

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ  
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ЦЕНТР АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ  
ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И.КУЛАКОВА» МИНИСТЕРСТВА  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

**Андреев Александр Олегович**

Тактика ведения пациенток с плоскоклеточными поражениями шейки матки  
с учетом определения генотипа и вирусной нагрузки ВПЧ

3.1.4. - акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**  
доктор медицинских наук  
**Байрамова Г.Р.**

**Москва, 2024**

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Актуальность исследования.....	12
1.2. Вирус папилломы человека как многофакторный предиктор развития поражений шейки матки.....	15
1.3. Географические особенности распространенности различных генотипов ВПЧ.....	18
1.4. Качественное и количественное определение ВПЧ – расхождение мнений.....	20
1.5. Корреляция вирусной нагрузки ВПЧ между мазком из цервикального канала и биоптированным фрагментом пораженной ткани шейки матки.....	22
1.6. Интерпретация результатов тестирования на ВПЧ при выявлении нескольких генотипов ВПЧ .....	24
1.7. Перспективы расширения диагностического диапазона генотипирования ВПЧ.....	27
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	29
2.1. Материал исследования.....	29
2.2. Методы исследования.....	31
2.3. Методы статистической обработки данных .....	40
2.4. Дизайн исследования.....	43
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	45
3.1. Результаты ретроспективного исследования.....	45
3.1.1. Распространенность генотипов ВПЧ.....	45
3.1.2. Встречаемость генотипов ВПЧ в зависимости от степени поражения шейки матки.....	47
3.1.3. Взаимосвязь между количеством выявляемых генотипов ВПЧ и степенью тяжести поражений шейки матки.....	53

3.1.4. Оценка биоразнообразия генотипов ВПЧ в зависимости от гистологически верифицированного диагноза.....	54
3.1.5. Особенности встречаемости различных количественных степеней вирусной нагрузки ВПЧ в зависимости от обнаруженного генотипа ВПЧ и степени поражения шейки матки.....	61
3.1.6. Интерпретация рисков развития патологии шейки матки в зависимости от выявленной вирусной нагрузки ВПЧ.....	66
3.1.7. Оценка эффективности диагностической панели генотипирования ВПЧ в отношении зарегистрированных и потенциально пропущенных случаев поражений шейки матки.....	70
3.2. Результаты одномоментного поперечного исследования.....	74
3.2.1. Клинико-anamнестическая характеристика пациенток.....	74
3.2.2. Результаты цитологического исследования.....	75
3.2.3. Результаты расширенной кольпоскопии.....	75
3.2.4. Особенности распределения ВПЧ.....	77
3.2.5. Сравнительный анализ ВПЧ-тестирования в эпителии цервикального канала и гистологических образцах.....	79
3.2.6. Анализ вирусной нагрузки ВПЧ в эпителии цервикального канала и гистологических образцах.....	82
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРОВЕДЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....	85
ВЫВОДЫ.....	103
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	104
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	105
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	106
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	127

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность проблемы

Согласно последним статистическим данным рак шейки матки (РШМ) продолжает занимать лидирующие позиции в структуре женской онкологической заболеваемости. Только за 2020 год в Российской Федерации было выявлено более 15 тысяч новых случаев РШМ [1]. При этом наибольший удельный вес заболеваемости приходится на женщин репродуктивного возраста – 30-34 лет. Эти данные согласуются и с общемировой тенденцией. Так, по данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) 2021 года сообщается о том, что рост заболеваемости РШМ в 2020 году составил 6%, а смертности – 9% [2].

Рак шейки матки – один из немногих видов рака, для которого существуют рекомендации по проведению скринингу среди населения. Скрининг на РШМ обладает высокой эффективностью в силу длительного периода предраковых заболеваний, возможности эффективного их лечения и наличия достаточно чувствительных и специфичных методов диагностики. В настоящее время многие исследователи склоняются к выводу о том, что первичное проведение тестирования на ДНК ВПЧ является более предпочтительным методом скрининга на РШМ по сравнению с цитологическим исследованием ввиду его более высокой чувствительности и значимой отрицательной прогностической ценности в отношении развития предраковых поражений шейки матки - HSIL (плоскоклеточные интраэпителиальные поражения высокой степени, high grade squamous intraepithelial lesions).

Как известно, основным этиологическим фактором развития РШМ является вирус папилломы человека (ВПЧ). В настоящее время считается, что практически в 100% случаев РШМ ассоциирован с ВПЧ [3].

На сегодняшний день в мире ВПЧ классифицируют на генотипы высокого и низкого канцерогенного риска. Согласно российским клиническим рекомендациям (2020 г) к ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) относятся 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 генотипы [4]. Вышеперечисленные генотипы ВПЧ характеризуются разной распространенностью в структуре заболеваемости плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки (SIL). Так, по данным разных авторов 16, 18, 31, 33, 52 генотипы ВПЧ встречаются значительно чаще и ассоциируются с более тяжелым течением по сравнению с остальными типами ВПЧ. При этом также следует отметить, что до 70% РШМ во всем мире вызывается ВПЧ 16 и 18 типов [136, 140].

Следует отметить, что большинство опубликованных работ демонстрирует абсолютное доминирование 16 генотипа ВПЧ вне зависимости от страны, в которой проводилось исследование. Однако в зависимости от географического региона исследования меняется картина распространенности генотипов ВПЧ, следующих по представленности за 16 типом [5]. Кроме того, в настоящее время до сих пор не определена роль количественного анализа ДНК ВПЧ в отношении развития и прогрессии плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки, несмотря на то, что существуют убедительные доказательства наличия сильной положительной корреляционной связи между уровнем вирусной нагрузки ВПЧ и степенью тяжести поражений шейки матки. На сегодняшний день в Российской Федерации не существует ни одного крупного популяционного исследования в этом направлении.

### **Степень разработанности темы исследования**

Последние опубликованные в мире исследования свидетельствуют о том, что структура лидирующих генотипов ВПЧ при выявлении различных стадий поражений шейки матки может отличаться в зависимости от географического региона. Степень различий в представленности генотипов

ВПЧ обладают значимой вариабельностью. Так, в мировой литературе представлены публикации, результаты которых демонстрируют, что до 73% включенных в исследование образцов РШМ не были ассоциированы с 16 и 18 генотипами ВПЧ, признанными наиболее онкогенными.

На сегодняшний день не достигнуто единого мнения в отношении феномена одновременного выявления двух и более генотипов ВПЧ. Существуют две диаметрально противоположные теории в отношении прогноза развития и прогрессии плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки. Тем не менее, большинство исследований, изучающих влияние выявления нескольких генотипов ВПЧ на больших выборках пациенток, основанных на гистологической верификации диагноза, свидетельствуют о том, что с увеличением количества детекций генотипов ВПЧ уменьшается риск развития HSIL.

Перспективным научным интересом является изучение роли количественного определения ВПЧ в отношении прогноза развития и прогрессии поражений шейки матки. Несмотря на приведенные в научном сообществе убедительные доказательства диагностической эффективности определения вирусной нагрузки ВПЧ, многие разработанные и валидированные тест-системы не учитывают количественный показатель ДНК ВПЧ, проводя лишь генотипирование ВПЧ.

### **Цель исследования**

Усовершенствовать подход к ведению пациенток с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки на основе определения диагностической значимости генотипов и вирусной нагрузки ВПЧ.

### **Задачи исследования**

1. Изучить клинико-anamнестические данные ВПЧ-позитивных женщин, обратившихся в научно-поликлиническое отделение

2. Провести ретроспективный анализ распространенности ВПЧ, уровня вирусной нагрузки и выявления одного или нескольких генотипов ВПЧ при плоскоклеточных интраэпителиальных поражениях шейки матки за период 2012-2022гг.
3. Провести сравнительный анализ эффективности использования диагностических тест-систем для детекции ДНК 12-ти и 21 генотипа ВПЧ
4. Изучить клиничко-диагностические параллели определения генотипов ВПЧ в парных образцах биопсийного материала шейки матки и мазков из цервикального канала.
5. Оптимизировать тактику ведения пациенток с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки с учетом полученных результатов.

#### **Научная новизна исследования**

На масштабной выборке проведен ретроспективный анализ распределения ВПЧ: структура генотипирования и роль вирусной нагрузки при различных ВПЧ-ассоциированных поражениях шейки матки.

Показано, что одновременная детекция нескольких генотипов ВПЧ сопряжена с выявлением плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки низкой степени тяжести.

Впервые проведен сравнительный анализ диагностических тест-систем, включающих 12 и 21 генотип ВПЧ и проанализированы возможные упущенные случаи ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки.

Впервые проведен анализ корреляции результатов ВПЧ-тестирования с качественным и количественным его определением в парных образцах, полученных при проведении прицельной биопсии шейки матки и забора эпителиальных клеток из цервикального канала.

#### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Определена структура лидирующих генотипов ВПЧ при ВПЧ-

ассоциированных заболеваниях шейки матки. Установлена связь между выявлением двух и более генотипов ВПЧ и развитием LSIL (плоскоклеточные интраэпителиальные поражения низкой степени). Доказана роль вирусной нагрузки ВПЧ в диагностике плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки. Показана значимость применения диагностических тест-систем, включающих в себя широкий спектр генотипирования ВПЧ.

С учетом полученных результатов разработан алгоритм ведения пациенток с SIL шейки матки.

### **Методология и методы исследования**

Данная научно-квалификационная работа проведена на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (далее – Центр). Проведение диссертационной работы одобрено локальным этическим комитетом Центра.

Были проанализированы данные 24 457 пациенток, прошедших тестирование на ДНК ВПЧ в период с 2012 по 2022 гг. в условиях Центра. В ретроспективное исследование включены 5700 ВПЧ-позитивных пациенток, из которых у 819 женщин проводилась гистологическая верификация диагноза. В проспективное исследование включены 99 ВПЧ-позитивных пациенток с патоморфологическим заключением гистологического исследования биоптированных фрагментов шейки матки. Проводились современные методы обследования пациентов: клинический (сбор анамнеза, общий и акушерско-гинекологический осмотры), тестирование на ВПЧ методом ПЦР в режиме реального времени, проведение жидкостной цитологии, выполнение расширенной кольпоскопии, прицельной биопсии шейки матки. Специальным методом исследование было тестирование на ДНК ВПЧ методом ПЦР в режиме реального времени парных образцов клеток эпителия цервикального канала и гистологического материала шейки матки.



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

1. Вирус папилломы человека встречается у каждой четвертой пациентки репродуктивного возраста. Наиболее распространенными являются 16, 44, 31 генотипы ВПЧ. Наиболее характерными генотипами ВПЧ при лидирующих позициях 16 типа являются: при хроническом цервиците – 51 и 56; при LSIL – 31 и 51; при HSIL – 31, 33 и 44 генотипы. У каждой третьей пациентки определяется два и более генотипа ВПЧ, которые чаще ассоциируются с LSIL.
2. Определение уровня вирусной нагрузки является необходимым дополнительным диагностическим методом. Высокая вирусная нагрузка ВПЧ вне зависимости от генотипа является фактором риска развития HSIL. Показатель вирусной нагрузки ВПЧ не коррелирует с количеством одновременно обнаруженных генотипов.
3. Расширение спектра генотипирования тест-системы (определение 21 типа ВПЧ) способствует уменьшению риска диагностических ошибок при LSIL (14,1%) и HSIL (16,8%).
4. Обнаружение ДНК ВПЧ в цервикальном канале и биопсийном образце шейки матки наблюдается в 49,1% случаев и увеличивается с повышением вирусной нагрузки и степени тяжести патологии шейки матки (с 28,3% - при хроническом цервиците до 67,7% при HSIL). Увеличение вирусной нагрузки ВПЧ на один lg повышает вероятность совпадения результатов ВПЧ-тестирования парных образцов из цервикального канала и биопсийного материала шейки матки на 9,3%.

### **Личный вклад автора**

Автор принимал непосредственное участие во всех этапах научного исследования: от выбора темы научно-квалификационной работы и разработки дизайна исследования до подготовки материалов к публикации и защите диссертации. Автором проведен обзор современной научной

литературы, сбор образцов биологического материала. Диссертант самостоятельно выполнил статистический анализ данных и систематизацию полученных результатов.

### **Соответствие диссертации паспорту полученной специальности**

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.1.4. «Акушерство и гинекология». Результаты проведенной научно-квалификационной работы соответствуют направлениям исследований в рамках специальности, в частности 1, 4 и 5 пунктам паспорта «Акушерство и гинекология».

### **Апробация работы**

Материалы диссертационной работы доложены на межклинической конференции научно-поликлинического отделения (14.02.2024) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (19.02.2024, протокол №2). Результаты работы представлены на XXIX Всероссийском конгрессе «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы» (Москва, 29–31.03.2023), XVI Региональном научно-образовательном форуме «Мать и Дитя – 2023» (Санкт-Петербург, 28-30.06.2023).

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

Результаты проведенной диссертационной работы внедрены и используются в практической деятельности научно-поликлинического отделения ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Материалы диссертации включены в лекции и учебные курсы в рамках дополнительного профессионального образования.

## **Публикации**

По теме диссертационного исследования опубликовано 6 печатных работ, из них 6 статей в рецензируемых изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации.

## **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 127 страницах печатного текста, состоит из оглавления, введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Диссертационная работа иллюстрирована 26 рисунками и 15 таблицами. Библиография содержит 183 источника литературы, в том числе 13 отечественных и 170 зарубежных авторов.

## **Глава 1. Обзор литературы**

### **1.1. Актуальность исследования**

На сегодняшний день рак шейки матки (РШМ) остается одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний среди женщин репродуктивного возраста [129, 130, 155]. Тенденции последних лет демонстрируют, что несмотря на внедрение программы скрининга во многих развитых странах и проведение крупных многоцентровых исследований, посвященных поискам новых методов лечения и ранней диагностики патологии шейки матки, заболеваемость и смертность от РШМ с каждым годом продолжает увеличиваться. Так, в настоящее время в мире проживает 2,869 миллиарда женщин старше 15 лет, входящие в группу риска по развитию РШМ [6].

Рак шейки матки – один из немногих видов рака, для которого существуют рекомендации по скринингу среди населения. Скрининг РШМ обладает высокой эффективностью в силу длительного периода предраковых заболеваний, возможности эффективного их лечения и наличия достаточно чувствительных и специфичных методов диагностики [156, 161]. Так, в рамках скрининга РШМ наряду с цитологическим методом исследования применяется тестирование на ВПЧ. Следует отметить, что ВПЧ занимает второе место в мире в рейтинге этиологии раковых заболеваний и ассоциирован с 4,5% всех злокачественных новообразований, выявляемых у человека вне зависимости от гендерной принадлежности [7, 8]. Кроме того, с каждым годом увеличивается список злокачественных новообразований (ЗНО), ассоциированных с ВПЧ [114, 116, 127, 153, 154]. Так, согласно результатам последних исследований положительный ВПЧ-статус был связан с увеличенным риском развития рака мочевого пузыря [7]. Результаты недавно опубликованных исследований также демонстрируют, что рак ротоглотки, традиционно ассоциируемый с табакокурением, в 70% случаев вызваны персистенцией ВПЧ [8]. Еще одним малоизвестным, но чрезвычайно интересным фактом является то, что до 22% образцов

плацентарной ткани ВПЧ-положительных женщин, рожавших через естественные родовые пути, инфицированы ВПЧ [9]. Кроме того, в мировой литературе встречаются сообщения, свидетельствующие о том, что ДНК ВПЧ обнаруживают также в ротовой полости новорожденных [169, 170, 171], пуповинной крови [173, 174], грудном молоке матери [172], сперматозоидах [175, 176]. В настоящее время неизвестны возможные патофизиологические механизмы влияния ВПЧ на характеристики иммунного ответа матери и новорожденного. Тем не менее, наиболее ассоциированным с ВПЧ злокачественным новообразованием является рак шейки матки. С каждым годом регистрируется все больший процент ВПЧ-положительного РШМ: с 5,9% в 1990 г., 92,9% в 2010 г. до 99% в 2020 г. [10, 11]. Тенденция к увеличению частоты ВПЧ-положительных случаев РШМ связана с усовершенствованием методик определения ДНК вируса. Последние опубликованные данные сообщают о чувствительности теста на ВПЧ в отношении развития HSIL, превышающей 90%, а отрицательный ВПЧ-статус снижает риск развития поражений шейки матки до 0,15% в течение 5 лет с момента проведения тестирования на ДНК ВПЧ [12].

Известно, что вирус папилломы человека – один из наиболее распространенных в мире возбудителей инфекций, передаваемых половым путем. Как известно, инфицирование ВПЧ эпителия шейки матки начинается с базального пласта клеток [166, 167]. Следует отметить, что лишь незначительное количество копий ДНК ВПЧ поддерживается в базальном слое клеток, в то время как вирусные частицы продуцируются позже, в верхних эпителиальных слоях [168]. Вирусные геномы локализуются в ядре и реплицируются до стабильного количества, которое, как считается, составляет в среднем ~50–200 копий на клетку [162, 163]. Эти геномы сохраняются в виде внехромосомных кольцевых плазмид, которые реплицируются в среднем один раз за клеточный цикл и со временем интегрируются в геном хозяина. В базальном эпителиальном слое экспрессия генов остается низкой, что ограничивает вероятность иммунного

обнаружения. Однако когда клетки дифференцируются и мигрируют к поверхности эпителия, создаются благоприятные условия для экспрессии вирусных генов и увеличения до  $>10^3$  копий вирусного генома с образованием вирусных частиц [160]. При этом жизненный цикл вируса протекает без виремии, гибели клеток и воспаления, что делает ВПЧ практически невидимым для иммунной системы человека. Репликация генома ВПЧ осуществляется при помощи ферментов-полимераз хозяина, а для производства вирионов необходимы факторы транскрипции человека, которые экспрессируются во время дифференцировки. Вышеописанные патофизиологические механизмы ВПЧ со временем непреднамеренно приводят к канцерогенезу, поскольку происходит существенное перекрестное воздействие на клеточные функции, повышающее восприимчивость клеток к онкогенезу. Кроме того, очевиден тот факт, что ассоциированные с ВПЧ поражения шейки матки развиваются при накоплении мутаций в геноме ВПЧ, когда происходит репликация вируса в клетках хозяина [121, 122]. Также необходимо отметить тот факт, что даже на стадии интеграции вируса папилломы человека в клеточный геном могут возникать драйверные мутации ВПЧ, прекращающие жизненный цикл вируса. Таким образом, феномен самоэлиминации ВПЧ может быть объясним именно возникновением случайных мутаций в самом геноме ВПЧ. Однако, несмотря на это, частота мутаций ВПЧ относительно редкая – приблизительно в 1000 раз реже по сравнению с РНК-вирусами и всего в 500 раз чаще мутаций клеток зародышевой линии человека [13, 159].

В настоящее время многие исследователи склоняются к выводу о том, что первичное проведение тестирования на ДНК ВПЧ является более предпочтительным методом скрининга на РШМ по сравнению с цитологическим исследованием ввиду его более высокой чувствительности и значимой отрицательной прогностической ценностью в отношении развития HSIL [14-17, 109, 113, 126]. Однако в ряде случаев наблюдается продуктивная фаза ВПЧ-инфекции, при которой происходит продуцирование

новых вирионов без встраивания ДНК вируса в геном хозяина, что снижает специфичность тестирования на ДНК ВПЧ в среднем на 3-5% по сравнению с цитологическим методом исследования [18, 110, 161]. Вместе с тем, спектр возможностей тестирования на ВПЧ значительно шире ввиду того, что помимо определения ВПЧ-статуса и генотипирования существуют и многие другие факторы, способные потенциально повысить диагностическую и прогностическую эффективность программ скрининга РШМ [18, 19, 131].

## **1.2. Вирус папилломы человека как многофакторный предиктор развития поражений шейки матки**

Следует отметить, что ВПЧ – мультифакторный предиктор развития плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки. Иными словами, для верной интерпретации положительного ВПЧ-теста недостаточно знать лишь выявленный генотип. Одними из наиболее ценных диагностических факторов являются количественное определение ДНК-копий ВПЧ, количество выявленных генотипов ВПЧ, а также особенности их географического распределения [20, 119].

Генотипы ВПЧ также различаются по частоте интеграции в геном хозяина. К примеру, интеграция ВПЧ в геном клетки наблюдается в 83% ВПЧ-положительных случаев рака шейки матки. Однако при РШМ, ассоциированном с 16 генотипом ВПЧ, интеграция регистрируется только в 76% случаев и практически у всех пациенток с выявленным ВПЧ 18 типа. Таким образом, данные исследований демонстрируют, что точные механизмы канцерогенеза могут различаться даже среди генотипов одной филогенетической группы [21, 22, 158].

При комплексной оценке всех вышеперечисленных характеристик достигается наиболее достоверная интерпретация результатов тестирования на ВПЧ, позволяющая выработать наиболее эффективную тактику ведения пациенток и избежать необоснованных оперативных вмешательств. Однако технические возможности диагностических методов исследования должны соответствовать теоретической базе, на основе которой происходит

аналитическая оценка результатов ВПЧ-тестирования. Так, выбор диагностической панели ВПЧ имеет чрезвычайно важное значение. Чем шире спектр проводимого генотипирования, тем достовернее результаты диагностического поиска ввиду того, что уменьшается вероятность пропустить тип ВПЧ, не включенный в список тест-системы, или проигнорировать одновременное выявление двух и более генотипов ВПЧ, что, как уже было доказано, значимо влияет на прогноз в отношении развития и прогрессии плоскоклеточных поражений шейки матки [23]. Согласно текущим клиническим рекомендациям допустимый спектр генотипирования тест-систем не должен ограничиваться менее двенадцатью генотипами ВПЧ. Тем не менее, на сегодняшний день идентифицировано 449 вариантов генома папилломавируса, из них 229 относятся к генотипам вируса папилломы человека и 220 к папилломавирусам, обнаруженных у животных. Библиотека генома папилломавирусов регулярно обновляется с 2013 года, и в мае 2023 обнаружены и добавлены новые 228-й и 229-й генотипы ВПЧ, в связи с чем возможно предположить выявление новых вариантов генотипа в будущем [24].

На сегодняшний день в мире принята классификация генотипов ВПЧ на две категории, соответствующих высокому и низкому канцерогенному риску. Согласно российским клиническим рекомендациям к ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) относятся 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 генотипы. Однако накопленный мировой опыт свидетельствует о том, что даже генотипы, входящие в группу высокого канцерогенного риска, обладают принципиально различным прогностическим профилем в отношении развития и прогрессии поражений шейки матки. Так, по данным разных авторов 16, 18, 31, 33, 52 генотипы ВПЧ встречаются значительно чаще и ассоциируются с более агрессивным течением по сравнению с остальными типами ВПЧ [19, 25, 26]. Тем не менее, особый акцент сконцентрирован на том факте, что до 70% РШМ во всем мире вызывается ВПЧ 16 и 18 типов [125]. В крупном систематическом



обзоре и метаанализе M. Farahmand et al. (2020 г.), включающем в себя 62 статьи и данные 21 402 пациенток, было проведено изучение распределения генотипов ВПЧ среди женщин преимущественно африканского и азиатского регионов. Обращает на себя внимание широкая диагностическая панель, включающая 52 генотипа ВПЧ. Так, среди ВПЧ высокого канцерогенного риска наиболее распространенными типами явились 16 (10,1%), 52 (7,9%), 53 (6,0%), 58 (5,6%), 18 (5,4%) и 31 (4,75%); ВПЧ низкого канцерогенного риска так же часто наблюдались, и среди них наиболее часто выявляемыми были 89 (7,0%), 50 (4,1%), 6 (3,6%), 54 (3,4%) и 71 (3,3%) типы ВПЧ [27]. Эти данные согласуются с результатами недавно опубликованного систематического обзора A. Seyoum et al. (2022 г.), где также отмечается особая роль 16, 18 и 52 типов ВПЧ в общей структуре распространенности ВПЧ. Показано, что среди 3 075 пациенток из 19 стран африканского континента 16 генотип ВПЧ был обнаружен в 13,8% всех случаев, 52 – в 9,9%, а 18 – в 9,0% [28]. Однако в ряде исследований лидирующие позиции по распространенности занимают другие типы ВПЧ. Например, в исследовании R.G. Campos et al. (2019 г.), в котором были проанализированы данные 883 ВПЧ-позитивных женщины, 51 генотип ВПЧ являлся доминирующим (28,6%), за которым следовали 16 (21,8%) и 31 (11,6%). При этом важно отметить, что 51 тип ВПЧ чаще ассоциировался с РШМ по сравнению с 16 генотипом (49,1% vs 30,9%), а 18 генотип в структуре распространенности среди рака шейки матки уступал 33 и 52 генотипам (4,0%, 6,6% и 6,3% соответственно) [26]. В литературе приведено значимое количество данных, демонстрирующих разницу в отношении риска развития поражений шейки матки в зависимости от выявленного генотипа. Так, исследование X. Wang et al. (2018 г) показало, что среди 1867 случаев выявленных SIL (плоскоклеточных интраэпителиальных поражений), ассоциированных с положительным ВПЧ-статусом, в случаях с диагностированным CIN III (n=714) и CIN II (n=625) доминировали 16 и 18 генотипы ВПЧ [32]. При этом в случаях с диагностированным CIN I (n=528) преобладали 33, 53, 56, 68 и 45 генотипы.

Наблюдая за 2968 случаями с выявленным одним или несколькими типами ВПЧ, авторы произвели расчет риска развития поражения шейки матки от CIN I до плоскоклеточного рака, на основе которого пришли к выводу, что наиболее канцерогенными типами ВПЧ являются 16, 18, 52 и 58.

### **1.3. Географические особенности распространенности различных генотипов ВПЧ**

Не менее важным фактором ВПЧ-инфекции является выявляемость типов ВПЧ в зависимости от их территориальной принадлежности. В настоящее время внимание многих исследователей обращено на то, что позиция в структуре поражений HSIL и LSIL, а также общая распространенность среди населения одного и того же генотипа ВПЧ существенно варьирует от региона к региону [108, 115, 117, 118, 123, 124]. Так, в недавно опубликованном систематическом обзоре С. Xia et al. (2021 г.) приводятся данные, демонстрирующие, что разница в канцерогенных свойствах и встречаемости одних и тех же типов ВПЧ существует даже в пределах разных административных субъектов внутри одной страны [64]. На примере проведенного в Китае исследования, в которое были включены данные 700 728 женщин, авторы показали, что встречаемость 16 генотипа ВПЧ варьировала от 1,7% до 8,5% в зависимости от региона страны, 52 генотип – от 0,7% до 5,8%, а 18 генотип – от 0,3% до 2,8%. Наиболее значимой явилась разница в структуре заболеваемости LSIL, HSIL и РШМ: в зависимости от исследуемого региона встречаемость ВПЧ 16 генотипа у женщин с LSIL варьировала от 4,7% до 34,3% всех случаев, с HSIL – от 15% до 60%, с РШМ – от 27,3% до 83,7%. Также авторы обратили внимание на то, что в ряде регионов до 50% всех выявленных случаев LSIL и до 20% случаев HSIL были ассоциированы с ВПЧ низкого онкогенного риска.

Однако у географических особенностей распределения генотипов ВПЧ может существовать определенная причина. Как известно, кроме типов ВПЧ могут существовать также их подтипы. Разнообразие последовательностей

также обнаружено внутри каждого типа ВПЧ, где внутритиповые варианты линий различаются на 1–10%, а сублинии различаются на 0,5–1% [65, 66]. Ввиду того, что ВПЧ – вирус с двухцепочечной ДНК, для репликации генома используется ДНК-полимераза человека, вследствие чего существенно снижается уровень частоты мутаций. Иными словами, изменения в геноме ВПЧ приобретаются медленно, определяя именно то количество типов ВПЧ, которое официально зарегистрировано на сегодняшний день. Случайные мутации, которые в конечном итоге происходят внутри вирусных типов, привели к появлению нуклеотидных полиморфизмов, содержащихся во внутритиповых вариантах ВПЧ. При изучении внутритиповых вариантов ВПЧ их называли африканскими, европейскими, азиатскими, азиатско-индейскими в зависимости от географического происхождения и этнической принадлежности населения [67]. Существует гипотеза, согласно которой влияние нуклеотидных вариаций, возникающих в различных генотипах ВПЧ, отражается в функциональных различиях и их патогенности [68, 69, 70, 71]. В настоящее время в мировой литературе представлено множество исследований, результаты которых свидетельствуют о том, что внутритиповые варианты ВПЧ 16 и 18 генотипов по-разному воздействуют на клетки эпителия, что выражается в значимой разнице в риске инфицирования и персистенции ВПЧ, а также в вероятности развития плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки и их прогрессии до РШМ [72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 150]. Так, по данным портала Papillomavirus Episteme (PaVE), варианты гена E6 ВПЧ 16 типа содержат не менее 17 нуклеотидных изменений в своей последовательности по отношению к эталонному варианту, тогда как в E7 зарегистрировано не менее 7 мутаций [80]. Полученные данные свидетельствуют о том, что ВПЧ 16 генотипа можно разделить на четыре основные генетические линии (A-D), каждая из которых может быть разделена на четыре сублинии (A1–4, B1–4, C1–4 и D1–4) [81]. В настоящее время учеными по всему миру накапливаются данные, демонстрирующие, что неевропейские варианты

ВПЧ 16 генотипа обладают более выраженными онкогенными свойствами вследствие их более частой ассоциации с высокодифференцированными поражениями шейки матки и инвазивными ЗНО [82, 83, 84, 85]. Так, в исследовании Mirabello L. Et al. (2016) была проанализирована связь вариантов ВПЧ 16 генотипа с риском развития предрака и рака шейки матки [72]. Авторы обнаружили, что среди включенных в исследование 3200 женщин 87,2% были инфицированы вариантом ВПЧ-16 А, включая европейские (А1–А2) и азиатские (А3-А4) варианты сублиний. Выявление вариантов А4 было достоверно связано с повышенным риском развития РШМ по сравнению с А1/А2 (ОШ = 3,16, 95% ДИ = 1,05–9,54,  $p = 0,04$ ). С другой стороны, пациентки с сублиниями, отличными от А (В, С, D), ассоциировались с более высокой частотой обнаружения CIN III и РШМ (ОШ = 6,87, 95% ДИ = 4,42–10,68,  $p < 0,0001$ ), что согласуется с теорией о том, что европейские варианты 16 генотипа ВПЧ связаны с более низким риском развития рака. В другом наиболее масштабном исследовании в этом направлении Clifford G. et al. (2019) изучили 7116 мазков из цервикального канала у женщин из 52 стран, положительных на ВПЧ 16 генотипа [81]. Авторы обнаружили, что линия А была наиболее распространенной и присутствовала в 78,7% образцов, за ней следовали линии D (9,2%), С (6,4%) и В (5,8%). Повышенный риск развития РШМ наблюдался для сублиний А3, А4 и D по сравнению с А1. При анализе ассоциаций с гистологическими типами РШМ сублиния D чаще встречалась при аденокарциноме, чем при плоскоклеточном раке [81].

Таким образом, для более точной оценки риска развития и прогрессии SIL необходимо располагать данными о территориальных особенностях распределения ВПЧ и их геномных вариантах.

#### **1.4. Качественное и количественное определение ВПЧ – расхождение мнений**

Как известно, ВПЧ обладает способностью к самоэлиминации,

особенно у женщин молодого репродуктивного возраста [151]. У женщин до 25 лет вероятность самоэлиминации ВПЧ может достигать 80% [86, 87, 88, 148]. При этом длительная персистенция ВПЧ, характеризующаяся его переходом из эпизодической в интегрированную фазу, является наиболее опасным фактором развития и прогрессии патологии шейки матки [112, 120, 145, 146]. Количественное определение ДНК-копий вируса в исследуемых образцах позволяет прогнозировать возможность элиминации ВПЧ – по мере возрастания вирусной нагрузки снижается вероятность самостоятельного благоприятного исхода ассоциированных с ВПЧ заболеваний шейки матки [93, 94]. Однако вирусная нагрузка является не только предиктором персистенции ВПЧ, но и возможным фактором развития и прогрессии SIL (squamous intraepithelial lesions) [90, 91, 92, 95, 96]. Так, в недавно опубликованном исследовании J. Suzick et al. (2019 г) сообщается о том, что высокая вирусная нагрузка 16 типа ВПЧ значительно чаще ассоциировалась с CIN III+ по сравнению с низкой вирусной нагрузкой. Также на основе результатов обследования 47 120 женщин были рассчитаны ассоциированные с уровнем вирусной нагрузки риски развития CIN II+ и CIN III+ для 13 высокоонкогенных типов ВПЧ [55]. Проанализировав полученные данные, авторы пришли к выводу, что наиболее онкогенными типами ВПЧ явились 16, 33 и 31, так как доля указанных генотипов в структуре заболеваемости CIN III+ составила 66,5%. Следует отметить, что с ростом вирусной нагрузки возрастала и вероятность развития CIN для каждого исследуемого генотипа. При этом высокая вирусная нагрузка 18, 35, 52 и 58 типов ВПЧ ассоциировалась с менее благоприятным прогнозом как в отношении CIN II+, так и CIN III+ по сравнению с низкой вирусной нагрузкой 16, 33 и 31 типов. Эти выводы согласуются с результатами исследования S. Lee et al. (2015 г), в рамках которого было проведено гистологическое исследование полученных в результате прицельной биопсии шейки матки и определение типа ВПЧ с его вирусной нагрузкой у 349 женщин, предварительно прошедших цитологическое исследование с заключением ASCUS

(атипичные клетки плоского эпителия неясного значения) [89]. На основе данных гистологического исследования авторы выделили три группы женщин: первая группа - отсутствие интраэпителиальных поражений или злокачественности (n=162), вторая группа - LSIL (n=135), третья группы – пациентки с HSIL (n=52). Диагностическая панель для определения типа ВПЧ включала в себя 13 высокоонкогенных типов: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 и 68 генотипы. Проанализировав распределение вирусной нагрузки в структуре поражений шейки матки авторы пришли к выводу, что степень выраженности SIL коррелирует с уровнем вирусной нагрузки. Подобная тенденция наблюдалась также в исследовании Y Liu et al. (2021 г.), в котором было продемонстрировано, как меняется уровень вирусной нагрузки в зависимости от степени поражения шейки матки поэтапно от NILM до CIN III. При низкой вирусной нагрузке NILM встречался в 65,6% случаев, в то время как CIN III в 12% образцов. Образцы, в которых вирусная нагрузка ВПЧ была определена как высокая, показали диаметрально противоположные результаты: 23,3% при NILM и 33,3% при CIN III [63].

Таким образом, определение вирусной нагрузки ВПЧ не менее важно для стратификации рисков возникновения и прогрессии SIL, чем проведение генотипирования.

### **1.5. Корреляция вирусной нагрузки ВПЧ между мазком из цервикального канала и биоптированным фрагментом пораженной ткани шейки матки**

В настоящее время обнаружение ДНК ВПЧ непосредственно в пораженной ткани шейки матки рассматривается как важный маркер вирусной активности, обладающий принципиальной прогностической ценностью в отношении вероятности развития предраковых и раковых поражений шейки матки [99, 100, 101]. Детекция ВПЧ в гистологическом образце более достоверно отражает истинный уровень контаминации вследствие того, что исследование проводится именно на пораженном

участке ткани, где этиологической причиной развития патологического процесса служит выявляемый генотип ВПЧ с определенной вирусной нагрузкой. Однако точного представления в разнице между регистрацией ДНК ВПЧ в мазке и в ткани до сих пор не существует. Тем не менее, проведенное Gordana Hales et al. (2017г) исследование в известной мере позволяет провести параллели между указанными способами детекции ДНК ВПЧ [101]. В исследование было включено 74 парных гистологических и цитологических образца рака шейки матки, которые впоследствии были протестированы на диагностической панели, включающей в себя 51 тип ВПЧ. Чрезвычайно интересными представляются результаты, свидетельствующие о том, что генотипы ВПЧ, вирусная нагрузка которых определялась как высокая в цитологических мазках, в 93% случаев регистрировались также в биоптированных фрагментах шейки матки. При этом выявленные в мазках генотипы ВПЧ с низкой вирусной нагрузкой в 78% случаев не определялись в гистологических образцах шейки матки. Авторы делают акцент на том факте, что тенденция к отсутствию обнаружения ДНК ВПЧ в пораженной ткани при изначально определенной низкой вирусной нагрузке ВПЧ прослеживается даже в отношении 16 генотипа ВПЧ. Так, в 11 из 15 (73,3%) случаев обнаружения низкой вирусной нагрузки 16 генотипа ВПЧ по данным исследования цитологических мазков детекции в гистологических образцах ткани не происходило. Кроме того, процент выявляемости двух и более типов ВПЧ в одном исследуемом образце был статистически значимо ниже в биоптированных фрагментах ткани по сравнению с цитологическими мазками (14% vs 47%,  $p < 0,0001$ ).

Таким образом, становится очевидным существование особенностей корреляции в генотипировании и определении вирусной нагрузки ВПЧ между мазками, полученными из цервикального канала, и биоптированными фрагментами шейки матки, которая в будущем может служить эффективным методом верификации ВПЧ-статуса пациентки и выработки наиболее верной тактики ведения в клинически неоднозначных ситуациях.

## **1.6. Интерпретация результатов тестирования на ВПЧ при выявлении нескольких генотипов ВПЧ**

Нередко наряду с выявлением одного типа ВПЧ в ряде случаев в клинической практике выявляется несколько типов ВПЧ, частота встречаемости которых может достигать 25%. В настоящее время в мировой литературе представлены достаточно противоречивые данные о роли выявления нескольких выявленных типов ВПЧ в структуре развития поражений шейки матки. Однако результаты многих недавно опубликованных работ свидетельствуют о том, что выявление нескольких генотипов ВПЧ не сопряжено с более высоким риском развития тяжелых поражений шейки матки [52, 111, 132]. Кроме того, в ряде работ представлены данные, на основании которых авторы делают вывод о том, что выявление нескольких типов ВПЧ коррелирует со значительно меньшим риском прогрессии SIL по сравнению с ПВИ, ассоциированной с одним генотипом. Так, в исследовании М. Bruno et al. (2020 г) проводили сравнительный анализ результатов прицельной биопсии шейки матки 360 пациенток с выявленным одним типом ВПЧ и 287 пациенток с двумя и более типами ВПЧ [52]. Согласно результатам гистологического исследования обнаружение нескольких типов ВПЧ ассоциировалось с CIN I у 60,4% женщин, с CIN II – в 43,7%, с CIN III – в 22,1%. Важно отметить, что не было выявлено ни одного случая РШМ с несколькими типами ВПЧ. При этом также проводился анализ выявленных типов ВПЧ в случаях с CIN III, ассоциированных с несколькими типами ВПЧ. Проанализировав полученные данные, авторы обнаружили, что два типа ВПЧ выявлялись у 82,6% женщин и три типа ВПЧ у 17,4% женщин с CIN III. Таким образом, среди всех случаев CIN III не было ни одного, ассоциированного с более чем 3 генотипами ВПЧ. При этом в мировой литературе встречаются также и противоположные результаты наблюдений: в недавно опубликованном корейском исследовании HSIL был достоверно более ассоциирован с



выявлением нескольких типов ВПЧ по сравнению с выявлением только одного генотипа (33,2%, 76/236 vs 18,3%, 33/180). Однако в данной работе игнорируется ряд деталей, не позволяющий принять точность расчетов за статистическую достоверность. Так, группу, включающую случаи с детекцией нескольких типов ВПЧ, были включены также случаи с выявлением только двух генотипов. На примере другого масштабного исследования в этом направлении четко прослеживается перспектива уменьшения частоты обнаружения HSIL с увеличением количества выявляемых генотипов ВПЧ. Исходя из результатов работы очевидно, что плато данной перспективы находится именно в точке выявления только двух генотипов ВПЧ, в которой частота обнаружения LSIL и HSIL приблизительно равна [97].

В настоящее время очевидна причинно-следственная связь при выявлении поражения шейки матки и одного генотипа ВПЧ. Однако при выявлении двух и более типов ВПЧ определить эту связь достаточно сложно. В последние годы в мире обсуждается гипотеза о том, что один тип ВПЧ вызывает одно поражение шейки матки. Иными словами, поражение шейки матки может быть обусловлено различными типами ВПЧ, при этом разные участки поражения могут быть ассоциированы с различными типами ВПЧ. Например, в исследовании W. Quint et al. (2012 г) проводилась лазерная микродиссекция 74 фиксированных формалином и залитых парафином биоптатов шейки матки с гистологически подтвержденными LSIL и HSIL [98]. В 50% случаев LSIL наблюдалась одна область поражения эпителиального пласта, за которую отвечал только один тип ВПЧ, в 37,5% случаев выявились две независимых друг от друга области поражения, за которые отвечали два разных типа ВПЧ, и в 12,5% случаев были обнаружены три разных области LSIL, каждая из которых была ассоциирована с разными генотипами. Таким образом, авторы сделали вывод о том, что для ВПЧ разных типов не характерно одновременное присутствие в одной и той же клетке, и на примере их исследования гипотезу «один тип ВПЧ – одно

поражение» можно считать подтвержденной.

Кроме того, рядом авторов выдвинута гипотеза, согласно которой между филогенетическими группами ВПЧ существуют определенные синергетические и антагонистические взаимодействия [102, 103, 104]. Теория была вдохновлена проводившимися ранее исследованиями и показавшими, что при проведении кластерного анализа на основе генотипирования ВПЧ у женщин, однажды инфицированной определенным генотипом ВПЧ, увеличивается вероятность контаминации типами ВПЧ, относящимся к той же филогенетической группе, что и при первой ПВИ, по сравнению с генотипами других филогенетических групп [105, 106]. Однако полученные результаты не обладали выраженными статистически значимыми закономерностями, выходящими за рамки обычной рандомизации данных. Следует также отметить, что исследования, проводимые в данном направлении, характеризуются высоким порогом сложности, так как чрезвычайно требовательны к размеру выборки исследуемой группы пациенток. Так, несмотря на кластеризацию генотипов ВПЧ на определенные филогенетические группы, количество исследуемых образцов должно соответствовать требованиям, предъявляемым к проводимым эпидемиологическим отделением. Большое количество филогенетических групп, включающих в себя множество генотипов ВПЧ, требует включения в исследование достаточного для проведения статистически значимого сравнительного анализа выборки.

Например, одним из частных проявлений вышеописанной теории является гипотеза о случайной кластеризации коинфицирующих генотипов ВПЧ, относящихся к одной филогенетической группе. Так, в одном из первых опубликованных по данной проблеме исследований Anil K Chaturvedi et al. (2005 г) были продемонстрированы результаты, свидетельствующие о том, что вероятность обнаружения двух и более генотипов ВПЧ внутри филогенетической группы А9 для 16 генотипа ВПЧ составила 43,6% по сравнению с 85,7% для 33 генотипа ВПЧ [103]. Кроме того, результаты

работы свидетельствуют о том, что для всей филогенетической группы A9 вероятность вовлечения в коинфицирование ВПЧ статистически значимо меньше по сравнению с любой другой филогруппой ВПЧ (55,2% vs 64,6%; ОШ: 0,67; 95% ДИ 0,48-0,93). Чтобы исключить потенциальное влияние низкой частоты коинфицирования 16 генотипа ВПЧ, авторы провели повторный статистический анализ, исключив из расчетов данные по 16 генотипу ВПЧ. Однако даже при скорректированном анализе тенденция для филогенетической группы A9 осталась прежней (OR (с учетом 16 типа ВПЧ) = 0,83; 95% ДИ 0,56–1,22; OR (без учета 16 типа ВПЧ) = 0,82; 95% ДИ 0,57–1,19).

### **1.7. Перспективы расширения диагностического диапазона генотипирования ВПЧ**

Как известно, повсеместно во всем мире принято делить ВПЧ на категории низкого и высокого онкогенного риска. Большинство современных валидированных диагностических тест-систем, качественно и/или количественно определяющих ДНК ВПЧ, обладают сравнительно небольшим спектром генотипирования, ограничиваясь, как правило, генотипами ВПЧ высокого онкогенного риска. Например, согласно действующим отечественным клиническим рекомендациям минимально допустимая диагностическая панель ВПЧ может определять двенадцать типов ВПЧ [4]. Однако ввиду существования географических особенностей распределения ВПЧ, индивидуальной вирулентности каждой отдельной сублинии различных генотипов ВПЧ и потенциального перекрестного взаимодействия между филогенетическими группами ВПЧ возможно предположить потенциальную необходимость в расширении диагностического спектра генотипирования ВПЧ [20]. С увеличением диагностических возможностей панелей генотипирования ВПЧ клиницисты смогут обладать более достоверной информацией о наблюдаемой ПВИ, рассчитывать более точный прогноз в отношении развития или прогрессии патологии шейки матки и,

соответственно, выбирать наиболее верную тактику ведения для каждого пациента. Так, в недавно опубликованном масштабном систематическом обзоре M. Farahmand et al. (2020 г.), включающем в себя 62 статьи и данные 21 402 пациенток, было проведено изучение распределения генотипов ВПЧ среди женщин преимущественно африканского и азиатского регионов [27]. Обращает на себя внимание широкая диагностическая панель, включающая 52 генотипа ВПЧ. Так, среди ВПЧ высокого канцерогенного риска наиболее распространенными типами явились 16 (10,1%), 52 (7,9%), 53 (6,0%), 58 (5,6%), 18 (5,4%) и 31 (4,75%); ВПЧ низкого канцерогенного риска так же часто наблюдались, и среди них наиболее часто выявляемыми были 89 (7,0%), 50 (4,1%), 6 (3,6%), 54 (3,4%) и 71 (3,3%) типы ВПЧ. Так, если из анализа исключить все генотипы ВПЧ низкого онкогенного риска, авторы статьи могли не принять во внимание до 22% ВПЧ-положительных случаев. Учитывая размер выборки, количество пропущенных случаев составляет до 4708 пациенток.

Таким образом, тестирование на ДНК ВПЧ – сложная многофакторная система, требующая внимания ко многим деталям и особенностям диагностики. Необходимо учитывать не только мультифакторность ВПЧ как предиктора плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки, но и технические возможности лабораторной службы, в частности, в виде спектра диагностической панели генотипирования ВПЧ.

## **Глава 2. Материалы и методы исследования**

### **2.1. Материал исследования**

Проведение исследования было одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ. Работа с материалом для исследования проводилась на базе научно-поликлинического отделения, 1 патологоанатомического отделения и лаборатории онкологической генетики, входящей в состав института репродуктивной генетики, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

С целью оценки эпидемиологических характеристик ВПЧ был проведен ретроспективный анализ 24 557 результатов ВПЧ-тестирования, полученных ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ в период с ноября 2011 года по апрель 2022 года. С учетом проведенного анализа, который основывался на критериях включения пациенток в исследование, выборка составила 5700 случаев ВПЧ-позитивных результатов пациенток.

Критерии включения в ретроспективный анализ:

- 1) Проведение тестирования на ВПЧ женщинам в возрасте >18 лет
- 2) Положительный результат ВПЧ-тестирования

Из 5700 ВПЧ-позитивных случаев в 819 был проведен ретроспективный анализ встречаемости патологии шейки матки различной степени тяжести, выявленной на основании проведения патоморфологического исследования биоптированных фрагментов шейки матки. Пациентки были разделены на 3 группы в зависимости от патоморфологического заключения:

- 1 группа – 341 женщина с LSIL;
- 2 группа – 292 пациентки с HSIL.
- 3 группа – 186 пациенток с хроническим цервицитом (группа

сравнения)



Рисунок 1. Выборка пациенток, включенных в ретроспективное исследование

Следует отметить, что наряду с ретроспективным анализом одним из фрагментов работы было проведение одномоментного поперечного исследования биологического материала пациенток, обратившихся в научно-поликлиническое отделение в период с января по декабрь 2023 года с целью диагностики патологии шейки матки. С целью выполнения сравнительного анализа диагностической значимости регистрации ДНК ВПЧ определение генотипа ВПЧ и его вирусной нагрузки проводилось попарно у каждой пациентки: в отделяемом цервикального канала и в биоптированном фрагменте шейки матки, полученном в ходе выполнения прицельной биопсии шейки матки радиоволновым методом. Всего в анализ был включен материал 99 ВПЧ-положительных пациенток, которые были разделены на 3 группы в зависимости от гистологической верификации диагноза:

- 1) Группа 1- женщины с гистологическим заключением «LSIL» (n = 34)
- 2) Группа 2 - пациентки с гистологическим заключением «HSIL» (n = 31)
- 3) Группа 3 – пациентки с гистологическим заключением «Хронический цервицит» (n = 34) (группа сравнения)

Критерии включения в одномоментное поперечное исследование:

- Возраст пациенток 18-65 лет
- Положительный результат ВПЧ-тестирования на основании анализа отделяемого из цервикального канала
- Гистологическое заключение патоморфологического исследования биоптированных фрагментов шейки матки: LSIL, HSIL, хронический цервицит.

Критерии исключения для всех групп:

- беременность
- период лактации
- злокачественные новообразования шейки матки
- воспалительные заболевания неспецифической этиологии в стадии декомпенсации

## **2.2. Методы исследования**

Для проведения одномоментного поперечного исследования выполнялись следующие обязательные методы обследования:

- 1) Клинический осмотр пациентки: сбор анамнеза, общий осмотр и данные бимануального гинекологического исследования.
- 2) Тестирование на ДНК ВПЧ методом ПЦР в режиме реального времени с использованием диагностической панели, включающей в себя 21 генотип ВПЧ (6, 11, 16, 18, 26, 31,33, 35, 39, 44, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82)

- 3) Проведение расширенной кольпоскопии с целью визуализации потенциально патологического участка эпителия шейки матки для последующего проведения прицельной биопсии шейки матки
- 4) Проведение жидкостной цитологии
- 5) Выполнение прицельной биопсии шейки матки с последующей гистологической верификацией диагноза

Специальный метод обследования:

- 1) Определение ДНК ВПЧ с генотипированием и оценкой вирусной нагрузки методом ПЦР в режиме реального времени в биоптированных фрагментах шейки матки

### **Клинический осмотр**

В рамках клинического осмотра проводился сбор анамнеза, в ходе которого особое внимание уделялось соматическому статусу пациентки, методам используемой контрацепции, возрасту начала половой жизни, числу половых партнеров, предшествующим гинекологическим заболеваниям, в частности патологии шейки матки.

Общий осмотр включал в себя оценку состояния желудочно-кишечного тракта, органов дыхания, сердечно-сосудистой системы. Проводилось измерение артериального давления, пульса, индекса массы тела. Гинекологическое исследование включало оценку степени и характера оволосения, наличия и характера выделений из половых путей, состояния слизистой оболочки влагалища, вульвы, шейки матки.

При бимануальном влагалищном исследовании проводилась оценка величины и положения тела матки, наличия образований и спаечного процесса в малом тазу.

### **Тестирование на ДНК ВПЧ**

Тестирование на ДНК ВПЧ проводилось методом ПЦР в режиме реального времени с использованием диагностической панели, определяющей 21 генотип ВПЧ (6, 11, 16, 18, 26, 31,33, 35, 39, 44, 45, 51,



52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82).

В качестве биологического материала для исследования использовали отделяемое цервикального канала, а также биоптаты шейки матки, полученные в результате прицельной биопсии.

Перед взятием материала отделяемого цервикального канала удалялась слизь и воспалительный экссудат (при его наличии), затем в цервикальный канал на глубину 0,5-1,5 см вводился одноразовый зонд, производился соскоб эпителиальных клеток цервикального канала. При извлечении зонда исключалось его касание о стенки влагалища. Затем зонд с биоматериалом помещался в пробирку с транспортной средой, зонд тщательно прополаскивали в транспортной среде, отжимали избыток жидкости о стенки пробирки, после чего зонд извлекали и утилизировали. Все образцы хранили не более 24 часов до начала исследования при температуре от 2 °С до 8 °С.

Далее проводили выделение ДНК в соответствии с инструкциями к наборам реагентов, используемых в лаборатории.

Биоптаты тканей шейки матки фиксировали в нейтральном забуференном формалине в течение 24 часов. После фиксации образцы помещались в автоматический микроволновой гистопроектор Histo-Tek VP1 (Sakura) для проводки тканей, формировали парафиновые блоки на полуавтоматической станции для заливки тканей в парафин и заключали в парафин (Leica HistoCore Arcadia). Для определения ДНК ВПЧ в биоптированной ткани шейки матки срезы толщиной 5 мкм помещали в сухие пробирки объемом 1,5 мл для их дальнейшей транспортировки для проведения тестирования на ДНК ВПЧ аналогично пробиркам с биоматериалом из цервикального канала. Для исключения вероятности комприметации результатов сравнения данных определения ДНК ВПЧ в мазках из цервикального канала и биоптированных фрагментах шейки матки забор биоматериала проводился в период одного менструального цикла.

Перед выделением ДНК из биоптатов проводили предварительную изоляцию парафина и обработку образцов протеиназой К с помощью набора Проба-ПК, далее использованы наборы реагентов для выделения ДНК Проба-НК, предусматривающие спиртовое осаждение нуклеиновых кислот.

Полученные препараты ДНК сразу использовали для постановки ПЦР. Принцип метода основан на использовании процесса амплификации ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Процесс амплификации заключается в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройке полинуклеотидных цепей с этих праймеров Taq-полимеразой. Контроль качества выделенной ДНК осуществлялся в ходе ПЦР с помощью системы внутреннего контроля.

Предел обнаружения для генотипов ВПЧ составляет 5 копий ДНК на амплификационную пробирку ( $10^3$  копий/мл препарата ДНК).

В результатах анализа учитывалось значения контроля взятия материала (КВМ). Все полученные значения КВМ были больше или равны  $4,0 \lg$ , и, следовательно, интерпретировались как достаточное количество материала. Ни в одном случае не потребовалось повторного забора биоматериала. Помимо этого КВМ использовали для нормировки при количественной оценке ВПЧ, как  $\lg$  количества копий ДНК ВПЧ на 100 тыс. клеток человека.

Учитывая высокую вероятность фрагментации ДНК при фиксации биоптатов шейки матки, дополнительно ставили амплификацию более короткого фрагмента ДНК генома человека, соответствующего 250 п.н. Данный показатель использовали в качестве КВМ для биоптатов шейки матки. Длины фрагментов ДНК ВПЧ находились в диапазоне от 138 до 256 п.н., за исключением ВПЧ 35 типа (295 п.н.). Значения вирусной нагрузки в диапазоне от 0 до  $3,0 \lg$  расценивались как низкая вирусная нагрузка ВПЧ, в диапазоне от  $3,1$  до  $5 \lg$  – как умеренная,  $5,1 \lg$  и выше –

как высокая.

### **Расширенная кольпоскопия**

Расширенная кольпоскопия – визуальный метод диагностики поражений эпителия шейки матки, необходимый для последующего проведения прицельной биопсии шейки матки с целью гистологической верификации диагноза. Расширенная кольпоскопия проводилась с применением 3% раствора уксусной кислоты и раствора Люголя, что позволяет оценить состояние эпителия шейки матки, сосудов, определить характер и локализацию патологического участка на экзоцервиксе и провести оценку эффективности консервативного, деструктивного, или эксцизионного лечения шейки матки.

Расширенная кольпоскопия проводилась всем пациенткам, принимавшим участие в одномоментном поперечном исследовании, строго по показаниям на кольпоскопе Scanner МК-200 с 3,3-22 кратностью увеличения изображения.

Для интерпретации картины расширенной кольпоскопии оценивались следующие параметры:

1. визуализация влажной части шейки матки;
2. визуализация стыка цилиндрического и многослойного плоского эпителия;
3. наличие, размер и форма желез;
4. реакция эпителия шейки матки на нанесение 3% раствора уксусной кислоты;
5. реакция эпителия шейки матки на нанесение раствора Люголя;
6. наличие очагов патологических изменений на эпителии шейки матки

При оценке кольпоскопической картины использовали единую международную классификацию кольпоскопических терминов ASCCP (American Society for Colposcopy and Cervical Pathology), обновленную в 2017 г. (таблица 1).

Таблица 1

Категория	Особенности/критерии	Подробности
Общая оценка	Визуализация шейки матки	Полностью визуализируется/полностью не визуализируется
	Визуализация зоны перехода цилиндрического эпителия в многослойный плоский	Полностью визуализируется/полностью не визуализируется
Наличие ацетобелых изменений эпителия	Выявление ацетобелого эпителия с помощью применения 3-5% уксусной кислоты	Да/нет
Нормальная кольпоскопическая картина	многослойный плоскоклеточный эпителий: зрелый, атрофичный	
	Цилиндрический эпителий	
	Эктопия/эктропион шейки матки	
	Метаплазированный эпителий	
	Наботовы кисты	
	Открытые устья желёз	
	Децидуоз при беременности	
	Извитость сосудов подслизистой оболочки	
Аномальная кольпоскопическая картина	Наличие патологического очага (ацетобелый эпителий или др.)	Да/нет
	Локализация патологического очага	Часы по данным условного циферблата
		Зона перехода цилиндрического эпителия

		в плоский (да/нет)
		Визуализация поражения (полностью/не полностью)
		Сопутствующие поражения
	Размер патологического очага	цервикальные квадранты, захваченные поражением
		Процент площади поверхности зоны трансформации, занятой поражением
	Признаки слабовыраженного поражения	<b>Ацетобелые изменения</b>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• тонкий полупрозрачный</li> <li>• быстро исчезающий</li> </ul>
		<b>Ацетобелые изменения</b>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• нежная мозаика</li> <li>• нежная пунктация</li> </ul>
		<b>Ацетобелые изменения</b>
		Нечеткая граница
		<b>Ацетобелые изменения</b>
		Кондиломатозный/ приподнятый/ папиллярный
		Плоская поверхность
	Признаки выраженного поражения	<b>Ацетобелые изменения</b>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Толстый/плотный</li> <li>• Быстро проявляется/ медленно исчезает</li> <li>• Закупоренные крипты открытых желез</li> <li>• Неоднородный красный и белый</li> </ul>
		<b>Ацетобелые изменения</b>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• грубая мозаика</li> <li>• грубая пунктация</li> </ul>

		<b>Ацетобелые изменения</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Четкая граница</li> <li>• Обозначение внутренней границы (внутреннее поле)</li> <li>• Признак гребня</li> <li>• Шелушение границ</li> </ul>
		Рельеф Плоский/гладкий
		Сросшиеся сосочки
	Подозрение на инвазивный рак	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Атипичные сосуды</li> <li>• Неровная поверхность</li> <li>• Экзофитное поражение</li> <li>• Некроз</li> <li>• Язва</li> <li>• Опухоль или крупное новообразование</li> <li>• Может и не быть ацетобелым</li> </ul>
	Неспецифические признаки	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Лейкоплакия</li> <li>• Эрозия</li> <li>• Контактная кровоточивость</li> <li>• Рыхлая ткань</li> </ul>
	Реакция на окрашивание раствором Люголя	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Не проводилось</li> <li>• Не окрашивается</li> <li>• Окрашивается</li> <li>• Частично окрашивается</li> </ul>
Другие кольпоскопические признаки	Полип	
	Воспаление	
	Стеноз	
	Врождённая зона трансформации	
	Врождённые аномалии.	

	Последствия лечения (образование рубцов)	
Результат кольпоскопической картины	Нормальная кольпоскопическая картина	
	Низкая степень поражения	
	Высокая степень поражения	
	Рак	

Международная классификация кольпоскопической терминологии ASCCP (2017 г) [107, 157]

### **Цитологическое исследование шейки матки.**

Всем включенным в одномоментное поперечное исследование пациенткам проводилась жидкостная цитология. Для выполнения цитологического исследования использовалась специальная цервикальная щетка с экто- и эндоцервикальным компонентом Cervex-Brush. Эндоцервикальная часть щетки вводилась в цервикальный канал, эктоцервикальный фрагмент распределялся по влажной части шейки матки. С целью забора биоматериала производились 5 оборотов щетки по часовой стрелке. После сбора материала съемная часть щетки помещалась в стабилизирующий раствор. Результаты цитологического исследования оценивались в соответствии с классификацией Бетесда (Bethesda). У всех пациенток с гистологическим заключением «хронический цервицит» (n=34) по данным жидкостной цитологии выявлен NILM.

### **Прицельная биопсия шейки матки**

При визуализации патологических изменений эпителия шейки матки в ходе проведения расширенной кольпоскопии и при наличии показаний (изменения эпителия шейки матки согласно заключению расширенной кольпоскопии, позитивный результат тестирования на ВПЧ) пациенткам проводилась прицельная биопсия шейки матки радиоволновым методом с последующей патоморфологической верификацией диагноза. До проведения процедуры прицельной биопсии шейки матки пациенткам

проводилось полное клинико-лабораторное обследование. Все принявшие участие в исследовании пациентки подписали информированное добровольное согласие на проведение процедуры прицельной биопсии шейки матки.

Прицельная биопсия проводилась амбулаторно радиоволновым методом с применением петлевого электрода на аппарате Surgitron («ELLMAN International», США). При наличии нескольких участков поражения эпителия шейки матки проводилась многофокусная прицельная биопсия шейки матки.

### **Патоморфологическое исследование биоптированных фрагментов шейки матки**

Фрагменты шейки матки, полученные в ходе проведения прицельной биопсии шейки матки, помещались в пробирку с транспортной средой для их дальнейшей транспортировки в лабораторию, осуществляющую патоморфологическое исследование. В лаборатории полученный биологический материал фиксировали в нейтральном забуференном формалине в течение 24 часов. После фиксации образцы помещались в автоматический микроволновой гистопроцессор Histo-Tek VP1 (Sakura) для проводки тканей, формировали парафиновые блоки на полуавтоматической станции для заливки тканей в парафин и заключали в парафин (Leica HistoCore Arcadia).

### **2.3. Методы статистической обработки данных**

Статистический анализ данных осуществлялся с помощью пакета статистических программ IBM SPSS Statistics Version 20. Проверка переменных на соответствие нормальному распределению (закону Гауса) осуществлялась с помощью теста Колмогорова-Смирнова. При проверке распределения переменных было выявлено, что большинство из них не подчиняется закону нормального распределения. Поэтому, как принято



при описании данных, не подчиняющихся закону Гауса, было использовано значение медианы, которое меньше подвержено влиянию крайних вариаций. Меры рассеивания при этом были представлены нижней и верхней квартилями ( $Me (Q1;Q3)$ ). Категориальные данные представлены как процентное соотношение с указанием 95% доверительного интервала (95% ДИ), рассчитанного по методу Уилсона. Для сравнения переменных в зависимости от их свойств (количественные или категориальные) использовали непараметрические тесты: критерий Манна-Уитни, Хи-квадрат. Для оценки связи между степенью тяжести выявляемой патологии шейки матки и вирусной нагрузкой ВПЧ использовалось определение отношения шансов (ОШ), так как фактор риска и ожидаемый исход являются бинарными переменными, то есть имеют только два возможных значения, а сопоставляемые группы являются независимыми. Также для рассчитанного ОШ определялся 95% доверительный интервал (95% ДИ). Оценка силы взаимосвязи осуществлялась с помощью критерия V Крамера, а интерпретация его значений согласно рекомендациям Rea&Parker. Оценка взаимосвязи осуществлялась между следующими категориальными переменными: гистологически верифицированным заключением, представленном в 3 градациях – хронический цервицит, LSIL, HSIL, а также вирусной нагрузкой, закодированной в три категории – низкая, умеренная, высокая. Значения вирусной нагрузки в диапазоне от 0 до 3,0 log расценивались как низкая, в диапазоне от 3,1 до 5 log – как умеренная, 5,1log и выше – как высокая. Измерение разнообразия видов проводилось с помощью расчета индекса биоразнообразия Шеннона, анализ равномерности видового распределения проводился путем определения индекса справедливости Шеннона, индекса разнообразия Симпсона, обратный индекс Симпсона. Расчет индекса разнообразия Шеннона проводился по формуле:  $H = -\sum p_i * \ln(p_i)$ , где  $p_i = n_i/N$  – доля генотипа в общей выборке,  $n_i$  – абсолютная численность генотипа,  $N$  – общая численность генотипов,  $\ln$  –

натуральный логарифм. Индекс справедливости Шеннона рассчитывался по формуле:  $H = -\sum p_i \ln(p_i)$ , где  $S$  – количество представленных в выборке генотипов ВПЧ. Расчет индекса разнообразия Симпсона проводился по формуле:  $D = \sum n_i(n_i - 1) / (N(N-1))$ ,  $n_i$  – количество детекций генотипа  $i$ ,  $N$  – общее количество генотипов. Обратный индекс Симпсона рассчитывался по формуле:  $1/D$ . За критический уровень значимости была принята величина  $p < 0,05$ .

## 2.4. Дизайн исследования

### Дизайн ретроспективного исследования

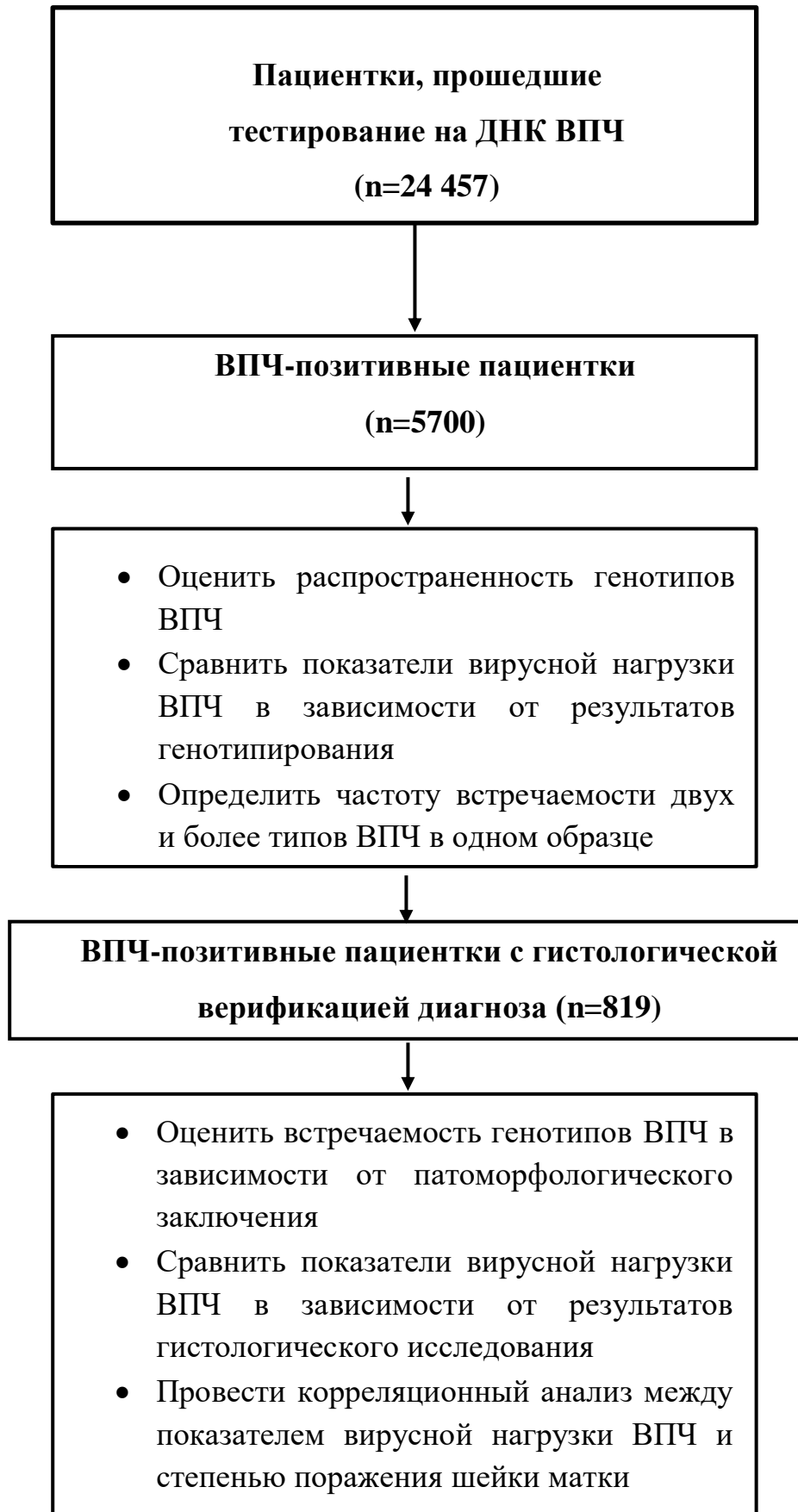


Рисунок 2. Дизайн ретроспективного исследования

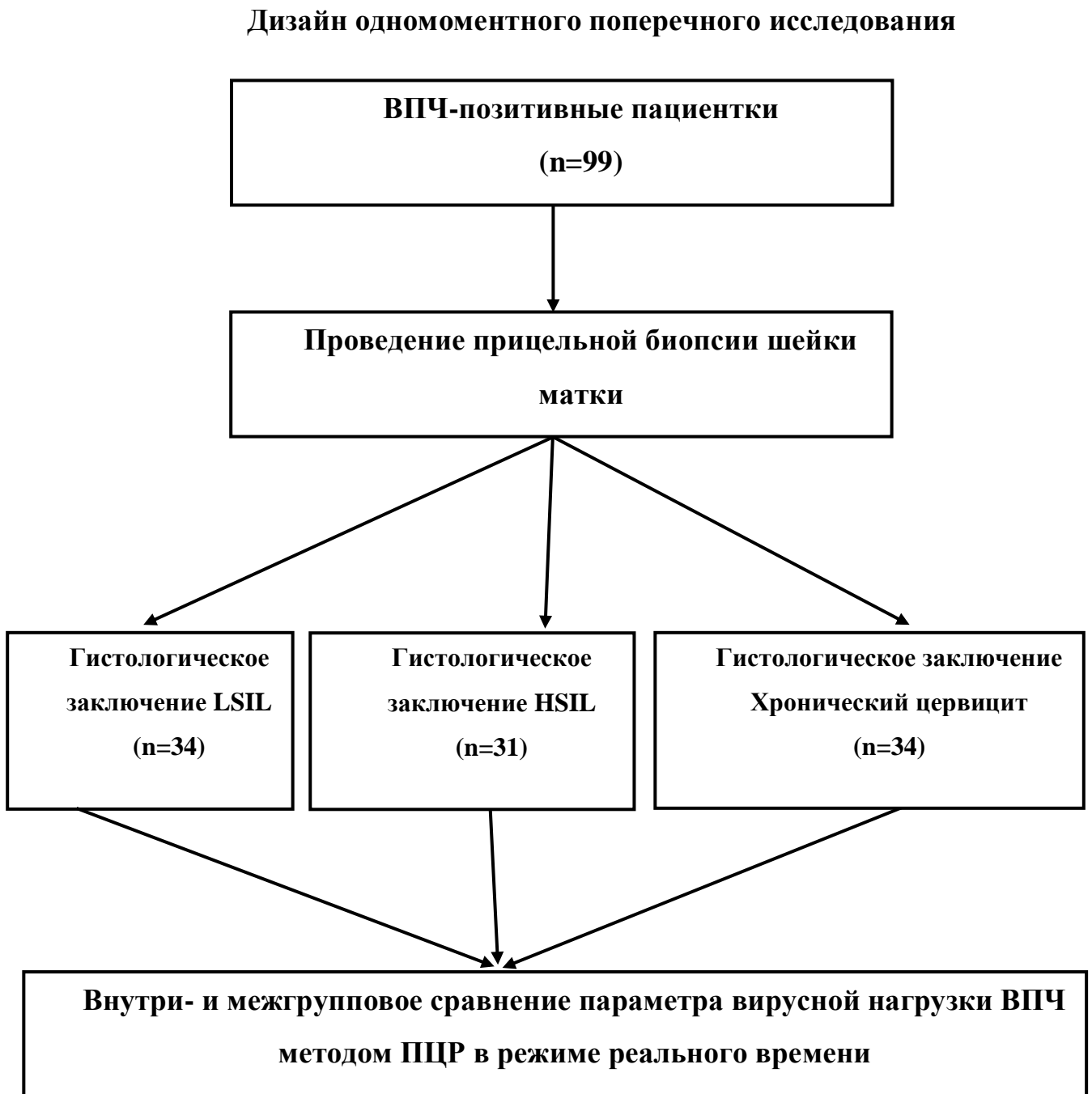


Рисунок 3. Дизайн одномоментного поперечного исследования

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1. Результаты ретроспективного исследования

#### 3.1.1. Распространенность генотипов ВПЧ

Данные ретроспективного анализа показали, что медиана возраста включенных в исследование пациенток составил 31 год (26;37). Результаты тестирования на ДНК ВПЧ показали, что положительный ВПЧ статус был выявлен у 5700 пациенток. Анализ распределения генотипов ВПЧ выявил, что 16 тип ВПЧ являлся наиболее часто встречающимся (1346/5700, 23,6%), за которым следовали 44 генотип (703/5700, 12,3%) и 31 генотип (700/5700, 12,3%). За ними следовали генотипы: 51 (560/5700, 9,8%), 68 (549/5700, 9,6%), 56 (536/5700, 9,4%), 53 (438/5700, 7,7%), 52 (434/5700, 7,6%), 39 (415/5700, 7,3%), 33 (412/5700, 7,2%), 66 (411/5700, 7,2%), 6 (372/5700, 6,5%), 45 (342/5700, 6,0%), 58 (330/5700, 5,8%), 73 (315/5700, 5,5%), 18 (305/5700, 5,4%), 59 (276/5700, 4,8%), 35 (215/5700, 3,8%), 82 (180/5700, 3,2%), 11 (84/5700, 1,5%) и 26 30/5700 (0,5%). Важно отметить, что распространенность 18 генотипа ВПЧ уступала большинству высокоонкогенных типов. При этом из определяемой диагностической панели 21 типа вируса папилломы человека 2749/5700 (48,2%) всех случаев выявления ВПЧ распределились между 3 лидирующими генотипами: 16, 44 и 31. Частота распространенности низкоонкогенных типов ВПЧ (6, 11, 44) составила 1159/5700 (20,3%) высокоонкогенных типов ВПЧ (16, 18, 26, 31,33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82) – 4541/5700 (79,7%) (рис. 4).



Рисунок 4. Общее распределение генотипов ВПЧ

В ряде случаев в одном отдельно выбранном образце выявлялось более одного типа ВПЧ. Регистрация вышеописанных случаев также служила характеристикой эпидемиологических параметров распространенности ВПЧ. Так, оценка распространенности одного или нескольких генотипов ВПЧ продемонстрировала, что в 3796/5700 (66,6%) всех случаев наблюдалась детекция одного типа ВПЧ, в 1184/5700 (20,8%) – двух типов ВПЧ, в 422/5700 (7,4%) – трех типов ВПЧ и в 298/5700 (5,2%) случаев выявились четыре и более типа ВПЧ (рис. 5). Следует обратить внимание на то, что до трети всех случаев детекции ДНК ВПЧ относились к группе выявлений двух и более генотипов ВПЧ.

## Выявляемость одного или нескольких типов ВПЧ

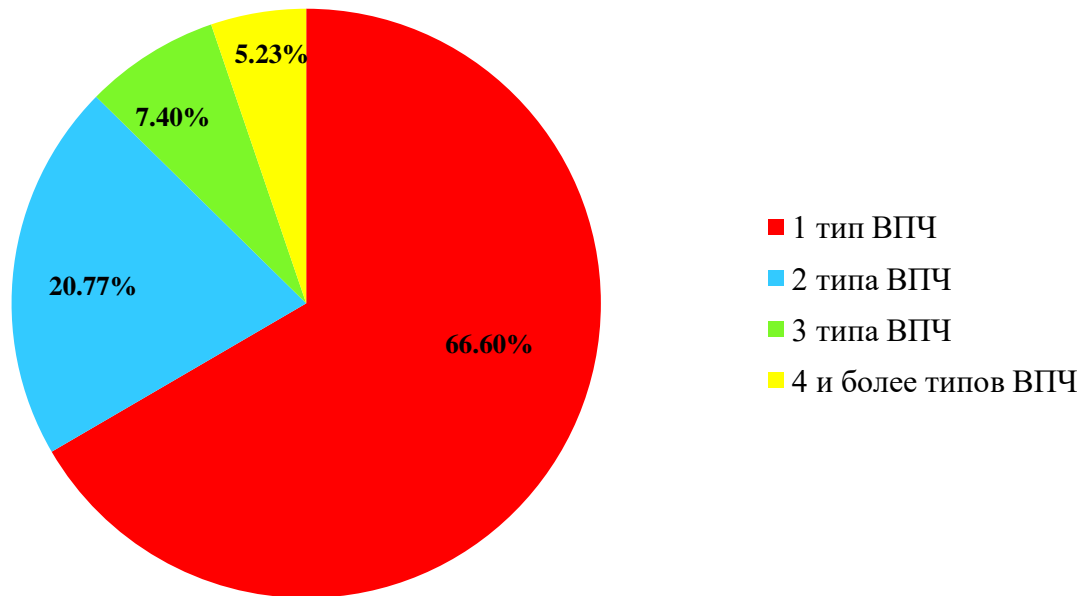


Рисунок 5. Выявляемость одного или нескольких генотипов ВПЧ

### 3.1.2. Встречаемость генотипов ВПЧ в зависимости от степени поражения шейки матки.

С целью окончательной верификации диагноза в 819 случаях проводилось гистологическое исследование биоптата шейки матки. Из 819 случаев 186 образцов соответствовали гистологическому заключению «Хронический цервицит», 341 образец – «LSIL», 292 – «HSIL». Возраст пациенток во 2 группе статистически значимо ( $p < 0,001$ ) был выше, чем в 1 и 3 группах и составил, соответственно, 34 (29;40), 31 (19;53) и 31 (26;35) года.

Среди женщин 1 группы только один тип ВПЧ был обнаружен у 209/341 (61,3%) пациенток и два и более генотипов ВПЧ у 132/341 (38,7%) женщин. Всего в образцах с LSIL детекция ВПЧ произошла 635 раз. Исходя из общего числа детекций генотипов ВПЧ, оценка их распределения показала, что доминирующими типами явились 16 (115/635, 18,1%), 31

(62/635, 9,8%) и 51 (38/635, 5,9%) типы ВПЧ (рис. 6). При этом 16 генотип ВПЧ статистически значимо встречался чаще по сравнению с 31 и 51 типами ВПЧ ( $p < 0,0001$ ).



Рисунок 6. Распределение генотипов ВПЧ при случаях с гистологически верифицированным диагнозом «LSIL»

Среди женщин 2 группы из 292 пациенток только один тип ВПЧ был обнаружен в 229/292 (78,4%) случаях, два и более типа ВПЧ в 63/292 (21,6%) образцах. Всего у женщин с HSIL детекция ВПЧ произошла 380 раз. С учётом общего числа детекций генотипов ВПЧ оценка их распределения показала, что доминирующими типами явились 16 (150/380, 39,5%), 31 (51/380, 13,4%), 33 (30/380, 7,9%) и 44 (30/380, 7,9%) типы ВПЧ (рис. 7). При этом 16 генотип ВПЧ статистически значимо встречался чаще по сравнению с 31, 33 и 44 типами ВПЧ ( $p < 0,0001$ ).





Рисунок 7. Распределение генотипов ВПЧ при случаях с гистологически верифицированным диагнозом «HSIL»

Среди пациенток 3 группы в 141/186 (75,8%) случае был обнаружен только один тип ВПЧ и в 45/186 (24,2%) – два и более генотипа ВПЧ. Следует подчеркнуть, что у каждой четвертой пациентки с хроническим цервицитом было выявлено несколько типов ВПЧ. Иными словами, полученные данные свидетельствуют о том, что детекция ВПЧ была зарегистрирована 260 раз из 186 случаев хронического цервицита. Так, при оценке распределения генотипов в этой группе выявлено, что доминирующие генотипы ВПЧ представлены следующим образом: 16 тип (35/260, 13,5%), 51 тип (21/260, 8,1%) и 56 тип (19/260, 7,3%) (рис. 8). При этом 16 генотип ВПЧ статистически значимо встречался чаще по сравнению с 51 и 56 типами ВПЧ ( $p < 0,05$ ).



Рисунок 8. Распределение генотипов ВПЧ при случаях с гистологически верифицированным диагнозом «Хронический цервицит»

Как видно из представленных данных лидирующую позицию по распространённости во всех группах занимает ВПЧ 16 типа, составив 13,5%, 18,1% и 39,5% соответственно.

Следует отметить, что процентное отношение распространения ВПЧ 16 типа во 2 группе было статистически значимо выше по сравнению с 1 и 3 группами ( $p < 0,01$ ), тогда как отличий между 1 и 3 группами не было выявлено.

Анализ структуры распределения лидирующих генотипов ВПЧ в иерархии ассоциированности с гистологически верифицированным диагнозом показал, что 51 тип ВПЧ имеет тенденцию к снижению уровня собственной представленности с ростом степени тяжести поражения шейки матки (21/260 (8,3%) случаев при хроническом цервиците vs 38/635 (5,9%) случаев при LSIL vs 15/380 (3,9%) случаев при HSIL). Вместе с тем, в случаях с выявленными 16, 31 и 44 типами ВПЧ наблюдалась четко выраженная обратная связь – наибольший процент

распространенности указанных типов определялся в случаях женщин с HSIL, наименьший – при хроническом цервиците (рис. 9). Распределение 16 типа ВПЧ в структуре гистологических заключений составило: при хроническом цервиците – 13,5%, при LSIL – 18,1% и при HSIL – 39,5%. При этом 16 генотип ВПЧ статистически значимо чаще выявлялся во 2 группе по сравнению с 1 и 3 группами ( $p < 0,01$ ). Подобная динамика нами была зарегистрирована при анализе распределения 31 типа ВПЧ: при хроническом цервиците – 6,7%, при LSIL – 9,8% и при HSIL – 13,4%. При этом 31 генотип ВПЧ статистически значимо реже встречался в 3 группе по сравнению с 1 и 2 группами ( $p < 0,01$  и  $p < 0,05$  соответственно). Следует отметить, что распределение 44 типа ВПЧ также показало увеличение распространенности в зависимости от степени поражения шейки матки: при хроническом цервиците – 3,9%, при LSIL – 5,5%, при HSIL – 7,9%. Однако статистически значимых различий в распространенности 44 генотипа ВПЧ между группами выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

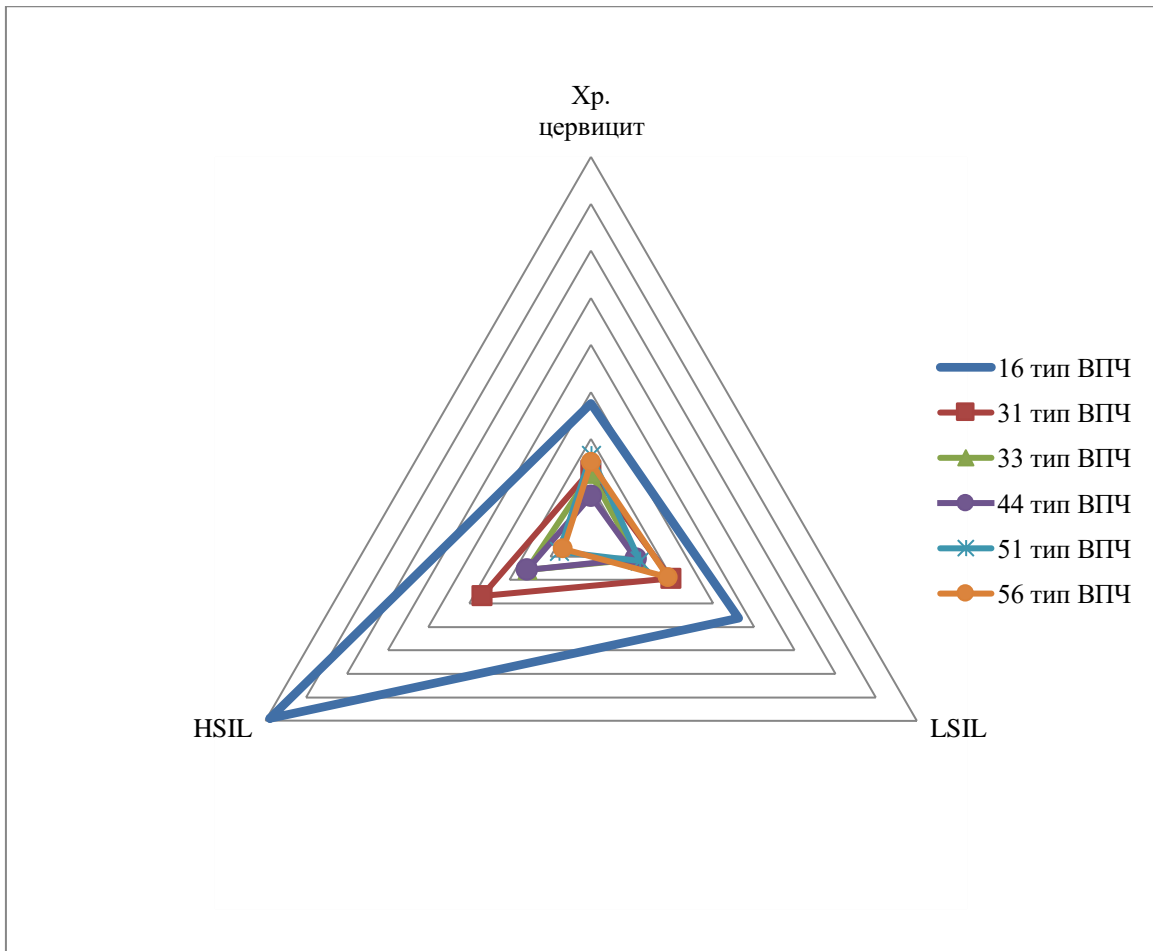


Рисунок 9. Распределение основных лидирующих генотипов ВПЧ в зависимости от гистологически верифицированного диагноза

Таким образом, наиболее часто выявляемым типом во всех исследуемых группах был ВПЧ 16 генотипа. За ним в различных группах следовали другие генотипы ВПЧ. Так, при хроническом цервиците лидирующие позиции занимали также 51 и 56 генотипы ВПЧ, при LSIL – 51 и 31. В группе женщин с HSIL за 16 генотипом ВПЧ следовали 31, 33 и 44 типы. Интересен тот факт, что пик распространенности 44 генотипа ВПЧ приходится именно на группу HSIL, поскольку известно, что указанный тип ВПЧ относится к группе низкоонкогенных. Также была обнаружена тенденция, свидетельствующая о закономерном росте степени представленности основных доминирующих генотипов ВПЧ с увеличением степени поражения шейки матки. Исключение составил 51 генотип ВПЧ, для которого, наоборот, было характерно снижение уровня распространенности

от менее выраженных поражений шейки матки к более выраженным.

### 3.1.3. Взаимосвязь между количеством выявляемых генотипов ВПЧ и степенью тяжести поражений шейки матки

В рамках исследования нами проведен анализ случаев выявления одного, двух, трех и более генотипов ВПЧ в отношении прогрессии диагностируемой степени тяжести поражений шейки матки. В случаях пациенток с HSIL один генотип выявлялся в 78,4% всех образцов, два генотипа – в 16,1%, три и более генотипов – в 5,5%. При этом у женщин с LSIL один генотип выявлялся в 61,2% всех образцов, два генотипа – в 13,8%, три и более генотипов – в 24,9%. При выявлении одного генотипа ВПЧ в группах HSIL и LSIL была установлена статистически значимая разница ( $p=0,010$ ), однако оценка силы связи между выявлением одного генотипа ВПЧ и диагнозом HSIL показала наличие слабой положительной корреляционной связи (таб. 2). При анализе случаев выявления двух генотипов ВПЧ в группах женщин с HSIL и LSIL не было установлено статистически значимой разницы ( $p>0,05$ ), также не было выявлено наличия корреляционной связи между выявлением двух генотипов ВПЧ и степенью тяжести поражения шейки матки. При этом было статистически значимо установлено ( $p<0,0001$ ), что выявление в одном образце сразу нескольких генотипов ВПЧ (3 и более типов) чаще ассоциируется с LSIL по сравнению с HSIL (24,9% vs 5,5% соответственно) (ОШ = 2,36, 95% ДИ: 1,66-3,35) (рис. 10). Также оценка наличия связи между выявлением трех и более генотипов ВПЧ и обнаружением LSIL показала наличие средней положительной корреляционной связи.

Таблица 2.

Сравнение случаев LSIL/HSIL	Критерий V Крамера	Значение p
Выявление одного генотипа ВПЧ	0,183	0,01
Выявление двух	0,022	0,693

генотипов ВПЧ		
Выявление трех и более генотипов ВПЧ	0,290	<0,001

Оценка силы связи между количеством выявляемых генотипов ВПЧ и степенью поражения шейки матки

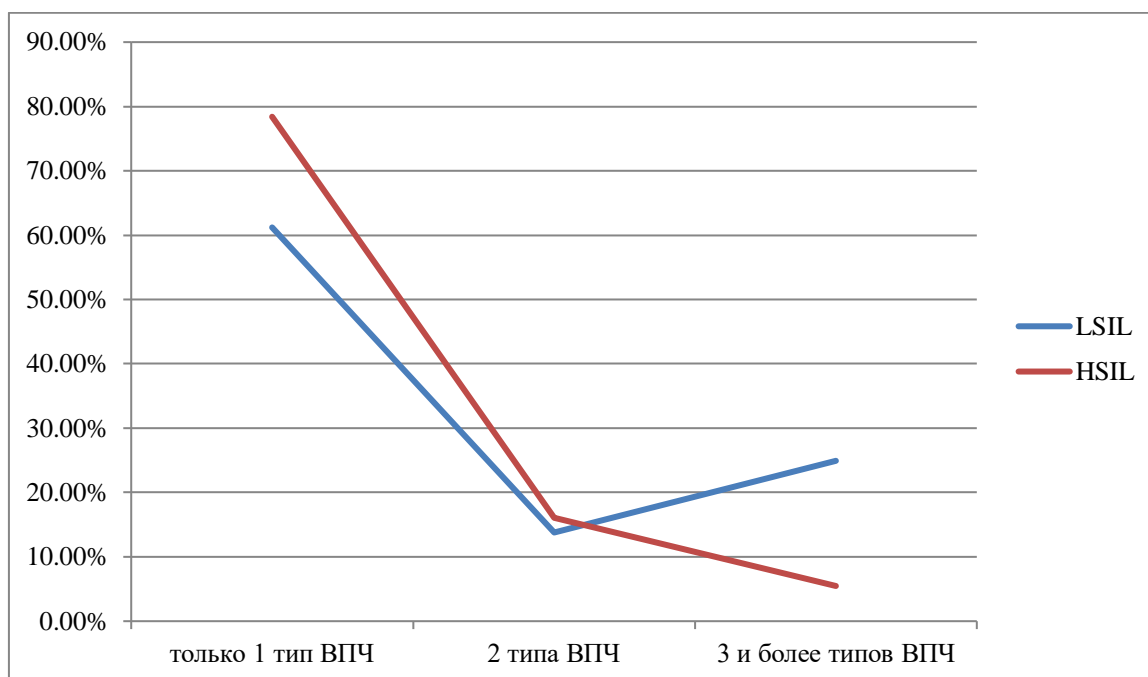


Рисунок 10. Распространенность одного или нескольких типов ВПЧ в зависимости от гистологически верифицированного диагноза

Таким образом, с увеличением количества выявляемых в одном образце генотипов ВПЧ снижается вероятность обнаружения HSIL по сравнению с LSIL.

### 3.1.4. Оценка биоразнообразия генотипов ВПЧ в зависимости от гистологически верифицированного диагноза.

Как показало более углубленное изучение полученных данных, в зависимости от гистологически верифицированного диагноза меняется структура разнообразия ВПЧ. Так, на долю трёх лидирующих генотипов ВПЧ приходятся разные показатели суммарного распределения: для хронического цервицита – 75/260 (28,8%), для LSIL – 215/635 (33,9%), для

HSIL – 231/380 (60,8%). В рамках исследования нами был проведен анализ разнообразия типов ВПЧ для каждой группы путем расчета индекса разнообразия Шеннона (H), индекса справедливости Шеннона (EH), индекса разнообразия Симпсона (1-D) и обратного индекса Симпсона (1/D). Для группы «Хронический цервицит» показатель индекса разнообразия составил 2,61, для группы «LSIL» - 2,81, для группы «HSIL» - 2,26. Чем выше показатель «H», тем выше типовое разнообразие в представленной выборке. Индекс справедливости Шеннона отражает равномерность распространенности всех типов в изучаемой выборке. Значения индекса «EH» могут колебаться от 0 до 1. Значение 1 указывает на абсолютную равномерность распределения. Так, для группы «Хронический цервицит» показатель индекса справедливости составил 0,85, для группы «LSIL» - 0,92, для группы «HSIL» - 0,74. Таким образом, в группе «HSIL» наблюдалось наименее выраженное разнообразие выявляемых генотипов ВПЧ в сочетании с их минимальной равномерностью распределения среди всех изучаемых групп (таб. 3-5).

Таблица 3.

Тип ВПЧ	Количество детекций	Относительная представленность (p <sub>i</sub> )	Натуральный логарифм ln (p <sub>i</sub> )	Отношение p <sub>i</sub> * ln (p <sub>i</sub> )
6 тип	12	0,046	-3,07	-0,14
11 тип	3	0,011	-4,50	-0,05
16 тип	35	0,134	-2,00	-0,29
18 тип	8	0,030	-3,50	-0,11
26 тип	2	0,007	-4,96	-0,03
31 тип	17	0,065	-2,73	-0,18
33 тип	16	0,061	-2,79	-0,17
35 тип	3	0,011	-4,50	-0,05
39 тип	11	0,042	-3,17	-0,13
44 тип	10	0,038	-3,27	-0,12
45 тип	12	0,046	-3,07	-0,14

51 тип	21	0,080	-2,52	-0,20
52 тип	18	0,069	-2,67	-0,18
53 тип	11	0,042	-3,16	-0,13
56 тип	19	0,073	-2,61	-0,19
58 тип	9	0,034	-3,38	-0,11
59 тип	9	0,034	-3,38	-0,11
66 тип	16	0,061	-2,79	-0,17
68 тип	8	0,030	-3,50	-0,11
73 тип	10	0,038	-3,27	-0,12
82 тип	4	0,015	-4,19	-0,06
				<b>H=2,61</b>
				<b>EH=0,85</b>

Расчет индекса разнообразия Шеннона (H) и индекса справедливости Шеннона (EH) для группы пациенток с хроническим цервицитом.

Таблица 4.

Тип ВПЧ	Количество детекций	Относительная представленность (p <sub>i</sub> )	Натуральный логарифм ln (p <sub>i</sub> )	Отношение p <sub>i</sub> * ln (p <sub>i</sub> )
6 тип	27	0,042	-3,17	-0,13
11 тип	10	0,015	-4,19	-0,06
16 тип	115	0,181	-1,70	-0,31
18 тип	21	0,033	-3,41	-0,11
26 тип	8	0,012	-4,42	-0,05
31 тип	62	0,097	-2,33	-0,23
33 тип	36	0,056	-2,88	-0,16
35 тип	27	0,042	-3,17	-0,13
39 тип	34	0,053	-2,93	-0,16
44 тип	35	0,055	-2,90	-0,16
45 тип	16	0,025	-3,68	-0,09
51 тип	38	0,059	-2,83	-0,17
52 тип	30	0,047	-3,05	-0,14
53 тип	24	0,037	-3,29	-0,12
56 тип	36	0,056	-2,88	-0,16



58 тип	16	0,025	-3,68	-0,09
59 тип	17	0,026	-3,64	-0,09
66 тип	27	0,042	-3,17	-0,13
68 тип	25	0,039	-3,24	-0,13
73 тип	22	0,034	-3,38	-0,11
82 тип	9	0,014	-4,26	-0,06
				<b>H=2,81</b>
				<b>EH=0,92</b>

Расчет индекса разнообразия Шеннона (H) и индекса справедливости Шеннона (EH) для группы пациенток с LSIL.

Таблица 5.

Тип ВПЧ	Количество детекций	Относительная представленность (p <sub>i</sub> )	Натуральный логарифм ln (p <sub>i</sub> )	Отношение p <sub>i</sub> * ln (p <sub>i</sub> )
6 тип	5	0,013	-4,33	-0,06
11 тип	0	0,000	-	-
16 тип	150	0,395	-0,93	-0,37
18 тип	5	0,013	-4,33	-0,06
26 тип	2	0,005	-5,25	-0,03
31 тип	51	0,134	-2,01	-0,27
33 тип	30	0,079	-2,54	-0,2
35 тип	10	0,026	-3,64	-0,1
39 тип	6	0,016	-4,15	-0,07
44 тип	30	0,079	-2,54	-0,2
45 тип	0	0,000	-	-
51 тип	15	0,039	-3,23	-0,13
52 тип	10	0,026	-3,64	-0,1
53 тип	4	0,011	-4,55	-0,05
56 тип	13	0,034	-3,38	-0,12
58 тип	11	0,029	-3,54	-0,1
59 тип	5	0,013	-4,33	-0,06
66 тип	10	0,026	-3,64	-0,1
68 тип	13	0,034	-3,38	-0,12

73 тип	6	0,016	-4,15	-0,07
82 тип	4	0,011	-4,55	-0,05
				<b>H=2,26</b>
				<b>EH=0,74</b>

Расчет индекса разнообразия Шеннона (H) и индекса справедливости Шеннона (EH) для группы пациенток с HSIL.

Следует отметить, что проведенный расчет индекса разнообразия Симпсона подтвердил полученные нами при анализе индекса разнообразия Шеннона и индекса справедливости Шеннона выводы. Так, при расчете индекса разнообразия Симпсона получены следующие данные: группа с хроническим цервицитом - 0,94, группа с LSIL – 0,93, группа с HSIL – 0,81 (таб. 6-8). Значения индекса разнообразия Симпсона могут колебаться от 0 до 1. При классическом расчете данного индекса интерпретация результатов определяет 1 как отсутствие разнообразия, поэтому в рамках исследования мы провели допустимое произведение расчетов по формуле 1-D, при которой 1 характеризуется высокой степенью разнообразия. Также был проведен расчет обратного индекса Симпсона, значения которого полностью согласуются с полученными ранее результатами. Так, для группы пациенток с хроническим цервицитом обратный индекс Симпсона составил 16,6, для группы LSIL – 14,3, для группы HSIL – 5,3.

Таблица 6.

Тип ВПЧ	Количество детекций	$n_i (n_i - 1)$
6 тип	12	240
11 тип	3	6
16 тип	35	110
18 тип	8	90
26 тип	2	132
31 тип	17	420
33 тип	16	306
35 тип	3	110

39 тип	11	342
44 тип	10	72
45 тип	12	72
51 тип	21	240
52 тип	18	56
53 тип	11	90
56 тип	19	12
58 тип	9	240
59 тип	9	6
66 тип	16	110
68 тип	8	90
73 тип	10	132
82 тип	4	420
	<b>N = 254</b>	<b><math>\sum n_i (n_i - 1) = 3956</math></b>
		<b>D = 0,06</b>
		<b>1-D = 0,94</b>
		<b>1/D = 16,6</b>

Расчет индекса разнообразия Симпсона (1-D) и обратного индекса Симпсона (1/D) для группы женщин с хроническим цервицитом

Таблица 7.

Тип ВПЧ	Количество детекций	$n_i (n_i - 1)$
6 тип	27	702
11 тип	10	90
16 тип	115	13110
18 тип	21	420
26 тип	8	56
31 тип	62	3782
33 тип	36	1260
35 тип	27	702
39 тип	34	1122

44 тип	35	1190
45 тип	16	240
51 тип	38	1406
52 тип	30	870
53 тип	24	552
56 тип	36	1260
58 тип	16	240
59 тип	17	272
66 тип	27	702
68 тип	25	600
73 тип	22	462
82 тип	9	72
	<b>N = 635</b>	<b><math>\sum n_i (n_i - 1) = 29110</math></b>
		<b>D = 0,07</b>
		<b>1-D = 0,93</b>
		<b>1/D = 14,3</b>

Расчет индекса разнообразия Симпсона (1-D) и обратного индекса Симпсона (1/D) для группы женщин с LSIL

Таблица 8.

Тип ВПЧ	Количество детекций	$n_i (n_i - 1)$
6 тип	5	20
11 тип	0	0
16 тип	150	22350
18 тип	5	20
26 тип	2	2
31 тип	51	2550
33 тип	30	870
35 тип	10	90
39 тип	6	30

44 тип	30	870
45 тип	0	0
51 тип	15	210
52 тип	10	90
53 тип	4	12
56 тип	13	156
58 тип	11	110
59 тип	5	20
66 тип	10	90
68 тип	13	156
73 тип	6	30
82 тип	4	12
	<b>N = 380</b>	<b><math>\Sigma n_i (n_i - 1) = 27688</math></b>
		<b>D = 0,19</b>
		<b>1-D = 0,81</b>
		<b>1/D = 5,3</b>

Расчет индекса разнообразия Симпсона (1-D) и обратного индекса Симпсона (1/D) для группы женщин с HSIL

Таким образом, степень разнообразия практически не различалась между группами хронического цервицита и LSIL, в то время как для HSIL разнообразие явилось существенно ниже по сравнению с обеими другими группами.

### **3.1.5. Особенности встречаемости различных количественных степеней вирусной нагрузки ВПЧ в зависимости от обнаруженного генотипа ВПЧ и степени поражения шейки матки.**

В ходе проведения диссертационной работы нами был проведен анализ детекции ДНК ВПЧ у 819 пациенток с гистологическим диагнозом, верификация которого была проведена на основе патоморфологического заключения. Было показано, что среди пациенток с гистологически верифицированным диагнозом детекция ДНК ВПЧ была зарегистрирована

1269 раз, при этом уровень вирусной нагрузки ВПЧ был определен как низкий ( $\leq 3$  lg) в 164 случаях, умеренный (от  $>3$  до  $<5$  lg) – в 564, высокий ( $\geq 5$  lg) – в 541. Распределение вирусной нагрузки разных генотипов ВПЧ в зависимости от гистологической верификации диагноза представлено в таблице 9.

Таблица 9.

Тип ВПЧ	Наблюдения								
	Низкая вирусная нагрузка			Умеренная вирусная нагрузка			Высокая вирусная нагрузка		
	Хр. Цервицит	LSIL	HSIL	Хр. Цервицит	LSIL	HSIL	Хр. Цервицит	LSIL	HSIL
11 тип	-	-	-	1	6	-	2	4	-
16 тип	8	35	3	17	52	49	9	27	97
18 тип	1	5	-	3	14	1	4	2	4
26 тип	-	-	-	2	5	-	-	3	2
31 тип	2	13	2	9	31	9	6	17	40
33 тип	2	3	-	5	16	7	9	16	23
35 тип	-	1	2	3	18	3	-	7	5
39 тип	3	2	3	5	24	2	3	9	1
44 тип	2	2	1	7	28	9	1	6	19
45 тип	2	3	2	8	4	3	2	9	2
51 тип	-	2	-	11	20	6	10	16	9
52 тип	-	-	-	7	17	4	10	14	6
53 тип	1	1	1	7	15	-	3	8	3
56 тип	4	3	-	7	14	4	7	19	9
58 тип	4	1	1	4	9	5	1	6	5
59 тип	1	4	1	3	6	2	5	7	2
6 тип	4	6	2	4	7	2	4	14	1
66 тип	1	3	-	9	11	2	5	13	8
68 тип	3	8	3	5	12	5	-	5	5
73 тип	3	6	1	4	10	4	3	6	1
82 тип	1	2	-	1	4	2	2	3	2

Распределение генотипов ВПЧ с определенной низкой, умеренной и высокой вирусной нагрузкой в зависимости от степени поражения шейки матки

Средний возраст включенных в исследование пациенток составил 31 (26;37) год. При этом вирусная нагрузка среди женщин 3 группы была статистически

значимо ниже в возрасте старше 31 года по сравнению с пациентками до 31 года ( $p=0,02$ ). Аналогичная закономерность наблюдалась также в 1 группе пациенток ( $p=0,02$ ). Однако для 2 группы не было выявлено статистически значимой разницы в уровне вирусной нагрузки в зависимости от возраста ( $p=0,86$ ) (таб. 10).

Таблица 10

Группа	Медиана вирусной нагрузки ВПЧ среди пациенток >31 года (Me (Q1;Q3))	Медиана вирусной нагрузки ВПЧ среди пациенток <31 года (Me (Q1;Q3))	p
Хронический цервицит	5,5 (4,1; 8,6)	4,7 (3,5; 6,2)	0,02
LSIL	6,9 (3,6; 12,7)	5,1 (3,4; 7,9)	0,02
HSIL	6,3 (5,3; 7,3)	6,2 (5,0; 7,6)	0,86

Сравнение медианы вирусной нагрузки в зависимости от возраста пациентки и гистологической верифицированного диагноза.

Следует отметить, что при сравнении уровня вирусной нагрузки между случаями с одним и несколькими выявленными типами ВПЧ не было выявлено статистически значимых различий для 16, 31 и 44 генотипов, которые были наиболее распространены и ассоциировались с наименее благоприятным прогнозом в отношении прогрессии поражений шейки матки. Однако статистически значимая разница в уровнях вирусной нагрузки были обнаружены для 51 генотипа ВПЧ, при котором медиана количественного присутствия ДНК составила 4,5 (3,7; 5,9) для случаев с одним выявленным типом ВПЧ и 5,0 (3,9; 6,6) - при 2 и более выявленных генотипов ( $p<0,05$ ). Аналогичные результаты были получены для 56 ( $p<0,001$ ), 59 ( $p<0,05$ ), 6 ( $p<0,05$ ), 66 ( $p<0,05$ ), 68 ( $p<0,005$ ), 73 ( $p<0,05$ ) и 82 ( $p<0,05$ ) генотипов ВПЧ (таб. 11).

Таблица 11

Тип ВПЧ	1 тип ВПЧ (Me (Q1;Q3))	2 и более типов ВПЧ (Me (Q1;Q3))	p

HPV11	4,1 (3,6; 6,0)	4,5 (3,7; 5,8)	0,73
HPV16	4,5 (3,4; 5,7)	4,5 (3,4; 5,8)	0,98
HPV18	4,0 (2,7; 5,1)	4,1 (2,9; 5,5)	0,40
HPV26	4,4 (3,3; 5,2)	3,8 (3,0; 5,5)	0,67
HPV31	4,4 (3,1; 5,9)	4,7 (3,6; 5,9)	0,14
HPV33	4,8 (3,5; 5,9)	4,4 (3,3; 5,5)	0,07
HPV35	4,4 (3,4; 5,6)	4,4 (3,5; 5,9)	0,73
HPV39	3,8 (2,8; 5,2)	3,9 (3,0; 5,2)	0,94
HPV44	3,9 (3,3; 5,0)	3,9 (3,3; 4,8)	0,75
HPV45	4,1 (3,3; 5,1)	4,5 (3,2; 5,5)	0,19
HPV51	4,5 (3,7; 5,9)	5,0 (3,9; 6,6)	0,01
HPV52	5,0 (4,2; 6,0)	5,1 (4,3; 6,2)	0,32
HPV53	4,3 (3,4; 5,3)	4,5 (3,7; 5,6)	0,05
HPV56	3,9 (3,1; 5,4)	5,2 (3,9; 6,4)	<0,001
HPV58	4,0 (2,7; 5,2)	4,0 (2,8; 5,2)	0,55
HPV59	3,7 (3,0; 5,2)	4,7 (3,5; 6,1)	<0,005
HPV6	3,2 (2,7; 5,0)	4,4 (3,1; 6,1)	<0,005
HPV66	4,2 (3,5; 5,4)	4,9 (3,7; 6,1)	<0,005
HPV68	3,3 (2,6; 4,3)	3,7 (2,8; 4,6)	<0,005
HPV73	3,3 (2,6; 4,3)	3,7 (2,7; 5,0)	0,07
HPV82	3,9 (3,2; 4,8)	4,3 (3,5; 5,6)	0,06

Сравнительный анализ величины вирусной нагрузки при выявлении одного и нескольких типов ВПЧ.

Среди пациенток 3 группы в 141/186 (75,8%) случае был обнаружен один тип ВПЧ и в 45/186 (24,2%) – два и более генотипа ВПЧ. В случаях обнаружения 1 генотипа ВПЧ вирусная нагрузка была оценена как низкая у 22/141 (15,6%), умеренная у 68/141 (48,2%) и высокая у 51/141 (36,2%) пациентки. В образцах, в которых одновременно присутствовало 2 и более генотипов ВПЧ, детекция ВПЧ произошла 109 раз. Так, у женщин с несколькими выявленными генотипами ВПЧ вирусная нагрузка была определена как низкая в 20/109 (18,3%), умеренная в 54/109 (49,5%) и высокая в 35/109 (32,1%).

Среди женщин 1 группы один тип ВПЧ был обнаружен у 213/341 (62,5%) пациенток и у 128/341 (37,5%) – два и более генотипов ВПЧ. В случаях обнаружения 1 генотипа ВПЧ вирусная нагрузка была оценена как



низкая у 46/213 (21,6%), умеренная у 100/213 (46,9%) и высокая у 67/213 (31,5%) пациенток. В образцах с LSIL с несколькими выявленными генотипами ВПЧ детекция ВПЧ произошла 421 раз. Среди женщин с несколькими выявленными генотипами ВПЧ вирусная нагрузка была определена как низкая в 54/421 (12,8%), умеренная в 223/421 (52,9%) и высокая в 144/421 (34,2%).

Среди женщин 2 группы из 292 пациенток один тип ВПЧ был обнаружен в 234/292 (80,1%) случаях, два и более типа ВПЧ в 58/292 (19,9%) образцах. Среди пациенток, у которых выявили 1 генотип ВПЧ, вирусная нагрузка была оценена как низкая у 10/234 (4,3%), умеренная у 63/234 (26,9%) и высокая у 161/234 (68,8%) пациенток (рис. 11). В образцах с HSIL, в которых было обнаружено несколько генотипов ВПЧ, детекция ВПЧ произошла 151 раз. У пациенток с несколькими выявленными генотипами ВПЧ вирусная нагрузка была определена как низкая в 12/151 (7,9%), умеренная в 56/151 (37,1%) и высокая в 83/151 (54,9%) (рис. 12).

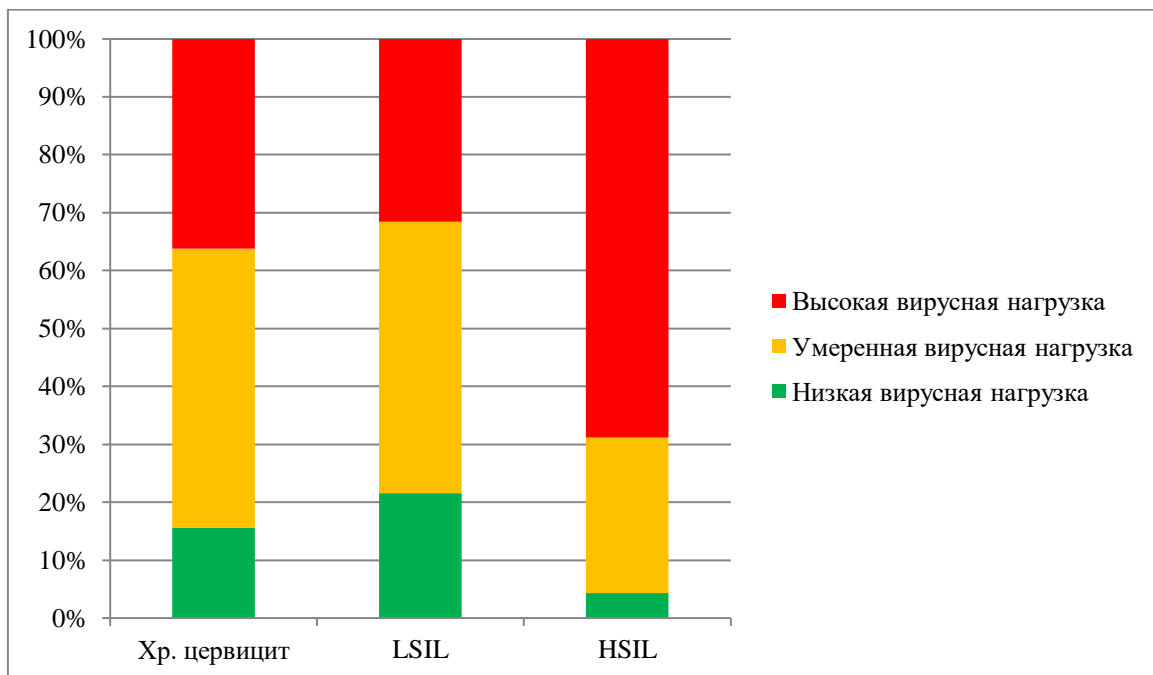


Рисунок 11. Распределение вирусной нагрузки при выявлении 1 генотипа ВПЧ в зависимости от гистологического заключения.

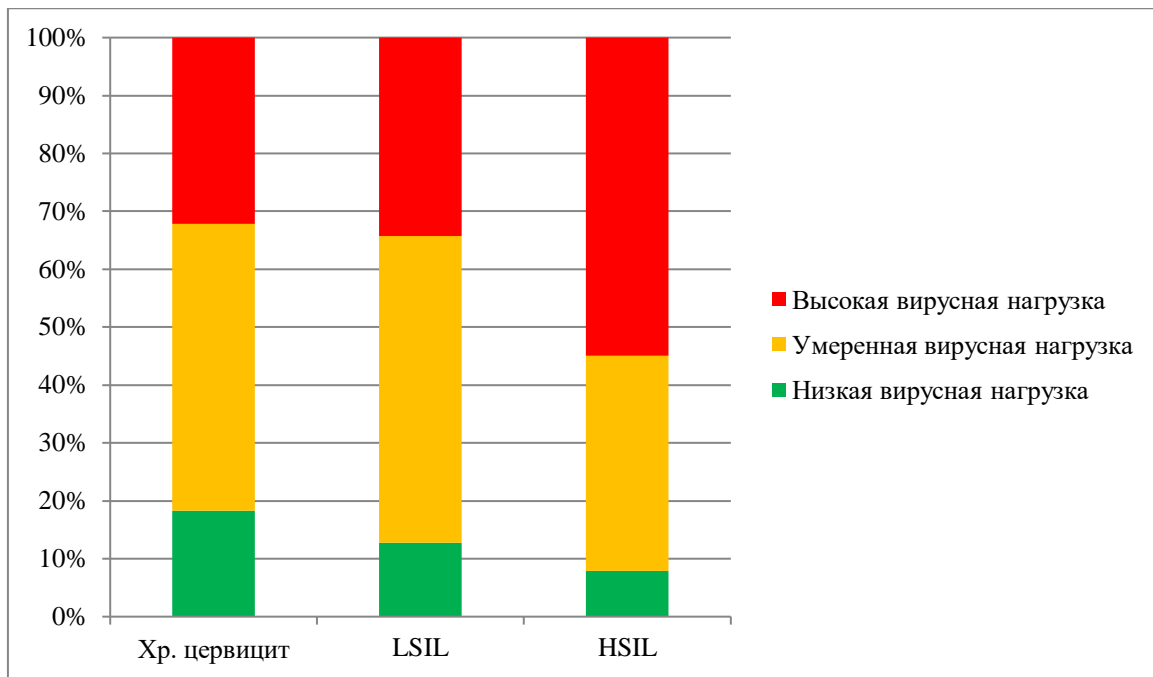


Рисунок 12. Распределение вирусной нагрузки при выявлении 2 и более генотипа ВПЧ в зависимости от гистологического заключения

При сравнении частоты встречаемости низкой, умеренной и высокой вирусной нагрузки в структуре исследуемой патологии шейки матки между случаями с выявлением одного и нескольких типов ВПЧ статистически значимой разницы обнаружено не было ( $p > 0,05$ ).

Таким образом, с ростом уровня вирусной нагрузки ВПЧ увеличивается вероятность обнаружения более выраженных поражений шейки матки, при этом количество одновременно выявляемых генотипов ВПЧ не оказывает никакого влияния на показатель вирусной нагрузки каждого отдельного типа ВПЧ.

### 3.1.6. Интерпретация рисков развития патологии шейки матки в зависимости от выявленной вирусной нагрузки ВПЧ.

Было установлено, что при определении высокой вирусной нагрузки вне зависимости от выявленного генотипа ВПЧ риск обнаружения HSIL статистически значимо выше по сравнению с LSIL (ОШ = 5,26; 95% ДИ: 3,19-8,64). Однако при определении умеренной вирусной нагрузки LSIL встречается чаще по сравнению с HSIL (ОШ = 2,40; 95% ДИ: 1,61-3,56). При

этом при низкой вирусной нагрузке статистически значимо чаще будет определение патологии шейки матки, ассоциированной с LSIL, по сравнению с HSIL (ОШ = 6,17; 95% ДИ: 3,02-12,58). Кроме того, для каждой градации вирусной нагрузки ВПЧ был произведен расчет оценки силы взаимосвязи между уровнем вирусной нагрузки и гистологически верифицированным диагнозом (таб. 12)

Таблица 12

Сравнение случаев LSIL/HSIL	Критерий V Крамера	Значение p
Низкая вирусная нагрузка ВПЧ	0,261	<0,001
Умеренная вирусная нагрузка ВПЧ	0,208	<0,001
Высокая вирусная нагрузка ВПЧ	0,373	<0,001

Оценка силы связи между степенью вирусной нагрузки ВПЧ и гистологически верифицированным диагнозом.

Так, для высокого уровня вирусной нагрузки ВПЧ была установлена средняя положительная корреляционная связь с обнаружением HSIL. Однако как для низкого, так и для умеренного уровня вирусной нагрузки была установлена средняя положительная корреляционная связь с обнаружением LSIL.

Таким образом, обнаружена тенденция, согласно которой при повышении уровня вирусной нагрузки ВПЧ вне зависимости от результатов проведенного генотипирования закономерно увеличивается частота обнаружения HSIL и уменьшается частота выявления LSIL (рис. 13).

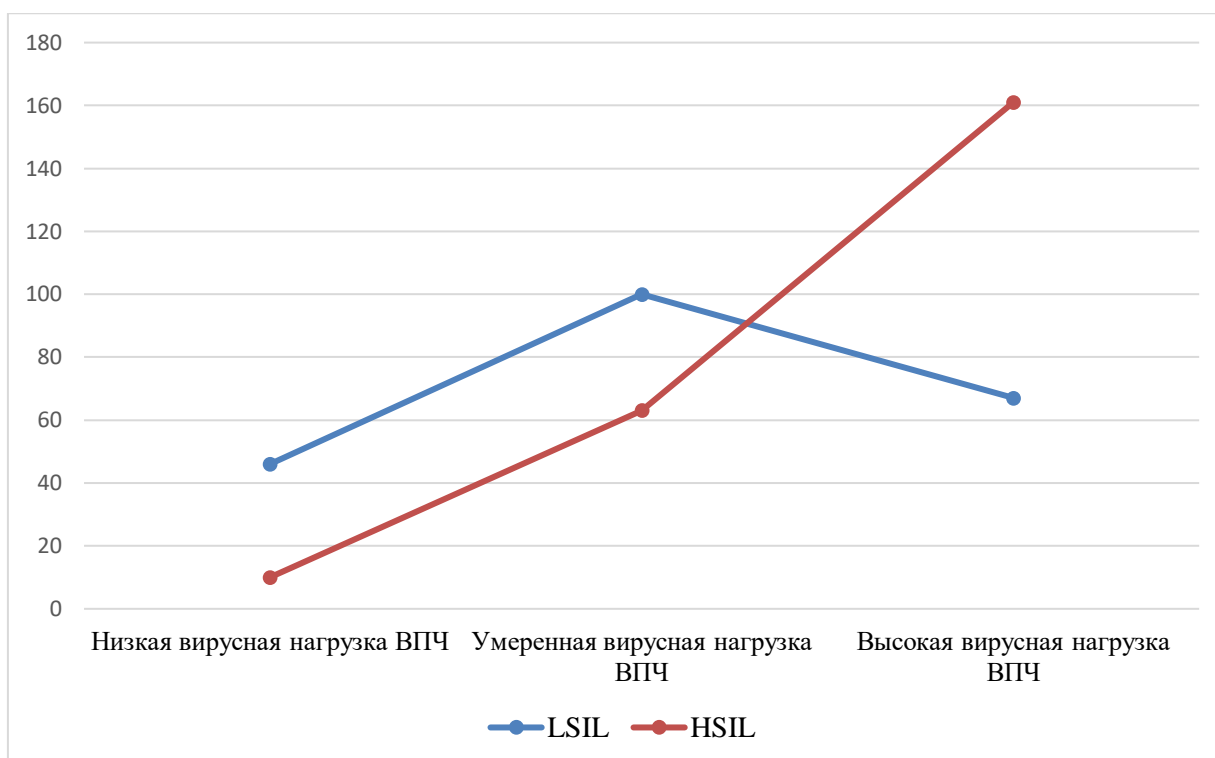


Рисунок 13. Частота встречаемости HSIL и LSIL в зависимости от уровня вирусной нагрузки ВПЧ.

Для каждого генотипа ВПЧ был проведен расчет на наличие связи между гистологически верифицированным заключением и вирусной нагрузкой ВПЧ (таб. 13). Полученные данные свидетельствуют о наличии положительной средней силы взаимосвязи между уровнем вирусной нагрузки ВПЧ 16 генотипа и степенью поражения шейки матки ( $p < 0,001$ ). Так, при высокой вирусной нагрузке 16 типа ВПЧ с наибольшей частотой наблюдалось развитие HSIL, тогда как при низкой и умеренной нагрузке - чаще встречались заключения LSIL и хронический цервицит. Следует отметить, что при низкой вирусной нагрузке HSIL встречался крайне редко. Положительная относительно сильная сила взаимосвязи была выявлена между показателем вирусной нагрузки 18 генотипа ВПЧ и заключением гистологического исследования ( $p < 0,05$ ). Так, при низкой и умеренной нагрузке чаще выявлялся LSIL, при этом не было выявлено ни одного случая HSIL при низкой вирусной нагрузке 18 генотипа ВПЧ. Также была получена положительная средняя сила взаимосвязи для 31, 39 и 44 генотипов ВПЧ

между уровнем вирусной нагрузки и степенью поражения шейки матки ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$  соответственно). При низкой и умеренной вирусной нагрузке 31-го типа ВПЧ чаще наблюдался LSIL, однако при высокой вирусной нагрузке по частоте выявления лидировал предрак шейки матки (HSIL) (какой процент%). Характерной чертой 39 генотипа ВПЧ при его низкой вирусной нагрузке явилась более высокая частота выявления пациенток с HSIL и хроническим цервицитом, при умеренной - с LSIL. Для 44 генотипа ВПЧ низкая вирусная нагрузка была чаще ассоциирована с хроническим цервицитом, умеренная – с LSIL, высокая – с HSIL. Для остальных генотипов ВПЧ расчет наличия взаимосвязи не показал статистической значимости.

Таблица 13.

Тип ВПЧ	Значение V Крамера	Значимость, p
11 тип	0,225	0,41
16 тип	0,336	<0,001
18 тип	0,419	0,02
26 тип	0,598	0,11
31 тип	0,346	<0,001
33 тип	0,226	0,08
35 тип	0,311	0,11
39 тип	0,303	<0,05
44 тип	0,387	<0,001
45 тип	0,297	0,18
51 тип	0,142	0,55
52 тип	0,141	0,56
53 тип	0,288	0,16
56 тип	0,201	0,24
58 тип	0,327	0,10
59 тип	0,115	0,93
6 тип	0,166	0,65
66 тип	0,243	0,19

68 тип	0,219	0,35
73 тип	0,123	0,89
82 тип	0,215	0,81

Расчет на наличие связи между переменными: гистологические заключения и генотипы ВПЧ в зависимости от вирусной нагрузки

### 3.1.7. Оценка эффективности диагностической панели генотипирования ВПЧ при зарегистрированных и потенциально пропущенных случаях поражений шейки матки

С целью оценки диагностической эффективности тест-панели на 21 генотип ВПЧ (6, 11, 16, 18, 26, 31,33, 35, 39, 44, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82) был проведен сравнительный анализ результатов детекции ДНК ВПЧ с патоморфологической верификацией диагноза с тест-системой, включающей в себя 12 генотипов ВПЧ (16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59). Общее распределение генотипов ВПЧ, не входящих в минимально допустимый вариант тест-системы детекции ДНК ВПЧ, представлен в таблице 14.

Таблица 14.

Генотип ВПЧ	Хр. цервицит	LSIL	HSIL	Всего
11 генотип	3	10	-	13
26 генотип	2	8	2	12
44 генотип	10	17	29	56
53 генотип	11	24	4	39
6 генотип	12	27	5	44
66 генотип	15	27	10	42
68 генотип	8	25	13	46
73 генотип	10	22	6	38
82 генотип	4	9	4	17

Распределение случаев детекции ДНК ВПЧ среди генотипов, не включенных в тест-панель из 12 генотипов ВПЧ

При использовании диагностической панели, включающей 12 генотипов ВПЧ, 307 случаев детекции ВПЧ потенциально оказались пропущенными. Среди всех 1269 случаев детекции ВПЧ в 819 образцах с гистологически верифицированным хроническим цервицитом, LSIL и HSIL частота диагностической потери составила 24,19%. При анализе распространенности диагностической потери среди случаев с градацией вирусной нагрузки ВПЧ было выявлено, что частота не обнаруженной ДНК ВПЧ в образцах с высокой вирусной нагрузкой ВПЧ составила 123/541 (22,74%), с умеренной вирусной нагрузкой – 162/564 (28,72%), с низкой вирусной нагрузкой – 51/164 (31,09%) (рис. 14)

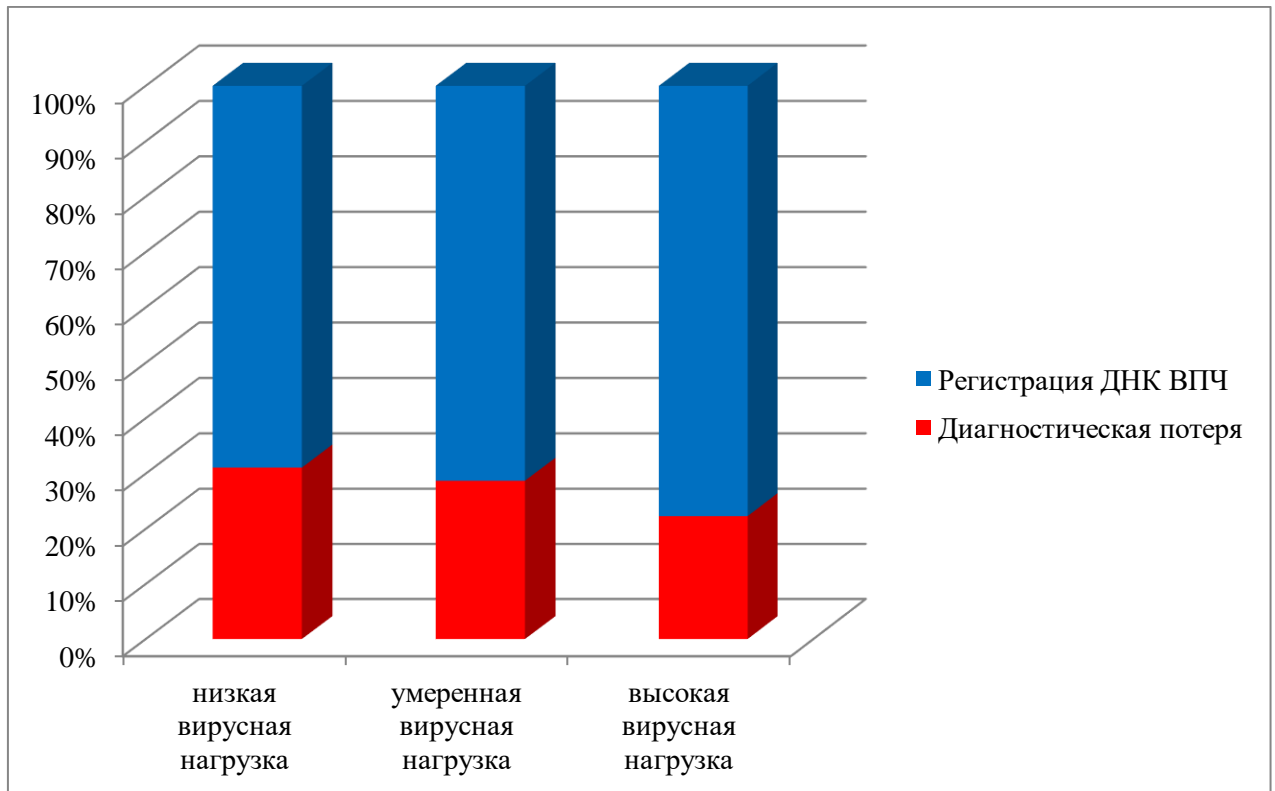


Рисунок 14. Соотношение случаев диагностической потери и регистрации ДНК ВПЧ при сравнении тест-систем, определяющих 21 и 12 генотипов ВПЧ

Кроме того, был проведен анализ случаев, в которых диагностическая потеря ДНК ВПЧ привела бы к отсутствию обнаружения поражений шейки матки. Так, из 307 потенциально пропущенных регистраций детекции ДНК

ВПЧ в 135 случаях наблюдался только один генотип ВПЧ. Таким образом, из 438 образцов пациенток с HSIL и LSIL, в которых обнаруживался один генотип ВПЧ, в 22,15% случаев поражения шейки матки были бы пропущены. При учете всех образцов женщин с LSIL и HSIL вышеописанная частота составляет 15,32%. Среди 341 случаев LSIL процент диагностической потери достигает 14,08% (рис. 15). В 292 образцах пациенток с HSIL данный показатель составляет 16,78% (рис. 16). При этом не было обнаружено статистически значимой разницы между показателями диагностической потери в случаях с LSIL и HSIL ( $p=0,341$ ).

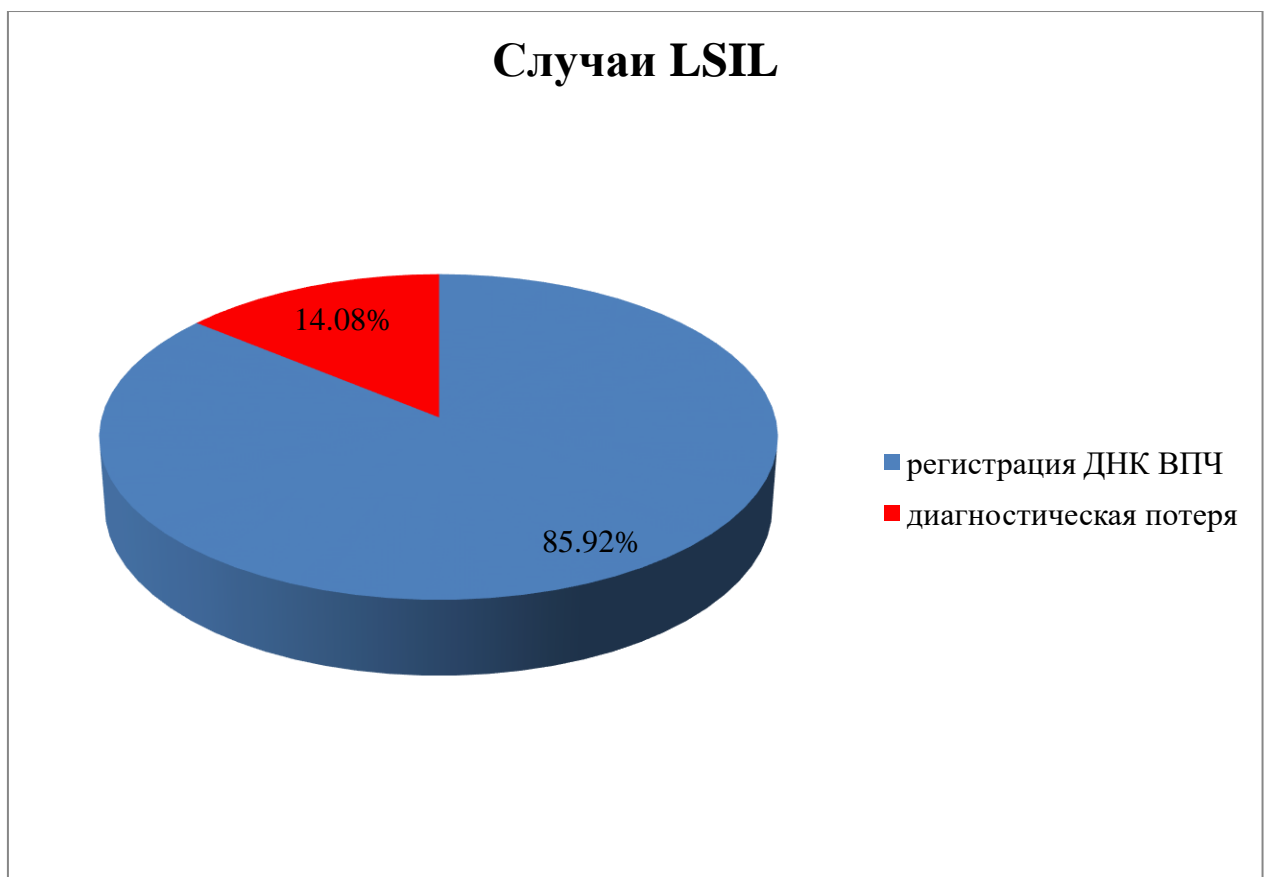


Рисунок 15. Показатель диагностической потери случаев с LSIL при сравнении тест-систем, определяющих 21 и 12 генотипов ВПЧ



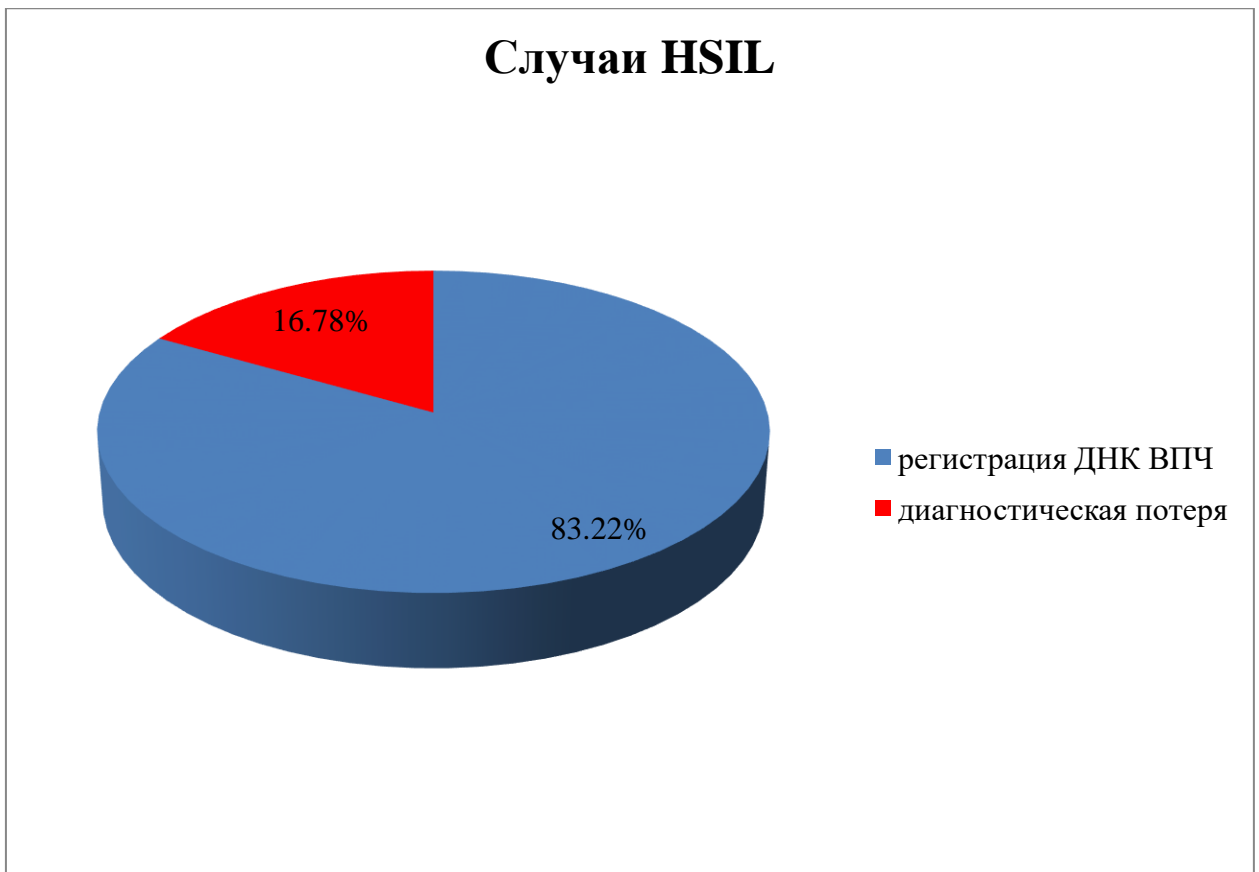


Рисунок 16. Показатель диагностической потери случаев с HSIL при сравнении тест-систем, определяющих 21 и 12 генотипов ВПЧ

Таким образом, тест-система, включающая в себя 21 генотип ВПЧ, обладает более значимой диагностической эффективностью по сравнению с панелью из 12 генотипов ВПЧ. При этом, при усреднении показателей ценности всех типов ВПЧ, составляющих разницу между двумя тест-системами, при добавлении в панель нового генотипа ВПЧ происходит повышение диагностической точности на 1,32%.

## **3.2. Результаты одномоментного поперечного исследования**

### **3.2.1. Клинико-анамнестическая характеристика пациенток**

В одномоментную поперечную часть исследования включены 99 ВПЧ-положительных пациенток, разделенных на 3 группы в зависимости от патоморфологического заключения: LSIL (n=34), HSIL (n=31), хронический цервицит (n=34). Медиана возраст пациенток составила 31 год (26;35). При этом статистически значимые различия в возрасте были выявлены только для группы пациенток с HSIL, что выразалось в увеличении возраста женщин этой группы на 2 года по сравнению с остальными группами ( $p < 0,05$ ). При изучении исследуемой выборки пациенток по признаку возраста начала половой жизни было обнаружено, что у 62/99 (62,6%) женщин этот возраст составил менее 18 лет. Также у данных пациенток статистически значимо чаще встречались HSIL и носительство двух и более генотипов ВПЧ ( $p < 0,001$  и  $p = 0,035$  соответственно). Кроме того, 74,8% случаев наличия трех и более половых партнеров было ассоциировано с возрастом начала половой жизни менее 18 лет. При анализе сопутствующей заболеваемости было выявлено, что в группе женщин с HSIL бактериальный вагиноз в анамнезе встречался на 29% чаще по сравнению с пациентками с LSIL и на 22% чаще по сравнению с женщинами с хроническим цервицитом ( $p < 0,001$ ). Для заболеваемости вульвовагинальным кандидозом между группами не было выявлено статистически значимой разницы, однако при HSIL статистически значимо чаще наблюдался рецидивирующий вульвовагинальный кандидоз с 4 и более эпизодами заболевания в год по сравнению с женщинами с LSIL и хроническим цервицитом ( $p < 0,001$ ). Следует отметить, что не было выявлено статистически значимой разницы у пациенток для других гинекологических заболеваний. Вместе с тем, при анализе структуры населенных пунктов пациенток было обнаружено, что женщины, проживающие в сельской местности, на 40% реже инфицированы двумя и более генотипами ВПЧ по сравнению с пациентками из крупных городов.

### 3.2.2. Результаты цитологического исследования.

Проведенный нами анализ результатов жидкостной цитологии показал, что в 1 группе в 26/34 (76,5%) было получено заключение LSIL, в 5/34 (14,7%) – NILM, в 3/34 (8,8%) – ASCUS. При этом во 2 группе в 26/31 (83,9%) случаях наблюдался HSIL, в 3/31 (9,7%) – LSIL, в 2/31 (6,5%) – ASC-H. В 3 группе в 100% случаев результаты жидкостной цитологии соответствовали заключению NILM.

### 3.2.3. Результаты расширенной кольпоскопии

У каждой пациентки, включенной в исследование в ходе выполнения расширенной кольпоскопии наблюдались изменения эпителия шейки матки, для окончательной верификации которых проведен априцельная биопсия шейки матки (рис. 17). При этом стык многослойного плоского (МПЭ) и цилиндрического эпителия (ЦЭ) визуализировался у всех обследуемых пациенток. В 1 группе пациенток с LSIL в 31/34 (91,2%) случае выявлялись слабовыраженные изменения эпителия шейки матки, в 3/34 (8,8%) – выраженные изменения шейки матки. (рис. 18). При этом нежная мозаика определялась – у 21/34 (61,8%), нежная пунктация – 14/34 (41,2%), у 10/34 (29,4%) – сочетание нежной мозаики с нежной пунктацией, выраженные изменения с признаком «поражения в поражении» – у 1/34 (2,9%). Во 2 группе женщин с HSIL у 30/31 (96,8%) пациенток наблюдались выраженные изменения эпителия шейки матки, в 1/31 (3,2%) – слабовыраженные изменения (рис 19). При этом грубая мозаика определялась – у 25/31 (80,6%), грубая пунктация – у 20/31 (64,5%), сочетание грубой мозаики с грубой пунктацией – у 18/31 (58,1%). В 3 группе пациенток в 100% случаев кольпоскопическая картина была оценена как слабовыраженные изменения эпителия шейки матки, с признаками нежной мозаики – 10/34 (29,4%), нежной пунктации – 6/34 (17,6%), сочетание нежной мозаики и нежной пунктации – 2/34 (5,9%) (рис 20).

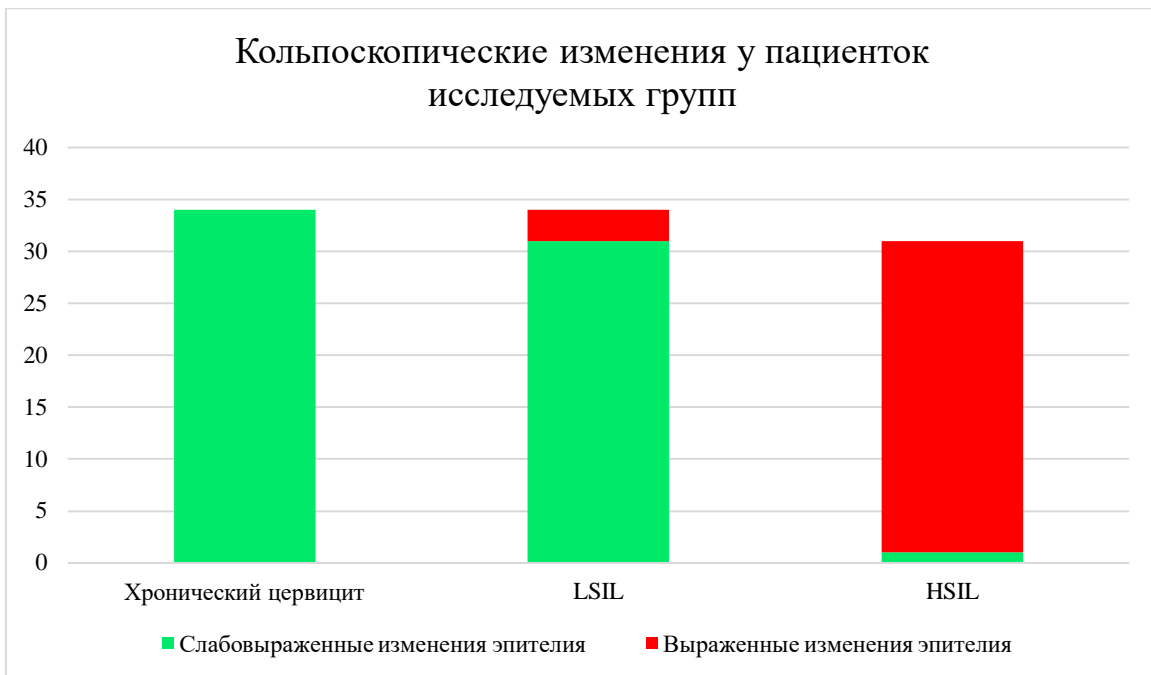


Рисунок 17. Кольпоскопические изменения эпителия шейки матки у пациенток каждой исследуемой группы.

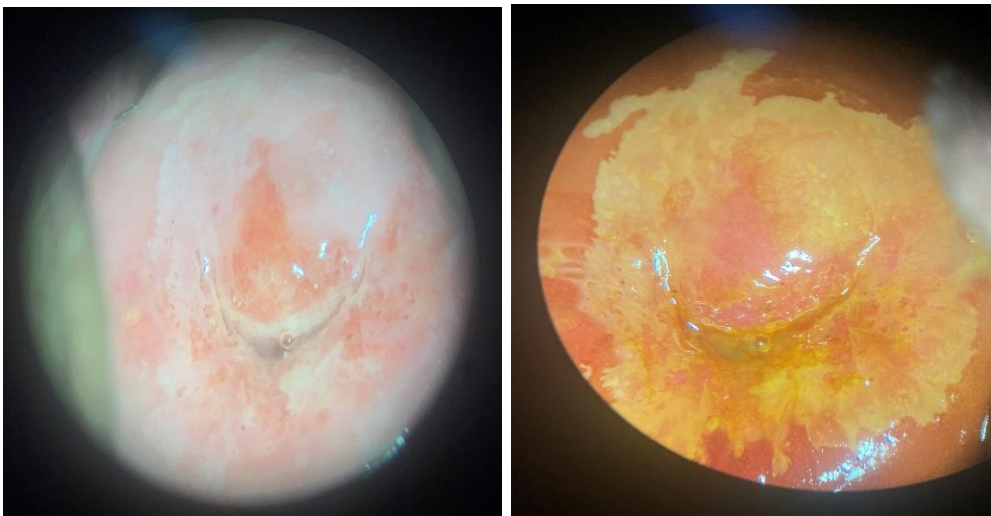


Рисунок 18. Кольпоскопическая картина пациентки с LSIL.

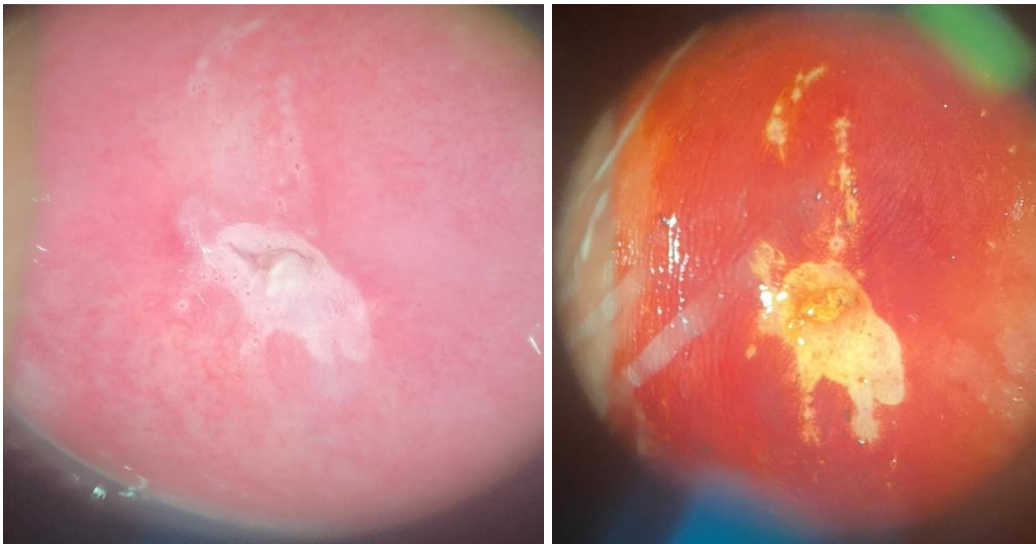


Рисунок 19. Кольпоскопическая картина пациентки с HSIL.



Рисунок 20. Кольпоскопическая картина пациентки с хроническим цервицитом.

### 3.2.4. Особенности распределения ВПЧ

Данные анализа показали, что среди 99 включенных в исследование парных образцов регистрация ДНК ВПЧ произошла 175 раз в биоматериале, полученном из цервикального канала, и 111 раз в гистологических блоках. При этом распределение случаев обнаружения ДНК ВПЧ в образцах цервикального канала выглядело следующим образом: хронический цервицит – 53/175 (30,3%), LSIL – 60/175 (34,3%), HSIL – 62/175 (35,4%).

Следует отметить, что данная характеристика была менее однородной в гистологических образцах: хронический цервицит – 22/111 (19,8%), LSIL – 40/111 (36,0%), HSIL – 49/111 (44,1%). Также нами был проведен анализ распределения генотипов ВПЧ в зависимости от метода забора биологического материала (рис. 21, 22).



Рисунок 21. Распределение генотипов ВПЧ в биоматериале из цервикального канала



Рисунок 22. Распределение генотипов ВПЧ в биоматериале из гистологического блока

Таким образом, проведенный анализ показал, что степень поражения шейки матки напрямую коррелирует с вероятностью подтверждения инфицированием генотипами ВПЧ по данным биоматериала, полученного из цервикального канала.

### **3.2.5. Сравнительный анализ ВПЧ-тестирования в эпителии цервикального канала и гистологических образцах.**

Проведенный нами сравнительный анализ показал, что в 49,1% случаев детекция ДНК ВПЧ, зарегистрированная в клетках эпителия из цервикального канала совпадала с результатами в гистологических образцах ткани, полученных в ходе выполнения прицельной биопсии шейки матки. Важно учитывать и внутригрупповые показатели совпадения данных ВПЧ-тестирования. Так, для группы пациенток с патоморфологическим заключением хронический цервицит показатель совпадения результатов теста на ДНК ВПЧ составил 28,3%, для группы женщин с LSIL – 45%, для

группы пациенток с HSIL – 67,7% (рис. 23)

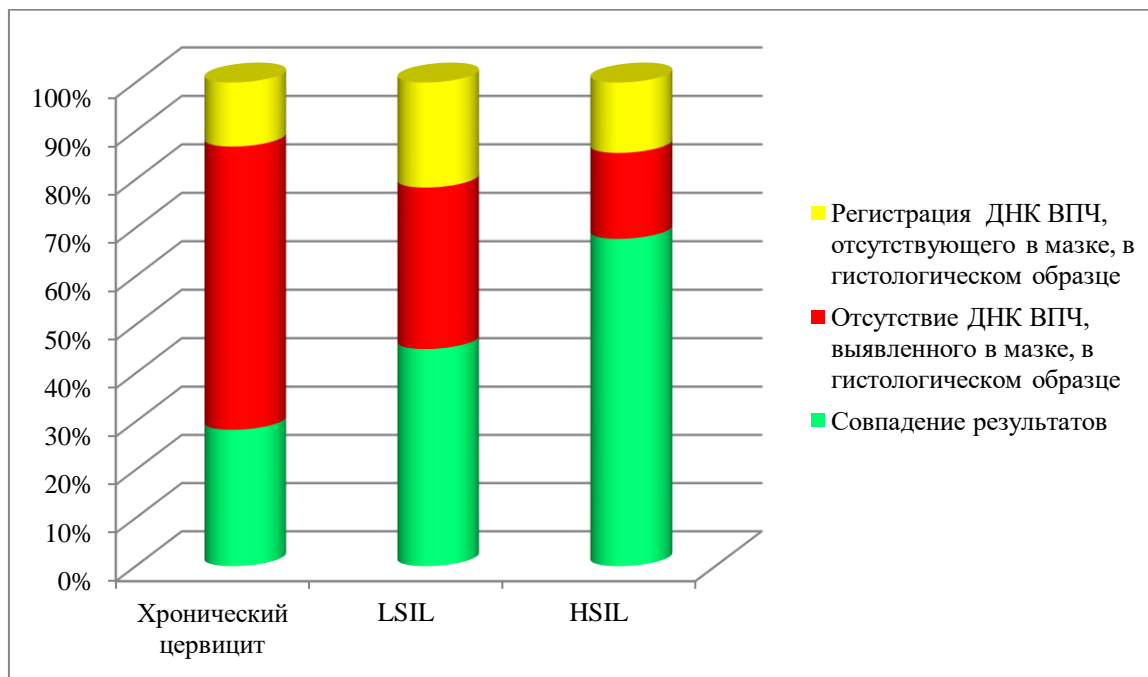


Рисунок 23. Сравнительный анализ соответствия случаев регистрации ДНК ВПЧ по группам в зависимости от локализации полученного биоматериала

В 25/111 (22,5%) случаев детекции ДНК ВПЧ в гистологических образцах обнаруживались генотипы ВПЧ, присутствие которых не было выявлено по данным тестирования мазков из цервикального канала. При этом в 8/25 (32%) подобных случаев наблюдалось выявление 16 генотипа ВПЧ, в 7/25 (28%) – 33 тип, в 6/25 (24%) – 51 тип. Важно отметить, что чаще всего новая регистрация ДНК 16 генотипа ВПЧ в гистологическом образце происходила в группе пациенток с LSIL (6/8, 75%).

Одним из важных акцентов исследования явилась оценка распространенности случаев одновременного выявления двух и более генотипов ВПЧ. Так, по нашим данным, результаты тестирования на ДНК ВПЧ на основе материала, полученного при помощи мазка из цервикального канала, показали, что в 46/99 (46,5%) было выявлено несколько типов ВПЧ. Однако при проведении теста на ВПЧ в гистологическом материале, полученном в ходе выполнения прицельной биопсии шейки матки, подобных случаев было всего 13/99 (13,1%). Эти различия оказались статистически значимыми ( $p < 0,001$ )



В ходе проведения нами анализа корреляции результатов ВПЧ-тестирования был обнаружен заслуживающий внимания феномен. Чрезвычайно интересно, что 44 тип ВПЧ, входящий в тройку лидирующих по распространенности генотипов (14/175, 8%) и в большей мере ассоциированный с HSIL, чем с LSIL или хроническим цервицитом (50% vs 28,6% vs 21,4% соответственно), не был выявлен ни в одном гистологическом образце ткани шейки матки. Вместе с тем, остальные лидирующие типы ВПЧ продемонстрировали высокие показатели соответствия результатов тестирования: 16 генотип – 30/32 (93,8%), 33 генотип – 13/16 (81,3%), 31 генотип – 11/16 (68,8%) (рис. 24).

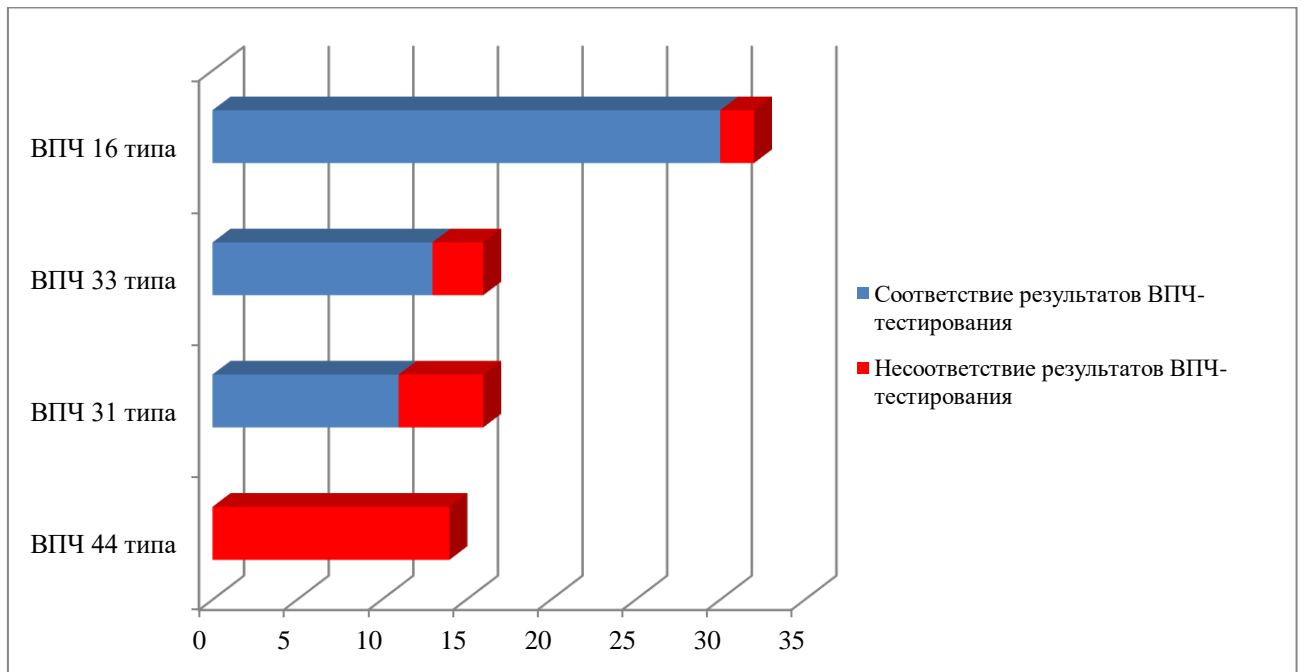


Рисунок 24. Сравнительный анализ основных лидирующих генотипов ВПЧ в эпителии цервикального канала и биопсийном материале шейки матки.

Таким образом, показатель соответствия результатов ВПЧ-тестирования в большей степени зависит от патоморфологического заключения – чем выше степень поражений шейки матки, тем больше вероятность подтверждения ВПЧ в гистологических образцах ткани последнего. Тем не менее, в ряде случаев происходит обнаружение ДНК ВПЧ генотипов, выявление которых не произошло в ходе проведения тестирования на основании мазка из цервикального канала. Особый интерес

представляет тот факт, что в большинстве подобных случаев выявляется 16 генотип ВПЧ. Кроме того, учитывая результаты ретроспективного исследования, при проведении анализа корреляции результатов ВПЧ-тестирования мы сделали акцент на изучении 44 генотипа ВПЧ и обнаружили, что не было ни одного случая его детекции в гистологических образцах ткани шейки матки.

### **3.2.6. Анализ вирусной нагрузки ВПЧ в эпителии цервикального канала и гистологических образцах.**

Особый интерес исследования представляет изучение влияния вирусной нагрузки ВПЧ на различные показатели, такие как встречаемость, частота обнаружения случаев одновременного инфицирования несколькими типами ВПЧ, степень поражения шейки матки. В частности, нами проведен анализ роли количественного измерения вируса папилломы человека на показатель соответствия результатов тестирования. Так, при тестировании на ДНК ВПЧ биоматериала, полученного при помощи забора мазка из цервикального канала, были получены 62 результата с высокой вирусной нагрузкой ВПЧ, 65 – с умеренной вирусной нагрузкой, 48 – с низкой. При этом при проведении теста на ВПЧ в гистологическом материале распределение выглядело следующим образом: в 52 образцах – высокая вирусная нагрузка, в 37 – умеренная, в 23 – низкая. Следует учитывать, что 22,5% детекций ДНК ВПЧ в гистологических образцах были впервые выявленными. Следовательно, эти случаи мы не учитывали при расчете корреляции результатов тестирования по принципу количественного определения ВПЧ. Так, результаты проведенного анализа свидетельствуют о том, что при низкой вирусной нагрузке ВПЧ соответствие результатов наблюдалось в 27,1% случаев, при умеренной вирусной нагрузке – в 35,4%, при высокой вирусной нагрузке – в 82,3% (рис. 25). Важно отметить, что разница в значении соответствия результатов между высокой и умеренной, а также между высокой и низкой вирусной нагрузкой ВПЧ была статистически значима ( $p < 0,001$  для обоих сравнений). Расчет критерия V Крамера показал

относительно сильную корреляционную связь между уровнем вирусной нагрузки и вероятностью совпадения результатов ВПЧ-тестирования (таб. 15). При сравнении умеренной и низкой вирусной нагрузки ВПЧ не было выявлено статистически значимой разницы ( $p=0,456$ )

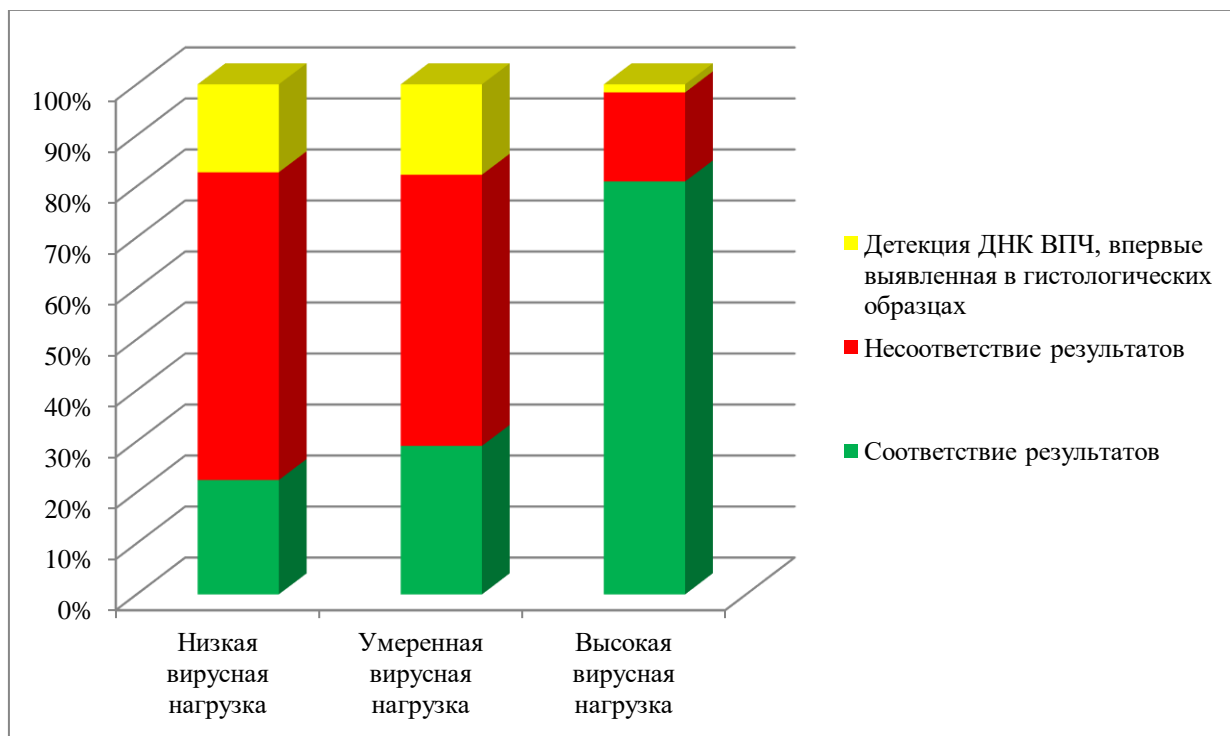


Рисунок 25. Сравнительный анализ результатов ВПЧ-тестирования на основании определения вирусной нагрузки

Таблица 15.

Градации вирусной нагрузки ВПЧ	Случаи совпадения результатов тестирования	Случаи несоответствия результатов тестирования	Критерий V Крамера	Значение p
Высокая/низкая вирусная нагрузка	51/13	11/35	0,555	$p<0,001$
Высокая/умеренная вирусная нагрузка	51/23	11/42	0,445	$p<0,001$
Умеренная/низкая вирусная нагрузка	23/13	42/35	0,074	$p=0,456$

Корреляционный анализ между уровнями вирусной нагрузкой ВПЧ и степенью соответствия результатов ВПЧ-тестирования

Кроме того, мы провели расчет корреляции результатов ВПЧ-тестирования в зависимости от каждого диапазона вирусной нагрузки величиной в 1 lg. Несмотря на неполное соблюдение тенденции к увеличению показателя соответствия результатов тестирования на уровне низкой вирусной нагрузки, начиная с градации умеренной нагрузки ВПЧ прослеживается значимое увеличение процента соотношения (рис. 26). Так, увеличение параметра вирусной нагрузки ВПЧ на 1 lg увеличивает вероятность подтверждения инфицирования выявленным в биоматериале из цервикального канала генотипом ВПЧ в изначально определенном количественном соотношении на 9,3%.

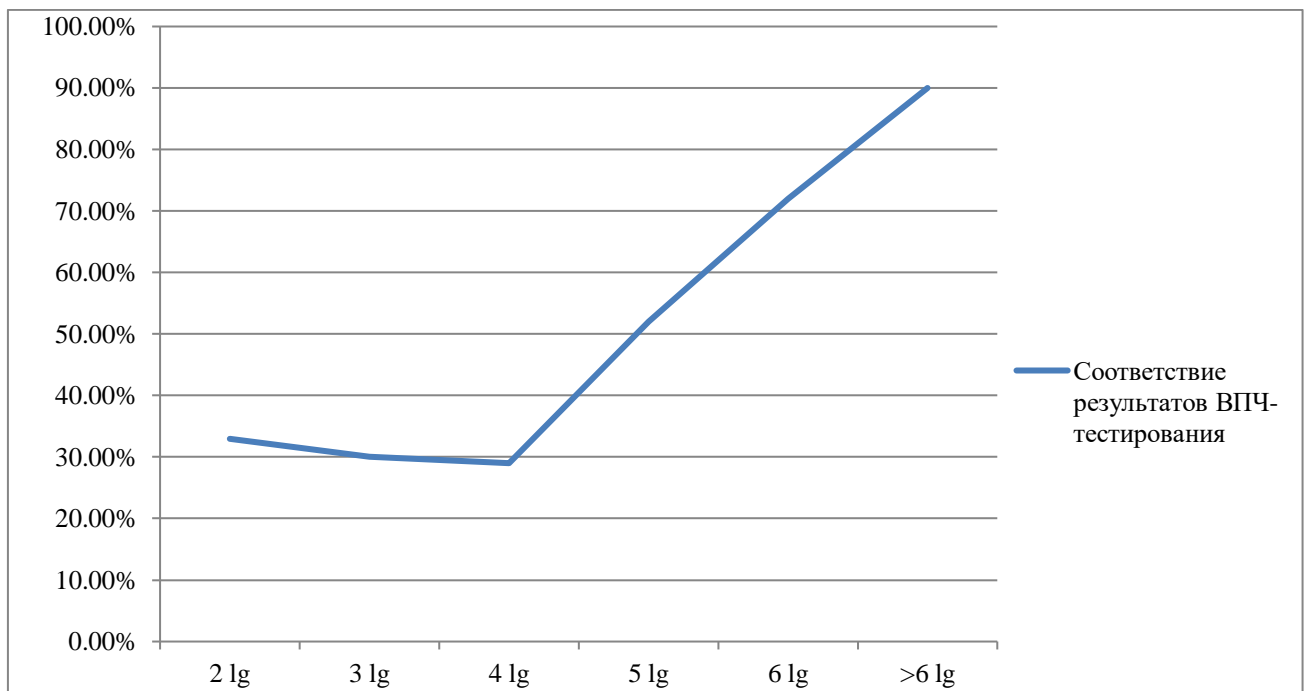


Рисунок 26. Влияние вирусной нагрузки ВПЧ на степень соответствия результатов ВПЧ-тестирования

Таким образом, при низкой вирусной нагрузке ВПЧ существует низкая вероятность подтверждения инфицирования ВПЧ в гистологическом материале. С другой стороны, при высокой вирусной нагрузке частота совпадения результатов ВПЧ-тестирования наиболее высокая.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРОВЕДЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

На сегодняшний день рак шейки матки (РШМ) занимает четвертое место по распространенности среди женского населения во всем мире [143, 144, 152]. Как известно, основным этиологическим фактором развития РШМ является вирус папилломы человека (ВПЧ). Недавно опубликованные исследования свидетельствуют о том, что в настоящий момент в мире идентифицировано более 220 вариантов генотипов вируса папилломы человека [134, 141, 142, 147]. Так, портал Papillomavirus Episteme (PaVE) опубликовал наиболее полную на сегодняшний день библиотеку генома ВПЧ, в которой состоит 229 различных генотипов ВПЧ [24]. В связи с этим особенно актуальной проблемой является вопрос качественного определения ДНК ВПЧ. Как известно, в мире не существует одной единственной тенденции к обнаружению лишь определенных генотипов ВПЧ [3, 20, 27, 28, 128, 149]. Так, несмотря на то, что в подавляющем большинстве данных литературных источников по частоте распространенности 16 тип ВПЧ занимает лидирующие позиции, следующие за ним 44 и 31 типы заметно выделяются на фоне других доминирующих генотипов, описываемых в зарубежных исследованиях [27, 29, 30, 31, 32]. В частности, в проведенном Farahmand M et al. (2020 г.) исследовании, в котором размер выборки ограничивался не географическим, а социальным фактором, представленность лидирующих генотипов ВПЧ высокого онкогенного риска распределилась таким образом: лидировал ВПЧ 16 генотипа (10,16%), за которым следовали 52 (7,88%) и 53 (6,01%). Особый интерес представляет тот факт, что авторы исследования также представили распределение генотипов ВПЧ низкого онкогенного риска, частота выявления которых сопоставима с типами ВПЧ высокого риска развития канцерогенеза. Так, 89 генотип ВПЧ встречался в 7,04% всех случаев, 50 тип – в 4,18%, 59 тип – в 3,42% [27]. Чрезвычайно важно подчеркнуть, что все указанные генотипы низкого онкогенного риска не входят в состав валидированных

отечественных диагностическим панелей генотипирования ВПЧ. Другое исследование в данном направлении, проведенное Campos RG et al (2019 г.), представляет результаты, свидетельствующие о принципиально другом распределении генотипов ВПЧ на территории Мексики. Так, наиболее часто встречающимся типом ВПЧ был 51 (28,6%), за которым следовали 16 (21,8%) и 31 (11,6%). Обращает также на себя внимание тот факт, что помимо общей встречаемости 51 генотип лидировал также в выявляемости при РШМ и HSIL [26]. Полученные в ходе выполнения диссертационной работы результаты свидетельствуют о выраженной неоднородности представленности генотипов ВПЧ как в целом среди популяции, так и внутри разных гистологических групп. Кроме того, были получены важные данные касательно распределения ВПЧ, не характерные для стандартов, наблюдаемых исследователями в других странах.

Таким образом, спектр обнаружения генотипов ВПЧ, заложенный в диагностическую панель, должен определяться индивидуально для каждого географического региона, в котором планируется проведение тестирования на ДНК ВПЧ, на основании проведения масштабных популяционных исследований.

Однако вопросы вызывает не только проблема диапазона генотипирования ВПЧ, но и внутренняя иерархия генотипов, подчиненная отечественной классификации, делящей ВПЧ на генотипы низкого и высокого онкогенного риска. Как известно, к высокоонкогенным типам ВПЧ относят 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82 генотипы [4]. К низкоонкогенным типам ВПЧ относят 6, 11, 44 генотипы. Однако ВОЗ рассматривает трехступенчатую классификацию с градацией на высокий, умеренный и низкий онкогенный риск в зависимости от их общей распространенности и степени ассоциированности с различными стадиями поражений шейки матки [33]. К примеру, 66, 68, 73, 82 генотипы ВПЧ, признанные в нашей стране высокоонкогенными, согласно классификации HPV Centre относятся к категории умеренного онкогенного риска.

Полученные нами данные свидетельствуют о необходимости пересмотра данной классификации. Так, согласно проведенному нами ретроспективному анализу 44 генотип ВПЧ по распространенности следовал сразу за 16 генотипом и встречался в 12,3% всех случаев. Кроме того, в 7,9% случаев всех детекций ДНК ВПЧ при HSIL и в 16,4% всех образцов с HSIL обнаруживался 44 генотип ВПЧ. Кроме того, проведенный анализ продемонстрировал, что в 7,2% случаев выявления HSIL был ассоциирован только с 44 генотипом ВПЧ. Представленные результаты существенно расходятся с общемировыми данными, так как согласно официальному отчету HPV Centre 44 генотип ВПЧ встречается всего лишь в 2% случаев пациенток с HSIL. Иными словами, распространенность 44 типа ВПЧ при HSIL в нашей выборке женщин более чем в 8 раз превышает общемировой стандарт. При этом важно отметить, что доля случаев HSIL, ассоциированных с другими генотипами ВПЧ, такими как 16, 31, 33, с определенной точностью соответствовала общемировым данным. Так, согласно данным HPV Centre 16 генотип встречается в 45,1% случаев женщин с HSIL, в то время как согласно нашим результатам 16 генотип ВПЧ в 39,5% случаев был ассоциирован с HSIL. Аналогичная тенденция наблюдалась и для 31 генотипа с долей выявления при HSIL, соответствующей 10,4% согласно мировому стандарту и 13,4% согласно нашим результатам. Следует отметить, что согласно полученным нами результатам распространенность 44 генотипа ВПЧ при HSIL значительно превышает таковую при 31 генотипе ВПЧ, несмотря на то, что последний при подтверждении у женщин HSIL занимает третье место после 16 и 52 типов ВПЧ [33]. Таким образом, остается открытым вопрос обновления отечественной классификации генотипов ВПЧ на основании риска канцерогенеза.

Получение наиболее полной и достоверной информации относительно общего распределения и степени ассоциированности ВПЧ с различными стадиями поражений шейки матки возможно только при достижении

определенного минимального диагностического диапазона тест-панелей, регистрирующих ДНК ВПЧ. Согласно отечественным клиническим рекомендациям спектр генотипирования должен составлять не менее 12 типов ВПЧ [4]. Однако, как свидетельствуют полученные нами результаты, с добавлением каждого нового генотипа ВПЧ в диапазон тест-панели диагностическая эффективность тестирования на ДНК ВПЧ будет увеличиваться. Учитывая, что в большинстве технологически развитых странах мира тест на ВПЧ является первичным методом скрининга на РШМ, совершенствование данного метода исследования в направлении расширения диапазона качественного определения генотипов ВПЧ позволит существенно ускорить достижения порога заболеваемости РШМ до 4 на 100 000 населения, что является целью национальных программ скрининга на РШМ [14-17, 34, 37].

В настоящее время в ряде стран созданы национальные диагностические тест-системы. Например, Национальная лаборатория Канады разработала диагностическую панель тестирования на ВПЧ, включающую в себя более 40 генотипов ВПЧ [35]. Во многих современных исследованиях, изучающих распространенность ВПЧ, применяются тест-системы, обладающие широким спектром генотипирования [23, 27, 36, 38, 39]. Авторы этих исследований приходят к выводу, что использование более широкой панели тестирования на ВПЧ в значительной мере совершенствует наше понимание клинической картины каждого отдельного пациента. К примеру, расширение диагностического спектра генотипирования ВПЧ позволяет увеличить частоту обнаружения сочетанного выявления нескольких типов ВПЧ [137, 138]. Это может оказать значимое влияние на дальнейший прогноз развития заболевания. Кроме того, добавление новых генотипов в спектр тестирования на ДНК ВПЧ позволит существенно уменьшить количество ВПЧ-негативных случаев патологии шейки матки. Также следует подчеркнуть, что тестирование на ВПЧ обладает значимо большей чувствительностью по сравнению с цитологическим методом



исследования. В связи с этим важно отметить, что ложноотрицательные результаты ВПЧ-тестирования, получаемые вследствие ограниченного спектра генотипирования, могут приводить к колоссальным диагностическим потерям, которые в будущем потенциально смогут способствовать увеличению заболеваемости и смертности от РШМ. Полученные нами результаты на примере ретроспективного сравнения данных ВПЧ-тестирования на панелях, определяющих 12 и 21 генотип ВПЧ, вероятно свидетельствуют о том, что при использовании более узкой тест-системы 14,08% всех случаев LSIL и 16,78% всех случаев HSIL будут пропущены, что приведет к выявлению заболеваний на более поздних стадиях его развития. Важно подчеркнуть, что 24,19% случаев регистрации ДНК ВПЧ не будут выявлены, что повлечет за собой уменьшение частоты одновременного обнаружения двух и более генотипов ВПЧ и снижение прогностической возможности в отношении возможной прогрессии заболевания. Учитывая вышеописанные результаты, существуют основания предполагать, что и панель из 21 генотипа ВПЧ обладает определенным риском диагностической потери. Так, согласно результатам крупномасштабных метаанализов было показано, что низкоонкогенные типы ВПЧ, такие как 62, 70, 67, 89 типы, также ассоциированы с истинным предраком шейки матки [40, 55, 97]. Так, согласно официальным данным частота встречаемости HSIL при обнаружении 62 генотипа ВПЧ, не входящего в отечественную панель, состоящую из 21 генотипа, выше по сравнению с 73 генотипом, обладающим наименьшим процентом встречаемости при предраке шейки матки (1,7% vs 1,6%) [33]. Другие типы ВПЧ, такие как 70 и 67, также не определяемые отечественной диагностической панелью, демонстрируют равную 73 генотипу частоту встречаемости при HSIL. Кроме того, в свете представленных нами результатов в отношении 44 генотипа ВПЧ, официально признанного низкоонкогенным, но обладающего всеми характеристиками типов ВПЧ высокого риска канцерогенеза, одним из будущих перспективных направлений представляется изучение особенностей

распределения низкоонкогенных типов ВПЧ, обладающих высокой частотой встречаемости согласно результатам крупных международных исследований. Например, в крупном метаанализе Farahmand M et al. (2020 г.) представлены данные 21 402 пациенток, прошедших тестирование на ДНК ВПЧ, в ходе которого проводилось определение 52 генотипов ВПЧ. Авторы исследования получили результаты, свидетельствующие о том, что ВПЧ 89 генотипа, который считается одним из наиболее редко встречающихся низкоонкогенных типов ВПЧ, занял третье место по общей встречаемости (7,04%), уступив лидирующие позиции только 16 (10,16%) и 52 (7,89%) типам ВПЧ. Следует подчеркнуть, что такие низкоонкогенные типы ВПЧ, как 50 (4,18%) и 54 (3,42%), выявлялись чаще по сравнению с наиболее распространенными согласно мировому стандарту 6 типом ВПЧ (3,4%) и чаще высокоонкогенных 33 (2,82%), 35 (3,41%) и 68 (2,84%) типов [27]. Также в недавно опубликованном исследовании Ma Y et al. (2023 г.), проведенном в Китае, в которое было включено 21862 пациентки с позитивным ВПЧ-статусом, были проведен анализ распределения генотипов ВПЧ на основе использования диагностической панели, включающей в себя 23 генотипа ВПЧ (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82, 6, 11, 42, 43, 81 и 83). Проведенные авторами исследования расчеты показали, что низкоонкогенные типы ВПЧ, такие как 81 и 42, преобладали по частоте выявляемости, уступая лишь определенным лидирующим типам ВПЧ высокого риска канцерогенеза. Так, лидирующие генотипы ВПЧ по частоте обнаружения были распределены следующим образом: 16 – 2,9%, 52 – 2,3%, 53 – 1,8%, 58 – 1,5%, 81 – 1,4%, 51 – 1,3%, 56 – 1,2%, 42 – 1,0% [40]. Таким образом, существует определенный научный интерес в области изучения частоты встречаемости низкоонкогенных типов ВПЧ и степени их ассоциированности с развитием патологии шейки матки для возможного расширения диагностической панели генотипирования в будущем с целью повышения диагностической эффективности ВПЧ-тестирования.

Еще одним направлением в изучении патогенеза ВПЧ, по которому на

сегодняшний день в мировой научной среде не существует единого мнения, является проблема выявления нескольких генотипов ВПЧ в одном исследуемом образце. До сих пор неизвестна частота встречаемости вышеописанных случаев. Ведущие исследователи, специализирующиеся в этой сфере научного интереса, приводят данные, свидетельствующие о том, что одновременное выявление двух и более генотипов ВПЧ происходит в 25-40% случаев [41, 42, 43, 44, 133]. Однако следует отметить, что приведенные показатели не могут быть точными в силу того, что частота выявления случаев с несколькими обнаруженными генотипами ВПЧ существенно зависит от метода исследования и спектра доступного генотипирования [45, 46, 47]. Очевидно, что чем меньше типов ВПЧ представлены в используемой диагностической системе, тем реже будут выявляться случаи регистрации сразу нескольких генотипов ВПЧ. Тем не менее, вышеописанный феномен обладает значимой, но еще не определенной диагностической и прогностической ценностью в отношении развития и прогрессии плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки [135]. В настоящее время в мире в равном соотношении представлены две гипотезы в отношении возможного прогноза в случаях одновременного выявления двух и более генотипов ВПЧ: первая теория - представление вышеуказанных случаев как фактор благоприятного прогноза при его ассоциации с менее выраженными поражениями шейки матки; вторая теория - выявление нескольких типов ВПЧ - предиктор развития предраковых и раковых поражений шейки матки, в соответствии с которым каждый тип ВПЧ потенцирует патогенное воздействие других генотипов [41, 139]. Так, в одном из наиболее известных в мировой литературе исследований De Brot et al. (2017 г) изучались результаты ВПЧ-тестирования 260 женщин с последующим патоморфологическим заключением [48]. Важно отметить, что диагностическая тест-система включала в себя 37 генотипов ВПЧ. Именно этим фактом объясняется высокая частота обнаружения случаев одновременного выявления двух и более генотипов ВПЧ – в 44,7% случаев.

В 61,5% случаев LSIL и в 16,6% образцах CIS было обнаружено несколько генотипов ВПЧ, в то время как один генотип ВПЧ определялся у женщин с LSIL в 38,5%, а с CIS – в 83,4% ( $p=0,015$ ). Вместе с тем, работы других авторов, в частности Salazar KL et al. (2015 г) демонстрируют другую точку зрения. Так, в исследуемую когорту были включены 798 пациенток, которым проводили цитологическое исследование и тестирование на ДНК ВПЧ на панели, состоящей из 40 генотипов ВПЧ [49]. Два и более генотипа ВПЧ было обнаружено в 38,2% всех случаев. Авторы исследования делают вывод о том, что для случаев выявления одного генотипа ВПЧ и образцов с несколькими обнаруженными генотипами риск получения заключения цитологического исследования, отличного от NILM, составляет 12%. Вероятно, результаты вышеуказанного исследования являются скомпрометированными вследствие проведения некорректной корреляции между результатами ВПЧ-тестирования и заключениями цитологического исследования. Известно, что цитологическое исследование обладает значительно меньшей чувствительной в отношении обнаружения CIN II+ и, в особенности, CIN I, обладая при этом высоким показателем специфичности [50, 51]. Тем не менее, в другом недавно опубликованном исследовании Kim M. et al. (2021 г) были проанализированы результаты 1967 тестирований на ДНК ВПЧ [31]. Процент выявления двух и более генотипов ВПЧ был сравнительно небольшим и составил 11,9% (236/1967). При этом авторы полагают, что HSIL был статистически значимо более ассоциирован с обнаружением нескольких генотипов по сравнению с регистрацией ДНК одного типа ВПЧ (33,2% vs 18,3%,  $p = 0,002$ ). Однако приводятся также результаты, свидетельствующие о том, что при LSIL также лидировали случаи с выявлением двух и более генотипов ВПЧ (15,7% vs 10,0%). В случаях с РШМ доминировала группа, в которой был выявлен один генотип ВПЧ (16,7% vs 12,3%). Однако следует отметить, что статистической разницы между случаями РШМ выявлено не было. Также авторы сделали вывод о том, что обнаружение нескольких генотипов ВПЧ более значимо

ассоциировано с персистенцией ВПЧ по сравнению с одним типом ВПЧ (93,5% vs 62,8%;  $p < 0,001$ ). Можно предположить, что более длительная персистенция ВПЧ в случаях выявления двух и более типов ВПЧ может быть связана с тем, что с увеличением количества генотипов ВПЧ повышается вероятность встраивания ДНК вируса в геном клеток хозяина одного из инфицирующих типов ВПЧ. Вместе с тем, в другом исследовании M.T. Bruno et al. (2020 г) проводился сравнительный анализ результатов прицельной биопсии шейки матки у 360 пациенток с выявленным одним генотипом ВПЧ и 287 пациенток с двумя и более типами ВПЧ [52]. Согласно результатам гистологического исследования обнаружение нескольких типов ВПЧ ассоциировалось с CIN 1 - у 60,4% женщин, с CIN 2 - в 43,7%, с CIN 3 - в 22,1%. Важно отметить, что не было выявлено ни одного случая РШМ с несколькими типами ВПЧ. Вышеописанные данные согласуются с полученными нами результатами сравнительного ретроспективного анализа. Так, в случаях с HSIL два и более генотипов ВПЧ встречались в 21,6% образцов, а среди женщин с LSIL – в 38,7%. При этом было статистически значимо установлено ( $p < 0,001$ ), что выявление в одном образце сразу нескольких генотипов ВПЧ (3 и более типов) чаще ассоциируется с LSIL по сравнению с HSIL (24,9% vs 5,5% соответственно) (ОШ = 2,36, 95% ДИ: 1,66-3,35). Также оценка наличия связи между выявлением трех и более генотипов ВПЧ и обнаружением LSIL показала наличие средней положительной корреляционной связи.

Таким образом, оценка количества выявляемых генотипов ВПЧ является важным фактором при интерпретации результатов тестирования на ДНК ВПЧ и обладает значимым прогностическим потенциалом в отношении вероятности обнаружения поражений шейки матки различной степени.

Следует отметить, что в современной литературе практически не встречается данных о биоразнообразии и его равномерном распределении среди выявляемых генотипов ВПЧ. Однако эти показатели являются чрезвычайно важными индикаторами внутренних иерархических процессов

вируса папилломы человека. Кроме того, эти данные необходимо учитывать при подготовке к проведению будущих исследований в отношении распределении генотипов ВПЧ при различной патологии шейки матки. Так, наши результаты статистически значимо свидетельствуют о том, что с ростом степени поражения уменьшается индекс биоразнообразия и равномерность биораспределения типов ВПЧ (0,92 при LSIL vs 0,74 при HSIL). Разница в индексах биоразнообразия свидетельствует о том, что при HSIL значимо реже встречаются типы ВПЧ, отличные от основных лидирующих по представленности. Иными словами, при проведении исследования по изучению особенностей распределения типов ВПЧ при HSIL потребуется большая выборка пациентов для получения статистически значимых данных. Кроме того, подобные значения могут являться косвенным подтверждением гипотезы, согласно которой обнаружение сразу нескольких типов ВПЧ является более прогностическим благоприятным по сравнению с выявлением только одного генотипа. Таким образом, для HSIL характерно существенное снижение частоты выявляемости нескольких генотипов ВПЧ в одном образце и формирование четкой структуры лидирующих по встречаемости генотипов, в которой основные четыре типа ВПЧ (16, 31,33 и 44) занимают 68,7% от общего количества случаев, что, соответственно, влияет на значимо меньшие показатели биоразнообразия ВПЧ при HSIL по сравнению с LSIL и хроническим цервицитом.

На сегодняшний день неоспорима роль качественного определения ДНК ВПЧ в развитии патологии шейки матки, известная с 1990-ых годов XX века, когда на примере исследований по определению предикторов развития РШМ вирус папилломы человека определялся как сильный независимый фактор возникновения РШМ [53, 54]. Однако в настоящее время можно утверждать, что количественное определение ВПЧ играет не менее важную роль, чем проведение генотипирования. Результаты многих проведенных многоцентровых исследований свидетельствуют о том, что количественное определение ВПЧ может служить маркером последующей прогрессии

плоскоклеточных интраэпителиальных поражений [55, 56, 57]. Тем не менее, в научном сообществе существует также противоположная гипотеза, отмечающая отсутствие статистической значимости при сравнении вирусной нагрузки ВПЧ между группами CIN I, CIN II, CIN III и РШМ [58, 59, 60, 61, 62]. В связи с этим многие тест-системы, определяющие наличие ДНК ВПЧ, не учитывают фактор его количественного присутствия, что в известной мере может ограничивать диагностическую и прогностическую эффективность тестирования на ВПЧ. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что количество одновременно выявляемых генотипов ВПЧ не оказывает влияния на уровень вирусной нагрузки ВПЧ. Так, в 1 группе на долю высокой вирусной нагрузки пришлось 36,2% случаев выявления одного гентипа ВПЧ, в которых определялась высокая вирусная нагрузка, в то время как в образцах с двумя и более генотипами ВПЧ этот показатель составил 32,1%. Аналогичный расчеты представлены и для остальных исследуемых групп: во 2 группе – 31,5% vs 34,2%; в 3 группе – 68,8% vs 54,9% соответственно. Однако уровень вирусной нагрузки существенно коррелировал со степенью тяжести поражений шейки матки. Нами продемонстрированы результаты расчетов, исходя из которых очевидно, что вне зависимости от выявленного генотипа ВПЧ при высокой вирусной нагрузке вероятность обнаружить HSIL статистически значимо выше по сравнению с LSIL (ОШ=5,26; 95% ДИ: 3,19-8,64). При этом при определении умеренной вирусной нагрузки LSIL встречается чаще по сравнению с HSIL (ОШ = 2,40; 95% ДИ: 1,61-3,56). В соответствии с данной тенденцией при низкой вирусной нагрузке статистически значимо чаще будет определение патологии шейки матки, ассоциированной с LSIL, по сравнению с HSIL (ОШ = 6,17; 95% ДИ: 3,02-12,58). Эти данные согласуются с результатами многих аналогичных исследований [55, 56, 57]. Так, в недавно опубликованной работе Liu Y et al. (2021 г.) были получены результаты, свидетельствующие, что вирусная нагрузка ВПЧ является независимым фактором риска развития CIN III и РШМ. При этом вероятность обнаружения CIN III существенно менялась в

зависимости от определения умеренной или высокой вирусной нагрузки (ОШ=2,85 и ОШ=7,05 соответственно) [63]. Следует отметить, что для 16, 31 и 44 типов ВПЧ не было выявлено статистически значимой разницы в среднем уровне вирусной нагрузки между случаями с одним и несколькими выявленными генотипами ВПЧ, в то время как для 51, 56, 59, 66, 6, 68, 73 и 82 типов была обнаружена тенденция, свидетельствующая об увеличении уровня средней вирусной нагрузки с увеличением количеством выявленных генотипов ВПЧ. Подобные разногласия в результатах сравнительного анализа могут быть связаны с одной стороны с недостаточным количеством изучаемой выборки, с другой - с еще не изученными факторами, такими как гипотетическое существование синергетической или антагонистической взаимосвязи между генотипами ВПЧ разных филогенетических групп, которые не были учтены при проведении нашего исследования. Тем не менее, для 16, 18, 31, 39 и 44 генотипов ВПЧ была обнаружена статистически значимая закономерность, позволяющая ассоциировать более высокие уровни параметра вирусной нагрузки ВПЧ с выявлением более тяжелых поражений шейки матки. При этом важно подчеркнуть, что наиболее сильную корреляционную связь мы получили для 18 генотипа ВПЧ, для которого критерий  $V$  Крамера составил 0,419. Это позволяет трактовать полученное значение как относительно сильную положительную связь. Кроме того, не было ни одного наблюдения 18 генотипа ВПЧ с низкой вирусной нагрузкой при гистологическом заключении HSIL. Вместе с тем, результаты нашего исследования показали, что при хроническом цервиците и LSIL с возрастом вирусная нагрузка ВПЧ становится статистически значимо меньше ( $p=0,02$  для обеих групп). Тем не менее, эти данные не согласуются с результатами последних литературных источников. Так, недавно было опубликовано крупное исследование Zhou Y et al. (2023 г.), результаты которого свидетельствуют об увеличении в 5,5 раз вероятности обнаружить CIN III у пациенток с высокой вирусной нагрузкой 16 генотипа ВПЧ по сравнению с женщинами, у которых количественный расчет присутствия



ДНК ВПЧ 16 типа был определен как низкий [57]. Следует отметить, что высокая вирусная нагрузка ВПЧ 16 генотипа ассоциировалась со значимо менее благоприятным прогнозом в отношении развития CIN III у пациенток старше 30 лет (OR 30.7 vs 86.7,  $p < 0,0001$ ). Кроме того, авторы сделали вывод о том, что для 33, 31, 18, 35 и 58 генотипов ВПЧ также существует статистически значимая тенденция к увеличению вероятности диагностировать поражения шейки матки более высокой степени по мере увеличения вирусной нагрузки. Однако для остальных типов ВПЧ не было выявлено подобных результатов, что, вероятно, связано с ограниченной выборкой пациентов. В проведенном нами исследовании для 6, 11, 26, 33, 35, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82 типов ВПЧ также не было выявлено статистически значимых результатов оценки связи между степенью поражения шейки матки и уровнем вирусной нагрузки, предположительно, по причине недостаточного количества выявленных случаев с присутствием указанных типов ВПЧ. Таким образом, при существующей градации, определяющей низкую умеренную и высокую вирусную нагрузку ВПЧ, существует выраженная тенденция к увеличению уровня вирусной нагрузки, коррелирующей с частотой выявления более тяжелых поражений шейки матки.

В современном мире при организации национальных программ скрининга на РШМ все чаще предпочтение отдается именно ВПЧ-тестированию как первичному методу диагностики. Однако забор материала для теста на ДНК ВПЧ производится при помощи забора мазка из цервикального канала с захватом поверхностных клеток эпителиального пласта. При этом при позитивном ВПЧ-статусе пациентки и визуальном наличии поражений шейки матки по данным расширенной кольпоскопии мы достоверно не знаем, какие генотипы ВПЧ ответственны за изменения эпителия шейки матки. Вероятно, генотипы, обнаруженные в клетках цервикального канала, и типы ВПЧ, находящиеся непосредственно в очаге поражения шейки матки, могут различаться. Именно с целью уточнения

цитогистологической корреляции в отношении тестирования на ВПЧ мы в ходе выполнения диссертационной работы провели анализ парных образцов: мазков из цервикального канала и биоптированных фрагментов шейки матки, полученных в ходе выполнения прицельной биопсии. Следует отметить, что подобные работы во всем мире встречаются крайне редко, вследствие этого при подготовке к выполнению данной части исследования мы ориентировались на эксперимент Gordana Hales et al. (2017г), в котором 74 парных цитологических и гистологических образцов рака шейки матки тестировали на диагностической панели, состоящей из 51 генотипа ВПЧ [101]. Результаты этой работы свидетельствуют о том, что в 93% случаев наблюдалось соответствие между результатами тестирования на ВПЧ. При этом в случаях с низкой вирусной нагрузкой ВПЧ расхождение результатов выявлено в 78% случаев. Кроме того, процент выявляемости двух и более типов ВПЧ в одном исследуемом образце был статистически значимо ниже в биоптированных фрагментах ткани по сравнению с цитологическими мазками (14% vs 47%,  $p < 0,001$ ). Следует отметить, что полученные нами данные подтверждают и во многом дополняют эти результаты. Так, для HSIL показатель совпадения результатов теста на ДНК ВПЧ составил 67,7%, для LSIL – 45%, для хронического цервицита – 28,3%. Значения, полученные Gordana Hales et al, соответствует тренду увеличения показателя соответствия результатов тестирования в зависимости от степени поражения шейки матки, обнаруженному нами. Кроме того, проведенный анализ свидетельствует о том, что при низкой вирусной нагрузке ВПЧ соответствие результатов наблюдалось в 27,1% случаев, при умеренной вирусной нагрузке – в 35,4%, при высокой вирусной нагрузке – в 82,3%, что также соответствует результатам проведенного зарубежного исследования. Также следует отметить, что нами получены идентичные данные по распределению случаев с несколькими выявленными генотипами ВПЧ: в нашем исследовании выявление двух и более типов ВПЧ в биоптированных фрагментах ткани шейки матки было статистически значимо ниже по

сравнению с биоматериалом из цервикального канала (13,1% vs 46,5%,  $p < 0,001$ ). Также важно отметить выявленную нами особенность распределения 44 генотипа ВПЧ. Несмотря на лидирующие позиции 44 типа ВПЧ по данным тестирования на ДНК ВПЧ из цервикального канала, данный генотип не был обнаружен ни в одном биопсийном образце шейки матки. Вероятно, это свидетельствует о том, что 44 генотип ВПЧ обладает тропностью к клеткам цилиндрического эпителия. Учитывая полученные нами результаты ретроспективного исследования, которые демонстрируют ассоциированность 44 генотипа с предраком шейки матки, возмозно, назрела необходимость в проведении дальнейших исследований в области изучения данного типа ВПЧ.

Таким образом, с ростом уровня вирусной нагрузки ВПЧ возрастает вероятность обнаружения генотипов ВПЧ в пораженной ткани шейки матки. Кроме того, показатель соответствия результатов ВПЧ-тестирования в большей степени зависит от патоморфологического заключения – чем выше степень поражений шейки матки, тем больше вероятность подтверждения ВПЧ в гистологических образцах ткани.

Согласно данным мировой литературы вероятность прогрессирования LSIL до HSIL в течение 2 лет составляет 12% [177]. При этом, результаты проведенных недавно исследований демонстрируют, что вышеуказанная вероятность возрастает в зависимости от таких факторов как выявление высокоонкогенного типа ВПЧ или длительная персистенция ВПЧ [178]. Согласно клиническим рекомендациям тактика ведения пациенток с LSIL предполагает проведение динамического контроля за состоянием шейки матки в течение 12-24 месяцев, а при повторном выявлении LSIL по истечении периода наблюдения пациенткам показано проведение аблативного или эксцизионного лечения шейки матки [4, 179, 181]. Однако, учитывая риск прогрессии LSIL до HSIL, существует вероятность выполнения эксцизионных методов лечения, которые проводятся на глубину до 15-20 мм, что влечет за собой риск развития ряда осложнений, таких как

развитие преждевременных родов, ИЦН и др. [180]. В связи с этим На сегодняшний день неоднозначны взгляды на тактику ведения пациенток с LSIL, в частности о целесообразности выполнения оперативного лечения без проведения периода динамического контроля у женщин с гистологически выявленным LSIL и факторами риска развития HSIL. Так, в 2024 году были опубликованы результаты исследования, в котором приняли участие 146 пациенток с гистологически верифицированным LSIL. Пациентки были разделены на 2 группы: 1 группа – женщины, которым проводили петлевую электроэксцизию незамедлительно после получения гистологического заключения (n=76); и 2 группа – пациентки, которым проводили динамический контроль за состоянием шейки матки (n=70). Через 12 месяцев после эксцизионного лечения шейки матки LSIL не был выявлен у 84% пациенток, у 1 женщины обнаружили HSIL. При этом через 12 месяцев у пациенток, которым проводили динамический контроль за состоянием шейки матки, LSIL не был подтвержден у 32,3%, а прогрессия до HSIL произошла у 7,7% [182]. Авторы обращают внимание на «дилемму» принятия решения о тактике ведения пациенток с LSIL: при проведении динамического контроля отмечается высокая вероятность прогрессии до HSIL, при этом проведение оперативных методов лечения всем пациенткам с LSIL, вероятно, будет ассоциировано с чрезмерным лечением и риском ятрогенных осложнений. Таким образом, необходим поиск факторов риска развития HSIL, при наличии которых пациентке с гистологически верифицированным LSIL целесообразно рекомендовать аблативное/эксцизионное лечение шейки матки. Согласно проведенному нами исследованию факторами риска развития HSIL является детекция 16, 31, 33 и 44 генотипов ВПЧ, которые суммарно выявлялись в 68,7% случаев пациенток с HSIL, высокая вирусная нагрузка ВПЧ (>5 lg), которая наблюдалась в 54,9% образцов с HSIL и встречалась практически в 8 раз чаще по сравнению с низкой вирусной нагрузкой (<3 lg). Следует отметить, что пациенткам с гистологически верифицированным LSIL и выявленными 16, 31, 33 или 44 генотипами ВПЧ

и/или высокой вирусной нагрузкой вне зависимости от выявленного типа ВПЧ целесообразно рекомендовать проведение оперативных методов лечения шейки матки ввиду высокого риска развития HSIL. Важно, что выявление двух и более генотипов ВПЧ статистически значимо чаще ассоциировалось с LSIL по сравнению с HSIL (24,9% vs 5,5% соответственно) (ОШ = 2,36, 95% ДИ: 1,66-3,35).

В настоящее время согласно терминологии LAST (The Lower Anogenital Squamous Terminology) к HSIL относят CIN II, CIN III и CIS. При этом в большинстве представленных в мире протоколов ведения пациенток с патологией шейки матки допускается проведение динамического контроля при верификации CIN II в связи с высоким риском регресса до CIN I в течение 2-летнего периода наблюдения, достигающим 50% [179, 181]. Результаты одного из последних проведенных в этом направлении исследований, в которое были включены 1695 пациенток с HSIL (CIN II-CIN III) по данным прицельной биопсии, показали, что при проведении конизации шейки матки в 27,35% случаев гистологическое заключение соответствовало CIN I или отсутствию признаков дисплазии [183]. Авторы статьи предполагают, что при наличии факторов риска несоответствия гистологических заключений, полученных в ходе выполнения прицельной биопсии и конизации шейки матки, возможно проведение динамического контроля за состоянием шейки матки с посещением врача через 3, 6, 9, 12, 18 и 24 месяца. Согласно результатам нашей работы наименее характерными факторами риска развития HSIL явились определение низкой вирусной нагрузки (за исключением выявления 16, 31, 33 и 44 генотипов), которая наблюдалась в 7,9% случаев пациенток с HSIL и отсутствие ДНК ВПЧ по данным тестирования биопсийного материала шейки матки, свидетельствующее об отсутствии этиологического фактора поражения шейки матки непосредственно в области патологических изменений. Таким образом, пациенткам с гистологически верифицированным HSIL (CIN II), у которых ВПЧ определяется в низкой вирусной нагрузке за исключением

вышеуказанных генотипов или не определяется ДНК ВПЧ в биопсийном материале, не целесообразно рекомендовать незамедлительное оперативное лечение шейки матки.

Таким образом, на сегодняшний день остается много нерешенных вопросов, связанных с ВПЧ и ассоциированными с ним заболеваниями шейки матки. Вместе с тем, современные исследования, которые проводятся в этом направлении, позволяют расширить представления о роли ВПЧ в развитии патологии шейки матки и научно обосновывают необходимость дальнейшего более детального изучения данной проблемы.

## Выводы

1. Среди ВПЧ-положительных женщин, включенных в одномоментное поперечное исследование, у 62,6% возраст начала половой жизни составляет менее 18 лет и в 74,8% случаев ассоциирован с наличием трех и более половых партнеров. При возрасте начала половой жизни менее 18 лет статистически значимо чаще выявляется HSIL ( $p=0,035$ ). Женщины, проживающие в сельской местности, на 40% реже инфицированы несколькими генотипами ВПЧ.
2. Распространенность ВПЧ у женщин в возрасте от 18 до 81 года за последние 10 лет составляет 23,3% (по обращаемости). Наиболее встречающиеся генотипы ВПЧ - 16 (23,6%), 44 (12,3%), 31 (12,3%), 51 (9,8%) и 68 (9,6%). Частота распространенности высоко- и низкоонкогенных типов ВПЧ составляет 79,7% и 20,3% соответственно. У пациенток с HSIL в 68,8% случаев определяется высокая, в 4,3% - низкая вирусная нагрузка ВПЧ, при LSIL - 31,5% и 21,6% соответственно.
3. Два и более генотипов ВПЧ встречается в 33,4% случаев. Одновременное выявление нескольких генотипов ВПЧ чаще ассоциируется с LSIL по сравнению с HSIL (24,9% и 5,5% соответственно).
4. Детекция низкоонкогенного 44 генотипа ВПЧ ассоциирована с выявлением HSIL в 7,9% случаев, а высокоонкогенного 51 генотипа - в 3,9% случаев.
5. Частота диагностической потери при проведении ВПЧ-тестирования на панели из 12 генотипов составляет 24,2%. Показатель диагностической потери LSIL достигает 14,1%, HSIL - 16,8%.
6. Совпадение результатов ВПЧ-тестирования образцов из цервикального канала и биопсийного материала шейки матки наблюдается в 49,1% случаев. Для пациенток с хроническим цервицитом данный показатель

составляет 28,3%, с LSIL – 45%, с HSIL – 67,7%. ВПЧ 44 типа не обнаружен ни в одном случае в биопсийных образцах шейки матки.

7. При выявлении двух и более генотипов ВПЧ у пациенток с LSIL не рекомендовано проведение оперативного лечения шейки матки ввиду низкого риска развития HSIL. При определении высокой вирусной нагрузки или при детекции 16, 31, 33 и 44 генотипов ВПЧ предпочтительно проведение аблативных/эксцизионных методов лечения женщинам с LSIL вследствие высокого риска развития HSIL.

### **Практические рекомендации:**

1. В комплексной диагностике пациенток с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки целесообразно использование тест-системы с широким спектром генотипирования ВПЧ (детекция 21 генотипа) с определением его вирусной нагрузки методом ПЦР в режиме реального времени.
2. Выявление 16, 31, 33 и 44 генотипов ВПЧ вне зависимости от уровня вирусной нагрузки ассоциировано с высоким риском развития HSIL.
3. Одновременное выявление нескольких генотипов ВПЧ при ведении пациенток с гистологически верифицированным LSIL следует рассматривать как фактор низкого риска развития HSIL.
4. При определении тактики ведения пациенток необходимо учитывать уровень вирусной нагрузки ВПЧ, высокие значения которой (>5 lg) положительно коррелируют с риском выявления предрака шейки матки.
5. При отсутствии обнаружения ДНК ВПЧ в биопсийном материале шейки матки у пациенток с LSIL и HSIL (CIN II) возможно проведение динамического контроля за состоянием шейки матки.



**Список сокращений:**

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ВПЧ – вирус папилломы человека

ВКР – высокий канцерогенный риск

ЗНО – злокачественные новообразования

ЗТ – зона трансформации

КВМ – контроль взятия материала

МПЭ – многослойный плоский эпителий

ПВИ – папилломавирусная инфекция

ПЦР – полимерная цепная реакция

РШМ – рак шейки матки

ЦЭ – цилиндрический эпителий

ASCUS – atypical squamous cells of undetermined significance

ASC-H – atypical squamous cells cannot exclude HSIL

CIN – cervical intraepithelial neoplasia

CIS – carcinoma in situ

SIL – squamous intraepithelial lesions

HSIL – high grade squamous intraepithelial lesions

LSIL – low grade squamous intraepithelial lesions

NILM – negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy

**Список литературы:**

1. Каприн, А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, – 2021. –252 С.
2. WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention, second edition / World Health Organization 2021
3. Zhang, J. Prevalence and distribution of human papillomavirus genotypes in cervical intraepithelial neoplasia in China: a meta-analysis / J. Zhang, K. Cheng, Z. Wang / Arch Gynecology Obstetrics. -2020. – Vol.302, N 6. – P.1329-1337.
4. Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки / Клинические рекомендации, Российское общество акушеров-гинекологов. - 2020.
5. Cervical Cancer Prevalence, Incidence and Mortality in Low and Middle Income Countries: A Systematic Review / AD. Shrestha, D. Neupane, P. Vedsted [ et al.] // Asian Pac J Cancer Prev. -2018. – Vol. 26, N19. – P.319-324.
6. <https://hpvcentre.net/statistics/reports/XWX.pdf?t=1704622387076>
7. The association between human papillomavirus and bladder cancer: Evidence from meta-analysis and two-sample mendelian randomization / JX. Sun, JZ. Xu, CQ. Liu [ et al.] // J Med Virology. -2023. – Vol.95, N 1. - e28208.
8. Szymonowicz, KA. Biological and clinical aspects of HPV-related cancers. / K. A. Szymonowicz, J. Chen // Cancer Biology Medicine. – 2020. - Nov 15;17(4). – P. 864-878.
9. HERITAGE study group. Risk factors for placental human papillomavirus infection /J. Niyibizi, MH. Mayrand, F. Audibert [ et al.] // Sex Transm Infection. – 2022. - Vol.98, N 8. – P.575-581.

10. Cervical Cancer Screening: Past, Present, and Future / S.L. Bedell, L.S. Goldstein, A.R. Goldstein [ et al.] // Sex Medicine Rev. -2020. – Vol.8, N1. – P. 28-37.
11. Untold story of human cervical cancers: HPV-negative cervical cancer / J.E. Lee, Y. Chung, S. Rhee [ et al.] // BMB Rep. -2022. – Vol.55, N 9. – P.429-438.
12. Cervical Cancer Screening: A Review / R.B. Perkins, N. Wentzensen, R.S. Guido [et al.] // JAMA. -2023. - Aug 8;330(6). – P.547-558.
13. Nelson, C.W. L. Human papillomavirus genomics: Understanding carcinogenicity / C.W. Nelson, L. Mirabello // Tumour Virus Res. – 2023. – N 15. – P.200258.
14. Impact and cost-effectiveness of strategies to accelerate cervical cancer elimination: a model-based analysis / A. Portnoy, K. Pedersen, L. Trogstad [et al.] // Prev Medicine. – 2021. – Vol. 144. – P.106276.
15. The projected timeframe until cervical cancer elimination in Australia: a modelling study / M.T. Hall, K.T. Simms, J.B. Lew [et al.] // The Lancet Public Health. – 2019. – N 4. – P.19–27.
16. Projected time to elimination of cervical cancer in the USA: a comparative modelling study / E.A. Burger, M.A. Smith, J. Killen [et al.] // Lancet Public Health. – 2020. – N 5. – P.213–222.
17. Castanon, A. Is a delay in the introduction of human papillomavirus-based cervical screening affordable? / A. Castanon, M. Rebolj, P. Sasieni // J Medicine Screen. – 2019. - N26.- P.44–49.
18. Methylation markers FAM19A4 and miR124-2 as triage strategy for primary human papillomavirus screen positive women: A large European multicenter study / J. Bonde, A. Floore, D. Ejegod [ et al.] // International J Cancer. – 2021. - Jan 15;148(2). – P. 396-405.
19. Risk of Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 3 or Worse in HPV-Positive Women with Normal Cytology and Five-Year Type Concordance: A Randomized Comparison / F. Inturrisi, J.A. Bogaards, D.A.M. Heideman [

- et al.] // J Cancer Epidemiology Biomarkers Prev. – 2021. – Vol.30, N3. – P.485-491.
- 20.Современные представления о ВПЧ как о мультифакторном предикторе развития плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки / А. О. Андреев, Г. Р. Байрамова, А. Р. Зарецкий [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2022. - N 11. – С. 60-66.
- 21.Mechanistic role of HPV-associated early proteins in cervical cancer: Molecular pathways and targeted therapeutic strategies / R. Bhattacharjee SS. Das, SS. Biswal [ et al.] // Crit Rev Oncology Hematology. – 2022. - N 174. – P.103675.
- 22.Distribution and viral load of eight oncogenic types of human papillomavirus (HPV) and HPV 16 integration status in cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma / M. Guo, N. Sneige, EG. Silva [ et al.] //Mod Pathology. – 2007. – Vol.20, N 2. – P.256-266.
- 23.Clinical Evaluation of INNO-LiPA HPV Genotyping EXTRA II Assay Using the VALGENT Framework / L. Xu, E. Padalko, A. Oštrbenk [ et al.] // Int J Molecular Sci. – 2018. - Sep 11;19(9). – P.2704.
- 24.PaVE: the papillomavirus episteme, release note, 19 may 2023, [https://pave.niaid.nih.gov/release\\_notes](https://pave.niaid.nih.gov/release_notes)
- 25.Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / H. Sung, J. Ferlay, RL. Siegel [ et al.] // CA Cancer J Clinical. – 2021. – N 71. – P.209–249.
- 26.Unusual prevalence of high-risk genotypes of human papillomavirus in a group of women with neoplastic lesions and cervical cancer from Central Mexico / RG. Campos, A. Malacara Rosas, E. Gutiérrez Santillán [ et al.] // PLoS One. – 2019. - Apr 18;14(4). - e0215222.
27. Prevalence and genotype distribution of genital human papillomavirus infection in female sex workers in the world: a systematic review and meta-

- analysis / M. Farahmand, M. Moghoofei, A. Dorost [ et al.] // BMC Public Health. – 2020. - Sep 25;20(1). – P.1455.
- 28.Prevalence and Genotype Distribution of High-Risk Human Papillomavirus Infection Among Sub-Saharan African Women: A Systematic Review and Meta-Analysis / A. Seyoum, N. Assefa, T. Gure [ et al.] // Front Public Health. – 2022. – Vol. 8, N10. – P.890880.
- 29.Cervical HPV infection in Guangzhou, China: an epidemiological study of 198,111 women from 2015 to 2021 / X. Yang, Y. Li, Y. Tang [ et al.] // Emerg Microbes Infect. – 2023. – Vol.12, N 1. - e2176009.
- 30.Human papillomavirus in Ethiopia / A. Derby, D. Mekonnen, G. Yismaw P et al.] // Virusdisease. – 2019. – Vol.30, N 2. – P.171-179.
- 31.Multiple Human Papilloma Virus (HPV) Infections Are Associated with HSIL and Persistent HPV Infection Status in Korean Patients / M. Kim, NJ. Park, JY. Jeong [ et al.] //Viruses. – 2021. - Jul 12;13(7). – P.1342.
- 32.Prevalence and Genotype Distribution of Human Papillomavirus in Invasive Cervical Cancer, Cervical Intraepithelial Neoplasia, and Asymptomatic Women in Southeast China / X. Wang, Y. Zeng, X. Huang [ et al.] // Biomed Res Int. – 2018. -N 8; 2018:2897937.
- 33.<https://hpvcentre.net/datastatistics.php>
- 34.An overview of cervical cancer epidemiology and prevention in the Baltic States / U. Kojalo, A. Tisler, K. Parna [et al.] // BMC Public Health. – 2023. – Vol. 23, N 1. – P.660.
- 35.<https://www.canada.ca/en/public-health/services/infectious-diseases/sexual-health-sexually-transmitted-infections/human-papillomavirus-hpv.html>
- 36.HPV infection profile in cervical lesions /B González-Yebra, M. Mojica-Larrea, R. Alonso [ et al.] // Gac Medicine Mex. – 2022. – Vol.158, N 4. – P.222-228.
- 37.Solnæs, JV. Does full HPV genotyping perform similarly well in clinician-collected cervical samples and self-collected vaginal samples when using the

- CLART HPV4S assay? / JV. Solnæs, SH. Njor, M. Tranberg // *BMC Womens Health*. - 2023.- Feb 23;23(1). –P.78.
- 38.Cuzick, J. Need for expanded HPV genotyping for cervical screening / J. Cuzick, C. Wheeler // *Papillomavirus Res.*- 2016.- N 2. – P.112-115.
- 39.Evaluation of Human Papilloma Virus (HPV) Genotyping and Viral Load Determination as Diagnostic Biomarkers of Cervical Cancer Risk / M. Martinelli, C. Giubbi, L. Saderi [ et al.] // *International J Molecular Sci.* – 2023. - Jan 10;24(2). – P.1320.
- 40.HPV prevalence and genotype distribution among women in eastern China during the Covid-19 pandemic / Y. Ma, X. Xia, W. Zheng [ et al.] // *Human Vaccin Immunother.* – 2023. - Dec 31;19(1). – P. 2212571.
- 41.Geographic variation of HPV-associated cancer incidence in Kentucky using spatial scan statistics / S. Trott, F. Lei, W. Jay Christian [ et al.] // *Cancer Causes Control.* – 2024. – N 12.
- 42.Prevalence characteristics of single and multiple HPV infections in women with cervical cancer and precancerous lesions in Beijing / Li M. China, X. Du, M. Lu [ et al.] // *J. Med. Virology.* – 2019. – N 91. – P.473–481.
- 43.Single and multiple human papillomavirus infections in cervical abnormalities in Portuguese women / A. Pista, A. Oliveira, N. Verdasca // *Clinical Microbiology Infection.* – 2011. – N 17. – P.941–946.
- 44.Human papillomavirus infection with multiple types: Pattern of coinfection and risk of cervical disease / A. K. Chaturvedi, H. A. Katki, A. Hildesheim [ et al.] // *J. Infectection Dis.* – 2011. – Vol.203. – P.910–920.
- 45.Multiple-type human papillomavirus (HPV) infections: A cross-sectional analysis of the prevalence of specific types in 309,000 women referred for HPV testing at the time of cervical cytology / E. L. Dickson, R. I. Vogel, R. L. Bliss [ et al.] //Jr. *Int. J. Gynecology Cancer.* – 2013. – N 23. – P.1295–1302.
- 46.Concurrent infection with multiple human papillomavirus types: Pooled analysis of the IARC HPV Prevalence Surveys / S. Vaccarella, S.

- Franceschi, P. J. Snijders [ et al.] // *Cancer Epidemiology Biomarkers Prev.* – 2010. – N 19. – P. 503–510.
47. Persistence of concurrent infections with multiple human papillomavirus types: A population-based cohort study / N. G. Campos, A. C. Rodriguez, P. E. Castle [ et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2011. – Vol. 203. – P.823–827.
48. Infections with multiple high-risk HPV types are associated with high-grade and persistent low-grade intraepithelial lesions of the cervix / L. De Brot, B. Pellegrini, ST. Moretti [ et al.] // *Cancer Cytopathology.* -2017. - Vol. 125, N 2. – P.138-143.
49. Multiple Human Papilloma Virus Infections and Their Impact on the Development of High-Risk Cervical Lesions / KL. Salazar, HS. Zhou, J. Xu [ et al.] // *Acta Cytology.* – 2015. – Vol.59, N 5. – P.391-398.
50. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population / G. Koliopoulos, VN. Nyaga, N. Santesso [ et al.] // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2017. - Aug 10;8(8). -CD008587.
51. Spence, AR. Process of care failures in invasive cervical cancers: A systematic review and meta-analysis / AR. Spence, P. Goggin, EL. Franco // *Preventive Medicine.* – 2007. – N 45. – P.93-106.
52. Multiple HPV 16 infection with two strains: a possible marker of neoplastic progression / MT. Bruno, G. Scalia, N. Cassaro [ et al.] // *BMC Cancer.* – 2020. - May 19;20(1). – P.444.
53. Risk factors for cervical cancer in Colombia and Spain / F.X. Bosch, N. Muñoz, S. de Sanjosé [et al.] // *International J Cancer.* – 1992. - Nov 11;52(5). – P.750-758.
54. Type-specific human papillomavirus DNA in abnormal scrapes as a predictor of high-grade cervical intra-epithelial neoplasia / J. Cuzick, G. Terry, L. Ho [ et al.] // *Br J Cancer.* – 1994. – Vol. 69. – P. 167–171.
55. New Mexico HPV Pap Registry Steering Committee. Role of HPV Genotype, Multiple Infections, and Viral Load on the Risk of High-Grade

- Cervical Neoplasia / R. Adcock, J. Cuzick, WC. Hunt WC [ et al.] // *Cancer Epidemiology Biomarkers Prev.* – 2019. - Vol.28, N 11. – P.1816-1824.
56. Multiple HPV Infections and Viral Load Association in Persistent Cervical Lesions in Mexican Women / MA. Oyervides-Muñoz, AA. Pérez-Maya, CN. Sánchez-Domínguez [et al.] // *Viruses.* – 2020. - Mar 31;12(4). – P.380.
57. Zhou, Y, Shi X, Liu J, Zhang L. Correlation between human papillomavirus viral load and cervical lesions classification: A review of current research. *Front Med (Lausanne).* 2023 Feb 21;10: 1111269.
58. Viral load of human papillomavirus and risk of CIN3 or cervical cancer / AT. Lorincz, PE. Castle, ME. Sherman [et al.] // *Lancet.* – 2002. - Jul 20;360(9328). – P.228-229.
59. Castle, PE. Hybrid capture 2 viral load and the 2-year cumulative risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or cancer / PE. Castle, M. Schiffman, CM. Wheeler // *Am J Obstetrics Gynecology.* 2004 - Vol.191, N 5. – P.1590-1597.
60. Semiquantitative human papillomavirus type 16 viral load and the prospective risk of cervical precancer and cancer / PE. Castle, M. Schiffman, DR. Scott [et al.] // *Cancer Epidemiology Biomarkers Prev.* – 2005. – Vol.14, N 5. – P.1311-1314.
61. Determinants of human papillomavirus load among women with histological cervical intraepithelial neoplasia 3: dominant impact of surrounding low-grade lesions / ME. Sherman, SS. Wang, CM. Wheeler [et al.] // *Cancer Epidemiology Biomarkers Prev* -2003. – N 12. – P. 1038–1044.
62. Ранняя диагностика вПЧ-ассоциированной патологии шейки матки у женщин до 30 лет и старше / Е. А. Коган, Н. М. Файзуллина, Ц. Ли [и др.] // *Акушерство и гинекология.* - 2015. - № 9. -С. 62-67.
63. Significance of the viral load of high-risk HPV in the diagnosis and prediction of cervical lesions: a retrospective study / Y. Liu, C. Xu, J. Pan [ et al.] // *BMC Womens Health.* – 2021. - Oct 8;21(1). – P.353.



64. Current Updates on Cancer-Causing Types of Human Papillomaviruses (HPVs) in East, Southeast, and South. C. Asia. Xia, S. Li, T. Long [ et al.] // *Cancers (Basel)*. – 2021. - May 30;13(11). – P.2691.
65. Classification of Papillomaviruses. / E. M. De Villiers, C. Fauquet, T. R. Broker [ et al.] // *Virology*. – 2004. – Vol. 324. – P.17–27.
66. Burk, R.D. Human Papillomavirus Genome Variants / R. D. Burk, A. Harari, Z. Chen // *Virology*. – 2013. – Vol.;445. – P. :232–243.
67. Epidemiology and Molecular Biology of HPV Variants in Cervical Cancer: The State of the Art in Mexico / JO. Muñoz-Bello, A. Carrillo-García, M. Lizano // *International J Molecular Sci*. – 2022. - Aug 2;23(15). – P.8566.
68. Differential Splicing of E6 within Human Papillomavirus Type 18 Variants and Functional Consequences / E. De la Cruz-Hernández, A. García-Carrancá, A. Mohar-Betancourt [ et al.] // *J. Gen. Virology*. – 2005. – Vol.86. – P.2459–2468.
69. Degradation of P53 by HPV16-E6 Variants Isolated from Cervical Cancer Specimens of Moroccan Women / K. Hadami, C. Saby, N. Dakka [ et al.] // *Gene*. – 2021. – Vol.791. – P.145709.
70. Genetic Variability and Functional Implication of HPV16 from Cervical Intraepithelial Neoplasia in Shanghai Women / J. Zhao, J. Zhu, J. Guo [ et al.] // *J. Med. Virology*. – 2020. – Vol.92.- P. 372–381.
71. The Asian-American Variant of Human Papillomavirus Type 16 Exhibits Higher Activation of MAPK and PI3K/AKT Signaling Pathways, Transformation, Migration and Invasion of Primary Human Keratinocytes. / J. Hochmann, J.S. Sobrinho, L. I. Villa [ et al.] // *Virology*. – 2016. – Vol.492. – P. 145–154.
72. HPV16 Sublineage Associations with Histology-Specific Cancer Risk Using HPV Whole-Genome Sequences in 3200 Women / L. Mirabello, M. Yeager, M. Cullen [et al.] // *J. Natl. Cancer Inst*. – 2016. – Vol.108. - djw100.

73. HPV16 Genetic Variation and the Development of Cervical Cancer Worldwide / I. Cornet, T. Gheit, M.R. Iannacone [ et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2013. – Vol.108. – P.240–244.
74. Risks for Persistence and Progression by Human Papillomavirus Type 16 Variant Lineages among a Population-Based Sample of Danish Women. / T. Gheit, I. Cornet, G. M. Clifford [ et al.] // *Cancer Epidemiology Biomarkers. - Prev.* – 2011. – N 20. – P.1315–1321.
75. A Population-Based Prospective Study of Carcinogenic Human Papillomavirus Variant Lineages, Viral Persistence, and Cervical Neoplasia / M. Schiffman, A. C. Rodriguez, Z. Chen [et al.] // *Cancer Res.* – 2010. – N 70. – P. 3159–3169.
76. High Grade Cervical Lesions Are Caused Preferentially by Non-European Variants of HPVs 16 and 18 / L. Sichero, S. Ferreira, H. Trottier [ et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2007. – N 120. – P.1763–1768.
77. Human Papillomavirus 16 Non-European Variants Are Preferentially Associated with High-Grade Cervical Lesions / L. B. Freitas, Z. Chen, E. F. Muqui [ et al.] // *PLoS ONE.* – 2014. – N 9. -e100746.
78. Genetic Variations in the Long Control Region of Human Papillomavirus Type 16 Isolates from India: Implications for Cervical Carcinogenesis / A. Mane, S. Limaye, L. Patil [ et al.] // *J. Medicine Microbiology.* – 2022. – Vol.71. -001475.
79. Determination of Human Papillomavirus Type 18 Lineage of E6: A Population Study from Iran / M. S. Larijani, M. D. Omrani, R. Soleimani [ et al.] // *Biomedicine Res. Int.* – 2022. -2022. -2839708.
80. PaVE The Papillomavirus Episteme. [(accessed on 29 June 2022)]; Available online: <https://pave.niaid.nih.gov/>
81. Human Papillomavirus 16 Sub-Lineage Dispersal and Cervical Cancer Risk Worldwide: Whole Viral Genome Sequences from 7116 HPV16-Positive Women / G. M. Clifford, V. Tenet, D. Georges [ et al.] // *Papillomavirus Res.* – 2019. – N 7. – P.67–74.

82. Kukimoto, I. Genetic Variations of Human Papillomavirus Type 16: Implications for Cervical Carcinogenesis / I. Kukimoto, M. Muramatsu // *Jpn. J. Infection Dis.* – 2015. – N 68. – P.169–175.
83. Association of Human Papillomavirus Type 16 Long Control Region Mutation and Cervical / C. Pientong, P. Wongwarissara, T. Ekalaksananan [ et al.] // *Cancer Virology J.* – 2013. – N 10. – P.30.
84. Molecular Variants of Human Papillomavirus Types 16 and 18 Preferentially Associated with Cervical Neoplasia / L. L. Villa, L. Sichero, P. Rahal [ et al.] // *J. Genetic Virology.* – 2000. – N 81. – P.2959–2968.
85. Genetic Variation in the E6 and E7 Genes of Human Papillomavirus Type 16 in Northeastern Argentina / M. E. Totaro, J. A. Gili, D. J. Liotta [ et al.] // *J. Medicine Virology.* – 2022. – Vol.94. – P.745–751.
86. Современные представления о предикторах и методах профилактики рецидивов цервикальной интраэпителиальной неоплазии после петлевой электроэксцизии / В. Н. Прилепская, Г. Р. Байрамова, А. В. Асатурова [и др.] // *Акушерство и гинекология.* – 2020. – N 12. – С. 81-88.
87. Байрамова, Г. Р. ВПЧ-ассоциированный цервицит: диагностика, лечение и профилактика: Учебное пособие // Г.Р. Байрамова, В.Н. Прилепская, В.Ю. Смольникова [и др.] – М: ООО «ИД Третьяковъ», 2022. – 90 С.
88. Костава, М.Н. ВПЧ-ассоциированные заболевания в вопросах и ответах / М. Н. Костава // *Акушерство и гинекология.* – 2021. -N 11. – С. 267-276.
89. Semi-quantitative HPV viral load in patients with ASC-US cytology: viral load correlates strongly with the presence of CIN but only weakly with its severity / SJ. Lee, WY. Kim, SH. Shim [ et al.] // *Cytopathology.* – 2015. - Vol.26, N 1. – P.19-25.
90. Individual Detection of 14 High Risk Human Papilloma Virus Genotypes by the PapType Test for the Prediction of High Grade Cervical Lesions/ J.

- Cuzick, L. Ho, G. Terry [et al.] // *J. Clinical Virology*. – 2014. – Vol.60. – P.44–49.
91. Type-Specific Viral Load and Physical State of HPV Type 16, 18, and 58 as Diagnostic Biomarkers for High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions or Cervical Cancer / J. Kim, B. K. Kim, D. Jeon [ et al.] // *Cancer Res. Treat.* – 2020. – Vol.52. – P.396–405.
92. Association between Human Papillomavirus (HPV) 16, HPV18, and Other HR-HPV Viral Load and the Histological Classification of Cervical Lesions: Results from a Large-Scale Cross-Sectional Study: HR-HPV Viral Load and Cervical Lesions / Z. Wu, Y. Qin, L. Yu [et al.] // *J. Medicine Virology*. – 2017. – Vol.89. – P.535–541.
93. Diagnostic Value of Human Papillomavirus (HPV) 16 and HPV18 Viral Loads for the Detection of High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN2+) in a Cohort of African Women Living with HIV / M. Segondy, J. Ngou, H. Kelly [ et al.] // *J. Clinical Virology*. – 2018. – Vol.99. – P.79–83.
94. Type-Specific High-Risk Human Papillomavirus Viral Load as a Viable Triage Indicator for High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion: A Nested Case&ndash; Control Study / B. Dong, P. Sun, G. Ruan [ et al.] // *CMAR*. – 2018. – N 10. – P.4839–4851.
95. Serial Type-Specific Human Papillomavirus (HPV) Load Measurement Allows Differentiation between Regressing Cervical Lesions and Serial Virion Productive Transient Infections / C. E. Depuydt, J. Jonckheere, M. Berth [ et al.] // *Cancer Medicine*. -2015. N 4. – P.1294–1302.
96. Оценка количественного и качественного определения ДНК вируса папилломы человека у женщин с поражениями шейки матки. / Г. Р. Байрамова, А. О. Андреев, Н. А. Ильясова [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2024. – N 1. – С. 102-109.
97. Ретроспективный анализ распространенности вируса папилломы человека у женщин с патологией шейки матки / А. О. Андреев, Г. Р.

- Байрамова, Н. А. Ильясова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2023. – N 11. – P. 140-149.
98. One virus, one lesion--individual components of CIN lesions contain a specific HPV type / W. Quint, D. Jenkins, A. Molijn [ et al.] // J Pathology. – 2012. – Vol.227, N 1. – P.62-71.
99. Distribution and viral load of eight oncogenic types of human papillomavirus (HPV) and HPV 16 integration status in cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma / M. Guo, N. Sneige, EC. Silva [ et al.] / Model Pathology. – 2007. – Vo.;20, N 2. – P.256-266.
100. Prevalence, viral load, and physical status of HPV 16 and 18 in cervical adenosquamous carcinoma / T. Yoshida, T. Sano, T. Oyama [ et al.] // Arch. – 2009. – Vol.455, N 3. – P.253-259.
101. Biological activity of probable/possible high-risk human papillomavirus types in cervical cancer / G. Halec, M. Schmitt, B. Dondog [ et al.] // International J Cancer. – 2013. –Vol. 132, N 1. – P.63–71.
102. A prospective study of human papillomavirus (HPV) type 16 DNA detection by polymerase chain reaction and its association with acquisition and persistence of other HPV types //KL. Liaw [et al] // J Infection Dis. – 2001. – Vol.183. – P.8–15.
103. Prevalence and clustering patterns of human papillomavirus genotypes in multiple infections / AK. Chaturvedi [et al.] // Cancer Epidemiology Biomarkers Prev. – 2005. – N 14. – P.2439–2445.
104. Persistence of concurrent infections with multiple human - papillomavirus types: a population based cohort study / NG Campos [ et al.] // J Infect Dis. – 2011. – Vol.203. – P.823–827.
105. Cervical coinfection with human papillomavirus (HPV) types as a predictor of acquisition and persistence of HPV infection / MC. Rousseau, JS. Pereira, JC. Prado [et al.] // J Infection Dis. - 2001. – Vol.184. – P.1508–1517.

106. Concurrent and sequential acquisition of different genital human papillomavirus types / KK. Thomas, JP. Hughes, JM. Kuypers [et al.] // J Infect Dis. - 2000. – Vol.182. – P.1097.
107. Evidence-Based Consensus Recommendations for Colposcopy Practice for Cervical Cancer Prevention in the United States / N. Wentzensen, LS. Massad, EJ Jr. Mayeaux [ et al.] // J Low Genetic Tract Dis. – 2017. - Vol.21, N 4. – P.216-222.
108. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in squamous cell carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva / MT MFaber, FL. Sand, V. Albieri [ et al.] // International J Cancer. – 2017. - Sep 15;141(6). – P.1161-1169.
109. Cervical screening: ESGO-EFC position paper of the European Society of Gynaecologic Oncology (ESGO) and the European Federation of Colposcopy (EFC) / M. Kyrgiou, M. Arbyn, C. Bergeron [ et al.] // Br J Cancer. – 2020. – Vol.123, N 4. – P.510-517.
110. Increased HPV L1 gene methylation and multiple infection status lead to the difference of cervical epithelial cell lesion in different ethnic women of Xinjiang, China / F. Yang-Chun, Z. Yuan, L. Cheng-Ming [ et al.] // Medicine (Baltimore). – 2017. - Vol.96, N 12. - e6409.
111. Human papillomavirus infections with multiple types and risk of cervical neoplasia / H. Trottier, S. Mahmud, MC. Costa [ et al.] // Cancer Epidemiology Biomarkers Prev. – 2006. – Vol.15, N 7. – P. 1274-1280.
112. ALTS Group. A 2-year prospective study of human papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion / M. Plummer, M. Schiffman, PE. Castle [ et al.] // J Infection Dis. - 2007. - Jun 1;195(11). – P.1582-1589.
113. Прогностическая значимость биомаркеров вируса папилломы человека в дифференциальной диагностике плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки / Д. А. Добровольская, Г.

- Р. Байрамова, А. В. Асатурова [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2022. – N 6. – С.20-25.
114. A systematic literature review of the human papillomavirus prevalence in locally and regionally advanced and recurrent/metastatic head and neck cancers through the last decade: The "ALARM" study/ S. Agelaki, I. Boukovinas, I. Athanasiadis [ et al.] // *Cancer Medicine*. – 2024. - Jan 21.
115. Cervical cancer in Ethiopia: a review of the literature / A. Derby, D. Mekonnen, E. Nibret [ et al.] // *Cancer Causes Control*. – 2023. - Vol.34, N 1. – P.1-11.
116. Role of Human Papillomavirus in Various Cancers: Epidemiology, Screening and Prevention / W. Ahmed, S. Zaib, S. Ullah [ et al.] // *Mini Rev Medicine Chem*. -2023. –Vol. 23, N 10. – P.1079-1089.
117. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus in cervical adenocarcinoma (usual type and variants): A systematic review and meta-analysis / C. Reynders, T. Lerho, EA. Goebel [ et al.] // *J Medicine Virology*. – 2023. – Vol.95, N 10. -e29190.
118. Prevalence of cervical human papillomavirus in Mexico, 2010-2017: analysis of 2.7 million women / E. Hurtado-Salgado, E. Ortiz-Panozo, J. Salmerón [ et al.] // *Cancer Causes Control*. – 2023. – Vol.34, N 2. – P.123-132.
119. High-risk HPV prevalence and genotype distribution among women in Liaocheng, Shandong Province, China from 2016 to 2022 / LL. Zheng, SF. Chen, F. Yang [ et al.] // *Front Public Health*. – 2023. – Vol.30, N 11. – P.1145396.
120. The absolute risk of cervical abnormalities in high-risk human papillomavirus-positive, cytologically normal woman over a 10-year period. / S. Kjaer, E. Høgdall, K. Frederiksen [ et al.] // *Cancer Res*. – 2006. – Vol. 66. – P.10630–10636.
121. Persistence of high-grade cervical dysplasia and cervical cancer requires the continuous expression of the human papillomavirus type 16 E7

- oncogene / SF. Jabbar, L. Abrams, A. Glick [ et al.] // *Cancer Res.* – 2009. – Vol. 69. – P.4407–4414.
122. New highly potent and specific E6 and E7 siRNAs for treatment of HPV16 positive cervical cancer / K. Yamato, T. Yamada, M. Kizaki [et al.] *Cancer Gene Ther.* – 2008. – N 15. – P.140–153.
123. Global burden of human papillomavirus and related diseases / D. Formana, C. de Martel, CJ. Lacey [et al.] // *Vaccine.* – 2012. - 30: F12–23.
124. Distribution of human papillomavirus (HPV) types and anti-HPV T-cell immune responses among different racial/ethnic groups in Central Arkansas / M. Nakagawa, HJ. Spencer, HN. Coleman [ et al.] // *Ark Medicine Soc.* – 2013. – Vol. 109. – P.160–163.
125. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study / MR. McCredie, LJ. Sharples, C. Paul [ et al.] // *Lancet Oncology.* – 2008. – N 9. – P.425–434.
126. Use of Virus Genotypes in Machine Learning Diagnostic Prediction Models for Cervical Cancer in Women Weith High-Risk Human Papillomavirus Infection / T. Xiao, C. Wang, M. Yang [ et al.] // *JAMA Netw Open.* – 2023. - Aug 1;6(8). -e2326890.
127. Evaluating the potential role of human papilloma virus infection in breast carcinogenesis via real-time polymerase chain reaction analyzes of breast fine needle aspiration samples from Greek patients / E. Mareti, E. Vavoulidis, A. Papanastasiou [ et al.] // *Diagnostic Cytopathology.* – 2023. - Vol.51, N 7. – P.414-422.
128. Wemrell, M. Mapping sociodemographic and geographical differences in human papillomavirus non-vaccination among young girls in Sweden / M. Wemrell, RP. Vicente, J. Merlo // *Scand J Public Health.* – 2023. – Vol.51, N 2. – P.288-295.
129. Shen, TT. Favorable cervical cancer mortality-to-incidence ratios of countries with good human development index rankings and high health



- expenditures / TT. Shen, CY. Long, MP. Wu // BMC Womens Health. – 2023. -May 25;23(1). – P.284.
130. Cancer statistics, 2022. CA Cancer/ RL. Siegel, KD. Miller, HE. Fuchs [ et al.] // J Clinical. – 2022. – Vol.72, N1. – P.7–33.
131. Хронический цервицит: современные возможности диагностики и лечения / А. С. Амирханян, В. Н. Прилепская, Г. Р. Байрамова [и др.] //Акушерство и гинекология. – 2018. – N 4. – С. 22-27.
132. Associations of Single versus Multiple HPV-infection with the Prevalence of Cervical CIN2+ Lesions: HPV type-specific attribution / F. Zhong, T. Wang, W. Li [ et al.] // Lab Invest. – 2024. - Jan 16. -100328.
133. Analysis of age-specified and genotype distribution of HPV multiple infections in the Chinese population / YX. Zhou, XH. Ma, TT. Wang [ et al.] // Sci Rep. – 2024. - Feb 1;14(1). - e2678.
134. Crow, JM. HPV: The global burden / JM. Crow // Nature. – 2012. – Vol.488. - S2–S3.
135. Preferential expression of a HPV genotype in invasive cervical carcinomas infected by multiple genotypes / AC. Brant, AN. Menezes SP. Felix [ et al.] // Genomics. – 2020. – Vol.112. – P.2942–2948.
136. Correlation of human papillomavirus 16 and 18 with cervical cancer and their diagnosis methods in Iranian women: A systematic review and meta-analysis / M. Fani, P. Mahmoodi, M. Emadzadeh [ et al.] // Current Problems Cancer. – 2020. – Vol.44, N 1. – P.100493.
137. Cenci, M. Detection of 14 high-risk human papillomavirus (HPV) genotypes within the Italian cervical cancer screening / M. Cenci, F. Rossi, T. Pisani // In Vivo. -2023. – Vol.37, N 5. – P.2161–2165.
138. Prevalence of high-risk human papillomavirus (HR-HPV) genotypes and multiple infections in cervical abnormalities from Northern Xinjiang, China / L. Wang, P. Wang, Y. Ren [ et al.] // PLoS One. – 2016. – Vol.11, N 8. -e0160698.

139. . HPV genotypes co-infections associated with cervical carcinoma: Special focus on phylogenetically related and non-vaccine targeted genotypes / R. Senapati, B. Nayak, SK. Kar [ et al.] // PLoS One. – 2017. – Vol.12, N 11 - e0187844.
140. High rate of non-vaccine targeted high-risk HPV genotypes circulate among women in Eastern Ethiopia / A. Seyoum, B. Seyoum, T. Gure [ et al.] // Sci Reproduction. – 2024. - Jan 10;14(1). – P.958.
141. The biology and life-cycle of human papillomaviruses / J. Doorbar [et al.] // Vaccine. – 2012. – Vol.30 (Suppl. 5). -F55–F70.
142. Dunne, EF. HPV and HPV-associated diseases/ EF. Dunne, IU. Park // Infect. Dis. Clinical. – 2013. – Vol.27, N 4. – P.765–778.
143. Interventions to increase uptake of cervical screening in sub-Saharan Africa: A scoping review using the integrated behavioral model / BE. Lott [et al.] // BMC Pub. Health. – 2020. – Vol.20, N 1. – P.1–18.
144. Choosing the optimal HPV vaccine: The health impact and economic value of the nonavalent and bivalent HPV vaccines in 48 Gavi-eligible countries / EA. Burger [et al.] // International J. Cancer. – 2021. –Vol. 148, N 4. – P.932–940.
145. Human papillomavirus genotype prevalence in invasive vaginal cancer from a registry-based population / AK. Sinno, M. Saraiya, TD. Thompson [ et al.] // Obstetrics and Gynecology. – 2014. – Vol.123. – P.817–821.
146. Persistence and load of high-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions: a longitudinal French cohort study / V. Dalstein, D. Riethmuller, JL. Préteti [ et al.] //International Journal of Cancer. – 2003. – Vol.106. – P.396–403.
147. Application of an entropy-based computational strategy to identify genomic markers for molecular detection and typing of human papillomavirus/ GS. Barros, ED. Araujo, F. Santos [ e al.] // Infection, Genetics and Evolution. – 2020. – Vol.77. – P.104048.

148. Human papillomavirus and cervical cancer / M. Schiffman, PE. Castle, J. Jeronimo [ et al.] // *Lancet*. – 2007. – Vol.370. – P.890–907.
149. Incidence and duration of type-specific human papillomavirus infection in high-risk HPV-naïve women: results from the control arm of a phase II HPV-16/18 vaccine trial / AV. Ramanakumar, P. Naud, CM. Roteli-Martins [ et al.] // *BMJ Open*. – 2016. –N 6. -e011371.
150. Epidemiology and persistence of cervical human papillomavirus infection among outpatient women in Heilongjiang province: a retrospective cohort study / J. Liu, Y. Shi, L. Wang [ et al.] // *Journal of Medical Virology*. – 2020.
151. Туранова, О.В. Особенности ВПЧ-инфекции у женщин репродуктивного возраста и эффективные методы диагностики ВПЧ-ассоциированной патологии шейки матки / О. В. Туранова, Т. Е. Белокриницкая // *Фарматека*. – 2019. – Т.26, N 6. – С. 53–56.
152. Worldwide burden of cervical cancer in 2008 / M. Arbyn, X. Castellsagué, S. Sanjosé [ et al] // *Annals of Oncology*. – 2011. - N12. – .2675-2686.
153. Zhai, K. HPV and lung cancer risk: a meta-analysis/ K. Zhai, J. Ding, HZ. Shi // *J Clinical Virology*. – 2015. – Vol.63. – P.84-90.
154. A systematic review and meta-analysis of cytology and HPV-related biomarkers for anal cancer screening among different risk groups / MA. Clarke, AA. Deshmukh, R. Suk [ et al.] // *International J Cancer*. – 2022. - Dec 1;151(11). – P. 1889-1901.
155. Incidence and mortality from cervical cancer and other malignancies after treatment of cervical intraepithelial neoplasia: a systematic review and meta-analysis of the literature / I. Kalliala, A. Athanasiou, AA. Veroniki // *Ann Oncology*. – 2020. - Vol.31, N 2. – P.213-227.
156. Factors influencing human papillomavirus vaccination uptake in European women and adolescents: A systematic review and meta-analysis /

- NM. Jiboc, A. Paşca, D. Tăut [ et al.] // Psychooncology. – 2024. – Vol.33, N 1. –e 6242.
157. Байрамова, Г.Р. Роль кольпоскопии в диагностике патологии шейки матки / Г. Р. Байрамова, А. О. Андреев, Е. М. Фатеева // Медицинский оппонент. – 2023. – N. 4, N24. – С. 40-47.
158. Current trends in the management and prevention of human papillomavirus (HPV) infection /I. Ntanasis-Stathopoulos, A. Kyriazoglou, M. Liontos [ et al.] // J BUON. -2020. – Vol. 25, N 3. – P.1281-1285.
159. The human papillomavirus (HPV)-related cancer biology: An overview / RP. Araldi, TA. Sant'Ana, DG. Módolo [ et al.] // Biomed Pharmacother. – 2018. – Vol.106. – P. 1537-1556.
160. Human papillomavirus infection: etiopathogenesis, molecular biology and clinical manifestations / Md. Leto, Santos Júnior, AM. Porro [ et al.] // J. An Bras Dermatology. – 2011. – Vol.86, N 2. – P.306-317.
161. Новые возможности ранней предикции предраковых и раковых заболеваний шейки матки: стратификация рисков на основе анализа метилирования генов / А. О. Андреев, Г. Р. Байрамова, А. Р. Зарецкий [и др.] // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. - 2023. - Т. 11, № 2. - С. 44–49.
162. Larsen, PM. Proteins present in bovine papillomavirus particles. / PM. Larsen, L. Storgaard, SJ. Fey // J Virology. – 1987. – Vol.61, N 11. - P.3596-3601.
163. Boccardo, E. The role of inflammation in HPV carcinogenesis / E. Boccardo, AP. Lepique, LL. Villa // Carcinogenesis. – 2010. - Vol.31, N 11. – P.1905-1912.
164. Evidence of ancient papillomavirus recombination / A. Varsan, E. van der Walt, L. Heath [ et al.] // J Gen Virology. – 2006. - Sep;87(Pt 9). – P.2527-2531.

165. Van Doorslaer, K. Evolution of human papillomavirus carcinogenicity / K. Van Doorslaer, RD. Burk // *Adv Virus Res.* – 2010. – Vol.77. – P.41-62.
166. Moody, CA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation / CA. Moody, LA. Laimins // *Nat Rev Cancer.* – 2010. – Vol.10, N 8. – P.550-560.
167. Liu, Y. Structure and function of the papillomavirus E6 protein and its interacting proteins / Y. Liu, JD. Baleja // *Front Biosci.* – 2008. - Jan 1;13. – P.121-134.
168. Ljubojevic, S, HPV-associated diseases / S. Ljubojevic, M. Skerlev // *Clinical Dermatology.* – 2014. – Vol.32, N 2. – P. 227-234.
169. Human papillomavirus in the oral cavities of children and adolescents. / KF. Summersgill, EM. Smith, BT. Levy [ et al.] // *Oral Surg Oral Med Oral Pathology Oral Radiology Endod.* – 2001. - Vol.91, N 1. – P.62-69.
170. Human papillomaviruses in the normal oral cavity of children in Japan / A. Kojima, H. Maeda, N. Kurahashi [ et al.] // *Oral Oncology.* – 2003. - Vol. 39, N 8. – P.821-828.
171. Evidence for vertical transmission of HPV from mothers to infants. / EM. Smith, MA. Parker, LM. Rubenstein [ et al.] // *Infect Dis Obstetrics Gynecology.* – 2010. -2010:326369.
172. Human papillomavirus DNA detected in breast milk / M. Sarkola, M. Rintala, S. Grénman [et al.] // *Pediatrics Infect Dis J.* – 2008. – Vol.27, N6. – P.557-558.
173. Human papillomavirus in the placenta and umbilical cord blood / ME. Sarkola, SE. Grénman, MA. Rintala [ et al.] // *Acta Obstetrics Gynecology Scand.* – 2008. – Vol.87, N 11. - P.1181-1188.
174. Frequency of Human Papillomavirus in the placenta, in the colostrum and in the umbilical cord blood / LO. Teixeira, SC. Amaral, F. Finger-Jardim [et al.] // *Rev Bras Gynecology Obstetrics.* – 2015. – Vol. 37, N 5. – P.203-207.

175. Czeplédy, J. Detection of high-risk HPV DNA in semen and its association with the quality of semen / J. Czeplédy, K. Szarka // *Int J STD AIDS*. – 2006. – Vol.17, N 3. – P.211-212.
176. Identification of multiple HPV types on spermatozoa from human sperm donors / MD. Kaspersen, PB. Larsen, HJ. Ingerslev [ et al.] // *PLoS One*. – 2011. - Mar 29;6(3). -e18095.
177. The natural history of cervical intraepithelial neoplasia Grades 1, 2, and 3: a systematic review and meta-analysis / D.L. Loopik, H.A. Bentley, M.N. Eijgenraam, [ et al.] // *J. Low. Genit. Tract Dis*. – 2021. - P.221-231
178. Follow-up with histopathology and HPV testing on LSIL cytology in China's largest academic woman's hospital Cancer / X. Tao, H. Zhang, H. Zhang, [ et al.] // *Cytopathol*. - 2019. – Vol. 127. – P.258-266,
179. 2023 Canadian Colposcopy Guideline: A Risk-Based Approach to Management and Surveillance of Cervical Dysplasia / Willows, K.; Selk, A.; Auclair, M.-H. [ et al.] // *Curr. Oncol*. – 2023. – Vol. 30. – P.5738-5768.
180. Basu, P.; Taghavi, K.; Hu, S.-Y.; Mogri, S.; Joshi, S. Management of cervical premalignant lesions. *Curr. Probl. Cancer* 2018, 42, 129–136.
181. 2019 ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines for Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors / Perkins, R.B.; Guido, R.S.; Castle, P.E. [ et al.] // *J. Low. Genit. Tract Dis*. – 2020. – Vol. 24. – P.102–131.
182. A comparative study of treatment of cervical low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL) / Chen Y, Dong Z, Yuan L [ et al.] // *Photodiagnosis Photodyn Ther*. – 2024. - N45. - e103920.
183. Absence of high-grade cervical intraepithelial neoplasia in conization specimens from patients with colposcopic biopsy-confirmed high-grade cervical intraepithelial neoplasia: Retrospective study of 1695 cases / Guo Y, Wang Y, Peng Q [ et al.] // *Front Oncol*. – 2022. – Sep;14. – Vol. 12. - 12:9808

## ПРИЛОЖЕНИЕ А.

Алгоритм ведения пациенток с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки с учетом полученных результатов проведенного исследования.

