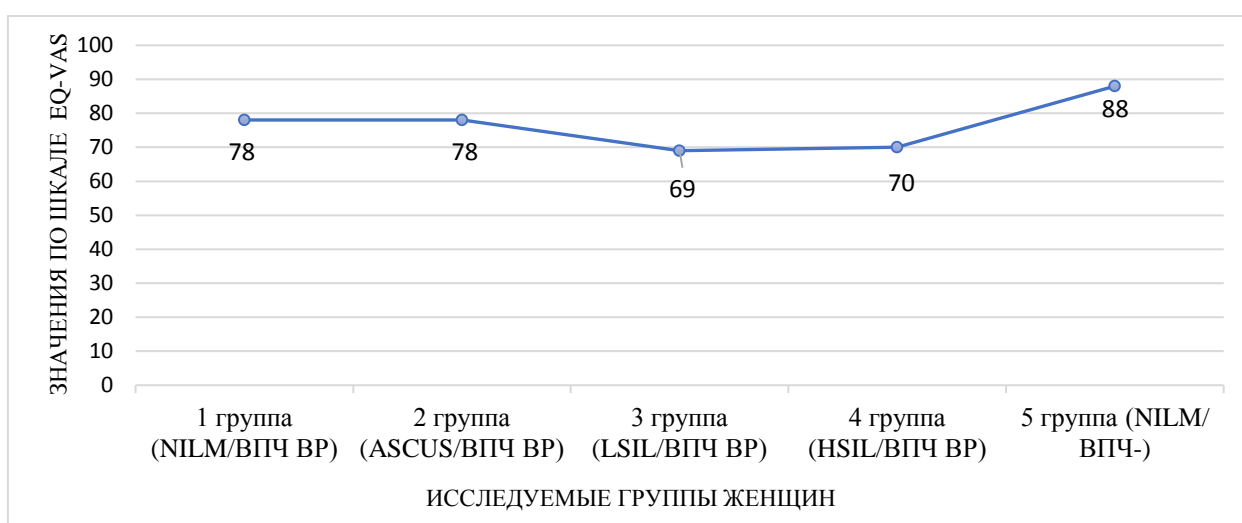


Рисунок 8. Оценка общего состояния здоровья по шкале EQ VAS в исследуемых группах

### Заключение

Среди ВПЧ-положительных женщин репродуктивного возраста частота встречаемости пациенток с низкоонкогенными типами ВПЧ составила 7,2%, высокоонкогенными типами – 92,8%. Выявлена высокая частота встречаемости «малых» форм поражения (80,6%) среди ВПЧ-положительных женщин, из них NILM – 54,7%, ASCUS – 8,1%, LSIL – 17,8% по обращаемости в НПО.

У пациенток с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки вне зависимости от степени выраженности патологического процесса определено статистически значимое снижение уровня психологического компонента КЖ.

### 3.2 Клиническая характеристика исследуемых женщин

В исследование было включено 211 женщин репродуктивного возраста, которые обратились на приём в научно-поликлиническое отделение Центра. Все исследуемые женщины были поделены на 5 групп в зависимости от результатов цитологического исследования и наличия ВПЧ ВР:

- 1 группа – NILM/ВПЧ ВР (n=66),
- 2 группа – ASCUS/ВПЧ ВР (n=28),
- 3 группа – LSIL/ВПЧ ВР (n=35),
- 4 группа сравнения – HSIL/ВПЧ ВР (n=31),
- 5 группа контроля – NILM/ВПЧ- (n=51).



Рисунок 9. Распределение пациенток по группам

Пациентки с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки: 1 группа (NILM/ВПЧ ВР), 2 группа (ASCUS/ВПЧ ВР), 3 группа (LSIL/ВПЧ ВР) находились под динамическим наблюдением каждые 6 месяцев в течение 24 месяцев (Рисунок 9).

Между исследуемыми группами статистически значимых отличий в возрастном аспекте не было выявлено ( $p > 0,05$ ). Средний возраст в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) составил  $28,2 \pm 5,6$ , во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) –

28,3±5,4, в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) – 28,4±6,1, в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) – 29,6±6,8, в 5 группе (NILM/ВПЧ-) – 28,3±6,0 лет.

Анализ антропометрических данных не выявил значимых различий между исследуемыми группами (Таблица 5).

Таблица 5

## Антропометрические данные

Показатель	1 группа (NILM/ ВПЧ ВР) n=66 M ± δ*	2 группа (ASCUS/ ВПЧ ВР) n=28 M ± δ*	3 группа (LSIL/ ВПЧ ВР) n=3 M ± δ*	4 группа (HSIL/ ВПЧ ВР) n=31 M ± δ*	Группа 5 (NILM/ ВПЧ-) n=51 M ± δ*	Уровень значимос- ти * * p- уровень
возраст	28,2±5,6	28,3±5,4	28,4±6,1	29,6±6,8	28,3±6,0	p>0,05
рост	166,4±4,4	166,5±5,5	167,7±3,8	168,3±4,6	167,4±4,0	p>0,05
вес	55,1±5,3	55,0±5,6	58,1±7,2	59,8±11,2	55,5±4,5	p>0,05
ИМТ	19,86±1,58	19,80±1,56	20,64±2,1	20,01±3,0	19,82±1,5	p>0,05

\* данные представлены как средние (M) ± стандартное отклонение (δ);

\* \* p – уровень значимости различий между 1, 2, 3, 4 и 5 группами

Менархе в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) было в возрасте 13,2±1,4 лет; во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) – в 13,4±1,1 лет; в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) – в 12,9±0,8 лет; в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) – в 13,1±0,8 лет; в 5 группе (NILM/ВПЧ-) – в 13,3±1,3 лет. Менструальный цикл был регулярным у всех исследуемых женщин. Средние значения длительности менструального цикла составили 28,9±2,7; 5,2±0,8 дней. При оценке результатов исследования, характеризующих менструальный цикл (возраст менархе, промежуток и длительность менструального цикла), статистических различий выявлено не было (Таблица 6).



Таблица 6

## Сравнительный анализ характера менструальной функции

Показатель	1 группа (NILM/ ВПЧ BP) n=66 M ± δ*	2 группа (ASCUS / ВПЧ BP) n=28 M ± δ*	3 группа (LSIL/ ВПЧ BP) n=35 M ± δ*	4 группа (HSIL/ ВПЧ BP) n=31 M ± δ*	5 группа (NILM/ ВПЧ-) n=51 M ± δ*	Уровень значимости * * p- уровень
Возраст менархе	13,2±1,4	13,4±1,1	12,9±0,8	13,1±0,8	13,3±1,3	p>0,05
Длина менструального цикла	29,1±3,2	29,0±2,2	29,0±3,0	29,1±3,7	28,3±1,6	p>0,05
Длительность менструации	5,3±0,9	5,3± 0,9	5,2±0,7	5,1±0,7	5,1±1,0	p>0,05

\* данные представлены как средние (M) ± стандартное отклонение (δ);

\* \* p – уровень значимости различий между 1, 2, 3, 4 и 5 группами

При анализе особенностей половой жизни в исследуемых группах выявлено, что у женщин с «малыми» формами поражения шейки матки половой дебют в возрасте до 18 лет был у 52,6%, у женщин 4 группы (HSIL/ВПЧ BP) – 71,8%, в 5 группе (NILM/ВПЧ-) – 45%. Анализ результатов исследования позволяет сделать выводы, что половой дебют в возрасте до 18 лет статистически чаще встречался среди пациенток с ВПЧ-инфекцией: 1 (NILM/ВПЧ BP), 2 (ASCUS/ВПЧ BP), 3 (LSIL/ВПЧ BP), 4 (HSIL/ВПЧ BP) групп по сравнению с 5 группой (NILM/ВПЧ-) (p<0,05).

Средний возраст начала половой жизни у пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки 1 (NILM/ВПЧ BP), 2 (ASCUS/ВПЧ BP), 3 (LSIL/ВПЧ BP) групп составил 17,7±2,2 лет, 4 группы (HSIL/ВПЧ BP) – 16,5±1,4 лет, 5 группы (NILM/ВПЧ-) – 18,3±2,3. Выявлены статистически значимые отличия между группами с «малыми» и «тяжелыми» формами поражения (p<sub>1,2,3-5</sub> = 3×10<sup>-4</sup>), а также между 4 (HSIL/ВПЧ BP) и 5 (NILM/ВПЧ-) группами (p<sub>4-5</sub>=2×10<sup>-5</sup>) (Таблица 7). Таким образом, анализ результатов исследования выявил, что пациентки 4 группы (HSIL/ВПЧ BP) имели более

раннее начало половой жизни, чем женщины с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки и группой контроля (NILM/ВПЧ-).

Среднее количество половых партнеров в группах женщин с «малыми» формами поражения шейки матки составило  $6,0 \pm 3,7$ , в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) –  $7,0 \pm 2,6$ , в 5 группе (NILM/ВПЧ-) –  $2,9 \pm 1,8$ . Статистически значимые различия были выявлены между группами 1 (NILM/ВПЧ ВР), 2 (ASCUS/ВПЧ ВР), 3 (LSIL/ВПЧ ВР), 4 (HSIL/ВПЧ ВР) по сравнению с 5 группой (NILM/ВПЧ-) ( $p_{1,2,3-5} = 2,5 \times 10^{-12}$ ), ( $p_{4-5} = 8,2 \times 10^{-10}$ ) (Таблица 7). Более 10 половых партнеров было выявлено в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) у 7 (10,6%), во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) у 4 (12,9%), в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) у 6 (17,1%), в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) у 4 (14,3%) пациенток (Таблица 7).

Таблица 7

Сравнительный анализ начала половой жизни и количества половых партнеров в исследуемых группах

Показатель	«Малые» формы поражения			4 группа (HSIL/ ВПЧ ВР) n=31 M ± δ*	5 группа (NILM/ ВПЧ-) n=51 M ± δ*	Уровень значимости * p-уровень
	1 группа (NILM/ ВПЧ ВР) n=66 M ± δ*	2 группа (ASCUS/ ВПЧ ВР) n=28 M ± δ*	3 группа (LSIL/ ВПЧ ВР) n=35 M ± δ*			
Возраст полового дебюта	17,7±2,2			16,5±1,4	18,3±2,3	$p_{1,2,3-4} = 3 \times 10^{-4}$ $p_{4-5} = 2 \times 10^{-5}$
Количество половых партнеров	6,0±3,7			7,0±2,6	2,9±1,8	$p_{1,2,3-5} = 2,5 \times 10^{-12}$ $p_{4-5} = 8,2 \times 10^{-10}$

\* данные представлены как средние (M) ± стандартное отклонение (δ);

\* \* p – уровень значимости различий между 1, 2, 3, 4 и 5 группами

Число беременностей в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) составило 37 (17,5%), во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) – 17 (8%), в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) – 23 (10,9%), в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) – 65 (30,8%), в 5 группе (NILM/ВПЧ-) – 55 (26,1%). Анализ результатов исследования показал, что у пациенток 4 (HSIL/ВПЧ ВР) группы количество беременностей было статистически

больше, чем в группах женщин с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки и 5 (NILM/ВПЧ-) группой. Из них 106 (53,8%) беременностей закончились родами: в 1 группе у 22 (10,4%), во 2 группе у 14 (6,6%), в 3 группе у 14 (6,6%), в 4 группе у 27 (12,7%), в 5 группе у 29 (13,7%). По количеству самопроизвольных родов статистически значимых отличий в исследуемых группах выявлено не было ( $p > 0,05$ ). Частота произведенных прерываний беременности в 1 группе у 13 (6,2%), во 2 группе у 3 (1,4%), в 3 группе у 9 (4,3%), 4 группе у 38 (12,7%), в 5 группе у 25 (9%). Искусственное прерывание беременности статистически чаще наблюдалось в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) ( $p_{1-4} = 3 \times 10^{-3}$ ;  $p_{2-4} = 1 \times 10^{-3}$ ;  $p_{3-4} = 0,03$ ;  $p_{4-5} = 0,013$ ) (Таблица 8).

Внематочная беременность в анамнезе наблюдалась в 2 случаях: в 1 и 5 группах – 1 (2,7%) и 1 (1,8%) соответственно (Таблица 8).

Таблица 8

## Сравнительный анализ акушерского анамнеза в исследуемых группах

Показатель	1 группа (NILM/ ВПЧ ВР) n=66	2 группа (ASCUS/ ВПЧ ВР) n=28	3 группа (LSIL/ ВПЧ ВР) n=35	4 группа (HSIL/ ВПЧ ВР) n=31	5 группа (NILM/ ВПЧ-) n=51	Уровень значимости * * p-уровень
Количество беременностей	37 (17,5%)	17 (8%)	23 (10,9%)	65 (30,8%)	55 (26,1%)	$p_{1-4} = 5 \times 10^{-4}$ $p_{2-4} = 1 \times 10^{-3}$ $p_{3-4} = 1,2 \times 10^{-3}$ $p_{4-5} = 2,2 \times 10^{-3}$ $p_{1-5} = 1,6 \times 10^{-3}$ $p_{2-5} = 1 \times 10^{-3}$ $p_{3-5} = 0,01$
Среднее число беременностей ( $M \pm \delta^*$ )	0,6 $\pm$ 0,9	0,6 $\pm$ 1	0,7 $\pm$ 2,1	2,1 $\pm$ 2,2	1,1 $\pm$ 1,3	$p > 0,05$
Количество самопроизвольных родов	22 (10,4%)	14 (6,6%)	14 (6,6%)	27 (12,7%)	29 (13,7%)	$p > 0,05$
Среднее число самопроизвольных родов ( $M \pm \delta^*$ )	0,3 $\pm$ 0,6	0,5 $\pm$ 0,8	0,4 $\pm$ 1,1	0,9 $\pm$ 1	0,6 $\pm$ 0,9	$p > 0,05$

Медицинский аборт	13 (6,2%)	3 (1,4%)	9 (4,3%)	27 (12,7%)	19 (9%)	$p_{1-4} = 3 \times 10^{-3}$ $p_{2-4} = 1 \times 10^{-3}$ $p_{3-4} = 0,03$ $p_{4-5} = 0,013$ $p_{2-5} = 0,015$
Среднее число медицинских аборт ( $M \pm \delta^*$ )	0,2 $\pm$ 0,5	0,1 $\pm$ 0,3	0,3 $\pm$ 1,1	0,9 $\pm$ 1,1	0,4 $\pm$ 0,6	$p > 0,05$
Самопроизвольный выкидыш	1 (0,5%)	0	0	11 (5,2%)	6 (2,8%)	$p_{1-4} = 4 \times 10^{-5}$ $p_{2-4} = 1 \times 10^{-3}$ $p_{3-4} = 1 \times 10^{-3}$ $p_{4-5} = 4 \times 10^{-3}$
Внематочная беременность	1 (0,5%)	0	0	0	1 (0,5%)	$p > 0,05$

\* данные представлены как средние ( $M$ )  $\pm$  стандартное отклонение ( $\delta$ );

\* \*  $p$  – уровень значимости различий между 1, 2, 3, 4 и 5 группами

Вредные привычки: курение – статистически чаще встречались в группах с ВПЧ-инфекцией по сравнению с группой контроля ( $p_{1-5} = 5 \times 10^{-4}$ ,  $p_{2-5} = 2 \times 10^{-3}$ ,  $p_{3-5} = 0,02$ ,  $p_{4-5} = 1 \times 10^{-4}$ ). Инфекции, передающиеся половым путем (уро-, микоплазмы, хламидии), генитальный герпес – статистически чаще встречались у пациенток с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки (Таблица 9).

Таблица 9

Структура гинекологических заболеваний и факторов риска в исследуемых группах

Показатель	1 группа (NILM/ ВПЧ ВР) n=66	2 группа (ASCUS/ ВПЧ ВР) n=28	3 группа (LSIL/ ВПЧ ВР) n=35	4 группа (HSIL/ ВПЧ ВР) n=31	5 группа (NILM/ ВПЧ-) n=51	Уровень значимости * p-уровень
Курение	32 (48,5%)	15 (53,6%)	15 (42,9%)	22 (71,0%)	9 (17,6%)	$p_{1-5} = 5 \times 10^{-4}$ $p_{2-5} = 2 \times 10^{-3}$ $p_{3-5} = 0,02$ $p_{4-5} = 1 \times 10^{-4}$
Уро- Микоплазменны е инфекции	14 (21,2%)	11 (39,3%)	14 (40,0%)	8 (25,8%)	6 (11,8%)	$p_{2-5} = 0,01$ $p_{3-5} = 5 \times 10^{-3}$
Хламидийная инфекция	14 (21,2%)	6 (21,4%)	15 (42,9%)	13 (41,9%)	0	$p_{1-5} = 1 \times 10^{-3}$ $p_{2-5} = 3 \times 10^{-3}$ $p_{3-5} = 1 \times 10^{-4}$ $p_{4-5} = 1 \times 10^{-4}$
ВПГ II типа	10 (15,2%)	3 (10,7%)	8 (22,9%)	10 (32,3%)	0	$p_{1-5} = 0,01$ $p_{2-5} = 0,02$ $p_{3-5} = 1 \times 10^{-3}$ $p_{4-5} = 1 \times 10^{-4}$

\* p – уровень значимости различий между 1, 2, 3, 4 и 5 группами

Анализ соматических заболеваний показал, что болезни дыхательных путей и легких в анамнезе имели 4 (1,9%) женщины, в виде хронического бронхита и ларинготрахеита, пневмонии легких. Заболевания желудочно-кишечного тракта выявлены у 20 (9,4%) женщин, из них у 12 (5,7%) хронический гастрит, у 4 (1,9%) – дискинезия желчевыводящих путей, у 2 (0,9%) – хронический панкреатит и язвенная болезнь желудка. Данные о перенесенных и хронических заболеваниях органов дыхания, желудочно-кишечного тракта, мочевыделительной системы статистически не отличались у пациенток исследуемых групп ( $p > 0,05$ ).

### Заключение

При анализе клинико-анамнестических данных не было выявлено статистически значимых отличий между исследуемыми группами по возрасту, антропометрическим данным, менструальной функции и соматической

заболеваемости. Анализ факторов риска выявил статистически значимые различия между группами по времени полового дебюта и количеству половых партнеров в исследуемых группах с ВПЧ-инфекцией по сравнению с группой контроля. Инфекции, передающиеся половым путем (уро-, микоплазмы, хламидии), генитальный герпес – статистически чаще встречались у пациенток с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки

### 3.3 Результаты ВПЧ-генотипирования

Всем пациенткам, включенным в исследование, проведено ВПЧ-генотипирование (21 тип) с определением вирусной нагрузки с помощью ПЦР в режиме реального времени. Проведен анализ частоты встречаемости ВПЧ ВР обследованной когорте женщин, а также в зависимости от результатов цитологического исследования (n=160).

Результаты генотипирования ВПЧ во всех группах показали, что доминирующим типом явился ВПЧ 16 – 38,8%, далее 31 (13,1%), 52 (11,3%), 33 и 58 (10,6%), 66 (10%), 56 и 51 (9,4%), 39 (8,6%), 59 и 6 (8,1%), 18 и 35 (7,5%), менее 5% ВПЧ 68, 45, 82, 26, 73, 11, 44 типов (Рисунок 10).

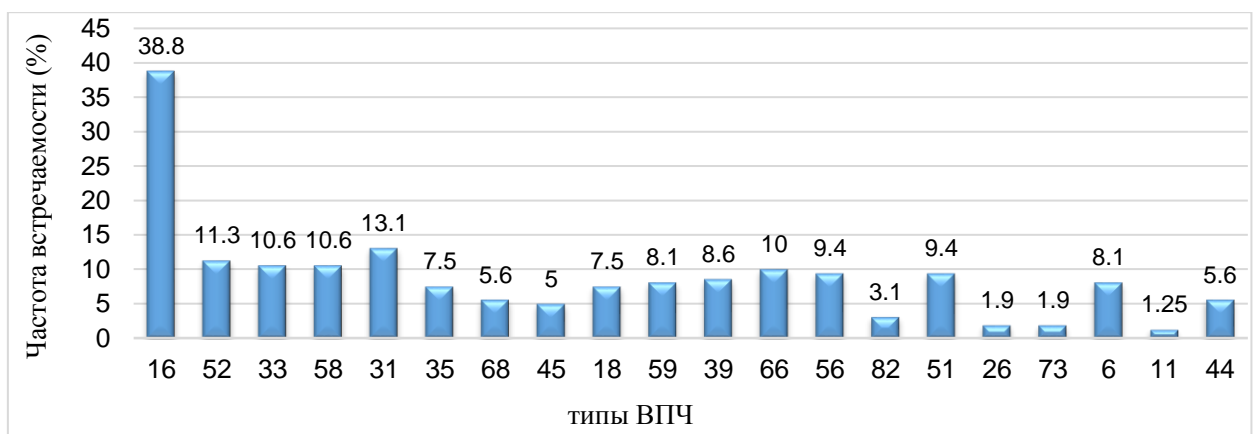


Рисунок 10. Результаты ВПЧ-генотипирования исследуемых групп

Согласно классификации Международного агентства по изучению рака (IARC) типы ВПЧ высокого канцерогенного риска (группа 1) определялись в

89,4%, вероятно канцерогенного риска (группа 2A) – в 6,9%, в возможно канцерогенного риска (группа 2B) – в 18,1% случаев (Рисунок 11).

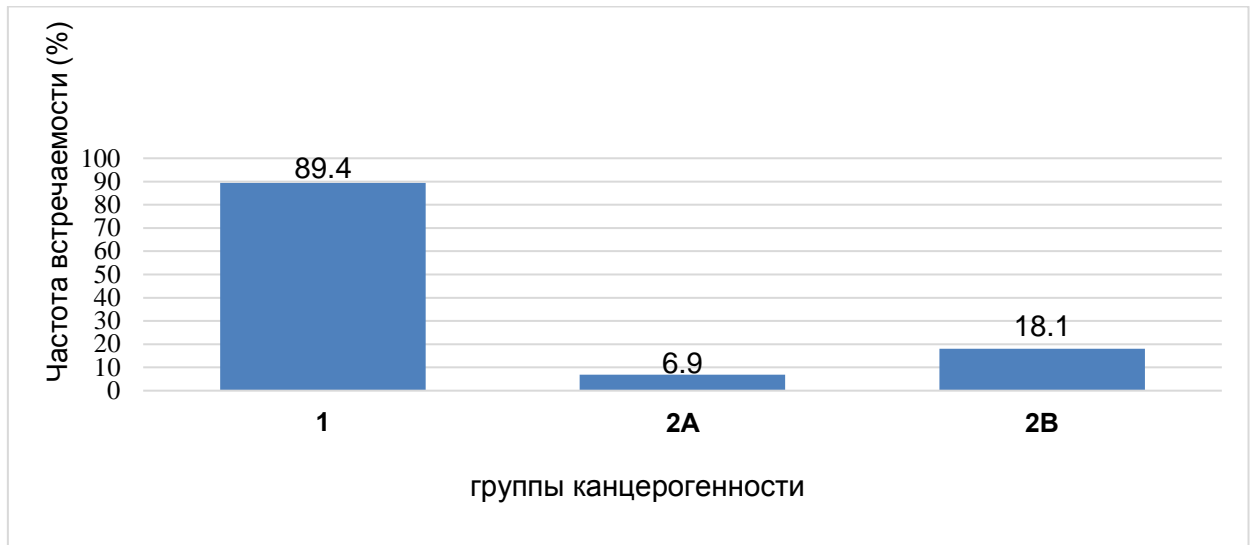


Рисунок 11. Распространенность типов ВПЧ в исследуемых группах (IARC)

### **Частота встречаемости типов ВПЧ и вирусная нагрузка в исследуемых группах в зависимости от результатов цитологического заключения**

Наиболее распространенными типами в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) были ВПЧ 16 (27,3%), 31 (18,2%), 52 (12,1%), 51 (12,1%), 66 (12,1%), 18 (10,6%), 58 (10,6%), во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) – ВПЧ 16 (39,3%), 56 (14,3%), ВПЧ 66, 59, 31, 58 имели одинаковое процентное распределение в группе – 10,7%, в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) – ВПЧ 16 (40%), ВПЧ 52, 58, 59, 56, 51 – по 14,3%, в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) – ВПЧ 16 (61,3%), 33 (19,4%), 35 (12,9%) (табл. 10). Сравнительный анализ встречаемости типов ВПЧ показал, что во всех группах чаще встречался ВПЧ 16 типа.

У пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки чаще встречался ВПЧ 16 – 43 (33,3%), затем 31 – 19 (14,7%), 52 – 16 (12,4%), 58 – 15 (11,6%), 66 – 15 (11,9%), 39 – 14 (10,9%), 51 – 14 (10,9%), 59 – 13 (10,1%), 6 – 13 (10,1%), 18 – 12 (9,3%), 56 – 12 (9,3%), 33 – 11 (8,5%), 44 – 9

(7%), 35 – 8 (6,2%), 53 – 8 (6,2%), 68 – 8 (6,2%), 45 – 6 (4,7%), менее 5% ВПЧ 82, 26, 73, 11 типов (Таблица 10).

Таблица 10

## Распределение типов ВПЧ в исследуемых группах

Типы ВПЧ	«Малые» формы поражения (n=129)				Группа сравнения
	1 группа (NILM/ ВПЧ ВР) (n=66)	2 группа (ASCUS/ ВПЧ ВР) (n=28)	3 группа (LSIL/ ВПЧ ВР) (n=35)	Всего (n=129)	
16	18 (27,3%)	11 (39,3%)	14 (40,0%)	<b>43 (33,3%)</b>	19 (61,3%)
52	8 (12,1%)	3 (10,7%)	5 (14,3%)	<b>16 (12,4%)</b>	2 (6,5%)
33	6 (9,1%)	2 (7,1%)	3 (8,6%)	<b>11 (8,5%)</b>	6 (19,4%)
58	7 (10,6%)	3 (10,7%)	5 (14,3%)	<b>15 (11,6%)</b>	2 (6,5%)
31	12 (18,2%)	3 (10,7%)	4 (11,4%)	<b>19 (14,7%)</b>	2 (6,5%)
35	5 (7,6%)	2 (7,1%)	1 (2,9%)	<b>8 (6,2%)</b>	4 (12,9%)
68	4 (6,1%)	1 (3,6%)	3 (8,6%)	<b>8 (6,2%)</b>	1 (3,2%)
45	4 (6,1%)	1 (3,6%)	1 (2,9%)	<b>6 (4,7%)</b>	2 (6,5%)
18	7 (10,6%)	2 (7,1%)	3 (8,6%)	<b>12 (9,3%)</b>	0
59	5 (7,6%)	3 (10,7%)	5 (14,3%)	<b>13 (10,1%)</b>	0
39	6 (9,1%)	2 (7,1%)	6 (17,1%)	<b>14 (10,9%)</b>	0
66	8 (12,1%)	3 (10,7%)	4 (11,4%)	<b>15 (11,9%)</b>	1 (3,2%)
56	3 (4,5%)	4 (14,3%)	5 (14,3%)	<b>12 (9,3%)</b>	3 (9,7%)
53	5 (7,6%)	1 (3,6%)	2 (5,7%)	<b>8 (6,2%)</b>	1 (3,2%)
82	1 (1,5%)	2 (7,1%)	1 (2,9%)	<b>4 (3,1%)</b>	1 (3,2%)
51	8 (12,1%)	1 (3,6%)	5 (14,3%)	<b>14 (10,9%)</b>	1 (3,2%)
26	3 (4,5%)	0	0	<b>3 (2,3%)</b>	0
73	1 (1,5%)	0	2 (5,7%)	<b>3 (2,3%)</b>	0
Низкоонкогенные типы					
6	9 (13,6)	0	4 (11,4%)	<b>13 (10,1%)</b>	0
11	1 (1,5%)	0	1 (2,9%)	<b>2 (1,6%)</b>	0
44	3 (4,5%)	3 (10,7%)	3 (8,6%)	<b>9 (7%)</b>	3 (9,7%)

Результаты исследования продемонстрировали, что вирусная нагрузка в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) составила 4,8 lg (25%-75%: 3,8-6,3 lg), во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) – 5,4 lg (25%-75%: 4,2-6,1 lg), в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) – 5,3 lg (25%-75%: 4,1-7,1 lg), в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) – 6,7 lg (25%-75%: 5,7-



7,1 Ig). При сравнительном анализе вирусная нагрузка была наивысшей в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР). Уровень вирусной нагрузки в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) был статистически выше, чем в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) ( $p=3,4 \times 10^{-4}$ ) (Рисунок 12).

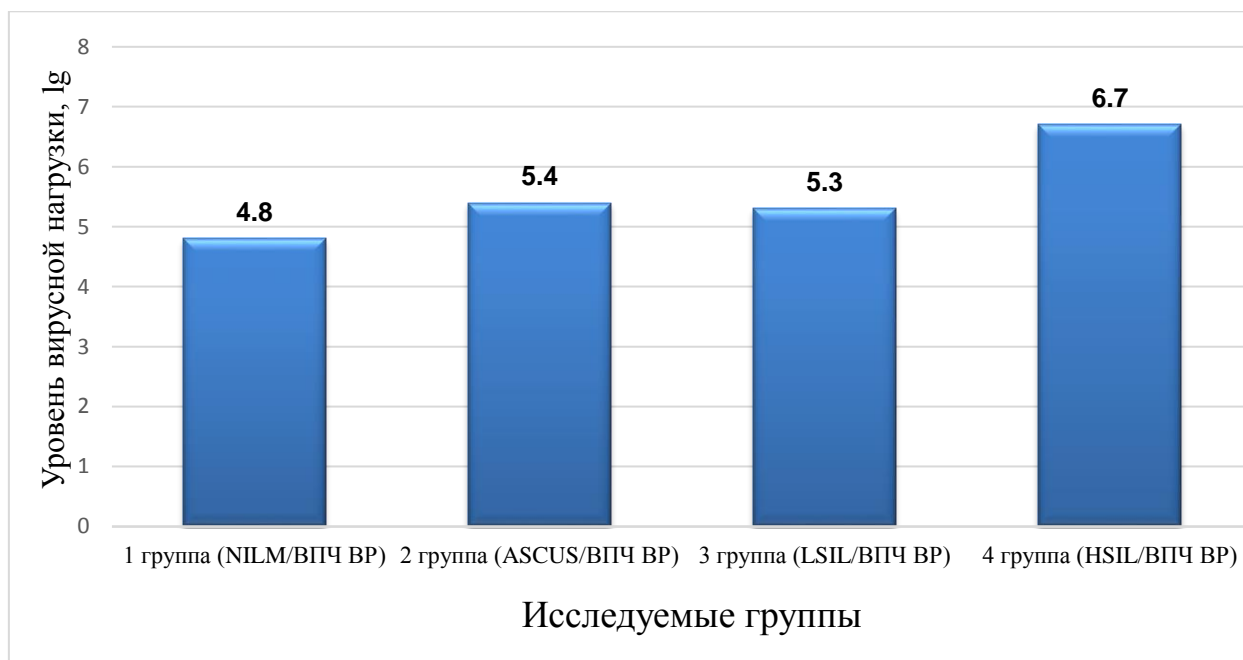


Рисунок 12. Сравнительный анализ вирусной нагрузки в исследуемых группах

Согласно классификации IARC, типы ВПЧ высокого канцерогенного риска (группа 1) встречались в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) в 84,8%, во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) – 92,9%, в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) – 85,7%, в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) – 100% случаях. Типы ВПЧ вероятно канцерогенного риска (группа 2A) встречались в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) в 6,1%, во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) – в 3,6%, в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) – в 14,3%, в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) – в 3,2%. Типы ВПЧ возможно канцерогенного риска встречались в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) – 21,2%, во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) – 21,4%, в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) – 17,1%, 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) – 9,7% (Рисунок 13).

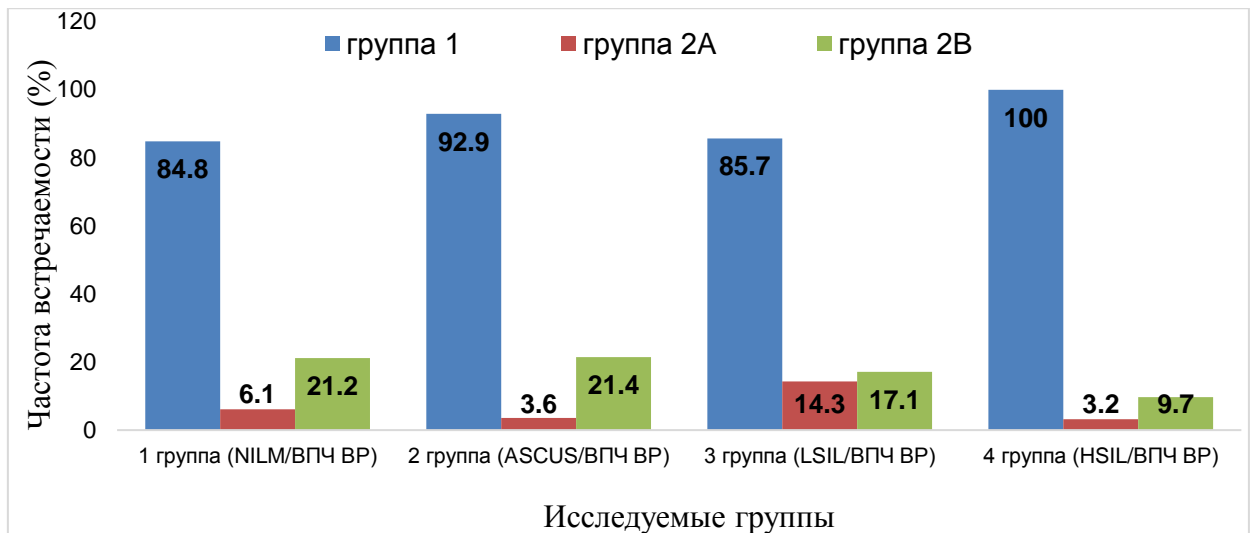


Рисунок 13. Распространенность типов ВПЧ согласно канцерогенного потенциала (IARC) в исследуемых группах

Таким образом, у пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки в 87,8% случаев были выявлены типы ВПЧ высокого канцерогенного риска (группа 1), в 8% – вероятно канцерогенного риска (группа 2А), в 19,9% – возможно канцерогенного риска (группа 2В) (Рисунок 14).

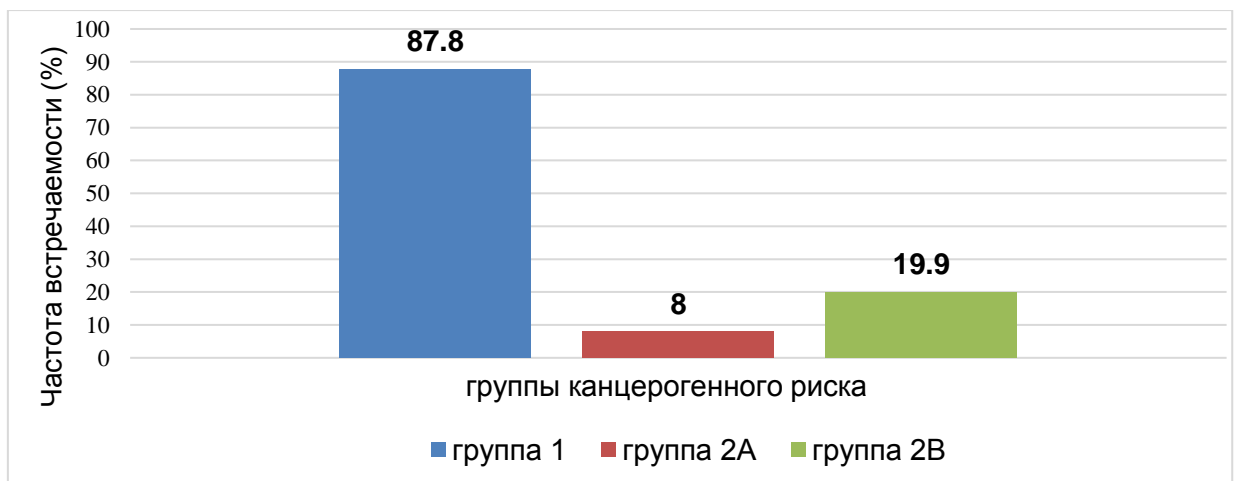


Рисунок 14. Сравнительный анализ частоты встречаемости канцерогенных групп ВПЧ у пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки (IARC)

У пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки выявление моноинфекции – наличие одного типа ВПЧ, было определено у 69 (53,5%) женщин, сочетанная форма инфекции (2 и более типов ВПЧ) – у 60 (46,5%). В виде моноинфекции ВПЧ высокого канцерогенного риска (группа 1) определялся у 58 (44,9%) женщин, вероятно и возможно канцерогенного риска – у 3 (2,3%) и 8 (6,2%) пациенток.

### **Заключение**

Согласно результатам нашего исследования определена высокая частота встречаемости ВПЧ высокого канцерогенного риска (группа 1) у пациенток как с «малыми», так и с «тяжелыми» формами поражения эпителия шейки матки.

Согласно классификации IARC у пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки типы ВПЧ высокого канцерогенного риска (группа 1) занимали лидирующую позицию, частота их встречаемости составила 87,8%. Типы ВПЧ вероятно канцерогенного риска (группа 2A) встречались в 8%, возможно канцерогенного риска (группа 2B) – в 19,9% случаях. У пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки чаще встречался ВПЧ16 (33,3%), затем 31 (14,7%), 52 (12,4%), 58 (11,6%), 66 (11,9%), 39 (10,9%), 51 (10,9%), 59 (10,1%), 6 (10,1%), 18 12 (9,3%), 56 (9,3%), 33 (8,5%), 44 (7%), 35 (6,2%), 53 (6,2%), 68 (6,2%), 45 (4,7%), менее 5% ВПЧ 82, 26, 73, 11 типов. При сравнительной оценке уровня вирусной нагрузки в исследуемых группах выявлены статистически значимые различия между 1 (NILM/ВПЧ ВР) и 4 (HSIL/ВПЧ ВР) группами (4,8 lg vs 6,7 lg,  $p=3,4 \times 10^{-4}$ ).

### **3.4 Результаты расширенной кольпоскопии**

Всем пациенткам, включенным в исследование, была проведена расширенная кольпоскопия (n=211) с оценкой эпителиального покрова и видимости переходной зоны. Стык между многослойный плоским и

цилиндрическим эпителием полностью визуализировался у 117 (55,5%) исследуемых женщин, из них в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) – у 37 (56,1%), во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) – у 16 (57,1%), в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) – у 22 (62,9%), в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) – у 6 (19,4%), в 5 группе (контроль) – у 36 (70,6%). Стык между многослойным плоским и цилиндрическим эпителием полностью не визуализировался в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) – у 25 (80,6%) женщин. Результаты нашего исследования выявили, что у пациенток 4 группы (HSIL/ВПЧ ВР) статистически чаще наблюдалась кольпоскопическая картина с невозможностью визуализации ЗТ по сравнению с группами: 1 (NILM/ВПЧ ВР) ( $p=0,003$ ), 2 (ASCUS/ВПЧ ВР) ( $p=0,01$ ), 3 (LSIL/ВПЧ ВР) ( $p=0,03$ ) и 5 (NILM/ВПЧ-) ( $p=3 \times 10^{-5}$ ) (Рисунок 15).

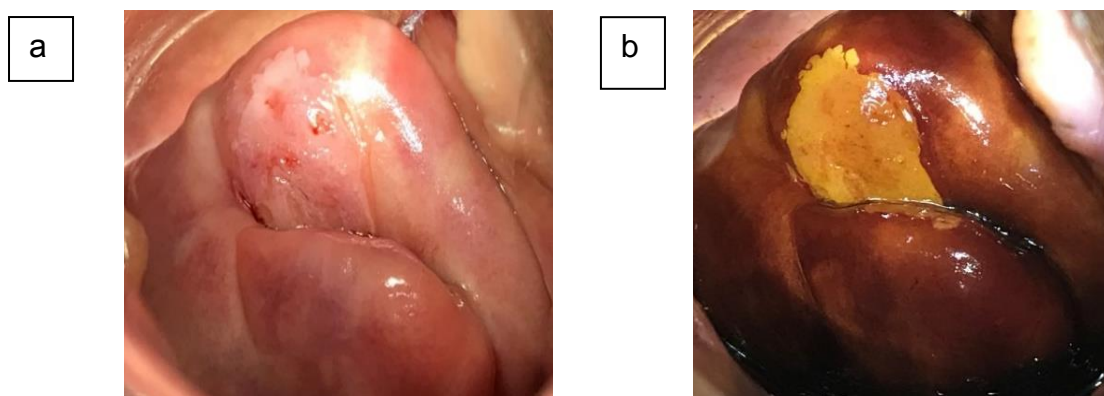


Рисунок 15. Выраженные изменения по кольпоскопии (ВПЧ 16 / HSIL)  
*a. проба с 3% раствором уксусной кислоты; b. проба с 1% раствором Люголя*

Наличие АБЭ на пробе с уксусной кислотой является главной кольпоскопической характеристикой CIN. Степень выраженности кольпоскопических поражений коррелировала с тяжестью изменений по результатам цитологического мазка. Так, кольпоскопические изменения в виде АБЭ статистически чаще встречались в группах женщин с ВПЧ-инфекцией по сравнению с 5 группой (NILM/ВПЧ-): 1 (NILM/ВПЧ ВР) ( $p=0,019$ ), 2 (ASCUS/ВПЧ ВР) ( $p=3,05 \times 10^{-7}$ ), 3 (LSIL/ВПЧ ВР) ( $p=1,8 \times 10^{-10}$ ) и 4 (HSIL/ВПЧ ВР) ( $p=1,3 \times 10^{-13}$ ) (Рисунок 16).

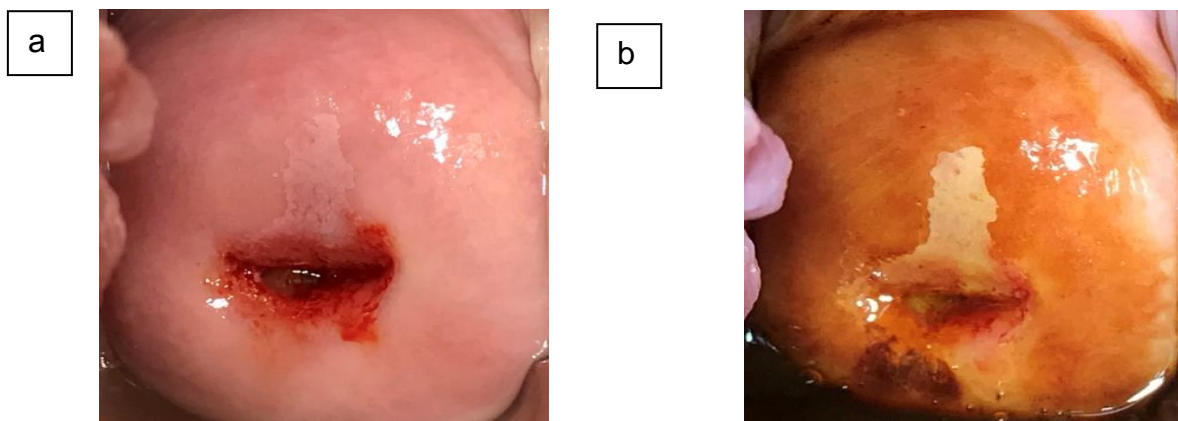


Рисунок 16. Слабовыраженные изменения по кольпоскопии (ВПЧ 16 / NILM)  
*a. проба с 3% раствором уксусной кислоты; b. проба с 1% раствором Люголя*

Слабовыраженные изменения у пациенток с «малыми» поражениями в большинстве случаев характеризовались наличием тонкого АБЭ с нежной мозаикой и пунктацией (Рисунок 17).

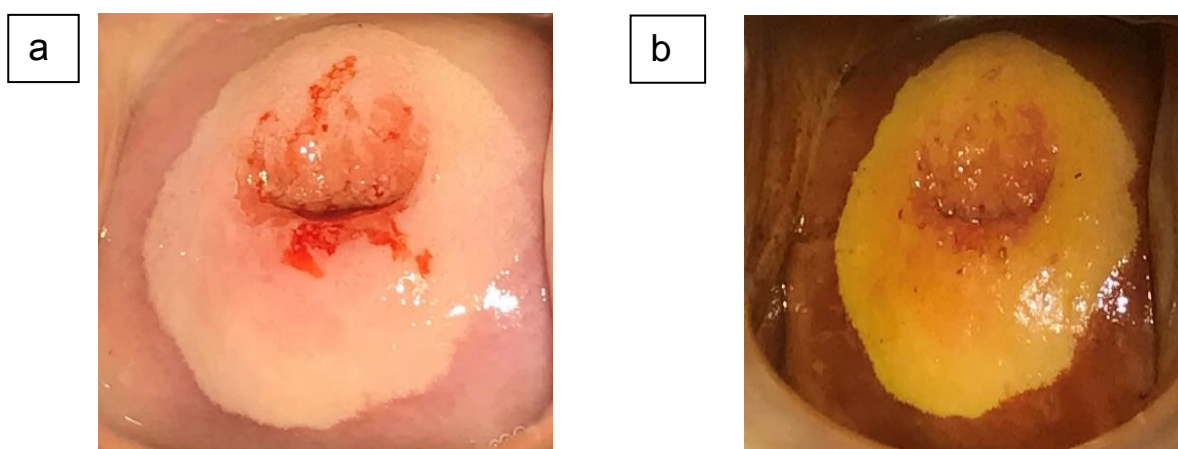


Рисунок 17. Слабовыраженные изменения по кольпоскопии (ВПЧ 68 / LSIL)  
*a. проба с 3% раствором уксусной кислоты; b. проба с 1% раствором Люголя*

Выраженные кольпоскопические изменения статистически чаще встречались у пациенток 4 группы (HSIL/ВПЧ ВР) по сравнению с другими исследуемыми группами ( $p > 0,05$ ). Плотный АБЭ у пациенток 4 группы (HSIL/ВПЧ ВР) был выявлен у 23 (74,2%) женщин, наличие грубой мозаики – у 13 (41,9%), грубой пунктации – у 9 (29%). По результатам исследования у 12

(52,2%) пациенток 4 группы (HSIL/ВПЧ ВР) с наличием выраженных кольпоскопических изменений был выявлен ВПЧ 16 типа, у 5 (21,7%) – ВПЧ 33 типа (Рисунок 18)

Выраженные кольпоскопические изменения в виде плотного АБЭ у пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки наблюдались у 11 (8,5%) женщин и были вызваны ВПЧ 16 типа – у 4 (36,4%), ВПЧ 58 – у 3 (27,3%).

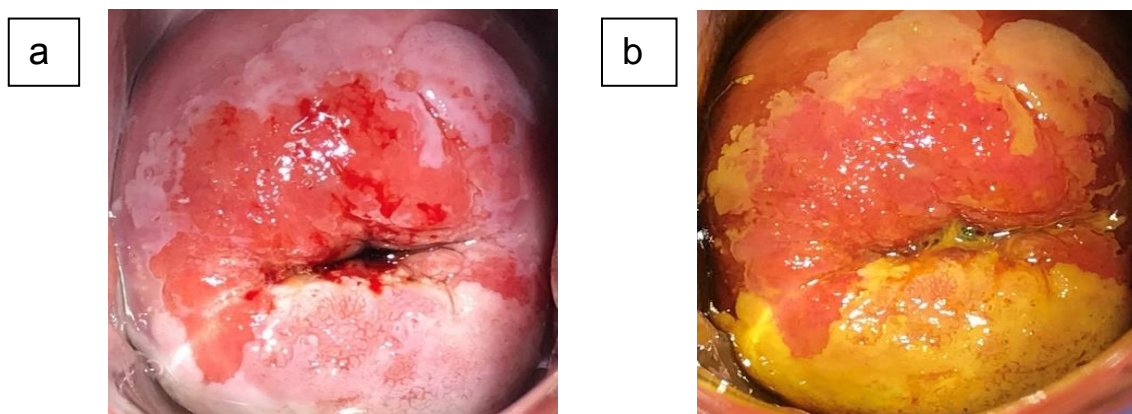


Рисунок 18. Выраженные изменения по кольпоскопии (ВПЧ 16 и 31 / LSIL)  
*a. проба с 3% раствором уксусной кислоты; b. проба с 1% раствором Люголя*

Сосудистые изменения в виде грубой мозаики и грубой пунктации у пациенток с «малыми» формами поражения наблюдались лишь в группах с ASCUS и LSIL (Таблица 11).

Таблица 11

## Результаты расширенной кольпоскопии в исследуемых группах

Кольпоскопические данные		1 группа (NILM/ ВПЧ ВР) n=66	2 группа (ASCUS/ ВПЧ ВР) n=28	3 группа (LSIL/ ВПЧ ВР) n=35	4 группа (HSIL/ ВПЧ ВР) n=31	5 группа (NILM/ ВПЧ-) n= 51
Стык эпителиев полностью видимый		38 (57,6%)	16 (57,2%)	22 (62,9%)	6 (19,4%)	36 (70,6%)
Стык эпителиев полностью не видимый		28 (42,4%)	12 (42,8%)	13 (37,2%)	25 (80,6%)	15 (29,4%)
Слабовыраженные изменения	Тонкий АБЭ	36 (54,5%)	22 (78,6%)	26 (74,3%)	8 (25,8%)	16 (31,4%)
	Нежная мозаика	13 (19,7%)	7 (25%)	20 (57,1%)	4 (12,9%)	4 (7,8%)
	Нежная пунктация	6 (9,1%)	9 (32,1%)	12 (34,3%)	6 (19,4%)	4 (7,8%)
Выраженные изменения	Плотный АБЭ	1 (1,3%)	3 (10,7%)	7 (20%)	23 (74,2%)	0
	Грубая мозаика	0	2 (7,1%)	1 (2,9%)	13 (41,9%)	0
	Грубая пунктация	0	0	1 (2,9%)	9 (29%)	0
Атипичные сосуды		1 (1,5%)	0	0	4 (12,9%)	0
Ретенционные кисты		7 (10,6%)	3 (10,7%)	5 (14,3%)	11 (35,5%)	3 (5,9%)
Выраженный сосудистый рисунок		12 (18,2%)	8 (28,6%)	4 (11,4%)	0	7 (13,7%)
Эктопия шейки матки		12 (18,2%)	3 (10,7%)	3 (8,6%)	0	19 (37,3%)
Эктропион шейки матки		2 (3%)	2 (7,1%)	1 (2,9%)	1 (3,2%)	1 (2%)
Остроконечные кондиломы вульвы		1 (1,5%)	1 (3,6%)	2 (5,7%)	5 (16,1%)	0
Остроконечные кондиломы влагалища		0	1 (3,6%)	1 (2,9%)	1 (3,2%)	0
Остроконечные кондиломы шейки матки		1 (1,5%)	0	0	1 (3,2%)	0

### **Заключение**

У пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки при расширенной кольпоскопии в большинстве случаев встречались слабовыраженные изменения. Изменения эпителия шейки матки при кольпоскопии статистически чаще наблюдались в группах с ВПЧ-инфекцией по сравнению с группой контроля ( $p > 0,05$ ). Выявленные изменения эпителия коррелировали со степенью тяжести поражения. Выраженные изменения эпителия при кольпоскопии статистически чаще наблюдались у пациенток 4 группы (HSIL/ВПЧ ВР), у большинства из них (52,2%) был выявлен ВПЧ 16 типа. Таким образом, у пациенток с ВПЧ ВР целесообразно проведение расширенной кольпоскопии для углубленного изучения состояния эпителия и определения показаний к проведению биопсии шейки матки.

#### **3.5 Результаты динамического наблюдения у пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки**

Пациентки с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки находились под динамическим наблюдением каждые 6 мес. в течение 24 мес. с проведением молекулярно-генетических, цитологического исследования и расширенной кольпоскопии. При персистенции ВПЧ ВР более 18 мес., аномальных результатах цитологии и/или изменениях подозрительных в отношении CIN по результатам кольпоскопии, пациенткам проводилась прицельная биопсия шейки матки и гистологическая верификации степени тяжести поражения эпителия шейки матки.

#### **Динамическое наблюдение за пациентками 1 группы (NILM/ВПЧ ВР)**

Пациенткам 1 группы (NILM/ВПЧ ВР) ( $n=66$ ) было проведено исследование по определению типа ВПЧ. По результатам исследования было выявлено, что у 34 (51,5%) женщин определялось более одного типа ВПЧ



(сочетанная форма инфекции), у 32 (48,5%) определялся только один тип ВПЧ (моноинфекция).

В зависимости от течения ПВИ пациентки 1 группы (NILM/ВПЧ ВР) были разделены на подгруппы: 1а подгруппа (n=27 (40,9%)) – с транзиторным течением инфекции и со стойким отрицательным ответом, при котором ВПЧ не определялся через 6 мес. от момента инфицирования, 1b подгруппа (n=7 (10,6%)) с транзиторным течением инфекции и с неполным отрицательным ответом, при котором ВПЧ не определялся только через 12 мес., 1с подгруппа (n=6 (9,1%)) с неполным отрицательным ответом, при элиминации ВПЧ через 24 мес., 1d подгруппа (n=26 (39,4%)) с персистенцией ВПЧ ВР – определение одного и того же типа ВПЧ на протяжении 24 мес. (Рисунок 19).

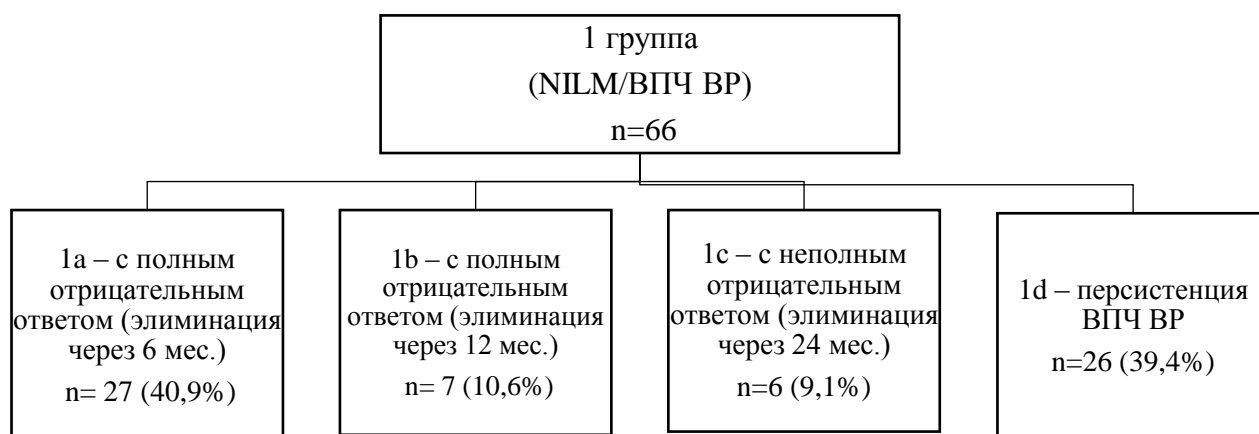


Рисунок 19. Распределение пациенток 1 группы (NILM/ВПЧ ВР) на подгруппы согласно течению ПВИ

Элиминация ВПЧ в течение 24 мес. произошла у 40 (60,6%) женщин. В первые 6 мес. исследования элиминация ВПЧ наблюдалась у 27 (40,9%) женщин. Сравнительный анализ типов ВПЧ подвергшихся элиминации: 16 тип – 5 (7,6%), 31 – 5 (7,6%), 33 – 5 (7,6%), 58 – 3 (4,5%), 35 – 3 (4,5%), 68 – 3 (4,5%), 53 – 3 (4,5%), 18 – 3 (4,5%), 39 – 3 (4,5%), 59 – 2 (3%), 45 – 2 (3%), 52 – 2 (3%), 66 – 2 (3%), 82 – 1 (1,5%), 51 – 2 (3%), 26 – 1 (1,5%). Через 12 мес. от

начала исследования элиминация ВПЧ произошла ещё у 7 (10,6%) женщин с типами ВПЧ: 16 – 7 (10,6%), 66 – 4 (6%), 56 – 3 (4,5%), 52 – 2 (3%), 58 – 2 (3%), 59 – 2 (3%), 39 – 2 (3%), 51 – 2 (3%), 31 – 2 (3%), 45 – 1 (1,5%), 18 – 1 (1,5%), 26 – 1 (1,5%). Через 24 мес. от начала исследования ВПЧ не определялся ещё у 6 (9,1%) пациенток, при этом через 18 мес. отмечена элиминация таких типов ВПЧ, как: 16 – 1 (1,5%), 52 – 2 (3%), 31 – 3 (4,6%), 33 – 1 (1,5%), 35 – 1 (1,5%), 45 – 1 (1,5%), 18 – 1 (1,5%), 66 – 1 (1,5%), 26 – 1 (1,5%), а через 24 мес.: ВПЧ 58 – 1 (1,6%), 18 – 1 (1,6%), 39 – 1 (1,6%), 53 – 1 (1,6%).

Персистенция (определение одного и того же типа ВПЧ на протяжении 24 мес.) была у 26 (39,4%) женщин с ВПЧ 16 – 5 (19,23%), ВПЧ 51 – 4 (15,4%), 52 – 3 (11,5%), ВПЧ 31 – 2 (7,7%), ВПЧ 68 – 2 (7,7%), ВПЧ 35, 58, 45, 18, 59, 39, 66, 53, 56 и 73 типов – 1 (3,8%).

В ходе динамического наблюдения ухудшение результатов по данным цитологического исследования наблюдалось у 15 (22,7%) пациенток, из них у 9 (13,6%) – ASCUS, у 6 (9%) – LSIL.

Прицельная биопсия шейки матки была проведена 36 (54,5%) пациенткам из 1 (NILM/ВПЧ ВР) группы. Показанием к проведению прицельной биопсии шейки матки явились персистенция ВПЧ ВР более 18 мес. с аномальными результатами по данным цитологического исследования и наличие изменений при кольпоскопии, подозрительных в отношении SIL (53,8%). По результатам патоморфологического исследования плоскоклеточные изменения, характерные для CIN+, были выявлены у 22 (61,1%) пациенток, из них у 20 (55,6%) – LSIL (CINI), у 2 (5,6%) – HSIL (CINII- III).

Анализ результатов исследования показал, что морфологический диагноз CIN+ статистически чаще наблюдался в 1d подгруппе (с персистенцией ВПЧ ВР) по сравнению с подгруппами, где произошла элиминация вируса (1a, 1b, 1c подгруппы) ( $p=0,001$ ). Так, из 22 пациенток с

морфологически подтвержденными CIN+, из 1d подгруппы было 20 (90,9%) женщин, из 1c подгруппы – 2 (9,1%).

Доброкачественные заболевания шейки матки по результатам патоморфологического исследования были выявлены у 14 (38,9%) пациенток, из них лейкоплакия шейки матки у 12 (33,2%), хронический цервицит у 2 (5,6%). В ходе динамического наблюдения у пациенток с доброкачественными заболеваниями шейки матки, которые были подтверждены морфологически, в 100% случаев наблюдалась элиминация вируса в течение 6-12 мес.

Согласно классификации IARC, у пациенток с патоморфологическим диагнозом CIN+ определялись типы ВПЧ высокого канцерогенного риска (группа1) в 69,2%, вероятно канцерогенного риска (группа 2А) – в 7,7%, возможно канцерогенного риска (группы 2В) – в 23,1%, из них как моноинфекция участвовали типы ВПЧ канцерогенного риска групп 1 и 2В в 15,4% и 5,1% случаев соответственно. В формирование CIN+ участвовали типы ВПЧ 16 – 3 (13,6%), 53, 51, 39, 58, 66 по 1 (4,5%) (Таблица 12).

Таблица 12

Частота встречаемости типов ВПЧ согласно канцерогенному риску (IARC) у пациенток 1 группы (NILM/ВПЧ ВР) с патоморфологическим диагнозом CIN+

Типы ВПЧ	Патоморфологический диагноз: CIN I-II-III (n=22)			
	Моноинфекция	Сочетанная инфекция	Частота выявления ВПЧ	(%)
16	3 (13,6%)	6 (30%)	9	40,9%
18	0	4 (20%)	4	18,2%
53	1 (4,5%)	3 (15%)	4	18,2%
68	0	3 (15%)	3	13,7%
51	1 (4,5%)	3 (10%)	4	18,2%
52	0	2 (10%)	2	9%
39	1 (4,5%)	1 (5%)	2	9%

58	1 (4,5%)	1 (5%)	2	9%
56	0	3 (10%)	3	13,7%
82	0	2 (10%)	2	9%
35	0	1(5%)	1	4,5%
45	0	1(5%)	1	4,5%
66	1 (4,5%)	0	1	4,5%
73	0	1(5%)	1	4,5%
Группа1	6 (15,4%)	20 (53,8%)	27	69,2%
Группа2А	0	3 (7,7%)	3	7,7%
Группа 2В	2 (5,1%)	7 (18%)	9	23,1%

Таким образом, персистенция вируса является одной из основополагающих причин формирования CIN+. В формировании CIN+ как моноинфекции участвовали ВПЧ 16, 53, 51, 39, 58, 66, относящиеся к типам высокого и возможно канцерогенного риска (группы 1, 2В).

#### **Динамическое наблюдение за пациентками 2 группы (ASCUS/ ВПЧ ВР)**

В ходе динамического наблюдения пациентки 2 группы (ASCUS/ВПЧ ВР) (n=28) были обследованы каждые 6 мес. в течение 24 мес. При отсутствии положительной динамики по результатам цитологического исследования и/или персистенции ВПЧ, и/или ухудшения кольпоскопической картины пациенткам проводилась биопсия шейки матки.

Пациентки 2 группы (ASCUS/ВПЧ ВР) исходно были разделены в зависимости от результатов расширенной кольпоскопии на подгруппы: 2а подгруппа без изменений (n=3 (10,7%)), 2б подгруппа со слабовыраженными изменениями (n=22 (78,6%)), 2с подгруппа с выраженными изменениями (n=3 (10,7%)) (Рисунок 20).



Рисунок 20. Распределение пациенток 2 группы (ASCUS/ВПЧ ВР) в зависимости от результатов кольпоскопии

В 2с подгруппе у 2 (7,1%) пациенток определены выраженные изменения в виде плотного АБЭ с грубой мозаикой. У данных пациенток выявлены ВПЧ 16 – 2 (7,1%) и 58 типов – 1 (3,6%). Всем пациенткам с выраженными изменениями по кольпоскопии (n=3 (10,7%)) была проведена прицельная биопсия шейки матки. Патоморфологический диагноз соответствовал LSIL (CINI) – у 2 (7,1%) женщин, HSIL (CINII-III) – у 1 (3,6%).

Во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) через 6 мес. у 7 (28%) женщин наблюдалась элиминация вируса, у 18 (72%) определялся ВПЧ ВР. Аномальные результаты цитологического мазка наблюдались у 5 (20%) пациенток, из них ASCUS у 4 (16%), LSIL у 1 (4%). Пациенткам была проведена биопсия шейки матки. Морфологический диагноз LSIL (CINI) выявлен у 2 (8%), HSIL (CINII-CINIII) у 1 (4%).

Через 12 мес. элиминация вируса наблюдалась у 15 (62,5%) женщин, у 9 – сохранялся ВПЧ ВР с аномальными результатами цитограммы, из них ASCUS у 4 (16,6%), LSIL у 1 (4,2%). Пациенткам проведена биопсия шейки матки. Патоморфологический диагноз LSIL (CINI) выявлен у 3 (12,5%) женщин, доброкачественные заболевания в виде лейкоплакии шейки матки и хронического цервицита у 2 (8,4%) пациенток. Через 18 мес. вирус сохранялся

у 5 (20,8%) пациенток, из них у 1 (4,2%) цитологическое заключение соответствовало – HSIL. Пациентке проведена эксцизия шейки матки с выскабливанием цервикального канала. Патоморфологический диагноз соответствовал HSIL (CINII). Через 24 мес. элиминация ВПЧ наблюдалась у 20 (89,9%) женщин, персистенция ВПЧ у 3 (13%), из них у 1 (4,3%) цитограмма соответствовала – ASCUS. Пациентке с аномальным цитологическим мазком была проведена прицельная биопсия шейки матки. Морфологический диагноз соответствовал LSIL (CINI).

Таблица 13

## Динамическое наблюдение пациенток 2 группы (ASCUS/ВПЧ ВР)

		1 визит 0 мес. n=28	2 визит 6 мес. n=25	3 визит 12 мес. n=24	4 визит 18 мес. n=24	5 визит 24 мес. n=23
Цитологическое заключение	NILM	-	20 (80%)	19 (79,2%)	23 (95,8%)	22 (95,6%)
	ASCUS	28 (100%)	4 (16%)	4 (16,6%)	-	1 (4,3%)
	LSIL	-	1 (4%)	1 (4,2%)	-	-
	HSIL	-	-	-	1 (4,2%)	-
ВПЧ «+» положительный		28 (100%)	18 (72%)	9 (37,5%)	5 (20,8%)	3 (13%)
ВПЧ «-» отрицательные		0	7 (28%)	15 (62,5%)	19 (79,1%)	20 (89,9%)
Результаты патоморфологического исследования	LSIL (CINI)	2 (7,1%)	3 (12%)	3 (12,5%)	-	1 (4,3%)
	HSIL (CINII-III)	1 (3,5%)	1 (4%)	-	1 (4,2%)	-
	Лейкоплакия шейки матки	-	2 (8%)	1 (4,2%)	-	-
	Хронический цервицит	-	-	1 (4,2%)	-	-

Во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) в процессе динамического наблюдения (24 мес.) проведено 16 (57%) биопсий шейки матки. По результатам патоморфологического исследования плоскоклеточные изменения

характерные для CIN+ были выявлены у 12 (43%) женщин, из них LSIL (CINI) у 9 (32%), HSIL (CINII-CINIII) у 3 (11%). Доброкачественные заболевания шейки матки в виде лейкоплакии в сочетании с хроническим цервицитом – у 4 (14,2%) женщин (рис. 13).

Согласно классификации IARC, у пациенток с патоморфологическим диагнозом CIN+ определялся типы ВПЧ высокого канцерогенного риска (группа 1) в 81,2%, вероятно канцерогенного риска (группа 2A) в 6,3%, возможно канцерогенного риска (группы 2B) в 12,5% случаев, из них как моноинфекция участвовали типы ВПЧ канцерогенного риска групп 1 и 2B в 43,5% и 6,3% случаев соответственно. У пациенток с морфологически подтвержденным CIN+ определялись следующие типы: ВПЧ16 – 6 (50%), 35 – 2 (16,7%), 82 – 2 (16,7%), ВПЧ 33, 68, 18, 56, 39, 58 типов по 1 (8,3%) женщине. В формирование CIN+, как моноинфекция участвовали ВПЧ 16 – 5 (42%), 82 – 1 (8,3%), 39 – 1 (8,3%), 58 – 1 (8,3%) (Таблица 14).

В формирование CINII-III как моноинфекции участвовали только ВПЧ высоко канцерогенного риска (группы 1): ВПЧ 16 – 2 (66,7%) и ВПЧ 58 – 1 (33,3%).

Таблица 14

Частота встречаемости типов ВПЧ согласно канцерогенному риску (IARC) у пациенток 2 группы (ASCUS/ВПЧ ВР) с патоморфологическим диагнозом CIN+

Типы ВПЧ	Патоморфологический диагноз: CINI-II-III (n=12)			
	Моноинфекция	Сочетанная инфекция	Частота выявления ВПЧ	%
16	5 (42%)	1 (8,3%)	6	50%
35	0	2 (16,7%)	2	16,7%
33	0	1 (8,3%)	1	8,3%
82	1 (8,3%)	1 (8,3%)	2	16,7%
68	0	1 (8,3%)	1	8,3%

18	0	1 (8,3%)	1	8,3%
56	0	1 (8,3%)	1	8,3%
39	1 (8,3%)	0	1	8,3%
58	1 (8,3%)	0	1	8,3%
Группа 1	4 (43,7%)	6 (37,5%)	13	81,2%
Группа 2А	0	1 (6,3%)	1	6,3%
Группа 2В	1 (6,3%)	1 (6,3%)	2	12,5%

В формировании CIN+ участвовали ВПЧ как высокого (43,7%), так и возможно (6,3%) канцерогенного риска (группы 1, 2В). Плоскоклеточные поражения, характерные для CIN+, были вызваны ВПЧ 16, 82, 39, 58 типов. Патоморфологический диагноз соответствовал HSIL (CINII-III) у 3 (10,7%) пациенток. Таким образом, группа пациентов с ASCUS может иметь исходно более тяжелые поражения шейки матки, о чем свидетельствуют выявленные нами случаи HSIL (CINII-III) исходно и в динамике наблюдения.

### **Динамическое наблюдение за пациентами 3 группы (LSIL/ВПЧ ВР)**

Пациенты 3 группы (LSIL/ВПЧ ВР) были разделены на подгруппы в зависимости от результатов кольпоскопии: 3а подгруппа – 2 (5,7%) с отсутствием изменений, 3б подгруппа – 26 (74,3%) со слабовыраженными изменениями, 3с подгруппа – 7 (20%) с выраженными изменениями (Рисунок 21).





Рисунок 21. Распределение пациенток 3 группы (LSIL/ВПЧ ВР) в зависимости от результатов кольпоскопии

Выраженные изменения при кольпоскопии в виде плотного АБЭ с грубой мозаикой и пунктацией выявлены у 2 (5,8%) пациенток 3с подгруппы.

Пациенткам 3а подгруппы (без изменений) и 3б подгруппы (со слабовыраженными изменениями) было предложено динамическое наблюдение каждые 6 мес. В ходе динамического наблюдения пациенткам проводилось: ВПЧ-генотипирование, цитологическое исследование, расширенная кольпоскопия, определение маркеров мРНК генов. Пациенты с элиминацией ВПЧ и цитологическим заключением NILM рассматривались как группа с положительной динамикой. При динамическом наблюдении, выявленные цитологические заключения ASCUS/LSIL, и/или персистенции ВПЧ, а также выявленных изменений при кольпоскопии явились показанием для проведения прицельной биопсии шейки матки.

Всем пациенткам с выраженными изменениями по результатам кольпоскопии (3с подгруппа (n=7)) была проведена прицельная биопсия шейки матки. Патоморфологический диагноз соответствовал LSIL (CINI) у 6 (17,1%) женщин, HSIL (CINII-III) у 1 (2,8%).

Через 6 мес. элиминация вируса наблюдалась у 6 (21,4%) женщин, изменения по результатам цитологического мазка в виде LSIL у 16 (47%),

ASCUS у 2 (5,8%). Проведена биопсия шейки матки. Патоморфологический диагноз LSIL (CINI) выявлен у 14 (41,2%) женщин, доброкачественные заболевания эпителия шейки матки – у 4 (11,7%), из них хронический цервицит – у 3 (8,8%), лейкоплакия шейки матки – у 1 (2,9%).

Через 12 мес. у 27 (79%) женщин сохранялась ВПЧ-инфекция, из них у 1 (2,9%) – цитологический мазок соответствовал LSIL. Проведена биопсия шейки матки, гистологический диагноз – лейкоплакии шейки матки.

Через 18 мес. элиминация вируса наблюдалась у 10 (29,4%) женщин. Персистенция вируса сохранялась у 24 (70,5%) женщин, из них у 2 (5,8%) определялась аномальная цитология – ASCUS. Проведена прицельная биопсия шейки матки. Патоморфологический диагноз соответствовал LSIL (CINI) у 2 (5,8%) пациенток.

Через 24 мес. персистенция ВПЧ-инфекции наблюдалась у 24 (70,5%) женщин, из них у 2 (5,8%) аномальные результаты цитограммы – ASCUS и LSIL. Учитывая наличие изменений по результатам кольпоскопии, пациенткам была проведена биопсия шейки матки. Патоморфологический диагноз соответствовал LSIL (CINI) у 2 (5,8%) пациенток.

По результатам динамического наблюдения (24 мес.) проведено 30 (85,7%) биопсий шейки матки. По результатам патоморфологического исследования плоскоклеточные изменения характерные для CIN+ были выявлены у 25 (71,4%) женщин, из них LSIL (CINI) у 24 (68,6%), HSIL (CINI-II-CINI-III) у 1 (2,8%); доброкачественные изменения эпителия шейки матки в виде лейкоплакии шейки матки в сочетании с хроническим цервицитом у 5 (14,2%). Элиминация ВПЧ с цитологическим заключением NILM наблюдалась у 10 (29,4%) женщин (Таблица 15).

Таблица 15

## Динамическое наблюдение пациенток 3 группы (LSIL/ВПЧ ВР)

		1 визит 0 мес. n=35	2 визит 6 мес. n=34	3 визит 12 мес. n=34	4 визит 18 мес. n=34	5 визит 24 мес. n=34
Цитологическое заключение	NILM	-	28 (82%)	33 (97%)	32 (94%)	32 (94%)
	ASCUS	-	2 (5,8%)	-	1 (2,9%)	1 (2,9%)
	LSIL	35 (100%)	16 (47%)	1 (2,9%)	1 (2,9%)	1 (2,9%)
	HSIL	-	-	-	-	-
ВПЧ «+» положительный		35 (100%)	28 (82,4%)	27 (79,4%)	24 (70,5%)	24 (70,5%)
ВПЧ «-» отрицательные		-	6 (17,6%)	7 (20,6%)	10 (29,4%)	10 (29,4%)
Результаты патоморфологического исследования	Хронический цервицит	-	3 (8,8%)	1 (2,9%)		-
	Лейкоплакия шейки матки	-	1 (2,9%)	-	-	-
	LSIL (CIN I)	6 (17,1%)	14 (41,2%)	-	2 (5,8%)	2 (5,8%)
	HSIL (CINII-III)	1 (2,9%)	-	-	-	-

При динамическом наблюдении у пациенток с гистологически подтвержденным CIN<sup>+</sup> определялись следующие типы: ВПЧ16 – у 12 (48%), 58 – у 5 (20%), 39 – у 4 (16%), 59, 66, 58, 51 у 2 (8%), 33, 68, 45, 56, 82, 18, 35 у 1 (4%).

Согласно классификации IARC, у пациенток с патоморфологическим диагнозом CIN<sup>+</sup> определялись типы ВПЧ высокого канцерогенного риска (группа 1) в 89,2% случаев, вероятно канцерогенного риска (группа 2А) в 2,6%, возможно канцерогенного риска (группы 2В) в 8,1%, из них как моноинфекция участвовали типы ВПЧ канцерогенного риска групп 1, 2А и 2В в 37,8%, 2,7%, 2,7% случаев соответственно. В формировании CIN<sup>+</sup> как моноинфекции участвовали ВПЧ 16 – 8 (32%), 58 – 2 (8%), менее 5 % ВПЧ 39, 66, 33, 59, 68, 45 типов (Таблица 16).

Частота встречаемости типов ВПЧ согласно канцерогенному риску (IARC) у пациенток 3 группы (LSIL/ВПЧ ВР) с патоморфологическим диагнозом CIN+

Типы ВПЧ	Патоморфологический диагноз: CIN-I-III (n=12)			
	Моноинфекция	Сочетанная инфекция	Частота выявления ВПЧ	%
16	8 (32%)	4 (16%)	12	48%
58	2 (8%)	3 (12%)	5	20%
39	1 (4%)	3 (12%)	4	16%
66	1 (4%)	1	2	4%
33	1 (4%)	0	1	4%
59	1 (4%)	1 (4%)	2	8%
68	1 (4%)	0	1	4%
45	1 (4%)	0	1	4%
52	0	2 (8%)	2	8%
56	0	1 (4%)	1	4%
82	0	1 (4%)	1	4%
31	0	1 (4%)	1	4%
18	0	1 (4%)	1	4%
51	0	2 (8%)	2	8%
35	0	1 (4%)	1	4%
Группа 1	14 (37,8%)	19 (51,4%)	33	89,2%
Группа 2А	1 (2,7%)	0	1	2,7%
Группа 2В	1 (2,7%)	2 (5,4%)	3	8,1%

Согласно классификации IARC в формировании CIN+ как моноинфекции участвовали типы ВПЧ высокого, вероятно и возможно канцерогенного риска (группы 1, 2А, 2В).

Таким образом, у пациенток 3 группы (LSIL/ВПЧ ВР) при динамическом наблюдении персистенция ВПЧ ВР наблюдалась в 70,5% случаев (статистически значимо по сравнению с группой NILM и ASCUS). Патоморфологический диагноз CIN+ был выявлен в 71,4% случаях. Однако высокая частота персистенции ВПЧ ВР в данной группе свидетельствует о высоком риске прогрессии CIN+ и важности поиска молекулярных маркеров для прогнозирования течения процесса.

### **Результаты встречаемости канцерогенных групп ВПЧ у пациенток с морфологическим диагнозом CIN+**

В ходе динамического наблюдения пациенткам с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки было проведено 82 (63,6%) биопсии. Патоморфологический диагноз CIN+ выявлен у 59 (71,9%) пациенток.

В формировании CIN+ участвовали типы ВПЧ высокого канцерогенного риска (группа 1 – в 79,1%), вероятно канцерогенного риска (группа 2А) – в 5,5%, возможно канцерогенного риска (группа 2В) – в 15,4% случаях, из них в виде моноинфекции в 28,6%, 1,1%, 4,4% соответственно. Неопластическая трансформация у пациенток с «малыми» формами поражения была обусловлена персистенцией ВПЧ 16 (45,8%), 58 (13,5%), 39 (11,9%), 18 и 51 (10,2%), 68, 56, 82 (8,5%), 35, 52, 53 (6,8%), менее 5% ВПЧ 66, 45, 33, 59, 73, 31 типов. В формировании CIN+ как моноинфекции участвовали ВПЧ 16 – 16 (27%), 58 – 4 (6,8%), 39 – 3 (5%), 66 – 2 (3,3%) и менее 2% ВПЧ 53, 51, 82, 33, 59, 68, 45 типов (Таблица 17).

Таблица 17

Частота встречаемости канцерогенных групп ВПЧ у пациенток с патоморфологическим диагнозом CIN+ (IARC)

Группы канцерогенного риска	Результат гистологического исследования – CINII-III (n=59)			
	Моноинфекция	Сочетанная инфекция	Частота выявления ВПЧ	%
Группа 1	26 (28,6%)	46 (50,5%)	72	79,1%
Группа 2А	1 (1,1%)	4 (4,4%)	5	5,5%
Группа 2В	4 (4,4%)	10 (11%)	14	14,4%

Таким образом, у пациенток с «малыми» формами поражения персистенция вируса является одной из основополагающих причин формирования CIN+. Следует отметить, группа пациентов с «малыми» поражениями в виде ASCUS может иметь исходно более «тяжелые» поражения эпителия шейки матки, о чем свидетельствуют выявленные нами случаи HSIL (CINII-III) изначально и в динамике наблюдения. У пациенток с LSIL при динамическом наблюдении отмечалась высокая частота персистенции ВПЧ ВР (70,5%) (статистически значимо по сравнению с группой NILM и ASCUS), что свидетельствовало о высоком риске прогрессии CIN+ и важности поиска молекулярных маркеров для прогнозирования течения процесса.

### 3.6 Результаты экспрессии мРНК генов по группам

У пациенток с дисплазиями различной степени тяжести изучена экспрессия мРНК генов человека, отвечающих за регуляцию клеточного цикла, пролиферацию (*MKI67*, *CDKN2A*, *MYBL2*, *CCNB1*, *CDK1*, *KIF14*, *CCND1*), репликацию и репарацию ДНК (*EXO1*, *TOP2A*), утилизацию белков (*UBE2T*), транскрипционный фактор (*MYC*), синтез микроРНК (*DROSHA*),

апоптоз (*BCL2*, *BAG1*), рецепторов гормонов *ESR1* (эстрогеновый), *PGR* (прогестероновый) и эпидермального ростового фактора *EGFR*, организацию цитоскелета, миграцию, инвазию (*ANLN*), передачу сигналов с поверхности клетки (*ITGAV*), иммунную систему (*IFNAR1*, *IL1RN*, *OSM*, *OSMR*, *PD-L1*, *CD166*) и опухолевую супрессию (*SERPINB5*) (Таблица 18).

Таблица 18

## Функциональное назначение исследованных генов

Функции	Маркеры
Пролиферация, митоз, регуляция клеточного цикла	<i>MKI67</i> , <i>CDKN2A</i> , <i>MYBL2</i> , <i>CCNB1</i> , <i>CDK1</i> , <i>KIF14</i> , <i>CCND1</i>
Транскрипционный фактор, проонкоген	<i>MYC</i>
Репликация и репарация ДНК	<i>EXO1</i> , <i>TOP2A</i>
Утилизация белков	<i>UBE2T</i>
Организация цитоскелета, миграция, инвазия	<i>ANLN</i>
Синтез микроРНК	<i>DROSHA</i>
Адгезия и передача сигналов с клеточной поверхности внутрь клетки	<i>ITGAV</i>
Апоптоз	<i>BCL2</i> , <i>BAG1</i>
Рецепторы	<i>ESR1</i> (эстрогеновый), <i>PGR</i> (прогестероновый), <i>EGFR</i> (эпидермального ростового фактора)
Супрессор опухолей в эпителиальных клетках	<i>SERPINB5</i>
Иммунитет	<i>IFNAR1</i> , <i>IL1RN</i> , <i>OSM</i> , <i>OSMR</i> , <i>PD-L1</i> , <i>CD166</i>

Обследовано 211 женщин, сформировано 5 групп в зависимости от результатов цитологического заключения и наличия ВПЧ-инфекции: 1 группа NILM/ВПЧ ВР (n=66), 2 группа ASCUS/ВПЧ ВР (n=28), 3 группа LSIL/ВПЧ ВР (n=35), 4 группа сравнения HSIL/ВПЧ ВР (n=31), 5 группа NILM/ВПЧ-негативные женщины (n=51).

Уровень экспрессии мРНК исследуемых генов по группам представлен в таблице 19, указаны значения медиан и межквартильный размах Ме (L-H).



## Уровень экспрессии мРНК генов в исследуемых группах

мРНК	NILM/ВПЧ- (n= 51)	NILM/ВПЧ ВР (n=66)		ASCUS/ВПЧ ВР (n=28)		LSIL/ВПЧ ВР (n=35)		HSIL/ВПЧ ВР (n=31)	
	Me (L-M)	Me (L-M)	р-уровень*	Me (L-M)	р-уровень*	Me (L-M)	р-уровень*	Me (L-M)	р-уровень*
<b>Пролиферация, митоз, регуляция клеточного цикла</b>									
MKI67	1 (0,48-2,1)	1,17 (0,59-1,84)	0,723	1,63 (0,9-2,36)	0,175	<b>1,8</b> <b>(0,9-2,4)</b>	<b>0,04</b>	<b>1,9</b> <b>(0,6-4,4)</b>	<b>0,04</b>
CDKN2A	1 (0,46-1,5)	1,1 (0,39-1,66)	0,886	1,19 (0,7-1,65)	0,447	<b>2,1</b> <b>(0,9-3,5)</b>	<b>0,018</b>	<b>3,2</b> <b>(1,7-5,1)</b>	<b>2,8x10<sup>-5</sup></b>
MYBL2	1 (0,57-1,9)	1,21 (0,61-1,99)	0,591	<b>1,98</b> <b>(1,0-3,41)</b>	<b>0,017</b>	<b>1,99</b> <b>(0,9-3,4)</b>	<b>0,024</b>	<b>5,1</b> <b>(1,7-12,8)</b>	<b>2x10<sup>-4</sup></b>
CCNB1	1 (0,54-2,4)	1,40 (0,60-2,43)	0,505	<b>1,99</b> <b>(1,2-4,22)</b>	<b>0,013</b>	<b>2,1</b> <b>(0,6-1,7)</b>	<b>0,019</b>	<b>2,9</b> <b>(0,7-5,3)</b>	<b>0,025</b>
CDK1	1 (0,13-2,6)	1,31 (0,37-3,25)	0,413	1,4 (0,5-3,3)	0,220	3,34 (1,3-6,07)	<b>0,003</b>	<b>5,2</b> <b>(1,3-14,5)</b>	<b>5x10<sup>-4</sup></b>
MYC	1 (0,50-1,8)	1,15 (0,59-2,04)	0,454	1,21 (0,6-2,33)	0,249	1,0 (0,5-1,7)	0,989	<b>2,1</b> <b>(0,8-3,1)</b>	<b>0,012</b>
KIF14	1 (0,41-2,2)	1,02 (0,59-2,15)	0,545	1,67 (0,7-2,77)	0,162	0,8 (0,5-1,8)	0,882	<b>3,4</b> <b>(1,0-8,2)</b>	<b>0,003</b>
CCND1	1 (0,60-2,1)	0,97 (0,54-1,56)	0,406	1,40 (1,1-1,60)	0,329	0,8 (0,4-1,4)	0,081	<b>0,6</b> <b>(0,4-1,0)</b>	<b>0,011</b>
<b>Репликация и репарация ДНК</b>									
EXO1	1 (0,41-2,1)	0,97 (0,50-1,54)	0,809	<b>2,21</b> <b>(1,0-4,23)</b>	<b>0,011</b>	<b>2,3</b> <b>(0,8-4,2)</b>	<b>0,017</b>	<b>3,6</b> <b>(0,8-11,5)</b>	<b>0,002</b>
TOP2A	1 (0,36-2,5)	1,30 (0,48-2,72)	0,514	<b>2,89</b> <b>(0,9-6,61)</b>	<b>0,017</b>	<b>2,9</b> <b>(0,8-6,1)</b>	<b>0,037</b>	<b>6,4</b> <b>(1,0-14,7)</b>	<b>0,003</b>

мРНК	NILM/ВПЧ- (n= 51)		NILM/ВПЧ ВР (n=66)		ASCUS/ВПЧ ВР (n=28)		LSIL/ВПЧ ВР (n=35)		HSIL/ВПЧ ВР (n=31)	
	Me (L-M)	Me (L-M)	р-уровень*	Me (L-M)	р-уровень*	Me (L-M)	р-уровень*	Me (L-M)	р-уровень*	
Утилизация белков										
UBE2T	1 (0,50-1,9)	0,94 (0,41-1,81)	0,656	1,65 (0,9-2,89)	0,077	<b>1,8</b> <b>(0,6-2,9)</b>	<b>0,021</b>	<b>2,5</b> <b>(0,8-4,0)</b>	<b>0,04</b>	
Организация цитоскелета, миграция, инвазия										
ANLN	1 (0,53-2,3)	1,22 (0,66-2,18)	0,427	<b>2,69</b> <b>(1,0-4,75)</b>	<b>0,003</b>	<b>2,8</b> <b>(1,1-5,5)</b>	<b>0,002</b>	<b>3,9</b> <b>(1,0-9,8)</b>	<b>0,001</b>	
Синтез микроРНК										
DROSHA	1 (0,48-2,5)	1,28 (0,46-1,83)	0,899	1,31 (1,0-2,05)	0,410	1,0 (0,5-1,5)	0,677	1,4 (0,7-2,2)	0,580	
Адгезия и передача сигналов с клеточной поверхности										
ITGAV	1 (0,50-2,0)	1,05 (0,46-1,48)	0,469	1,24 (0,8-1,74)	0,481	1,1 (0,5-1,7)	0,597	1,3 (0,7-2,3)	0,361	
Апоптоз										
BAG1	1 (0,69-1,9)	<b>0,70</b> <b>(0,55-1,20)</b>	<b>0,008</b>	<b>0,66</b> <b>(0,5-0,90)</b>	<b>0,003</b>	<b>0,5</b> <b>(0,3-0,7)</b>	<b>4,8x10<sup>-6</sup></b>	<b>0,5</b> <b>(0,4-1,3)</b>	<b>6x10<sup>-3</sup></b>	
BCL2	1 (0,60-1,5)	0,86 (0,72-1,43)	0,620	0,9 (0,5-1,2)	0,239	0,8 (0,5-1,1)	0,128	<b>0,75</b> <b>(0,6-0,99)</b>	<b>0,05</b>	
Рецепторы гормонов, эпидермального ростового фактора										
ESR1	1 (0,46-1,5)	<b>0,59</b> <b>(0,29-1,11)</b>	<b>0,021</b>	<b>0,42</b> <b>(0,2-1,03)</b>	<b>0,025</b>	<b>0,2</b> <b>(0,1-0,6)</b>	<b>1,6x10<sup>-4</sup></b>	<b>0,2</b> <b>(0,1-0,5)</b>	<b>9,7x10<sup>-5</sup></b>	
PGR	1 (0,11-2,6)	0,51 (0,08-1,41)	0,152	0,70 (0,1-2,16)	0,578	0,2 (0,0-1,2)	0,061	<b>0,1</b> <b>(0,0-0,1)</b>	<b>0,005</b>	
EGFR	1 (0,64-1,9)	1,13 (0,73-1,79)	0,463	<b>1,65</b> <b>(1,2-2,73)</b>	<b>0,017</b>	<b>1,62</b> <b>(0,9-2,9)</b>	<b>0,016</b>	<b>1,7</b> <b>(1,1-2,6)</b>	<b>0,013</b>	
Супрессор опухолей в эпителиальных клетках										
SERPINB5	1 (0,41-2,2)	1,30 (0,49-3,58)	0,134	<b>3,37</b> <b>(1,2-9,87)</b>	<b>0,001</b>	<b>3,02</b> <b>(0,8-7,7)</b>	<b>0,016</b>	<b>6,8</b> <b>(4,1-19,4)</b>	<b>2x10<sup>-5</sup></b>	

мРНК	NILM/ВПЧ- (n= 51)	NILM/ВПЧ ВР (n=66)		ASCUS/ВПЧ ВР (n=28)		LSIL/ВПЧ ВР (n=35)		HSIL/ВПЧ ВР (n=31)	
	Me (L-M)	Me (L-M)	р-уровень*	Me (L-M)	р-уровень*	Me (L-M)	р-уровень*	Me (L-M)	р-уровень*
<b>Иммунитет</b>									
IFNAR1	1 (0,65-1,3)	1,02 (0,48-1,37)	0,626	0,90 (0,5-1,14)	0,404	0,8 (0,5-1,2)	0,106	1,0 (0,8-1,5)	0,810
IL1RN	1 (0,17-3,0)	0,66 (0,25-2,00)	0,534	0,34 (0,1-0,68)	0,101	0,7 (0,3-1,1)	0,166	0,6 (0,2-2,3)	0,618
OSM	1 (0,33-3,7)	1,60 (0,45-3,93)	0,508	2,32 (0,5-3,61)	0,503	2,1 (0,7-8,2)	0,116	1,8 (0,8-6,6)	0,279
OSMR	1 (0,60-1,7)	1,12 (0,69-1,95)	0,294	1,38 (1,0-1,80)	0,105	1,0 (0,5-1,5)	0,328	1,1 (0,7-2,0)	0,801
PD-L1	1 (0,58-3,2)	1,38 (0,91-3,11)	0,173	<b>3,18</b> <b>(1,2-4,32)</b>	<b>0,028</b>	<b>2,4</b> <b>(1,2-5,5)</b>	<b>0,012</b>	<b>2,4</b> <b>(1,3-6,7)</b>	<b>0,016</b>
CD166	1 (0,22-1,7)	0,92 (0,35-1,43)	0,698	1,16 (0,9-1,67)	0,263	1,0 (0,7-1,7)	0,419	0,8 (0,5-1,9)	0,564

\*Критерий Манна-Уитни для несвязанных совокупностей

По результатам исследования в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) выявлено статистически значимое снижения уровней экспрессии мРНК генов *ESR1* в 1,7 раз ( $p=0,02$ ) и *BAG1* в 1,4 раза ( $p=0,008$ ) по сравнению с группой контроля (NILM/ВПЧ-) – 5 группа (Таблица 19; Рисунок 24)

Во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) отмечается статистически значимое повышение уровней мРНК генов *MYBL2* в 1,9 раз ( $p=0,017$ ), *EXO1* в 2,2 раз ( $p=0,011$ ), *CCNB1* в 1,9 раз ( $p=0,013$ ), *ANLN* в 2,7 раз ( $p=0,003$ ), *SERPINB5* в 3,4 раз ( $p=0,001$ ), *TOP2A* в 2,9 раз ( $p=0,017$ ), *PD-L1* в 3,2 раз ( $p=0,028$ ), *EGFR* в 1,7 раз ( $p=0,017$ ) и снижение уровней *ESR1* в 2,3 раз ( $p=0,025$ ), *BAG1* в 1,5 раз ( $p=0,003$ ) по сравнению с контрольной группой (Таблица 19; Рисунок 22-24).

В 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) выявлено статистически значимое повышение уровня маркеров *MKI67* в 1,8 раз ( $p= 0,04$ ), *CDKN2A* в 2,1 раз ( $p=0,018$ ), *MYBL2* в 1,9 раз ( $p= 0,024$ ), *CCNB1* в 2,1 раз ( $p=0,019$ ), *CDK1* в 3,34 раз ( $p=0,003$ ), *EXO1* в 2,3 ( $p=0,017$ ), *TOP2A* в 2,9 раз ( $p=0,037$ ), *UBE2T* в 1,8 ( $p=0,021$ ), *ANLN* в 2,8 раз ( $p=0,002$ ), *PD-L1* в 2,4 ( $p=0,012$ ), *SERPINB5* в 3 раза ( $p=0,016$ ), *EGFR* в 1,6 ( $p=0,016$ ) и снижение *ESR1* в 5 раз ( $p=0,00016$ ), *BAG1* в 2 раза ( $p=4,8 \times 10^{-6}$ ) (Таблица 19; Рисунок 22-24).

У пациенток 4 группы (HSIL/ВПЧ ВР) выявлено статистически значимое повышение уровня экспрессии мРНК генов, отвечающих за пролиферативные процессы: *MKI67* в 1,9 раз ( $p=0,042$ ), *CDKN2A* в 3,2 раза ( $p=2,8 \times 10^{-5}$ ), *MYBL2* в 5,1 раз ( $p=1,9 \times 10^{-4}$ ), *CCNB1* в 2,9 раз ( $p=0,025$ ), *CDK1* в 5,2 ( $p=5 \times 10^{-4}$ ), *KIF14* в 3,4 ( $p=0,003$ ), репликацию и репарацию ДНК *EXO1* в 3,6 ( $p=0,002$ ), *TOP2A* в 6,4 раз ( $p=0,003$ ), супрессию опухолевого процесса *SERPINB5* в 6,8 раз ( $p=1,8 \times 10^{-5}$ ), убиквитинирование белков *UBE2T* в 2,5 ( $p=0,04$ ), ростовой фактор *EGFR* в 1,7 раз ( $p=0,013$ ), иммунорегуляцию *PD-L1* в 2,4 ( $p=0,016$ ), миграцию клеток, инвазию, организацию цитоскелета *ANLN* в 3,9 раз ( $p=0,001$ ), проонкогена *MYC* в 2,1 ( $p=0,012$ ) и снижением маркеров

апоптоза *BAG1* в 2 раза ( $p=0,006$ ), *BCL2* в 1,3 раза ( $p=0,049$ ), *CCND1* в 1,7 раза ( $p=0,011$ ), рецепторов *PGR* в 10 раз ( $p=0,005$ ) и *ESR1* в 5 раз ( $p=9,7 \times 10^{-5}$ ) (Таблица 19; Рисунок 22-24).

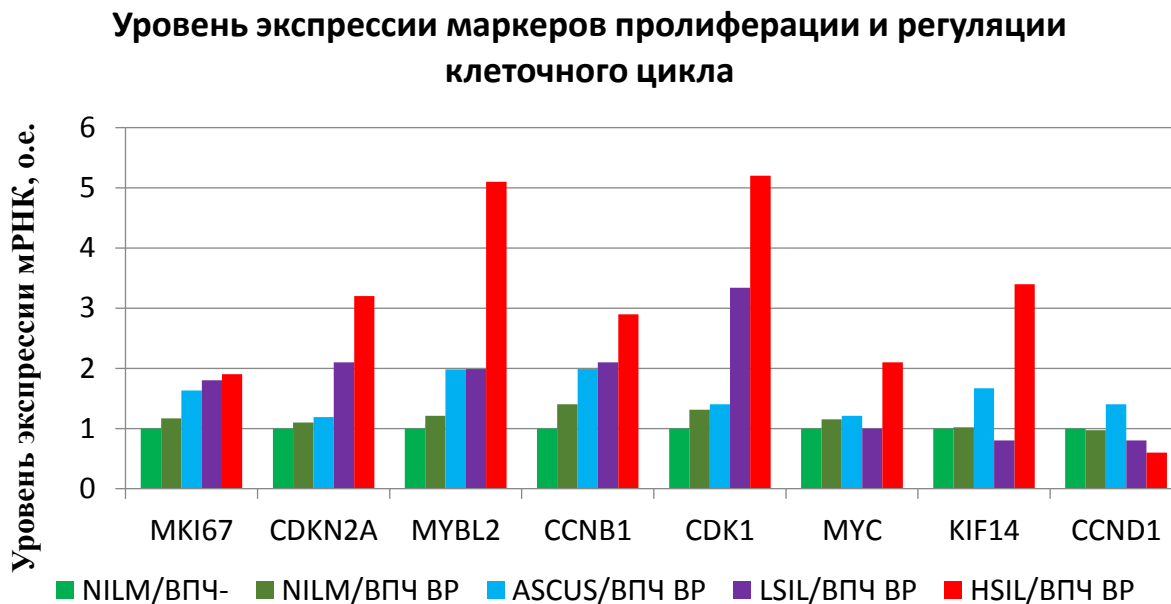


Рисунок 22. Уровень экспрессии маркеров пролиферации и регуляции клеточного цикла

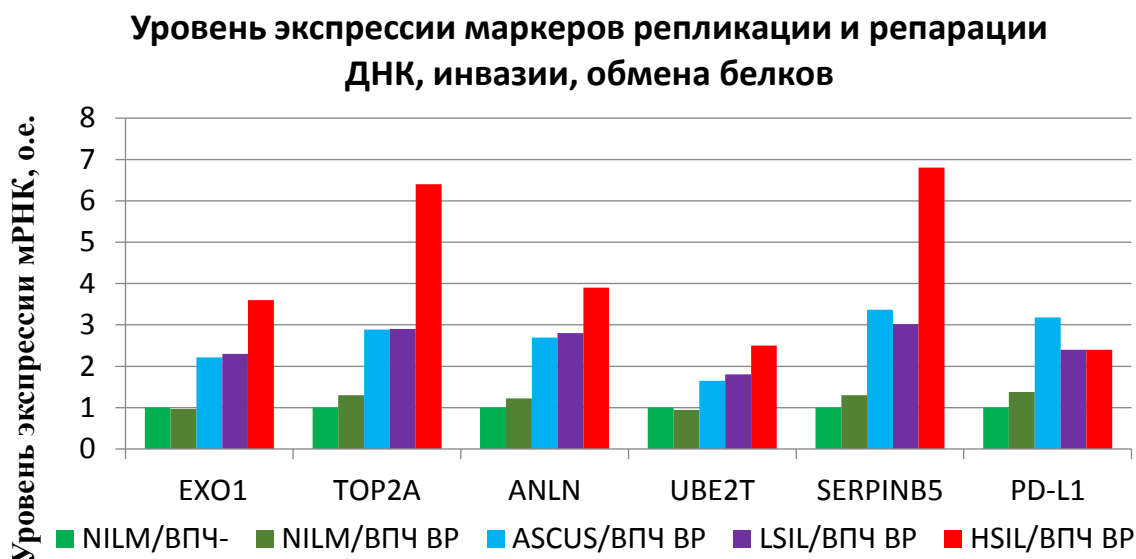


Рисунок 23. Уровень экспрессии маркеров репликации и репарации ДНК, инвазии, обмена белков

### Уровень экспрессии рецепторов и маркеров апоптоза

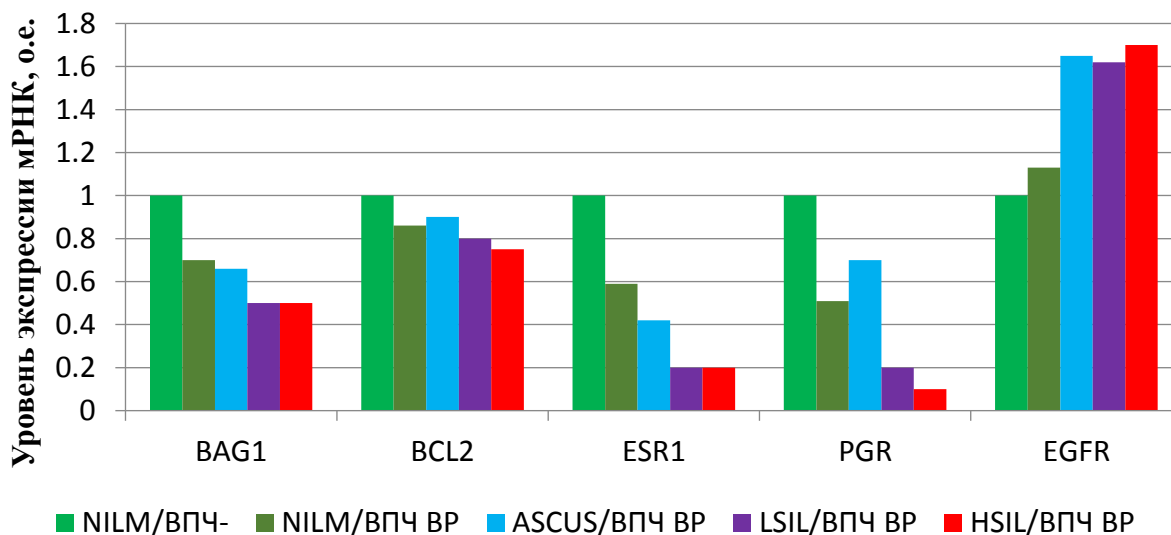


Рисунок 24. Уровень экспрессии рецепторов и маркеров апоптоза

Таким образом, по мере нарастания степени тяжести дисплазии нарастал уровень экспрессии маркеров пролиферации *MKI67*, *CDKN2A*, *MYBL2*, *CCNB1*, *CDK1*, *KIF14*, репликации и репарации ДНК *EXO1*, *TOP2A*, маркеров, отвечающих за супрессию опухолевого процесса *SERPINB5*, убиквитинирование белков *UBE2T*, ростовой фактор *EGFR*, иммунорегуляцию клетки *PD-L1*, миграцию, инвазию, организацию цитоскелета клетки *ANLN*, проонкогена *MYC*, отмечено снижение уровня маркеров апоптоза, рецепторов гормонов – *BAG1*, *BCL2*, *PGR*, *ESR1* и циклина D.

**Сравнительная оценка уровня экспрессии мРНК генов человека в соскобах цервикального эпителия у пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки в зависимости от прогрессии или регрессии заболевания**

На следующем этапе нашего исследования были выявлены маркеры, позволяющие изначально определить группу пациенток с высоким риском прогрессирования заболевания. В ходе проспективного исследования проведен анализ уровней мРНК у пациенток с дальнейшей персистенцией ВПЧ ВР и прогрессией заболевания до CIN, и пациенток с последующей элиминацией вирусной инфекции и нормализацией плоскоклеточных структур. Исследуемые пациентки с «малыми» формами поражения были разделены на подгруппы в зависимости от течения ПВИ: а-1 (n=30) – подгруппа, на момент включения в исследование с дальнейшей персистенцией ВПЧ и прогрессией заболевания, а-2 (n=30) – конечная точка прогресса заболевания с формированием CIN (через 12-24 мес.), b-1 (n=46) – подгруппа, на момент включения, с дальнейшим регрессом заболевания, b-2 (n=46) – конечная точка регресса заболевания с элиминацией ВПЧ. В свою очередь пациентки а-1 и b-1 подгрупп были разделены в зависимости от результатов цитологического заключения. Так, подгруппа а-1 с дальнейшим прогрессом заболевания в зависимости от результатов цитологического заключения, была представлена: 1а-1 (NILM/ВПЧ) (n=18), 2/3а-1 (ASCUS/LSIL/ВПЧ) (n=12) подгруппами; а-2 (n=30) на момент прогрессии заболевания: 1а-2 (NILM/ВПЧ) (n=18); 2/3а-2 (ASCUS/LSIL/ВПЧ) (n=12) подгруппами.

Подгруппа с дальнейшим регрессом заболевания b-1 (n=46), также была разделена в зависимости от результатов цитологического исследования на подгруппы: 1b-1 (NILM/ВПЧ) (n=31); 2/3b-1 (ASCUS/LSIL/ВПЧ) (n=15). Подгруппа Ib на момент регресса заболевания: 1b-2 (NILM/ВПЧ) (n=31), 2/3b-2 (ASCUS/LSIL/ВПЧ) (n=15) (Рисунок 25).

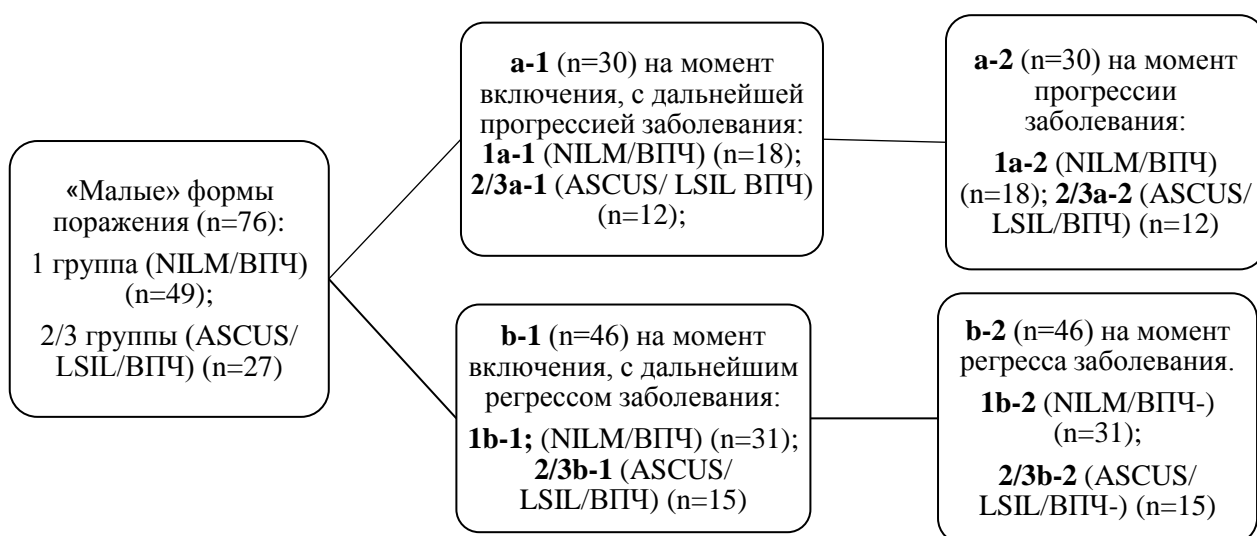


Рисунок 25. Распределение пациентов с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки на подгруппы в зависимости от прогресса или регресса заболевания

В результате анализа экспрессии в 1 группе (NILM/ВПЧ, n=49) на момент включения в исследование установлены статистически значимые различия в уровне экспрессии мРНК генов *ESR1* и *BAG1* в подгруппах с прогрессией и регрессией заболевания. У пациенток с прогрессией заболевания (подгруппа 1a-1, n=18) уровень экспрессии мРНК генов *ESR1* и *BAG1* был ниже, соответственно, в 1,5 ( $p=0,04$ ) и в 1,4 ( $p=0,02$ ) раза по сравнению с пациентками с регрессией (подгруппа 1b-1, n=31).

В ходе динамического исследования в подгруппе с регрессом заболевания (подгруппа 1b-2, NILM/ВПЧ, n=31) наблюдалась нормализация клеточных процессов со снижением экспрессии мРНК гена *CDKN2A* в 1,8 раза ( $p=0,033$ ) и повышением мРНК гена *ITGAV* в 1,7 раза ( $p=0,013$ ) по сравнению с начальным уровнем экспрессии на момент включения в исследование (подгруппа 1b-1 NILM/ВПЧ, n=31).

В результате анализа экспрессии в объединенных 2 и 3 группах (ASCUS/LSIL/ВПЧ, n=27) на момент включения в исследование установлены



статистически значимые различия в уровне экспрессии мРНК генов *ESR1*, *PGR* и *PDL1* в подгруппах с прогрессией и регрессией заболевания. У пациенток с прогрессией заболевания (подгруппа 2a/3a-1, n=12) уровень экспрессии мРНК генов *ESR1* и *PGR* был ниже соответственно в 3,6 (p=0,021) и в 14,9 (p=0,005), а гена *PDL1* выше в 2,7 раза (p=0,018) по сравнению с пациентками с регрессией (подгруппа 2b/3b-1, n=15).

В ходе динамического исследования через 12-24 месяца в подгруппе с регрессом заболевания (подгруппа 2b/3b-2, ASCUS/LSIL/ВПЧ, n=15) наблюдалась нормализация клеточных процессов со снижением экспрессии мРНК генов *MKI67* в 2,4 раза (p=0,034), *MYBL2* в 1,7 (p=0,012), *CDK1* в 3,4 (p=0,007), *CCNB1* в 2,2 раз (p=0,012), *EXO1* в 1,6 раз (p=0,0002), *UBE2T* в 2,1 раз (p=0,028), *ANLN* в 2,6 раза (p=0,015) по сравнению с начальным уровнем экспрессии на момент включения в исследование (подгруппа 2b/3b-1 ASCUS/LSIL/ВПЧ, n=15).

У пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки с дальнейшим прогрессом заболевания изначально в точке a-1 выявлено статистически значимое снижение экспрессии рецепторов гормонов *ESR1* в 2 раза (p=0,002) и *PGR* в 3,1 раза (p=0,032), а также маркера апоптоза *BAG1* в 1,3 раза, (p=0,046) и повышение уровня экспрессии мРНК *PD-L1* 2,6 раза (p=0,002) по сравнению с подгруппой с регрессом заболевания в точке b-1 (Рисунок 26).

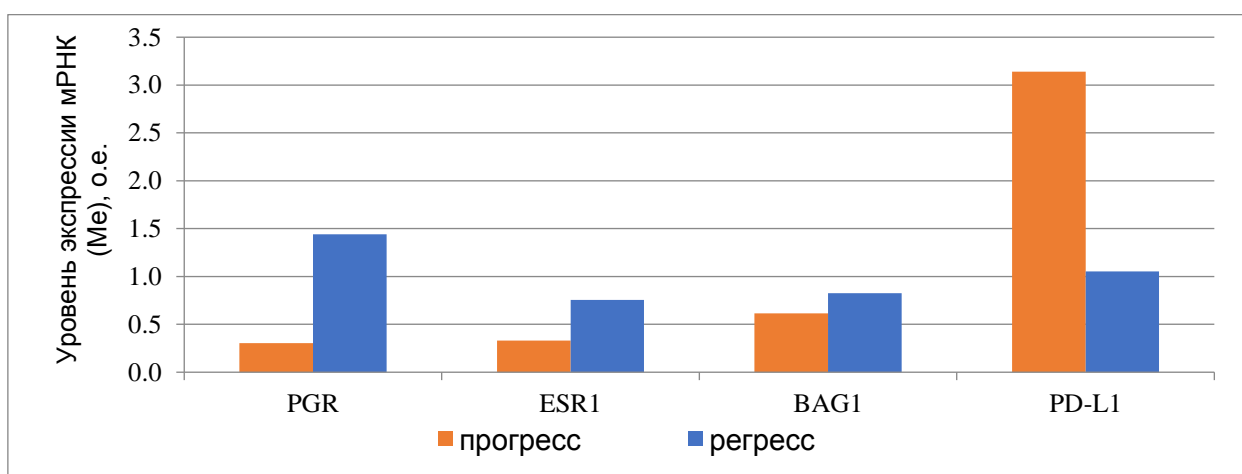


Рисунок 26. Исходный уровень экспрессии мРНК у пациенток с дальнейшим прогрессирующим заболеванием

При анализе результатов уровня экспрессии мРНК в b-1 подгруппе в момент включения в исследование и в точке самоэлиминации вируса и нормализации плоскоклеточных процессов (b-2) установлено, что во b-2 подгруппе (в точке регресса заболевания) наблюдалось статистически значимое снижение маркеров, отвечающих за процессы пролиферации и регуляции клеточного цикла *MKI67* в 1,8 раз ( $p=0,05$ ), *CDKN2A* в 1,7 раз ( $p=0,01$ ), *MYBL2* в 1,3 раза ( $p=0,035$ ), убиквитинирование белков *UBE2T* в 1,4 раза ( $p=0,013$ ), формирование цитоскелета клетки *ANLN* в 1,9 раз ( $p=0,028$ ), что связано с элиминацией ВПЧ и нормализацией клеточного цикла (Рисунок 27).

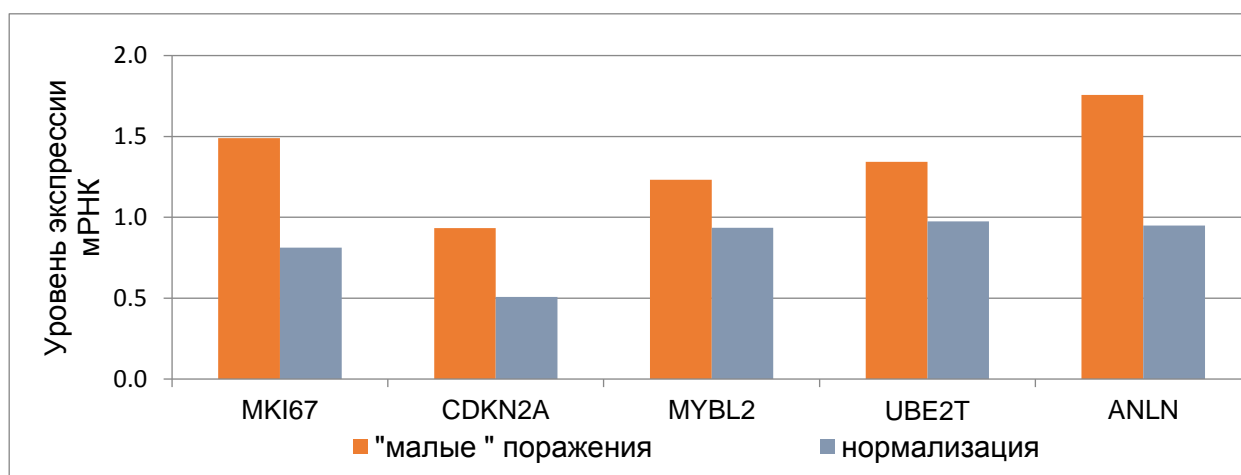


Рисунок 27. Уровень экспрессии мРНК у пациенток с «малыми» формами поражения в момент включения и нормализации процессов в плоском эпителии

### Заключение

У пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки в группе с последующим прогрессом заболевания наблюдалось статистически значимое снижение уровня экспрессии мРНК рецепторов гормонов – *ESR1*, *PGR* и маркера апоптоза – *BAG1*, повышение уровня мРНК маркера иммунитета *PD-L1*, что может служить первоначальным этапом формирования неопластической трансформации. Снижение чувствительности

к рецепторам эстрогена и прогестерона приводит к изменениям в регуляции клеточного цикла с повышенной экспрессией маркеров пролиферации. В случае регресса заболевания наблюдалась нормализация клеточного цикла с последующим снижением уровня маркеров пролиферации *MKI67*, *CDKN2A*, *MYBL2*, отмечено убиквитинирование белков *UBE2T*, формирование цитоскелета клетки *ANLN*.

У пациенток с персистенцией ВПЧ и прогрессированием заболевания до CIN+ отмечено стойкое повышение уровня маркеров, отвечающих за процессы клеточной пролиферации, в отличие от пациенток с последующей элиминацией вируса, где наблюдается нормализация уровней маркеров регуляции клеточного цикла.

В этой связи снижение уровней мРНК *ESR1*, *PGR*, *BAG1* и стойкое повышение маркеров пролиферации клеточного цикла может использоваться для выявления групп риска по прогрессированию патологического процесса.

### **Модель расчета индекса риска прогрессии на основе оценки транскрипционного профиля генов и наличия ВПЧ ВР**

Выявление группы риска по прогрессированию патологического процесса с формированием дисплазии тяжелой степени HSIL (CINII-III) и РШМ среди пациенток с «малыми» формами поражения, а также пациенток с «тяжелыми» поражениями, не диагностируемыми стандартными методами исследований, стало неотъемлемой частью нашего исследования. С этой целью предложен алгоритм расчета индекса риска прогрессии (ИРП) с помощью метода логистической регрессии. Модель расчета ИРП ВПЧ-ассоциированных заболеваний учитывает уровни экспрессии мРНК 11 генов *MKI67*, *CDKN2A*, *CCNB1*, *MYBL2*, *EXO1*, *ANLN*, *UBE2T*, *PGR*, *ESR1*, *BAG1*, *BCL2* и наличие ВПЧ ВР.

## Алгоритм расчёта:

ИРП рассчитывается по формуле 1:

$$\text{ИРП} = \frac{1}{1+e^{-z}} * 100\% \text{ (формула 1),}$$

где  $e = 2,71828$  – значение натурального логарифма;

$z$  – значение граничной функции рассчитывается по формуле 2:

$$Z = 0,47 * \ln \frac{\text{PGR}}{\text{MKI67}} + 0,84 * \ln \frac{\text{CDKN2A}}{\text{BCL2}} + 2,17 * \ln \frac{\text{MYBL2}}{\text{BAG1}} - 2,91 * \ln \frac{\text{CCNB1}}{\text{BAG1}} + 0,59 * \ln \frac{\text{UBE2T}}{\text{BAG1}} - 0,22 * \ln \frac{\text{ANLN}}{\text{ESR1}} + 1,86 * \ln \frac{\text{EXO1}}{\text{ESR1}} + 2,44 * k - \text{ВПЧ ВР} + 6,13 \text{ (формула 2), где}$$

$k$  – коэффициент наличия ВПЧ ВР:

$k = 1$  при ВПЧ ВР  $> 3lg$  и  $k = -1$  при ВПЧ ВР  $\leq 3lg$

$\frac{\text{PGR}}{\text{MKI67}}$ ;  $\frac{\text{CDKN2A}}{\text{BCL2}}$ ;  $\frac{\text{MYBL2}}{\text{BAG1}}$ ;  $\frac{\text{CCNB1}}{\text{BAG1}}$ ;  $\frac{\text{UBE2T}}{\text{BAG1}}$ ;  $\frac{\text{ANLN}}{\text{ESR1}}$ ;  $\frac{\text{EXO1}}{\text{ESR1}}$  – соотношение уровней

представленности транскриптов соответствующих генов на основе метода сравнения индикаторных циклов ( $\Delta Ct$ ) по формуле 3:

$$\frac{\text{GENE1}}{\text{GENE2}} = 2^{Ct^{\text{Gene2}} - Ct^{\text{Gene1}}} \text{ (формула 3)}$$

Если значение ИРП менее или равно 50 баллам ( $\text{ИРП} \leq 50$ ), то риск прогрессирования заболевания и развития РШМ считается низким; если значение более 50 баллов ( $\text{ИРП} > 50$ ), то риск прогрессирования патологического процесса, ассоциированного с ВПЧ-инфекцией и развития РШМ, высок.

На рисунке (Рисунок 28) представлены ROC-кривые, дискриминирующие образцы 5 группы (NILM/ВПЧ-) и 4 группы (HSIL/ВПЧ ВР), в таблице представлена характеристика отдельных переменных и значений граничной функции (площадь под ROC-кривыми, доверительные интервалы, уровень достоверности). Отдельные переменные уравнения граничной функции имеют хорошие характеристики ROC-кривой и могут быть использованы в качестве независимых прогностических маркеров. Однако использование интегрированного критерия (ИРП) повышает точность

диагностики «тяжелых» поражений эпителия шейки матки. Площадь под ROC-кривой для ИРП составила  $0,993 \pm 0,006$  ( $p=1,7 \times 10^{-18}$ ) (Таблица 20).

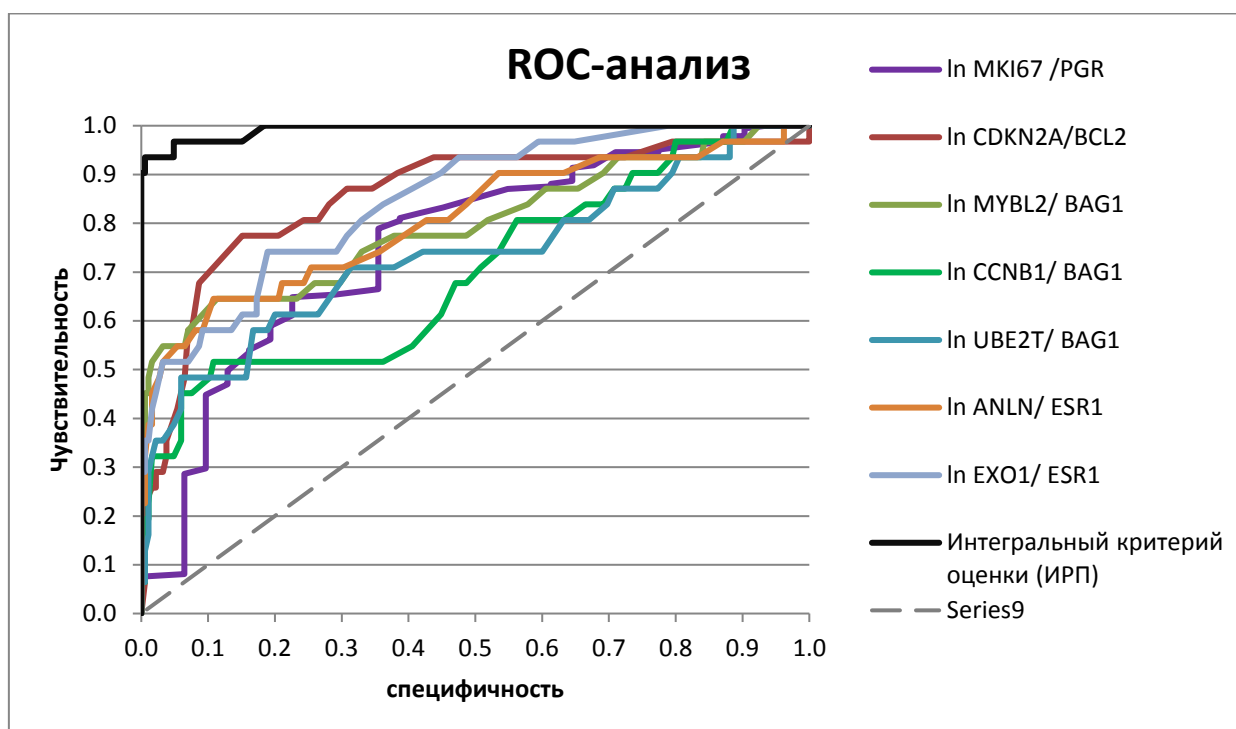


Рисунок 28. ROC-анализ

Таблица 20

### Характеристики ROC-кривых

Тестовые переменные	Площадь	Стандартная ошибка <sup>a</sup>	Асимптотическое значение <sup>b</sup>	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
ln MKI67 /PGR	0,755	0,048	$5,4 \times 10^{-6}$	0,661	0,850
ln CDKN2A/BCL2	0,856	0,042	$2,4 \times 10^{-10}$	0,773	0,938
ln MYBL2/ BAG1	0,796	0,052	$1,4 \times 10^{-7}$	0,693	0,898
ln CCNB1/ BAG1	0,700	0,056	$3,8 \times 10^{-4}$	0,590	0,809

ln UBE2T/ BAG1	0,735	0,057	$2,9 \times 10^{-5}$	0,624	0,846
ln ANLN/ ESR1	0,807	0,050	$4,4 \times 10^{-8}$	0,710	0,905
ln EXO1/ ESR1	0,849	0,037	$5,0 \times 10^{-10}$	0,776	0,922
Интегральный критерий оценки (ИРП)	0,993	0,006	$1,7 \times 10^{-18}$	0,981	1,000

Результаты определения ИРП в образцах пациенток исследованных групп представлены в таблице (Таблица 21). Количество образцов контрольной 5 группы (NILM/ВПЧ-) было увеличено за счет образцов пациенток с самопроизвольной элиминацией вируса или элиминацией вируса после проведенной терапии и нормальным цитологическим типом мазка при повторных визитах пациенток, находящихся под динамическим наблюдением. Результаты ВПЧ ВР и оценки ИРП представлены в таблице (Таблица 21).

Таблица 21

## Оценка ИРП исследуемых групп

Группа	ИРП<50 баллов Низкий риск		ИРП>50 баллов Высокий риск	
	Доля	%, (95% ДИ)	Доля	%, (95% ДИ)
NILM/ВПЧ- (n=185)	185/185	100 (98,4-100)	-	-
NILM/ВПЧ ВР (n=66)	42/66		14/66	21,2 (11,3-31,1)
ASCUS/ВПЧ ВР (n=28)	20/28		8/28	28,6 (11,8-45,3)
LSIL/ВПЧ ВР (n=35)	19/35		16/35	45,7 (29,2-62,2)
HSIL/ВПЧ ВР (n=31)	6/31		26/31	83,9 (70,9-96,8)

Во всех образцах с нормальным типом мазка при отсутствии ВПЧ ВР определен низкий риск развития РШМ. Диагностическая (клиническая)

специфичность определения Индекса риска прогрессии составила 100% (95% ДИ: 98,4-100%).

ИРП более 50 баллов определен в 26 из 31 образца с HSIL. Диагностическая (клиническая) чувствительность определения Индекса риска прогрессии при HSIL составила 83,9% (95% ДИ: 70,9-96,8%) (Таблица 20).

В группу высокого риска прогрессии ВПЧ-инфекции и развития РШМ попала каждая 8 женщина (12,1%) из 1 группы (NILM/ВПЧ ВР).

В группу высокого риска прогрессии ВПЧ-инфекции и развития РШМ попала каждая 4 женщина (25%) из 2 группы (ASCUS/ВПЧ ВР).

В группу высокого риска прогрессии ВПЧ-инфекции и развития РШМ попала каждая 2 женщина (48,5%) из 3 группы (LSIL/ВПЧ ВР).

Для уточнения клинической значимости дискриминации женщин с «малыми» формами поражения шейки матки в группу высокого риска прогрессии ВПЧ-инфекции и развития РШМ 90 женщин с ВПЧ ВР и нормальным типом мазка, ASCUS и LSIL ( $\leq$ CIN1) находились под наблюдением в течение двух лет без терапии с мониторингом каждые 6 месяцев (Таблица 22).

Таблица 22

Число пациенток с «малыми» формами, находящихся под динамическим наблюдением

Группа	Число образцов	
	ИРП>50, РИСК+	ИРП≤50, РИСК-
NILM/ВПЧ ВР	14	40
ASCUS/ВПЧ ВР	8	18
LSIL/ВПЧ ВР	4	6

Таблица 23

## Исходы динамики в группе ВПЧ-инфекция с NILM

Исход	Число образцов	
	ИРП>50, РИСК (+)	ИРП≤50, РИСК (-)
Элиминация ВПЧ ВР через 6 месяцев	1	21
Элиминация ВПЧ ВР через 12 месяцев	1	7
Элиминация ВПЧ ВР через 18- 24 месяца	0	3
Персистенция ВПЧ ВР более 24 месяцев без изменения типа мазка*	4	3
Персистенция ВПЧ ВР с* прогрессией типа мазка	LSIL	5
	HSIL	1
<b>ВСЕГО</b>	<b>14</b>	<b>40</b>

\*состояния рассматриваются как прогрессирующие формы ВПЧ-инфекции

Исходы динамики в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) в зависимости от рисков представлены в таблице. Среди образцов низкого риска в 9 из 40 случаев (22,5%) имели место прогрессирующие формы ВПЧ-инфекции с персистенцией вируса более 24 месяцев, в 5 из которых наблюдалось изменение типа мазка на LSIL и в 1 на HSIL, в 31 случае произошла элиминация вируса в течение 24 месяцев. Среди образцов, попавших в группу риска, в 12 из 14 случаев (85,7%, ОШ=21 ((95% ДИ: 4-110),  $p=3 \times 10^{-5}$ ) имели место прогрессирующие формы ВПЧ-инфекции с персистенцией вируса более 24 месяцев, в 7 из которых наблюдалось изменение типа мазка на LSIL и в 1 на HSIL, только в 2 случаях произошла элиминация вируса через 6 и 12 месяцев (Таблица 23)



## Исходы динамики во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР)

Исход	Число образцов	
	ИРП>50, РИСК+	ИРП≤50, РИСК-
Элиминация ВПЧ ВР через 6 месяцев	1	8
Элиминация ВПЧ ВР через 12 месяцев	1	6
Элиминация ВПЧ ВР через 18-24 месяца	0	2
Персистенция более 24 месяцев без изменения типа мазка*	0	0
Персистенция с* прогрессией типа мазка	LSIL	1
	HSIL	1
<b>ВСЕГО</b>	<b>8</b>	<b>18</b>

\*состояния рассматриваются как прогрессирующие формы ВПЧ-инфекции

Исходы динамики во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) в зависимости от рисков представлены в таблице. Среди образцов низкого риска в 2 из 18 случаев (11,1%) имели место прогрессирующие формы ВПЧ-инфекции с персистенцией вируса более 24 месяцев и изменением типа мазка на LSIL и HSIL, в 16 случаях произошла элиминация вируса в течение 24 месяцев. Среди образцов, попавших в группу риска, в 6 из 8 случаев (85,7%, ОШ=24 ((95% ДИ: 3-211),  $p=0,0011$ )) имели место прогрессирующие формы ВПЧ-инфекции с персистенцией вируса более 24 месяцев с сохранением мазка ASCUS или изменением на LSIL в 5 случаях и в 1 на HSIL, только в 2 случаях произошла элиминация вируса через 6 и 12 месяцев (Таблица 24).

## Исходы динамики в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР)

Исход	Число образцов	
	ИРП>50, РИСК+	ИРП≤50, РИСК-
Элиминация ВПЧ ВР через 6 месяцев	1	6
Элиминация ВПЧ ВР через 12 месяцев	0	0
Элиминация ВПЧ ВР через 18-24 месяца	0	0
Персистенция ВПЧ ВР более 24 месяцев без изменения типа мазка*	3	0
Персистенция ВПЧ ВР с* прогрессией типа мазка	LSIL	0
	HSIL	0
<b>ВСЕГО</b>	4	6

\*состояния рассматриваются как прогрессирующие формы ВПЧ-инфекции

Исходы динамики в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) в зависимости от рисков представлены в таблице. Среди образцов низкого риска во всех 6 случаях произошла элиминация вируса в течение 6 месяцев. Среди образцов, попавших в группу риска, в 3 из 4 случаев (75%) имели место прогрессирующие формы ВПЧ-инфекции с персистенцией вируса более 24 месяцев без изменения типа мазка: сохранился LSIL (Таблица 25).

Исходы динамики в группе ВПЧ-инфекция с  $\leq$ CIN 1

Исход	Число образцов		ОШ (95% ДИ)	р-уровень значимости различий	
	ИРП>50 , РИСК+	ИРП $\leq$ 50, РИСК-			
Элиминация ВПЧ ВР через 6 месяцев	3	35	0,11 (0,03-0,4)	0,00017	
Элиминация ВПЧ ВР через 12 месяцев	2	13	ns	0,15	
Элиминация ВПЧ ВР через 18-24 месяца	0	5	ns	0,47	
<b>Элиминация вируса ВСЕГО</b>	<b>5</b>	<b>53</b>	0,05 (0,0015-0,16)	$1,1 \times 10^{-8}$	
Персистенция более 24 месяцев без изменения типа мазка*	7	3	7,5 (1,8-32)	0,0023	
Персистенция с* прогрессией типа мазка	LSIL	12	6	8,3 (2,6-26)	$7,7 \times 10^{-5}$
	HSIL	2	2	ns	0,34
<b>Прогрессирующие формы инфекции ВСЕГО</b>	<b>21</b>	<b>11</b>	<b>20 (6-65)</b>	<b><math>1,1 \times 10^{-8}</math></b>	
ВСЕГО	26	64	-	-	

\*состояния рассматриваются как прогрессирующие формы ВПЧ-инфекции

Исходы динамики в группе ВПЧ-инфекция с  $\leq$ CIN 1 в зависимости от рисков с учетом объединения показателей групп могут быть представлены следующим образом (табл. 26). Среди образцов низкого риска в 11 из 64 случаях (17,2%) имели место прогрессирующие формы ВПЧ-инфекции с персистенцией вируса более 24 месяцев, в 6 из которых наблюдалось прогрессирующее изменение типа мазка на LSIL и в 2 на HSIL, в 53 случаях произошла элиминация вируса в течение 24 месяцев. Среди образцов, попавших в группу риска, в 21 из 26 случаев (80,8%, ОШ=20 ((95% ДИ: 6-65),

$p=1,1 \times 10^{-8}$ ) имели место прогрессирующие формы ВПЧ-инфекции с персистенцией вируса более 24 месяцев, в 12 из которых наблюдалось прогрессирующее изменение типа мазка на LSIL и в 2 на HSIL, только в 5 случаях произошла элиминация вируса через 6 и 12 месяцев.

В соответствии с полученными данными была рассчитана прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов (ПЦПР, ПЦОР).

Прогностическая ценность положительного результата (ПЦПР) определения индекса риска прогрессии составила 65,6% (95% ДИ: 49,2-82,1%) для «малых» форм поражения эпителия шейки матки ( $\leq$ CIN1).

Прогностическая ценность отрицательного результата (ПЦОР) определения индекса риска прогрессии составила 91,4% (95% ДИ: 84,2-98,6%) для «малых» форм поражения эпителия шейки матки ( $\leq$ CIN1).

### **Заключение**

С помощью методов многофакторного анализа была разработана модель расчета Индекса риска прогрессии (ИРП) ВПЧ-ассоциированных заболеваний, учитывающая уровни экспрессии мРНК 11 генов *MKI67*, *CDKN2A*, *CCNB1*, *MYBL2*, *EXO*, *ANLN*, *UBE2T*, *PGR*, *ESR1*, *BAG1*, *BCL2* и наличие ВПЧ ВР. Диагностическая чувствительность определения Индекса риска прогрессии при HSIL составила 83,9% (95% ДИ: 70,9-96,8%). В группе исследуемых пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки прогностическая ценность при положительном результате Индекса риска прогрессии составила 65,6% (95% ДИ: 49,2-82,1%), при отрицательном определении Индекса риска прогрессии составила 91,4% (95% ДИ: 84,2-98,6%).

### 3.7 Ведение пациенток с морфологически подтвержденной CIN+

Пациенткам с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки с ухудшением результатов цитологического исследования и/или ухудшением кольпоскопической картины при персистенции ВПЧ-инфекции (n=59) была проведена прицельная биопсия шейки матки. Результаты патоморфологических исследований соответствовали LSIL (CINI) у 53 (89,8%), HSIL (CINII-III) – 6 (11,2%). Все пациентки с морфологическим заключением LSIL (CINI) находились под динамическим наблюдением каждые 6 месяцев в течение 12 мес. Пациенткам с морфологически подтвержденным HSIL (CINII-III) было проведено лечение согласно стандартам в объеме конизации шейки матки с выскабливанием цервикального канала.

По результатам динамического наблюдения у 26 пациенток с морфологически верифицированным LSIL (CINI) в ходе динамического наблюдения определялась персистенция ВПЧ ВР, аномальные результаты цитологического исследования (ASCUS/LSIL) у 15 (28,3%) пациенток. С учетом разработанной модели расчета индекса риска прогрессии (ИРП) при ВПЧ-ассоциированных заболеваниях, учитывались уровни экспрессии мРНК 11 генов *MKI67*, *CDKN2A*, *CCNB1*, *MYBL2*, *EXO*, *ANLN*, *UBE2T*, *PGR*, *ESR1*, *BAG1*, *BCL2* и наличие ВПЧ ВР. У 21 пациентки ИРП был высоким (ИРП>50).

#### *Клинический случай 1*

Пациентка В., 27 лет. Изначально по результатам клинико-лабораторных методов исследования цитологический мазок соответствовал NILM, определялись ВПЧ 16 типа, слабовыраженные изменения при кольпоскопии в виде ацетобелого эпителия (АБЭ) с нежной мозаикой (Рисунок 28). ИРП равен 79 баллам. Пациентке была проведена прицельная биопсия шейки матки. Патоморфологический диагноз соответствовал HSIL

(CINII). Лечение согласно стандартам. Таким образом, высокие показатели ИРП свидетельствовали о наличии более «тяжелого» поражения. Полученные результаты на примере данного клинического случая демонстрируют значимость определения ИРП у пациенток с «малыми» формами поражения для раннего выявления HSIL и РШМ.

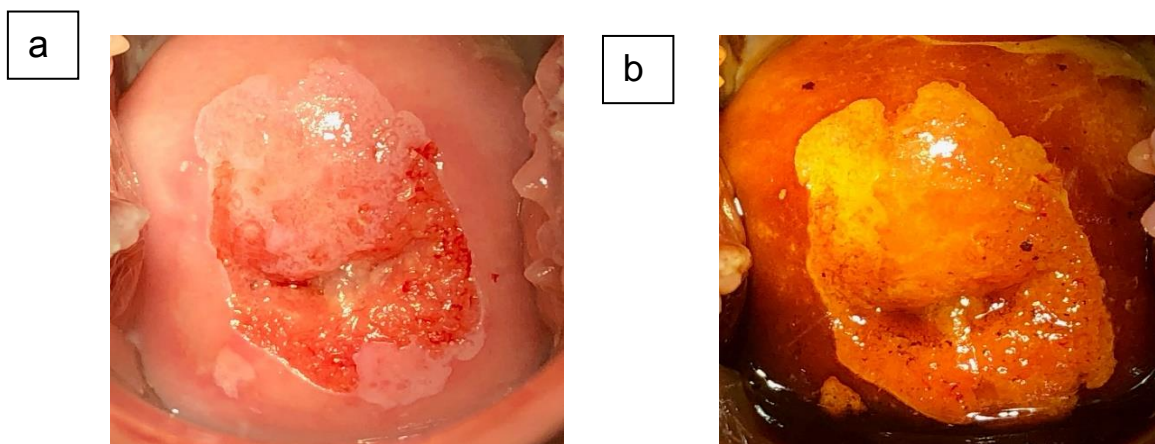


Рисунок 28. Результаты расширенной кольпоскопии (*клинический случай 1*)  
*а. проба с 3% раствором уксусной кислоты; б. проба с 1% раствором Люголя*

Следовательно, всем пациенткам с морфологически верифицированными LSIL (CINI) и персистенцией ВПЧ ВР более 18-24 мес., а также показателями ИРП более 50 баллов было проведено хирургическое лечение шейки матки: СО<sub>2</sub>-лазерная абляция 15 (28,3%) и радиоволновая эксцизия – 6 (11,3%).

#### *Клинический случай 2*

Пациентка В., 32 года. Цитологический мазок – ASCUS, ВПЧ 16 типа. Слабовыраженные изменения при кольпоскопии (Рисунок 29). ИРП равен 67 баллам.

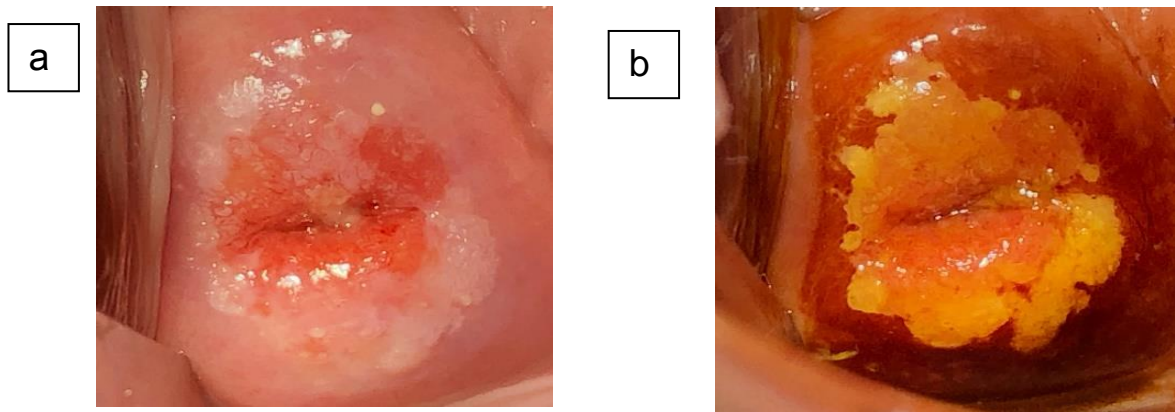


Рисунок 29. Результаты расширенной кольпоскопии (*клинический случай 2*)  
*a. проба с 3% раствором уксусной кислоты; b. проба с 1% раствором Люголя*

Через 6 и 12 мес. цитологический мазок соответствовал NILM, однако сохранялся ВПЧ 16, уровень ИРП был равен  $67 \pm 9$ . Через 18 мес. отмечалась персистенция ВПЧ 16 типа, цитологический мазок соответствовал HSIL, ИРП был равен 89 баллам. Пациентке проведена биопсия шейки матки. Патоморфологический диагноз – HSIL (CINIII).

Таким образом, наличие персистенции ВПЧ наряду с высокими показателем ИРП еще на исходной точке свидетельствовало о более «тяжелом» поражении шейки матки. Следовательно, определение ИРП у пациенток с «малыми» формами поражения в дополнение к существующим клинико-лабораторным методам позволяет своевременно выявлять группу риска по прогрессированию заболевания.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Инфицирование вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска является этиологическим фактором возникновения рака шейки матки (РШМ). Анализ встречаемости ВПЧ инфекции показал ее высокую частоту (от 28% до 59%). При этом аномальная цитология и носительство ВПЧ ВР встречалось в 15 – 39% случаев [7; 31; 44; 53].

В 97% случаев у ВПЧ-позитивных женщин при цитологическом исследовании выявляются «малые» формы поражения. Тактика ведения пациенток с «малыми» формами представляет трудности с двух позиций:

- 1) отсутствие возможности прогнозировать прогресс заболевания при использовании клинических и морфологических методов диагностики;
- 2) исходная недооценка степени тяжести поражения эпителия шейки матки.

Данные ряда исследований свидетельствуют о высокой частоте HSIL у пациенток с цитологическим заключением ASCUS/LSIL (14,2%) [90].

Современные исследования акцентируют своё внимание на значимости вирусной нагрузки, иммуноцито-, гистохимических маркеров в дифференциальной диагностике степени тяжести поражения эпителия шейки матки. Однако реакция макроорганизма изучена недостаточно и может быть определена при исследовании, например, уровня экспрессии мРНК генов человека как прогностических маркеров развития неопластической трансформации эпителия шейки матки. Таким образом, необходим поиск молекулярно-генетических маркеров для ранней и точной дифференциальной диагностики, а также прогнозирования течения заболевания при «малых» формах поражения, в частности, для оценки уровня экспрессии мРНК генов, участвующих в процессах пролиферации, репликации, репарации ДНК, иммунной регуляции, апоптозе, рецепторного аппарата и т.д.



Принимая во внимание вышеизложенное, цель данной работы заключалась в повышении эффективности диагностики и разработке дифференцированной тактики ведения пациенток с ВПЧ-ассоциированными «малыми» формами поражения эпителия шейки матки в зависимости от риска прогрессии патологического процесса на основании клинических, морфологических, молекулярно-генетических методов исследования.

По результатам исследования среди 444 пациенток с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями эпителия шейки матки, обратившихся в НПО Центра, большую часть составили женщины с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки (n=358 (80,6%)), из них с NILM – 243 (54,7%), ASCUS – 36 (8,1%), LSIL – 79 (17,8%). Пациентки с HSIL встречались в 12,8% случаев (n=54). Эти результаты сопоставимы с данными исследования Y. Tang и соавторов, в котором частота пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки составила: NILN – 43,8%, ASCUS – 22,5%, LSIL – 0,2%, а частота выявления HSIL – 12,6% [126].

Результаты метаанализов продемонстрировали высокую частоту выявления пациентов с ВПЧ-инфекцией и аномальными результатами цитологического заключения: при ASCUS от 5,9% до 12,7%, при LSIL – от 7,57% до 11,6% [31; 44; 53]. Результаты многочисленных исследований позволяют сделать выводы, что ПВИ относится к наиболее распространенным инфекциям, передающимся половым путем. Количество пациентов с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки занимает лидирующую позицию.

Сравнительный анализ уровня качества жизни (КЖ) у пациенток с «малыми» и «тяжелыми» формами выявил статистически значимое снижение психологического компонента, обусловленного чувством тревоги, боязнью развития РШМ, страхом инвазивных манипуляций, сексуальной дисфункцией. Отклонений в показателях физического функционирования, активности в повседневной деятельности в исследуемых группах статистически не

обнаружено ( $p > 0,05$ ). Пациентки как с «малыми», так и с «тяжелыми» поражениями одинаково испытывали эмоциональный дискомфорт, депрессию и тревогу. Оценка по шкале EQ VAS показала статистически значимые отличия у ВПЧ-позитивных пациенток в зависимости от наличия или отсутствия неоплазии и степени ее тяжести по сравнению с группой контроля.

В аналогичном исследовании D.K. Whynes показано, что КЖ женщин с аномальными результатами цитологии снижено за счет психологического компонента [128;129]. Такие же результаты получены при оценке КЖ у женщин с ВПЧ-ассоциированным РШМ [130; 131].

Оценка КЖ позволяет качественно оценить состояние пациенток и является полезной для оптимизации и индивидуализации ведения пациенток не только с HSIL и РШМ, но и с «малыми» формами поражения шейки матки.

В проспективное исследование были включены 211 пациенток. В зависимости от результатов цитологического исследования и наличия ВПЧ-инфекции сформировано 5 групп: 1 группа (NILM/ВПЧ ВР,  $n=66$ ), 2 группа (ASCUS/ВПЧ ВР,  $n=28$ ), 3 группа (LSIL/ВПЧ ВР,  $n=35$ ), 4 группа (HSIL/ВПЧ ВР,  $n=31$ ), 5 группа контроля (NILM/ВПЧ-,  $n=51$ ). При анализе клиничко-анамнестических данных не было выявлено статистически значимых отличий между группами по возрасту, антропометрическим данным, менструальной функции, хроническим заболеваниям. При анализе перенесенных гинекологических заболеваний были выявлены статистически значимые различия среди исследуемых групп в частоте выявления инфекций, передающихся половым путем (ИППП) в анамнезе. Хламидийная инфекция статистически чаще встречалась в группах с ВПЧ-инфекцией по сравнению с группой контроля ( $p=0,00003$ ). Эти данные сопоставимы с результатами мета-анализа, в котором частота прогрессирования заболевания до CINIII и РШМ была выше в группах женщин с хламидийной инфекцией в анамнезе [121].

По данным нашего исследования, 32,3% пациенток с ВПЧ-инфекцией имели в анамнезе генитальный герпес. Полученные результаты согласуются с

данными R.R. Finan и соавторов, в соответствии с которыми частота обнаружения ПВИ была выше у женщин с генитальный герпесом и хламидийной инфекцией в анамнезе [122].

Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о влиянии *Chlamydia trachomatis* на течение ПВИ. Так, у пациенток с хламидийной инфекцией статистически чаще наблюдалась персистенция ВПЧ ВР [119; 120]. Хламидийная инфекция негативно влияет в целом на иммунную систему макроорганизма.

При анализе особенностей половой жизни в исследуемых группах выявлена статистически значимая разница в возрасте полового дебюта у пациенток 4 (HSIL/ВПЧ ВР) и 5 (NILM/ВПЧ-) групп ( $p=0,00003$ ), а также в количестве половых партнеров у пациенток групп с ВПЧ-инфекцией и 5 группы (NILM/ВПЧ-) ( $p<0,05$ ). По результатам E. Kasamatsu и соавторов получены аналогичные данные, в соответствии с которыми у 69,3% пациенток с ВПЧ инфекцией было более 2-х половых партнеров [55].

При сравнительном анализе встречаемости типов ВПЧ выявлено, что наиболее часто встречаемыми типами ВПЧ в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) явились ВПЧ 16 (27,3%), 31 (18,2%), 52 (12,1%), 51 (12,1%), 66 (12,1%), 18 (10,6%), 58 (10,6%); во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) – ВПЧ 16 (39,3%), 56 (14,3%), ВПЧ 66, 59, 31, 58 по 10,7%, в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) – ВПЧ 16 (40%), ВПЧ 52, 58, 59, 56, 51 по 14,3%, в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) – ВПЧ 16 (61,3%), 33 (19,4%), 35 (12,9%). Сравнительный анализ встречаемости типов ВПЧ показал, что во всех исследуемых группах статистически чаще встречался ВПЧ 16 типа (38,7%). При этом у пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки лидирующие позиции также занимали «азиатские» типы ВПЧ – 52 и 58 типы (24%). Аналогичные данные представлены в исследованиях P. Guan и соавторов, в которых ВПЧ 16 типа был выявлен у женщин с NILM в 20,4%, с ASCUS – в 22,9%, LSIL – в 25,1%, HSIL – в 47,5% случаев, что сопоставимо с результатами нашего исследования [31; 91]. В

исследовании D.C. Ding и соавторов из 291 млн. ВПЧ-позитивных женщин 105 млн. (36%) были инфицированы ВПЧ 16 или 18 типов [5; 7; 20].

Согласно классификации IARC, типы ВПЧ высокого канцерогенного риска (группа 1) встречались в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) в 84,8%, во 2 группе с ASCUS – в 92,9%, 3 группе с LSIL – в 85,7%, в 4 группе с HSIL – в 100% случаев. Типы ВПЧ вероятно канцерогенного риска (группа 2A) встречались в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) в 6,1%, во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) – в 3,6%, в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) – в 14,3%, в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) – в 3,2% случаев. Типы ВПЧ возможно канцерогенного риска (группа 2B) встречались в 1 группе (NILM/ВПЧ ВР) – в 21,2%, во 2 группе (ASCUS/ВПЧ ВР) – в 21,4%, в 3 группе (LSIL/ВПЧ ВР) – в 17,1%, 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) – в 9,7% случаев. Наши данные сопоставимы с результатами Y. Tang и соавторов, где типы ВПЧ групп 1 и 2A (высоко и вероятно канцерогенные) в 80% случаев встречались среди пациенток с цитологическим заключением ASCUS и в 100% случаев с LSIL. При этом типы ВПЧ группы 2B (возможно канцерогенные) были выявлены в 5,5% случаев у пациенток с ASCUS и не определялись в группе женщин с LSIL [126]. Результаты исследования M. Arbyn и соавторов показали, что при РШМ в 96% случаев выявляются ВПЧ группы 1/2A (высоко и вероятно канцерогенного риска). В работе Kim и соавторов частота обнаружения канцерогенных типов ВПЧ группы 2A/2B у пациенток с РШМ составила 2,4% [16]. Аналогичные результаты представлены С. Annunziata и соавторами, где частота выявления ВПЧ вероятно и возможно канцерогенного риска у пациенток с «малыми» формами поражения составила от 8,3 до 14,6% [113].

Уровень вирусной нагрузки в группах с ВПЧ-инфекцией не имел статистических значимых различий, за исключением 4 группы (HSIL) по сравнению с 1 группой (NILM/ВПЧ ВР) ( $p=0,00034$ ). В ряде исследований высокие цифры вирусной нагрузки встречались у большинства пациенток с CINIII старше 30 лет, и лишь у 33% женщин с «малыми» формами поражения

эпителия шейки матки вирусная нагрузка была высокой [90]. Таким образом, высокие показатели вирусной нагрузки у пациенток с  $\leq$ CIN1 свидетельствуют об активной фазе продуктивной вирусной инфекции.

Пациентки с «малыми» формами поражения находились под динамическим наблюдением в течение 24 мес. с промежуточным обследованием каждые 6 мес. В зависимости от течения ПВИ пациентки 1 группы (NILM/ВПЧ ВР) были условно разделены на подгруппы с транзитным течением (элиминацией ВПЧ в течение 24 мес. от момента первого визита) и персистенцией ВПЧ (обнаружение одного и того же типа ВПЧ более 24 мес.). У 40,9% женщин элиминация ВПЧ произошла в первые 6 мес. исследования, у 10,6% – через 12 мес., у 9,1% – через 24 мес. Полученные данные сопоставимы с результатами международных исследований, где у 85% ВПЧ-инфицированных женщин элиминация вируса произошла в течение 8-24 мес. с момента инфицирования [116; 117]. По результатам метаанализа А.Ф. Rositch и соавторов, элиминация вируса происходит в среднем за 10,9-11,5 месяцев с момента инфицирования в зависимости от типовой принадлежности. Анализ течения ПВИ показал, что у 58,7% пациенток произошла элиминация ВПЧ в первый год наблюдения, у 9,5% – через 18 мес. и лишь у 3,2% – через 24 мес. наблюдения [8; 9; 51; 116].

При сравнительном анализе встречаемости типов ВПЧ у пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки, участвующих в формировании CIN, статистически чаще встречались типы ВПЧ высокого канцерогенного риска (группа 1) – в 79,1% случаев. Типы ВПЧ, относящиеся к вероятно, возможно канцерогенному риску (группы 2А, 2В) встречались лишь в 5,5% и 15,4% случаев соответственно у пациенток с гистологически подтвержденной CIN+. Наиболее часто встречаемыми типами ВПЧ в формировании CIN+ явились ВПЧ 16 (45,8%), 58 (13,5%), 39 (11,9%), 18 и 51 (10,2%), 68, 56, 82 по (8,5%), 35, 52, 53 по (6,8%) и 66, 45, 33, 59, 73, 31 типов менее чем по 5%. В формировании CIN+ как моноинфекции участвовали ВПЧ

16 (27%), 58 (6,8%), 39 (5%), 66 (3,3%) и менее 2% ВПЧ 53, 51, 82, 33, 59, 68, 45 типов.

W.D. Kang и соавторы считали, что формирование «тяжелых» форм поражения эпителия шейки матки напрямую зависит от типовой принадлежности вируса. Авторами были выделены ВПЧ 16, 33, 39, 52 и 58 типов, персистенция которых приводила к формированию дисплазии шейки матки [58]. По результатам исследования M. Schiffman и соавторов, определены наиболее часто встречаемые типы ВПЧ в формировании CINIII: ВПЧ 16 типа – 16%, ВПЧ 18 – 7,4%, ВПЧ 31 – 7%, ВПЧ 33/58 – 7,1%; ВПЧ 52 – 4,3%; ВПЧ 45 – 3,9%; ВПЧ 51 – 2,7%; ВПЧ 39/68/35 – 1,6%; ВПЧ 59/56/66 типов – 1,3% [81].

При оценке состояния эпителия шейки матки у пациенток с «малыми» формами поражения наблюдались слабовыраженные изменения по результатам расширенной кольпоскопии. Степень выраженности изменений коррелировала со степенью тяжести поражения шейки матки. Так, выраженные кольпоскопические изменения статистически чаще наблюдались в 4 группе (HSIL/ВПЧ ВР) и составили 74,2%. Полученные нами результаты совпадают с данными G. Vercellino и J. Slama, в соответствии с которыми степень тяжести патологического процесса коррелировала со степенью выраженности изменений, выявленных при кольпоскопии [8; 10; 11]. Анализ вариантов зоны трансформации выявил, что у пациенток 4 группы (HSIL/ВПЧ ВР) статистически чаще (80,6%) встречался вариант с невозможной визуализацией ЗТ по сравнению с другими группами: 1 (NILM/ВПЧ ВР) – 42,4% ( $p=0,003$ ), 2 (ASCUS/ВПЧ ВР) – 42,8% ( $p=0,01$ ), 3 (LSIL/ВПЧ ВР) – 37,2% ( $p=0,03$ ) и 5 (NILM/ВПЧ-) – 29,4% ( $p=0,00003$ ). Таким образом, у пациенток ЗТ, визуализируемой не полностью, существует риск не диагностировать CIN шейки матки.

Ни один из имеющихся в рутинной практике методов диагностики ВПЧ-ассоциированных поражений шейки матки не дает возможности определения

прогноза течения заболевания (регресс с элиминацией вируса или прогрессия). Для решения этих задач были исследованы транскрипционные профили генов человека, которые дают дополнительную информацию о реакции макроорганизма на вирусную инфекцию, обусловленную ВПЧ, позволяют дискриминировать «тяжелые» поражения шейки матки, а также выявить среди ВПЧ-инфицированных женщин пациенток, имеющих высокий риск прогрессии заболевания.

Патогенез папилломавирусной инфекции обусловлен гиперэкспрессией вирусных белков Е6/Е7. Белок Е6 связывается с р53, вызывая активацию теломеразы. Белок Е7 взаимодействует с белком рRb, освобождая Е2F, что ведет к неконтролируемой экспрессии циклинзависимых киназ. Накопление в клетках *p16(INK4a)* свидетельствует о нарушении регуляции клеточного цикла. Активация пролиферативных процессов в клетке приводит к одновременной гиперэкспрессии *Ki67*. Известно, что по мере нарастания степени тяжести CIN увеличивается уровень экспрессии маркеров пролиферации – *p16(INK4a)* и *Ki67* [33; 92].

По результатам проведенного исследования установлено, что у пациенток с элиминацией ВПЧ ВР и нормализацией плоскоклеточного состава происходит нормализация клеточных процессов со статистически значимым снижением уровней маркеров пролиферации (*CDKN2A(p16)*, *Ki67*, *MYBL2*). В случае регресса заболевания у пациенток с «малыми» формами поражения наблюдалось снижение уровня маркеров пролиферации *MKI67*, *CDKN2A*, *MYBL2*, убиквитинирования белков *UBE2T*, формирования цитоскелета клетки *ANLN*.

*UBE2T* – убиквитин конъюгированный фермент Е2Т. Результаты исследования L.L. Liu и соавторов доказали, что повышение синтеза *UBE2T* у пациенток с гепатоцеллюлярным раком приводит к снижению контроля пролиферации, потенцируя процесс злокачественной трансформации. При

подавлении экспрессии UBE2T происходит снижение уровня маркеров, отвечающих за пролиферативные процессы [120].

*ANLN* – актинсвязывающий белок, который способствует процессу пролиферации и миграции клеток. В литературе *ANLN* представлен как прогностический маркер в диагностике злокачественных заболеваний молочной железы, колоректального рака, рака желудка [116-118]. Leilei и соавторы подтвердили диагностическую значимость экспрессии *ANLN* у женщин с гистологически подтвержденным РШМ. Прогноз безрецидивного выживания был более благоприятным в группе женщин с низким уровнем экспрессии *ANLN* [119].

Таким образом, данные исследования уровня мРНК могут быть использованы как прогностические маркеры при прогрессии патологического процесса. Полученные нами результаты согласуются с данными зарубежных исследований, в которых уровень маркеров пролиферации *CDKN2A(p16)* и *Ki 67* в группах с последующей персистенцией и элиминацией вируса изначально статистически не отличался [92].

Заслуживает внимание исследование М. del Pino, посвящённое изучению мРНК 6 генов, позволяющих выявить группу пациентов исходно с «тяжелыми» поражениями эпителия шейки матки. Гиперэкспрессия маркеров пролиферации прогрессивно увеличивалась в зависимости от степени тяжести эпителиальных поражений от LSIL до РШМ. Уровень экспрессии маркеров пролиферации *CDKN2A(p16)*, *MKI67* зависел от степени тяжести CIN [32].

Результаты исследования экспрессии мРНК генов-рецепторов к прогестерону и эстрогену (*PGR*, *ESR1*) у пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки заслуживают особого внимания. Экспрессия мРНК *ESR1* оказывает влияние на пролиферативные процессы клеточного цикла в тканях репродуктивной системы. Снижение уровня экспрессии *ESR1* может служить первым прогностическим признаком формирования CIN, а также процесса инвазии [39; 40]. В результате



проведенного исследования установлено, что в группе пациенток с персистенцией ВПЧ-инфекции и формированием CIN изначально наблюдалось статистически значимое снижение экспрессии маркеров *PGR*, *ESR1*, *BAG1* и повышение мРНК *PD-L1*. Результаты исследования Boon J.A. и соавторов выявили взаимосвязь между степенью тяжести поражения эпителия шейки матки и уровнем экспрессии мРНК генов *ERR1*, *PGR*, *CDKN2A(p16)* у пациенток с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки. Наиболее значимые корреляционные связи отмечены между экспрессией *ERα* и *CDKN2A(p16)*. Совместно с понижением уровня экспрессии *ESR1* отмечено статистически значимое снижение *PGR* [38]. Данные этого исследования сопоставимы с нашими результатами, свидетельствующими о постепенном снижении уровней экспрессии мРНК генов *ESR1* и *PGR* пропорционально степени тяжести патологического процесса.

В исследовании R.L. Bekkers выявлена взаимосвязь между изменением гормональной активности и тяжестью патологического процесса [47]. У пациенток с CIN изначально снижен уровень экспрессии *PGR*, *ESR*. При плоскоклеточных раках и аденокарциномах шейки матки экспрессии *PGR*, *ESR1* были снижены до неопределяемых уровней.

Таким образом, при формировании неопластической трансформации уже на ранних стадиях происходит потеря чувствительности клеток к эстрогену и прогестерону за счет снижения рецепции. Снижение количества рецепторов на клеточной мембране может служить первым прогностическим признаком формирования CIN.

При снижении чувствительности к гормонам в группе пациенток с персистенцией ВПЧ-инфекции и формированием CIN изначально наблюдалось статистически значимое повышение мРНК *PD-L1*.

*PD-L1* (Programmed Death Ligand 1) – белок, отвечающий за регуляцию иммунной системы, может быть выражен на множестве типов клетки, включая раковые клетки, макрофаги, Т-лимфоциты и другие ткани. В исследовании

А. М. Hong. у пациенток с раком ротоглотки, ассоциированным ВПЧ-инфекцией, изучалась экспрессия PD-L1, определяемая иммуногистохимически. Авторы отмечают, что экспрессия *PD-L1* увеличивалась прямо пропорционально степени повреждения, а уровень PD-L1 может быть использован для определения индивидуального прогноза выживаемости [75]. G. Nuovo с соавторами было проведено исследование по определению уровня экспрессии *PD-L1* у пациенток с ВПЧ-ассоциированными поражениями шейки матки, обусловленными ВПЧ высокоонкогенного риска (ВПЧ ВР) и ВПЧ низкоонкогенного риска (ВПЧ НР) в сравнительном аспекте. По результатам исследования была определена статистически значимая разница уровня экспрессии *PD-L1* между пациентками инфицированными ВПЧ НР и ВПЧ ВР [54]. Таким образом, авторы продемонстрировали значимость не только маркеров пролиферации (*CDKN2A(p16)*, *Ki67*), но и маркера, отвечающего за иммунную систему макроорганизма в диагностике CIN+.

В регуляции клеточного цикла неотъемлемую роль играет процесс апоптоза. Для поддержания стабильности и целостности клеточного генома макроорганизма необходим регулируемый процесс программируемой гибели клетки. Опухолевые клетки способны подавлять апоптоз в связи с неравномерной экспрессией про- и антиапоптотических белков [34]. Молекулярный механизм опухолевого процесса предполагает снижение уровня *BCL2*. Регуляция данного процесса основана на формировании стабильных комплексов между геном-супрессором опухоли p53 и онкобелком Е6. Известно, что *BCL2* образует стабильный комплекс с белком *BAG* и тем самым блокирует выделение цитохрома С [34-36]. В нашем исследовании уровень *BAG1* был статистически снижен в группе пациенток с персистенцией ВПЧ и формированием интраэпителиальных неоплазий. Следовательно, снижение экспрессии *BAG1* в группе с персистенцией ВПЧ и дальнейшим

прогрессом заболевания свидетельствует об участии данной молекулы в механизмах формирования интраэпителиальных неоплазий.

Таким образом, снижение экспрессии *PGR*, *ESR1*, *BAG1* следует рассматривать как наиболее перспективные маркеры для прогнозирования формирования и течения CIN.

Результаты нашего исследования позволили с высокой точностью дифференцировать «тяжелые» поражения (HSIL), а также прогрессирующие формы ВПЧ-ассоциированных заболеваний от группы с низким риском прогрессии заболевания и последующей нормализацией плоскоклеточных поражений.

С помощью методов многофакторного анализа была разработана модель расчета Индекса риска прогрессии (ИРП) ВПЧ-ассоциированных заболеваний, учитывающая наличие ВПЧ ВР и уровни экспрессии мРНК генов *MKI67*, *CDKN2A*, *CCNB1*, *MYBL2*, *EXO*, *ANLN*, *UBE2T*, *PGR*, *ESR1*, *BAG1*, *BCL2*.

По назначению ближайшим аналогом предлагаемого способа является тест QIASure Methylation Test Kit (Qiagen Inc). Тест QIASure основан на мультиплексной ПЦР в режиме реального времени, который позволяет определить гиперметилирование промоторов генов-супрессоров опухолей *FAM19A4* и микроРНК *hsa-mir124-2*. Процесс опухолевой трансформации связан с накоплением эпигенетических изменений, т.е. повышенным метилированием ДНК в специфических генах-супрессорах опухолей. Обнаруживая гиперметилирование генов-супрессоров опухолей *FAM19A4* и *hsa-mir124-2* у женщин с трансформирующими формами ВПЧ-инфекции, можно отличить женщин с высоким риском кратковременного прогрессирования заболевания от женщин с продуктивными или ранними формами ВПЧ-инфекции, у которых риск прогрессирования заболевания низкий. Тест обладает 100% (94-100%) чувствительностью при выявлении рака шейки матки, 67% (48-84%) чувствительностью при CINIII в ВПЧ-положительных образцах, 100% чувствительностью при прогрессирующих

формах ВПЧ-ассоциированных заболеваний. Тест дает положительный результат при «малых» формах поражения цервикального канала ( $\leq$ CIN I) в 20% случаев, в 30-40% случаев при CINII в зависимости от способа взятия материала (при взятии материала специалистом или при самостоятельном взятии [17-19; 21-27]).

В нашем исследовании высокий риск прогрессии был выявлен у 83,9% (95% ДИ: 70,9-96,8%) пациенток с CINII-III и ни в одном случае не был положительным в 5 группе (здоровые), что позволяет нам использовать данную тест-систему в качестве диагностической панели выявления пациенток с «тяжелыми» поражениями эпителия шейки матки.

На основании полученных результатов работы разработан алгоритм ведения пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки с учетом комплекса клинических, морфологических и молекулярно-генетических предикторов и, в частности, ВПЧ-генотипирования и экспрессии мРНК генов. Результаты работы будут способствовать определению групп повышенного риска развития CIN среди пациенток с «малыми» поражениями и предотвращению рака шейки матки.

## ВЫВОДЫ

11. «Малые» формы поражения шейки матки среди ВПЧ-положительных женщин встречаются в 80,6% случаев, из них NILM – 54,7%, ASCUS – 8,1%, LSIL – 17,8% (по обращаемости в НПО).

2. У пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки выявлено статистически значимое снижение психологического компонента качества жизни, обусловленного чувством тревоги, боязнью развития РШМ, страхом инвазивных манипуляций, сексуальной дисфункцией ( $p=0,005$ ).

3. Частота встречаемости ВПЧ канцерогенного риска у пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки составила: группа 1 – 87,8%, группа 2А – 8%, группа 2В – 19,9%, в том числе в виде моноинфекции – 45%, 2,3%, 6,2% соответственно. Доминирующим типом во всех группах с «малыми» формами поражения был ВПЧ 16 типа (38,7%), далее 31 (14,7%), 52 (12,4%), 58 (11,6%), 66 (11,9%), 39 (10,9%), 51 (10,9%), 59 (10,1%), 18 (9,3%), 56 (9,3%), 33 (8,5%), 35 (6,2%), 53 (6,2%), 68 (6,2%), 45 (4,7%), менее 5% ВПЧ 82, 26, 73 типов.

4. Неопластическая трансформация у пациенток с «малыми» формами поражения была обусловлена персистенцией ВПЧ 16 (45,8%), 58 (13,5%), 39 (11,9%), 18 и 51 (10,2%), 68, 56, 82 (8,5%), 35, 52, 53 (6,8%), менее 5% ВПЧ 66, 45, 33, 59, 73, 31 типов. В формировании CIN+ как моноинфекции участвовали ВПЧ 16 (27%), 58 (6,8%), 39 (5%), 66 (3,3%) и менее 2% ВПЧ 53, 51, 82, 33, 59, 68, 45 типов. В формировании CIN+ участвовали ВПЧ группы 1 – 79,1%, группы 2А – 5,5%, группы 2В – 15,4% случаев, из них в виде моноинфекции – 28,6%, 1,1%, 4,4% соответственно.

5. Статистически значимое снижение уровня экспрессии мРНК генов *ESR1*, *PGR*, *BAG1* и повышение уровня экспрессии мРНК гена *PD-L1* являются предиктором формирования неопластической трансформации у пациенток с «малыми» формами поражения эпителия шейки матки. Регресс заболевания

сопровождался элиминацией вируса и статистически значимым снижением уровня мРНК генов *MKI67*, *CDKN2A*, *MYBL2*, *UBE2T*, *ANLN*.

6. Интегральная оценка (расчет индекс риска прогрессии (ИРП)), учитывающая уровень экспрессии маркеров мРНК 11 генов (*MKI67*, *CDKN2A*, *CCNB1*, *MYBL2*, *EXO1*, *ANLN*, *UBE2T*, *PGR*, *ESR1*, *BAG1*, *BCL2*) и наличие ВПЧ ВР, позволяет выявить группу риска по формированию CIN среди пациенток с «малыми» формами. Прогностическая ценность положительного результата для «малых» форм поражения эпителия шейки матки составила 65,6% (95% ДИ: 49,2-82,1%); прогностическая ценность отрицательного результата – 91,4% (95% ДИ: 84,2-98,6%).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Персистенция ВПЧ 16, 58, 39, 18, 51, 68, 56, 82, 35, 52, 53, 35 более двух лет у пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки должна настораживать практикующего врача с позиции развития неопластического процесса. Для выявления группы риска по развитию CIN+ целесообразно сокращение сроков скрининга, проведение кольпоскопии/биопсии.

При наличии и/или персистенции ВПЧ канцерогенного риска вне зависимости от результатов цитологии целесообразно проводить расширенную кольпоскопию для раннего выявления изменений эпителия шейки матки.

Для пациенток с «малыми» формами поражения шейки матки (персистенция ВПЧ ВР при цитологическом заключении NILM, ASCUS или LSIL) целесообразна оценка индекса риска прогрессии (ИРП) на основе определения уровня экспрессии мРНК генов *MKI67*, *CDKN2A*, *CCNB1*, *MYBL2*, *EXO1*, *ANLN*, *UBE2T*, *PGR*, *ESR1*, *BAG1*, *BCL2* и ВПЧ ВР с целью своевременного выявления группы риска по формированию CIN и тяжелых поражений (HSIL).

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АБЭ – ацетобелый эпителий

ВАК – высшая аттестационная комиссия

ВЗОМТ – воспалительные заболевания органов малого таза

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВПЧ – вирус папилломы человека

ВПЧ ВР – вирус папилломы человека высокого онкогенного риска

ВПЧ НР – вирус папилломы человека низкого онкогенного риска

ДЭК – диатермоэлектрокоагуляция

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ЗТ – зона трансформации

ИМТ – индекс массы тела

ИППП – инфекции, передающиеся половым путем

КС – кольпоскопия

НМИЦ АГП – Национальный Медицинский Исследовательский Центр  
Акушерства, Гинекологии и Перинатологии

ПЦР – полимеразно-цепная реакция

РГиШ – рак головы и шеи

РШМ – рак шейки матки

СПКЯ – синдром поликистозных яичников

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ACOG – American College of Obstetricians and Gynecologists

ASCCP – American Society for Colposcopy and Cervical Pathology

ASC-H – atypical squamous cells, can not exclude high-grade squamous  
intraepithelial lesion

ASCUS – atypical squamous cells of undetermined significance

CIN – cervical intraepithelial neoplasia



FDA – Food and Drug Administration

FIGO - International Federation of Gynecology and Obstetrics

HSIL – high-grade squamous intraepithelial lesion

LEEP – loop electrosurgical excision procedure

LLETZ – large loop excision of the transformation zone

LSIL – low-grade squamous intraepithelial lesion

NILM – negative for intraepithelial lesion or malignancy

PCR – polymerase chain reaction

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Сухих Г.Т., Прилепская В.Н. Профилактика рака шейки матки. Руководство для врачей. // М.: МЕДпресс-информ. – 2012. – С. 27.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). // М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. – 2018. – С. 250.
3. Короленкова Л.И. Цервикальные интраэпителиальные неоплазии и ранние формы рака шейки матки: клинико-морфологическая концепция цервикального канцерогенеза. // Москва. – 2017. – С.103-105.
4. Новик А.А., Ионова Т.И., Кайнд П. Концепция исследования качества жизни в медицине. // СПб.:Элби. – 1999.
5. Минкина Г.Н., Савичева А.М., Холл К., Де Сауза С.К., Шипицына Е.В., Коломиец Л.А. Распространенность различных типов вируса папилломы человека у женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией тяжелой степени. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2013. – № 3. С. 32-37.
6. Шипулина О.Ю., Лешкина Г.В., Минкина Г.Н., Короленкова Л.И. Коэкспрессия онкобелков P16 и KI 67 как маркер онкологической патологии шейки матки. // Новости клинической цитологии России. – 2015. – № 1-2. С. 64.
7. Мингалева Н.В., Дегтярева О.Г., Абрамшвили Ю.Г., Метелева Н.С. Тяжесть цервикальных поражений по данным цитологии и их взаимосвязь с выявлением вируса папилломы человека высокоонкогенного риска у женщин до 30 лет и старше. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – № 1 (156). С. 88-94.
8. Кедрова А.Г., Леваков С.А., Царенко М.Д. Отдаленные результаты лечения доброкачественных изменений эпителия шейки матки, ассоциированных с вирусом папилломы человека. // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2016. – № 2. С. 77-83.

9. Бебнева Т.Н., Муйжнек Е.Л., Роговская С.И., Киселёв В.И., Ашрафян Л.А., Хамошина М.Б. Патогенетическое лечение неопластических процессов шейки матки: новые подходы процессов шейки матки. // Доктор.Ру. – 2016. – № 3 (120). С. 9-14.

10. Umbilication is a strong predictor of high-grade cervical intraepithelial neoplasia / Slama J.[et al ] // J. Low Genit. Tract. Dis. – Jul. – 2013. – Vol. 17, № 3. – P. 303-307.

11. Erdemoglu E., Chiantera V., Vasiljeva K., Drechsler I., Cichon G., Schneider A., Böhmer G. Validity of the colposcopic criteria inner border sign, ridge sign, and rag sign for detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia / Vercellino G.F. [et al ] // Obstet Gynecol. – Mar. – 2013. – Vol. 121, № 3. – P. 624-631.

12. Human papillomavirus molecular biology and disease association / Doorbar J. [et al ] // Reviews in Medical Virology. – Mar. – 2015. – Vol. 25, №1. – P. 2-23.

13. Revised Terminology for Cervical Histopathology and Its Implications for Management of High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions of the Cervix / Waxman A.G. [et al ] // Obstet. Gynecol. – Dec. – 2012. – Vol. 120, № 6. – P. 1465-1471.

14. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group / Bosch F.X. [et al ] // J Natl Cancer Inst. – Jun. – 1995. – Vol. 87, №11. – P. 796-802.

15. Human papillomavirus genotype distributions: implications for vaccination and cancer screening in the United States / Wheeler C.M. [et al ] // J Natl Cancer Inst. – Apr. – 2009. – Vol. 101, №7. – P. 475-487.

16. Uncommon and rare human papillomavirus genotypes relating to cervical carcinomas / Kim N.R. [et al ] // Korean J Pathol. – Feb. – 2014. – Vol. 48, № 1.– P. 43-49.

17. Methylation analysis of the FAM19A4 gene in cervical scrapes is highly efficient in detecting cervical carcinomas and advanced CIN2/3 lesions. / De Strooper L.M. [et al] // Cancer Prev. Res. – Dec. – 2014. – Vol. 7, №12. – P. 1251-1257.

18. CADM1 and MAL promoter methylation levels in hrHPV-positive cervical scrapes increase proportional to degree and duration of underlying cervical disease. / Bierkens M. [et al] // *Int. J. Cancer.* – Sep. – 2013. – Vol. 133, № 6. – P. 1293-1299.
19. Methylation matters / Costello J.F. [et al] // *J. Med. Genet.* – May. – 2001. – Vol. 38, №5. – P. 285-303.
20. Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection / Burchell A.N. [et al] // *Vaccine.* – Aug. – 2006. – Vol. 24. – P. 52-61.
21. CADM1, MAL and miR12-2 methylation analysis in cervical scrapes to detect cervical and endometrial cancer. / De Strooper L.M. [et al] // *J Clin Pathol.* – Dec. – 2014. – Vol. 67, №12. – P. 1067-1071.
22. Comparing the performance of FAM19A4 methylation analysis, cytology and HPV 16/18 genotyping for the detection of cervical (pre)cancer in high-risk HPV-positive women of a gynecologic outpatient population (COMETH study). / Luttmer R. [et al] // *Int. J. Cancer.* – Feb. – 2016. – Vol. 138, № 4. – P. 992-1002.
23. Validation of the FAM19A4/mir124-2 DNA methylation test for both lavage- and brush-based self-samples to detect cervical (pre)cancer in HPV-positive women / De Strooper L.M.A. [et al] // *Gynecol. Oncol.* May. – 2016. – Vol. 141, № 2. – P. 341-347.
24. Clinical implications of (epi)genetic changes in HPV-induced cervical precancerous lesions / Steenbergen R.D. [et al] // *Nat. Rev. Cancer.* – Jun. – 2014. – Vol. 14, № 6. – P. 395-405.
25. Management of high-risk HPV-positive women for detection of cervical (pre)cancer / Luttmer R. [et al] // *Expert Rev Mol Diagn.* – Sep. – 2016. – Vol. 16, № 9. – P. 961-974.
26. Reliable identification of women with CIN3+ using hrHPV genotyping and methylation markers in a cytology-screened referral population / Leeman A. [et al] // *Int J Cancer.* – Jan. – 2019. – Vol. 144, №1. – P. 160-168.
27. Methylation-mediated silencing and tumour suppressive function of has-MiR-124 in cervical cancer / Wilting S.M. [et al] // *Mol. Cancer.* – Jun. – 2010. – Vol. 26, №9. – P. 167.

28. Human papillomavirus genotype distributions: implications for vaccination and cancer screening in the United States / Wheeler C.M. [et al] // *J Natl Cancer Inst.* – Apr. – 2009. – Vol. 101, № 7. – P. 475-487.
29. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study / Sanjose S. [et al] // *Lancet Oncol.* – Nov. – 2010. – Vol. 11, № 11. – P. 1048-1056.
30. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors / Massad L.S. [et al] // *Obstet Gynecol.* – Apr. – 2013. – Vol. 121, № 4. – P. 829-846.
31. Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: A meta-analysis from cervical infection to cancer / Guan P. [et al] // *Int. J. Cancer.* – Nov. – 2012. – Vol. 131, №10. – P. 2349-2359.
32. mRNA biomarker detection in liquid-based cytology: a new approach in the prevention of cervical cancer / Del Pino M. [et al] // *Mod Pathol.* – Feb. – 2015. – Vol. 28, №2. – P. 312-320.
33. Expression profiling of G2/M phase regulatory proteins in normal, premalignant and malignant uterine cervix and their correlation with survival of patients / Chhavi [et al] // *J Can Res Ther.* – Apr-Jun. – 2010. – Vol. 6, № 2. – P. 167-171.
34. Bcl-2 inhibitors: targeting mitochondrial apoptotic pathways in cancer therapy / Kang M.H. [et al] // *Clin Cancer Res.* – Feb. – 2009. – Vol. 15, № 4. – P. 1126-1132.
35. Molecular Mechanisms of Apoptosis and Roles in Cancer Development and Treatment / Goldar S. [et al] // *Asian Pac J Cancer Prev.* – 2015. – Vol. 16, № 6. – P. 2129-2144.
36. BAG-1 as a biomarker in early breast cancer prognosis: a systematic review with meta-analyses / Papadakis E.S. [et al] // *Br J Cancer.* – Jun. – 2017. – Vol. 116, № 12. – P. 1585-1594.
37. p53 and bcl2 expression in malignant and premalignant lesions of uterine cervix and their correlation with human papilloma virus 16 and 18 / Shukla S. [et al] // *South Asian J Cancer.* – Jan. – 2014. – Vol. 3, № 1. – P. 48-53.

38. Molecular transitions from papillomavirus infection to cervical precancer and cancer: Role of stromal estrogen receptor signaling / den Boon J.A. [et al] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – Jun. – 2015. – Vol. 112, № 25. – P. 3255-3264.

39. An international reproducibility study validating quantitative determination of ERBB2, ESR1, PGR, and MKI67 mRNA in breast cancer using MammaTyper® / Varga Z. [et al.] // *Breast Cancer Res.* – May. – 2017. – Vol. 19, № 1. – P. 55.

40. Down regulation of estrogen receptor expression is an early event in human papillomavirus infected cervical dysplasia / Bekkers R.L. [et al] // *Eur J Gynaecol Oncol.* – 2005. – Vol. 26, № 4. – P. 376-382.

41. Comparing human papillomavirus prevalences in women with normal cytology or invasive cervical cancer to rank genotypes according to their oncogenic potential: a meta-analysis of observational studies / Bernard E. [et al] // *BMC Infect Dis.* – Aug. – 2013. – Vol. 13. – P. 373.

42. Are 20 human papillomavirus types causing cervical cancer? / Arbyn M. [et al] // *J. Pathol.* – Dec. – 2014. – Vol. 234, №4. – P. 431-435.

43. Papillomavirus and cancer from basic studies to clinical application / Zur Hausen H. [et al] // *Nat Rev Cancer.* – May. – 2002. – Vol. 2, № 5. – P. 342-350.

44. Atypical squamous cells of undetermined significance and low-grade squamous intraepithelial lesion triage in Korean women: Revisiting the 2012 American Society of Colposcopy and Cervical Pathology screening guidelines / Hyun J.Y. [et al] // *Obstet Gynecol Sci.* – Jul. – 2017. – Vol. 60, №4. – P. 357-361.

45. Atypical Squamous Cells: Cytopathological Findings and Correlation with HPV Genotype and Histopathology / Oliveira G.G. [et al] // *Acta Cytol.* – 2018. – Vol. 62, № 5-6. – P. 386-392.

46. Classification and evolution of human papillomavirus genome variants: Alpha-5 (HPV26, 51, 69, 82), Alpha-6 (HPV30, 53, 56, 66), Alpha-11 (HPV34, 73), Alpha-13 (HPV54) and Alpha-3 (HPV61) / Chen Z. [et al] // *Virology.* – Mar. – 2018. – Vol. 516. – P. 86-101.

47. Down regulation of estrogen receptor expression is an early event in human papillomavirus infected cervical dysplasia / Bekkers R.L. [et al] // *Eur J Gynaecol Oncol.* – 2005. – Vol. 26, № 4. – P. 376-382.
48. Pathogenic role of the eight probably/possibly carcinogenic HPV types 26, 53, 66, 67, 68, 70, 73 and 82 in cervical cancer / Halec G. [et al] // *J Pathol.* – Dec. – 2014. – Vol. 234, № 4. – P. 441-51.
49. Cytology and human papillomavirus testing 6 to 12 months after ASCUS or LSIL cytology in organized screening to predict high-grade cervical neoplasia between screening rounds / Tropé A. [et al] // *J Clin Microbiol.* – Jun. – 2012. – Vol. 50, № 6. – P. 1927-1935.
50. Impact of genital warts on health related quality of life in men and women in mainland China: a multicenter hospital-based cross-sectional study / Shi J.F. [et al] // *BMC Public Health.* – Mar. – 2012. – Vol. 12. – P. 153-162.
51. Patterns of persistent genital human papillomavirus infection among women worldwide: a literature review and meta-analysis / Rositch A.F. [et al] // *Int J Cancer.* – Sep. – 2013. – Vol. 133, № 6. – P. 1271-85.
52. Cervical carcinoma rates among young females in the United States / Benard V.B. [et al] // *Obstet Gynecol.* – Nov. – 2012. – Vol. 120, № 5. – P. 1117-1123.
53. Primary cervical cancer screening with human papillomavirus: end of study results from the ATHENA study using HPV as the first-line screening test / Wright T.C. [et al] // *Gynecol Oncol.* – Feb. – 2015. – Vol. 136, № 2. – P. 89-97.
54. A comparison of the detection of biomarkers in infections due to low risk versus high-risk human papillomavirus types / Nuovo G. [et al] // *Ann Diagn Pathol.* – Aug. – 2019. – Vol. 41. – P. 57-61.
55. Factors associated with high-risk human papillomavirus infection and high-grade cervical neoplasia: A population-based study in Paraguay / Kasamatsu E. [et al] // *PLoS One.* – Jun. – 2019. – Vol. 14, № 6.
56. Concurrence of multiple human papillomavirus infections in a large US population-based cohort / Yang Z. [et al] // *Am J Epidemiol.* – Dec. – 2014. – Vol. 180, № 11. – P. 1066-75.

57. Genotyping for Human Papillomavirus Types 16 and 18 in Women With Minor Cervical Lesions: A Systematic Review and Meta-analysis / Arbyn M. [et al] // *Ann Intern Med.* – Jan. – 2017. – Vol. 166, № 2. – P.118-127.
58. Is human papillomavirus genotype important in predicting disease progression in women with biopsy-proven negative or CIN1 of atypical squamous cell of undetermined significance (ASC-US) cytology? / Kang W.D. [et al] // *Gynecol Oncol.* – Feb. – 2018. – Vol. 148, № 2. – P. 305-310.
59. Role of human papillomaviruses in carcinogenesis / Ghittoni R. [et al] // *Ecancermedalscience.* – Apr. – 2015. – Vol. 29, №9. – P. 526.
60. Analysis of Human Papillomavirus Infection in 16,320 Patients From a Gynecology Clinic in Central South China / Xiao S.S. [et al] // *J Low Genit Tract Dis.* – Oct. – 2016. – Vol. 20, № 4. – P. 327-331.
61. Natural history of multiple human papillomavirus infections in female adolescents with prolonged follow-up / Weaver B. [et al] // *J. Adolesc Health.* – May. – 2011. – Vol. 48, № 5. – P. 473-80.
62. Persistence, clearance and reinfection regarding six high risk human papillomavirus types in Colombian women: a follow-up study / Soto-De León S.C. [et al] // *BMC Infect Dis.* – Jul. – 2014. – Vol. 16, №14. – P. 395.
63. Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia: a systematic review and meta-analysis / Koshiol J. [et al] // *Am J Epidemiol.* – Jul. – 2008. – Vol. 168, № 2. – P. 123-137.
64. Human papillomavirus genotypes associated with cervical precancerous lesions and cancer in the highest area of cervical cancer mortality, Longnan, China / Zhao J. [et al] // *Infect Agent Cancer.* – Jan. – 2017. – Vol. 25, №12. – P. 8.
65. Natural history of established low grade cervical intraepithelial (CIN 1) lesions / Bansal N. [et al] // *Anticancer Res.* – May-Jun. – 2008. – Vol. 28, № 3B. – P.1763-1766.
66. Smoking and subsequent human papillomavirus infection: a mediation analysis / Eldridge R.C. [et al] // *Ann Epidemiol.* – Nov. – 2017. – Vol. 27, № 11. – P. 724-730.



67. Carcinogenicity of Human Papillomavirus (HPV) Types in HIV-Positive Women: A Meta-Analysis From HPV Infection to Cervical Cancer / Clifford G.M. [et al] // *Clin Infect Dis.* – May. – 2017. – Vol. 64, № 9. – P. 1228-1235.
68. Cytology and high risk HPV testing in cervical cancer screening program: Outcome of 3-year follow-up in an academic institute / Yang J. [et al] // *Diagn Cytopathol.* – Jan. – 2018. – Vol. 46, № 1. – P. 22-27.
69. Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancer screening: interim clinical guidance / Huh W.K. [et al] // *J Low Genit Tract Dis.* – Apr. – 2015. – Vol. 19, № 2. – P. 91-96.
70. High risk HPV testing in the triage of repeat ASC-US and LSIL / Veijalainen O. [et al] // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – Sep. – 2015. – Vol. 94, № 9. – P. 931-936.
71. ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS) Group. A randomized trial on the management of low-grade squamous intraepithelial lesion cytology interpretations. // *Am J Obstet Gynecol.* – Jun. – 2003. – Vol. 188, №6. – P.1393-1400.
72. Management of Atypical Squamous Cell Cases: A Prospective Study of Women seen at a Private Health Service in Northeastern Brazil / Oliveira G.G. [et al] // *Rev Bras Ginecol Obstet.* – Mar. – 2018. – Vol. 40, № 3. – P. 121-126.
73. Five-year risk of CIN 3+ to guide the management of women aged 21 to 24 years / Katki H.A. [et al] // *J Low Genit Tract Dis.* – Apr. – 2013. – Vol. 17, (5 Suppl 1). – P. 64-68.
74. Similar Risk Patterns After Cervical Screening in Two Large U.S. Populations: Implications for Clinical Guidelines / Gage J.C. [et al] // *Obstet Gynecol.* – Dec. – 2016. – Vol. 128, № 6. – P. 1248-1257.
75. Significant association of PD-L1 expression with human papillomavirus positivity and its prognostic impact in oropharyngeal cancer / Hong A.M. [et al] // *Oral Oncol.* – May. – 2019. – Vol. 92. – P. 33-39.
76. Follow up in women with biopsy diagnosis of cervical low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL): how long should it be? / Ciavattini A. [et al] // *Arch Gynecol Obstet.* – Apr. – 2017. – Vol. 295, № 4. – P. 997-1003.

77. The clinical application of HPV E6/E7 mRNA testing in triaging women with atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intra-epithelial lesion Pap smear: A meta-analysis / Yang L. [et al] // *J Cancer Res Ther.* – 2017. – Vol. 13, № 4. – P. 613-620.

78. Profiling microdissected epithelium and stroma to model genomic signatures for cervical carcinogenesis accommodating for covariates / Gius D. [et al] // *Cancer Res.* – Aug. – 2007. – Vol. 67, № 15. – P. 7113-7123.

79. Evaluation of health-related quality of life for hypothesized medical states associated with cervical cancer // *Asian Pac J Cancer Prev.* – 2014. – Vol. 15, № 22. – P. 9679-9685.

80. Association of age and viral factors with high-risk HPV persistence: A retrospective follow-up study / Li W. [et al] // *Gynecol Oncol.* – Aug. – 2019. – Vol. 154, № 2. – P. 345-353.

81. A study of HPV typing for the management of HPV-positive ASC-US cervical cytologic results / Schiffman M. [et al] // *Gynecol. Oncol.* – 2015. – Vol. 138. – P. 573-578.

82. Human papillomavirus testing for the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer: final results of the POBASCAM randomised controlled trial / Rijkaart D.C. [et al] // *Lancet Oncol.* – Jan. – 2012. – Vol. 13, № 1. – P. 78-88.

83. HPV DNA testing in population-based cervical screening (VUSA-screen study): results and implications / Rijkaart D.C. [et al] // *Br. J. Cancer.* – Feb. – 2012. – Vol. 106, № 5. – P. 975-981.

84. Comparison of hybrid capture 2 testing at different thresholds with cytology as primary cervical screening test / Rijkaart D.C. [et al] // *Br. J. Cancer.* – Sep. – 2010. Vol. 103, № 7. – P. 939-946.

85. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings / Bruni L. [et al] // *Infect Dis.* – Dec. – 2010. – Vol. 202, № 12. – P. 1789-99.

86. Evaluation of Health-Related Quality of Life among Patients with Cervical Cancer in Indonesia / Endarti D. [et al] // *Asian Pac J Cancer Prev.* – 2015. – Vol. 16, № 8. – P. 3345-3350.
87. Long-term absolute risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or worse following human papillomavirus infection: role of persistence / Kjær S.K. [et al] // *J Natl Cancer Inst.* – Oct. – 2010. – Vol. 102, № 19. – P.1478-1488.
88. Risk of CIN3 or worse with persistence of 13 individual oncogenic HPV types / Sand F.L. [et al] // *Int J Cancer.* – Apr. – 2019. – Vol. 144, №8. – P. 1975-1982.
89. Changes in DNA Level of Oncogenic Human Papillomaviruses Other Than Types 16 and 18 in Relation to Risk of Cervical Intraepithelial Neoplasia Grades 2 and 3 / Xi L.F. [et al] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – Aug. – 2019. – Vol. 28, № 8. – P. 1388-1394.
90. Performance of Different Combination Models of High-Risk HPV Genotyping in Triaging Chinese Women With Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance // *Front Oncol.* – Apr. – 2019. – Vol.3, № 9, – P. 202.
91. So K.A. [et al]. Risk factors for cytological progression in HPV 16 infected women with ASC-US or LSIL: The Korean HPV cohort. // *Obstet Gynecol Sci.* – Nov. – 2018. Vol. 61, № 6. – P. 662-668.
92. Sorting role of p16(INK4a)/Ki-67 double immunostaining in the cervical cytology specimens of ASCUS and LSIL cases / Yu J. [et al] // *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* – May. – 2017. – Vol. 46, № 5. – P. 323-326.
93. A Meta-Analysis on Human Papillomavirus Type Distribution among Women with Cervical Neoplasia in the WHO Eastern Mediterranean Region / Shoja Z. [et al] // *Intervirology.* – Sep. –2019. – Vol. 17. – P. 11.
94. Human papillomavirus type 16 infections and 2-year absolute risk of cervical precancer in women with equivocal or mild cytologic abnormalities / Castle P.E. [et al] // *J Natl Cancer Inst.* – Jul. – 2005. – Vol. 97, № 14. – P. 1066-1071.
95. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / Bray F. [et al] // *CA Cancer J Clin.* – Nov. – 2018. – Vol. 68, № 6. – P. 394-424.

96. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials / Ronco G. [et al] // *Lancet*. – Feb. – 2014. – Vol. 383, № 9916. – P. 524-532.
97. Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer / Arbyn M. [et al] // *Vaccine*. – Nov. – 2012. – Vol.30, №5. – P. 88-99.
98. Papillomavirus E6 proteins / Howie H.L. [et al] // *Virology*. – Feb. – 2009. – Vol. 384, № 2. – P. 324-334.
99. Outcomes of cancer treatment for technology assessment and cancer treatment guidelines. American Society of Clinical Oncology. // *Journal of Clinical Oncology*. – Feb. – 1996. – Vol. – 14, № 2. – P. 671-679.
100. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication / Li N. [et al] // *Int J Cancer*. – Feb. – 2011. – Vol. 128, № 4. – P. 927-35.
101. The HPV E6/E7 Oncogenes: Key Factors for Viral Carcinogenesis and Therapeutic Targets / Hoppe-Seyler K. [et al] // *Trends Microbiol*. – Feb. – 2018. – Vol. 26, № 2. – P. 158-168.
102. Papillomavirus E6 oncoproteins / Vande Pol S.B. [et al] // *Virology*. – Oct. – 2013. – Vol. 445, №1-2. – P. 115-37.
103. Molecular mechanisms underlying human papillomavirus E6 and E7 oncoprotein-induced cell transformation / Mittal S. [et al] // *Mutat Res Rev Mutat Res*. – Apr-Jun. – 2017. – Vol. 772. – P. 23-35.
104. International standardization and classification of human papillomavirus types / Bzhalava D. [et al] // *Virology*. – Feb. – 2015. – Vol. 476. – P. 341-344.
105. Towards quality and order in human papillomavirus research / Mühr L.S.A. [et al] // *Virology*. – Jun. – 2018. – Vol. 519. – P. 74-76.
106. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. 2nd ed. Office for Official Publications of the European Union; Luxembourg: 2015. Executive summary; pp. XIII–XXIV.

107. Management algorithms for cervical cancer screening and precancer treatment for resource-limited settings / Basu P. [et al] // *Int. J. Gynecol. Obstet.* – Jul. – 2017. – Vol.138, №1. – P. 26-32.

108. Cost-Effectiveness of Primary HPV Testing, Cytology and Co-testing as Cervical Cancer Screening for Women Above Age 30 Years / Jin X.W. [et al] // *J. Gen. Intern. Med.* – Nov. – 2016. – Vol. 31, №11. – P. 1338-1344.

109. Secondary prevention of cervical cancer / Basu P. [et al] // *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* – Feb, – 2018. – Vol. 47. - P. 73-85.

110. Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females /Moscicki A.B. [et al] // *JAMA.* – Jun. – 2001. – Vol. 285, № 23. – P. 2995-3002.

111. The Impact of Triage for Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance with Human Papillomavirus Testing in Cervical Cancer Screening in Japan / Fujiwara H. [et al] // *Asian Pac J Cancer Prev.* – Jan. – 2019. – Vol. 20, № 1. – P. 81-85.

112. Genotype distribution and prevalence of human papillomavirus among women with cervical cytological abnormalities in Xinjiang, China / Wang J. [et al] // *Hum Vaccin Immunother.* – 2019. – Vol.15, № 7-8. – P. 1889-1896.

113. Prevalence of "unclassified" HPV genotypes among women with abnormal cytology / Annunziata C. [et al] // *Infect Agent Cancer.* – Jul. – 2018. – Vol. 24. – P. 13-26.

114. Viral DNA load, physical status and E2/E6 ratio as markers to grade HPV16 positive women for high-grade cervical lesions / Cricca M. [et al] // *Gynecol Oncol.* – Sep, – 2007. – Vol.106, №3. – P. 549-557.

115. Bax and Bak expression in cervical smears of women with low-and high-risk HPV types: A study of 120 cases / Klapsinou E. [et al] // *J Cytol.* – Oct-Dec. – 2015. – Vol. 32, №4. – P. 223-229.

116. Rapid clearance of human papillomavirus and implications for clinical focus on persistent infections. Proyecto Epidemiologico Guanacaste Group / Rodriguez A.C. [et al] // *J Natl Cancer Inst.* – Apr, – 2008. – Vol. 100. – P. 513-517.

117. Low-level persistence of human papillomavirus 16 DNA in a cohort of closely followed adolescent women / Weaver B. [et al] // *J Med Virol.* – Aug. – 2011. – Vol. 83, №8. – P.1362-1369.

118. The society for lower genital tract disorders since 1964. Updated Consensus Guidelines for Managing Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors. Reprinted. – Apr. – 2013. – Vol. 13.

119. Chlamydia trachomatis infection and persistence of human papillomavirus / Silins I. [et al] // *Int J Cancer.* – Aug. – 2005. – Vol. 116. – P. 110-115.

120. Incidence, duration, and reappearance of type-specific cervical human papillomavirus infections in young women / Insinga R.P. [et al] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – Jun. – 2010. – Vol. 19, №6. – P. 1585-1594.

121. Chlamydia Trachomatis Infection-Associated Risk of Cervical Cancer: A Meta-Analysis / Zhu H. [et al] // *Medicine (Baltimore).* – Mar. – 2016. – Vol. 95, №13.

122. Detection of Chlamydia trachomatis and herpes simplex virus type 1 or 2 in cervical samples in human papilloma virus (HPV)-positive and HPV-negative women / Finan R.R. [et al] // *Clin Microbiol Infect.* – Sep. – 2006. – Vol. 12, №9. – P. 927-930.

123. Cytologic surveillance versus immediate colposcopy for women with a cervical smear diagnosis of low-grade squamous intraepithelial lesion in a poor setting in Nigeria / Ajah L.O. [et al] // *Targets Ther.* – Nov. – 2014. – Vol. 7. – P. 2169-2173.

124. Risks of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or invasive cancers in ASCUS women with different management: a population-based cohort study / Tai Y.J. [et al] // *J Gynecol Oncol.* – Jul. – 2018. – Vol. 29, № 4. – P. 55.

125. Utility of human papillomavirus L1 capsid protein and HPV test as prognostic markers for cervical intraepithelial neoplasia 2+ in women with persistent ASCUS /LSIL cervical cytology / Ki E.Y. [et al] // *Int J Med Sci.* – Aug. – 2019. – Vol.16, №8. – P. 1096-1101.

126. Epidemiology and genotype distribution of human papillomavirus (HPV) in Southwest China: a cross-sectional five years study in non-vaccinated women / Tang Y. [et al] // *Virol J.* – Apr. – 2017. – Vol.14. – P. 84.

127. Prospective follow-up of 2,065 young unscreened women to study human papillomavirus incidence and clearance / Schmeink C.E. [et al] // *Int J Cancer*. – Jul. – 2013. – Vol. 133, №1. – P.172-181.

128. Impact of alternative management policies on health-related quality of life in women with low-grade abnormal cervical cytology referred for colposcopy / Whynes D.K. [et al] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*– 2013. – Vol. 169, № 1. – P. 88–92.

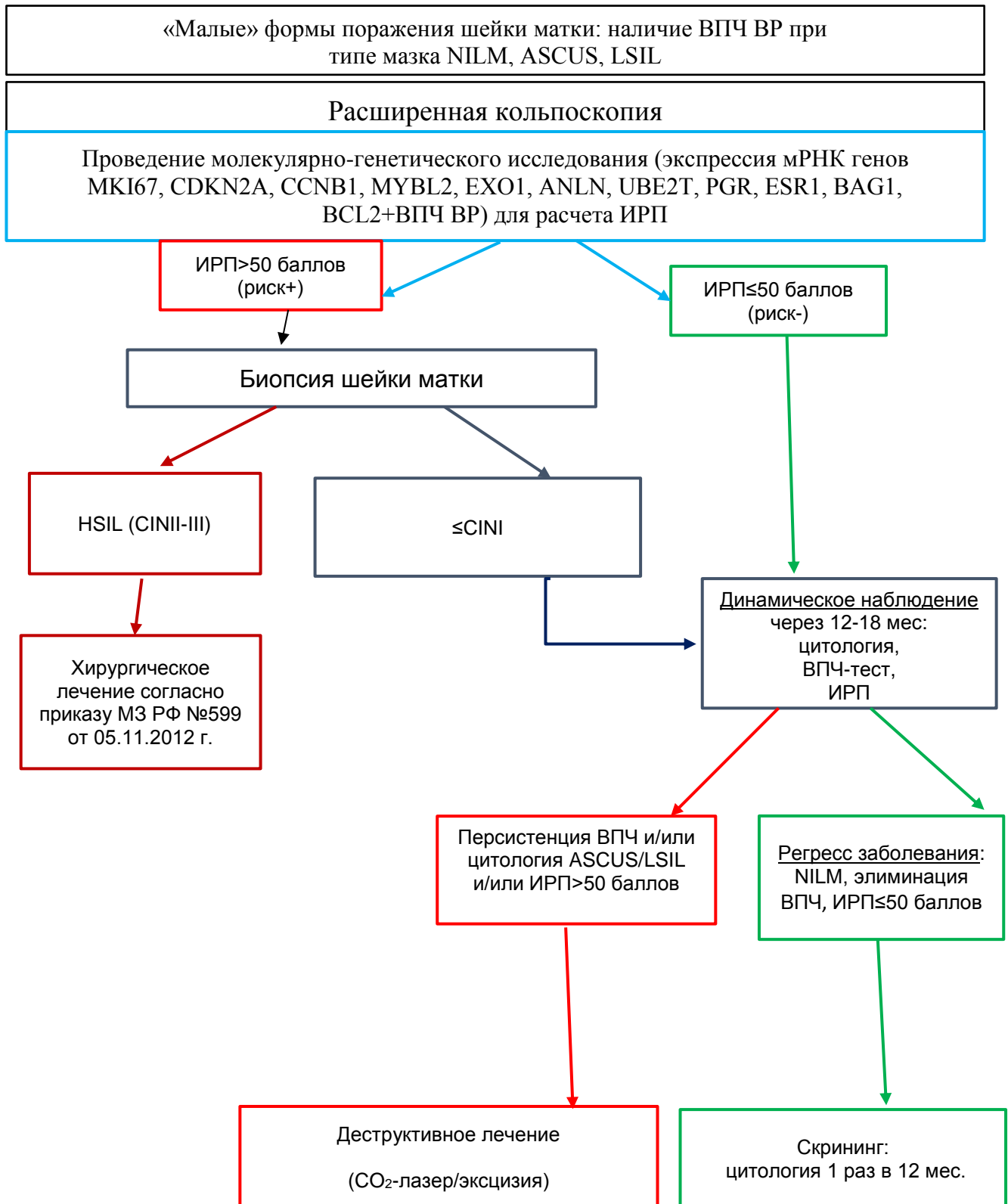
129. Health-related quality of life as measured by the EQ-5D in the prevention, screening and management of cervical disease: A systematic review / Ó Céilleachair A. [et al] // *Qual Life Res*. – Nov. 2017 – Vol. 26, №11. – P. 2885-2897.

130. Health utilities lost and risk factors associated with HPV-induced diseases in men and women: the HPV Italian collaborative study group / Marcellusi A. [et al] // *Clin Ther*. – Jan. – 2015. – Vol. 37, № 1. – P. 156–167.

131. Quality of life in women with cervical precursor lesions and cancer: a prospective, 6-month, hospital-based study in China / Zhao Z.M. [et al] // *Chin J Cancer*. – Jul. – 2014. – Vol. 33, №7. – P. 339-345.

132. Validation of EQ-5D in patients with cervical cancer in Taiwan / Lang H.C. [et al] // *Support Care Cancer*. – Oct. – 2010. – Vol. 18, №10. – P. 1279-1286.





Алгоритм ведения пациенток с «малыми» формами поражения эпителия  
шейки матки с учетом индекса риска прогрессии (ИРП)









## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

**Диагностическая панель уровня экспрессии мРНК генов у пациенток с  
«малыми» и «тяжелыми» поражениями шейки матки**

	<b>Функции мРНК</b>	<b>Название мРНК</b>	<b>Изменение уровня экспрессии мРНК</b>	
<b>NILM</b>	Рецепторный аппарат	<b>ESR1</b>		
	Апоптоз	<b>BAG</b>		
<b>ASCUS</b>	Пролиферация, митоз, регуляция клеточного цикла	<b>MYBL2</b>		
		<b>CDKN2A</b>		
	Репликации, репарации ДНК	<b>EXO1</b>		
		<b>TOP2A</b>		
	Организация цитоскелета, миграция, инвазия	<b>ANLN</b>		
	Супрессор опухолей в эпителиальных клетках	<b>SERPINB5</b>		
	Иммунитет	<b>PD-L1</b>		
	Рецепторный аппарат	<b>EGFR</b>		
	Рецепторный аппарат	<b>ESR1</b>		
	Апоптоз	<b>BAG1</b>		
<b>LSIL</b>	Пролиферация, митоз, регуляция клеточного цикла	<b>CDKN2A</b>		
		<b>MYBL2</b>		
		<b>MKI67</b>		
		<b>CCNB1</b>		
		<b>CDK1</b>		
	Репликации, репарации ДНК	<b>EXO1</b>		
		<b>TOP2A</b>		
	Утилизации белков	<b>UBE2T</b>		

	Организация цитоскелета, миграция, инвазия	<b>ANLN</b>	
	Иммунитет	<b>PD-L1</b>	
	Супрессор опухолей в эпителиальных клетках	<b>SERPINB5</b>	
	Рецепторный аппарат	<b>EGFR</b>	
	Рецепторный аппарат	<b>ESR1</b>	
	Апоптоз	<b>BAG1</b>	
<b>HSIL</b>	Пролиферация, митоз, регуляция клеточного цикла	<b>CDKN2A</b>	
		<b>MYBL2</b>	
		<b>MKI67</b>	
		<b>CCNB1</b>	
		<b>CDK1</b>	
		<b>KIF14</b>	
	Репликации, репарации ДНК	<b>EXO1</b>	
		<b>TOP2A</b>	
	Утилизации белков	<b>UBE2T</b>	
	Организация цитоскелета, миграция, инвазия	<b>ANLN</b>	
	Иммунитет	<b>PD-L1</b>	
	Супрессор опухолей в эпителиальных клетках	<b>SERPINB5</b>	
	Рецепторный аппарат	<b>EGFR</b>	
	Транскрипционный фактор проонкоген	<b>MYC</b>	
	Рецепторный аппарат	<b>ESR1</b>	
		<b>PGR</b>	
	Апоптоз	<b>BAG1</b>	
		<b>BCL2</b>	
Пролиферация, митоз, регуляция клеточного цикла	<b>CCND1</b>		

## Опросник по здоровью EQ-5D-5L (EuroQol Group)

## 1 часть опросника

## 1. ПОДВИЖНОСТЬ

- Я не испытываю никаких трудностей при ходьбе
- Я испытываю небольшие трудности при ходьбе
- Я испытываю умеренные трудности при ходьбе
- Я испытываю большие трудности при ходьбе
- Я не в состоянии ходить

## 2. УХОД ЗА СОБОЙ

- Я не испытываю никаких трудностей с мытьем или одеванием
- Я испытываю небольшие трудности с мытьем или одеванием
- Я испытываю умеренные трудности с мытьем или одеванием
- Я испытываю большие трудности с мытьем или одеванием
- Я не в состоянии сам (-а) мыться или одеваться

3. ПРИВЫЧНАЯ ПОВСЕДНЕВНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ *(например: работа, учеба, работа по дому, участие в делах семьи, досуг)*

- Моя привычная повседневная деятельность дается мне без труда
- Моя привычная повседневная деятельность для меня немного затруднена
- Моя привычная повседневная деятельность для меня умеренно затруднительна
- Моя привычная повседневная деятельность для меня очень затруднительна
- Я не в состоянии заниматься привычной повседневной деятельностью

## 4. БОЛЬ/ДИСКОМФОРТ

- Я не испытываю боли или дискомфорта
- Я испытываю небольшую боль или дискомфорт
- Я испытываю умеренную боль или дискомфорт
- Я испытываю сильную боль или дискомфорт

Я испытываю чрезвычайно сильную боль или дискомфорт

### 5. ТРЕВОГА/ДЕПРЕССИЯ

Я не испытываю тревоги или депрессии

Я испытываю небольшую тревогу или депрессию

Я испытываю умеренную тревогу или депрессию

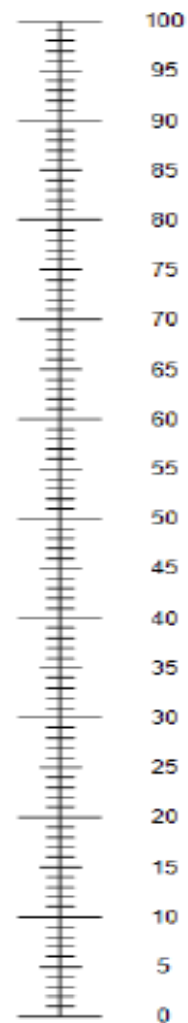
Я испытываю сильную тревогу или депрессию

Я испытываю крайне сильную тревогу или депрессию

### 2 часть опросника

*Наилучшее состояние  
здоровья, которое можно  
представить*

*Состояние вашего здоровья на сегодня*



*Наихудшее состояние  
здоровья, которое можно  
представить*