Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)

На правах рукописи

ОБУХОВА Елизавета Александровна

ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ОЗЛОКАЧЕСТВЛЕНИЯ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ И ПРЕДРАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ

3.1.4. Акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель
доктор медицинских наук,
профессор Леваков С.А.

Москва – 2022 год

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 4
Актуальность темы исследования 4
Цель исследования 8
Задачи исследования 8
Научная новизна исследования 9
Теоретическая и практическая значимость работы 9
Положения, выносимые на защиту 11
Степень достоверности и апробация результатов 12
Личный вклад автора в проведенное исследование 13
Внедрение результатов исследования в практику 13
Публикации по теме диссертации 13
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ (обзор литературы) 15
1.1 Эпидемиология рака шейки матки 15
1.2 Дисплазия шейки матки 17
1.3 Факторы риска развития дисплазии шейки матки 17
1.4 Современные методы диагностики предраковых 24
поражений шейки матки 24
1.5 Параоксоназы – потенциальные предикторы злокачественного перерождения цервикального эпителия 29
1.6 Роль длинных некодирующих РНК (днРНК) в онкогенезе и прогрессировании дисплазии шейки матки 32
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 35
2.1 Материалы исследования 35
Критерии включения в исследование 36
Критерии исключения из исследования 37
2.2 Методы исследования 37

1)Клинико-анамнестический метод 37
2)Микроскопический метод 39
3)Цитологический метод 39
4)Метод амплификации нуклеиновых кислот 40
5)Расширенная кольпоскопия 41
6)Ультразвуковой метод 42
7)Лабораторный метод 42
8)Патоморфологический метод 42
1)Метод амплификации нуклеиновых кислот (молекулярно-генетический метод)44
2.3 Статистическая обработка результатов 46
Дизайн исследования 49
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ 51
3.1 Ретроспективное исследование 51
3.2 Клиническая характеристика пациенток, принимавших 53
участие в исследовании 53
3.3 Результаты расширенной кольпоскопии 78
3.6 Результаты экспрессии мРНК генов, кодирующих параоксоназы 87
3.7 Результаты экспрессии днРНК lincROR и MALAT1 в эпителии шейки матки 91
3.8 Уровень экспрессии мРНК PON2, PON3, днРНК MALAT1 и lincROR и вирусная нагрузка 94
3.9 Прогностическая модель озлокачествления заболеваний шейки матки 99
3.10Ведение пациенток с морфологически верифицированным LSIL 103
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ 105
ВЫВОДЫ 118
Практические рекомендации 120
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 121
Список литературы 123

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В течение многих лет рак шейки матки является важнейшей мировой медико-социальной проблемой [4, 80, 91]. С каждым годом отмечается рост заболеваемости раком шейки матки [1]. Согласно статистическим данным Международного агенства по изучению рака в 2020 году было выявлено 604127 новых случаев рака шейки матки, а ежегодная заболеваемость в разных странах варьирует от 4,1 до 40,1 на 100000 населения [4]. Смертность от рака шейки матки по-прежнему остается высокой, входит в тройку лидеров среди злокачественных опухолей женской репродуктивной системы и по последним данным ВОЗ составляет 8,2 на 100000 населения [3, 5]. Несмотря на проведенные многочисленные фундаментальные исследования, посвященные проблеме злокачественного перерождения предраковых заболеваний шейки матки, и повсеместное внедрение скрининговых программ в настоящий момент в Российской Федерации ежегодно более 7,5 тысяч больных умирает от рака шейки матки [2]. Поэтому одной из основных задач современной гинекологии является фундаментальное изучение патогенетических механизмов, поиск ранних молекулярно-биологических предикторов и эффективных методов лечения предраковых поражений шейки матки [93].

В 2008г Харальд цур Хаузен (нем. Harald zur Hausen) доказал, что обязательным этиологическим агентом дисплазии и рака шейки матки являются высокоонкогенные серотипы вируса папилломы человека, и получил за свое открытие Нобелевскую премию [83]. В случаях длительной персистенции вируса в многослойном плоском эпителии повышается риск возникновения клеточной атипии и его злокачественного перерождения [2, 5, 80, 91]. Длительный хронический воспалительный процесс в экзо- и эндоцервиксе приводит к деформации анатомической структуры шейки матки в виде гипертрофических изменений, элонгации, наботовых кист и способствует развитию лейкоплакии и дисплазии [158, 179]. В настоящий момент не определены достоверные прогностические критерии озлокачествления плоскоклеточных

интраэпителиальных поражений шейки матки. У врачей-клиницистов возникает немало трудностей с выбором тактики ведения данной когорты пациенток. Хирургическое лечение плоскоклеточных интраэпителиальных поражений низкой степени (LSIL) не всегда оправдано, особенно у девушек подросткового и раннего репродуктивного периодов и у женщин, планирующих беременность [64, 70], а длительное наблюдение приводит к повышенному риску злокачественной трансформации цервикального эпителия, поэтому требуются дальнейшие исследования, направленные на поиск новых прогностических и диагностических маркеров рака шейки матки [131, 168, 179].

В настоящее время доказана роль оксидативного стресса в патогенетических механизмах воспалительных заболеваний и в развитии злокачественных опухолей [11]. Свободнорадикальное окисление является жизненно важным интегральным механизмом, регулирующим многие метаболические процессы, такие как транспорт ионов, элиминация инфекционных агентов и токсичных веществ, апоптоз, предупреждение малигнизации клеток, клеточное дыхание, пролиферация и дифференцировка клеток [26, 150, 151, 191]. Ферменты антиоксидантной системы нейтрализует свободные радикалы, однако, при их избытке супероксид-анионы превращаются в высокореактивные радикалы кислорода, что приводит к развитию оксидативного стресса, клеточного повреждения и развитию различных по патогенезу заболеваний, включая злокачественные опухоли [11, 24, 69, 166].

Параоксоназы – это семейство ферментов, представленное PON1, PON2, и PON3, нейтрализующие активные формы кислорода за счет воздействия на ядерные рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами (PPAR) [26, 46, 61, 95]. Ферменты PON1 и PON3 синтезируются в гепатоцитах и высвобождаются в плазму в состоянии, связанном с липопротеинами высокой плотности (ЛПВП) [26, 46, 61]. Фермент PON2 локализуется внутриклеточно и не детектируется в плазме [26, 31, 61, 95]. По химическим свойствам параоксоназы относятся к классу гидролаз [11, 30, 95, 120], поэтому параоксоназы способны нейтрализовать свободные радикалы кислорода, защищать липиды клеточных

мембран от перекисного окисления, подавлять воспаление и регулировать процесс апоптоза [11, 61]. Важнейшим свойством всех трех представителей семейства является способность гидролизовать ацилгомосеринлактоны – сигнальные молекулы кворум-зависимых систем грамотрицательных бактерий [31, 46, 95]. Таким образом, параоксоназы блокируют образование бактериальных биопленок и препятствуют хронизации процесса, способствуют антигенному распознаванию и элиминации бактериальных агентов [26, 31]. Снижение в сыворотке крови активности параоксоназ сопровождается приводит к увеличению выраженности оксидативного стресса и риска развития атеросклероза, обменных нарушений, а также гинекологических и опухолевых заболеваний [26, 31, 61, 95, 120].

В настоящее время чрезвычайно популярным направлением молекулярной биологии и фундаментальной медицины стало изучение длинных некодирующих РНК (lncRNAs, днРНК) [22, 37, 76]. Длинные некодирующие РНК – это РНК длиной более 200 нуклеотидов, не содержащие открытых рамок считывания [35, 68, 148]. Многие исследования уже доказали существенную роль днРНК в регуляции экспрессии генов и в патогенезе нейродегенеративных, сердечно-сосудистых, гинекологических и онкологических заболеваний [37, 76, 85]. Повышенная экспрессия днРНК lincROR наблюдалась при раке яичников, эндометрия, почек, простаты, желчного пузыря, полости рта, желудка, легких, колоректальном, гепатоцеллюлярном и других видах рака [35, 187, 195]. Описаны некоторые функции днРНК, такие как регуляция экспрессии генов за счет связывания с факторами транскрипции, привлечение активирующего комплекса TrxG или репрессионных комплексов PRC1 и PRC2, взаимодействие с микроРНК, влияние на сплайсинг пре-мРНК, гибель, рост и дифференцировку клеток [37, 76]. В опухолевых тканях днРНК регулируют некоторые онкогены и супрессоры опухолей, отвечающих за апоптоз, пролиферацию, ангиогенез, инвазию и местастазирование. Наиболее изучены в процессах канцерогенеза H9 [92], H19, PCA3, MALAT1 [68, 148], HOTAIR[190], HULC[65], Linc 00874 и KRT19 [143]. С плохим прогнозом заболевания связана повышенная экспрессия lincROR [35, 187,

195]. Повышение уровня экспрессии MALAT1 наблюдалось при различных онкологических заболеваниях, включая рак легких, мочевого пузыря, молочной железы, шейки матки, толстой кишки, колоректальный рак, рак эндометрия, пищевода, желудка, гепатоцеллюлярную карциному, меланому, множественную миелому, нейробластому, остеосаркому, рак яичников и предстательной железы [68, 148]. ДнРНК могут стать претендентами на идеальные биомаркеры злокачественного перерождения эпителия шейки матки, так как они могут быть идендифицированы на ранней стадии еще до экспрессии белков.

Таким образом, параоксоназы, lincROR и MALAT1 теоретически могут играть роль в патогенезе злокачественной трансформации эпителия шейки матки. Разработка новых диагностических и прогностических маркеров перехода дисплазии шейки матки в рак позволит внедрить эффективные методы снизить частоту развития рака шейки матки.

Степень разработанности темы исследования

Скрининг на выявление злокачественных новообразований шейки матки включает ВПЧ-тестирование и цитологическое исследование соскоба, в том числе жидкостную цитологию (Приказ Минздрава России от 20 октября 2020 г. №1130н «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология»). Исследован ряд молекулярных биомаркеров, позволяющих провести дифференциальную диагностику между неизмененными тканями, интраэпителиальными поражениями и раком шейки матки: определение полноразмерной мРНК генов E6 и E7, маркера цервикального дискариоза p16ink4a, маркера пролиферации Ki-67, E-кадгерина, белка pAkt, сосудисто-эндотелиального фактора (VEGF), циклооксигеназы-2 (COX2), теломеразы (hTERT), белков апоптоза (PTEN, Bcl-2, Bax), металопротеиназ (MMP2, MMP9) и онкомаркера SCC. Однако несмотря на глубокое изучение проблемы и внедрение новых диагностических маркеров в клиническую практику, заболеваемость и смертность от рака шейки матки не снижается и по-прежнему занимает лидирующие позиции. Разработка новой прогностической модели, учитывающей экспрессию генов

ферментов антиоксидантной защиты, длинных некодирующих РНК, регулирующих процессы пролиферации и апоптоза, позволит улучшить качество дифференциальной диагностики заболеваний шейки матки и вовремя назначить патогенетически обоснованную терапию.

Цель исследования

Оценка прогнозирования течения заболеваний шейки матки на основе разработки новых молекулярно-генетических диагностических критериев опухолевой трансформации для выбора дифференцированной тактики ведения пациенток.

Задачи исследования

1. Выявить наиболее значимые факторы риска прогрессирования и злокачественной трансформации предраковых заболеваний шейки матки;
2. При помощи молекулярно-генетического метода исследования (Real-time PCR) изучить и сравнить уровни экспрессии мРНК генов PON1, PON2 и PON3, отражающих активацию окислительного стресса, в нормальном цервикальном эпителии и при заболеваниях шейки матки;
3. Методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (Real-time PCR) изучить особенности экспрессии длинных некодирующих РНК (днРНК) MALAT1 и lincROR в неизмененном эпителии шейки матки и при наличии интраэпителиальных повреждений;
4. Провести сравнительный анализ экспрессии мРНК генов PON1, PON2, PON3, днРНК MALAT1 и lincROR в зависимости от степени вирусной нагрузки;
5. С помощью метода бинарной логистической регрессии разработать индекс риска малигнизации (ИРМ) для выявления группы высокого риска по прогрессированию интраэпителиальных поражений до дисплазии тяжелой степени (HSIL) и рака шейки матки;
6. Разработать патогенетически обоснованный дифференцированный подход ведения пациенток с LSIL с учетом клинических, патоморфологических методов и

изученных молекулярно-генетических маркеров прогрессирования интраэпителиальных поражений.

Научная новизна исследования

Впервые проведено молекулярно-генетическое исследование определения уровня экспрессии генов, кодирующих ферменты антиоксидантной защиты организма PON1, PON2 и PON3, днРНК lincROR, регулирующей репрограммирование плюрипотентных стволовых клеток и подавляющей индукцию опухолевого протеина p53 при повреждении ДНК, в эпителиальных клетках шейки матки у женщин репродуктивного возраста. Изучены особенности экспрессии днРНК MALAT1 в нормальном эпителии, при доброкачественных и предраковых заболеваниях шейки матки. Определена роль митохондриальной дисфункции и оксидативного стресса в развитии предраковых поражений шейки матки. Определены новые прогностические критерии озлокачествления заболеваний шейки матки по уровню экспрессии днРНК и генов, кодирующих ферменты детоксикационной системы организма. С помощью метода бинарной логистической регрессии разработан индекс риска малигнизации (ИРМ) для выявления группы высокого риска по прогрессированию интраэпителиальных поражений до дисплазии тяжелой степени (HSIL) и рака шейки матки. Разработан новый алгоритм ведения пациенток с заболеваниями шейки матки с использованием предложенных прогностических критериев.

Теоретическая и практическая значимость работы

В результате проведенного исследования определены новые прогностические критерии злокачественной трансформации заболеваний шейки матки, на основании которых возможно определить пациенток, угрожаемых по риску развития рака шейки матки. В исследовании подтверждена роль митохондриальной дисфункции, оксидативного стресса и нарушения нормального функционирования регуляторов репрограммирования плюрипотентных стволовых клеток в развитии цервикальной интраэпителиальной неоплазии. Повышенная экспрессия генов,

кодирующих параоксоназы, MALAT1 и lincROR, свидетельствует о повышенном риске неопластической трансформации цервикального эпителия.

Предложенная прогностическая модель, учитывающая уровень экспрессии генов PON2, PON3, MALAT1 и lincROR, позволяет выявить группу высокого риска по прогрессированию дисплазии и развитию рака шейки матки, сократить срок динамического наблюдения и выбрать оптимальный вариант хирургического лечения в данной группе пациенток. Результаты научной работы могут быть использованы в качестве практических рекомендаций врачам акушерам-гинекологам для оптимизации наблюдения и лечения заболеваний шейки матки с учетом онкологической настороженности.

Методология и методы исследования

Методология исследования соответствует стандартам проведения биомедицинских исследований и основана на принципах доказательной медицины. На первом этапе проведено ретроспективное исследование с целью выявления частоты встречаемости различных типов ВПЧ, сопоставления результатов ВПЧ-тестирования с цитологическими и гистологическими заключениями и определения факторов риска развития интраэпителиальных поражений. На втором этапе проводилось проспективное исследование, в которое включались пациентки с доброкачественными и предраковыми заболеваниями шейки матки. В ходе исследования проводился стандартный скрининг цервикальной патологии, включавший качественное и количественное определение ВПЧ, жидкостную цитологию и расширенную кольпоскопию. При наличии показаний проводилась радиоволновая биопсия шейки матки. Скрининг был дополнен исследованием уровня экспрессии мРНК генов PON1, PON2, PON3, днРНК lincROR и MALAT1. На третьем этапе проводился анализ уровня экспрессии изучаемых генов и возможности их использования в клинической практике. Построена прогностическая модель, оценена ее предиктивная значимость в диагностике злокачественной трансформации заболеваний шейки матки, и разработан новый

алгоритм ведения пациенток группы высокого риска по прогрессированию интраэпителиальных поражений.

Положения, выносимые на защиту

1. Риск прогрессирования дисплазии и развития рака шейки матки зависит от длительности персистенции ВПЧ ВКР, уровня вирусной нагрузки, возраста начала половой жизни, количества половых партнеров в анамнезе, наличия повреждений шейки матки (хирургическое лечение, аборты, роды), курения, персистирующих урогенитальных инфекций.
2. При морфологической верификации LSIL и HSIL отмечается повышение экспрессии мРНК генов PON2 и PON3 в эпителии шейки матки, что отражает активацию оксидативного стресса и митохондриальную дисфункцию при наличии интраэпителиальных повреждений. Степень дисплазии шейки матки связана с уровнем повышения экспрессии PON 2 и PON3: при LSIL экспрессия PON2 повышена в 2,5 раза – 6,54 [4,25; 8,26], при HSIL в 3,8 раз – 10,10 [6,88; 13,75], экспрессия PON3 повышена в 2,76 раз при LSIL – 6,25 [3,43; 9,53], в 5,56 раз при HSIL – 12,57 [7,59; 17,10] ($p < 0,001$). Экспрессия гена, кодирующего фермент PON1, в цервикальном эпителии отсутствует и не изменяется при доброкачественных и предраковых заболеваниях шейки матки, что свидетельствует об отсутствии его прогностической значимости в процессе опухолевой трансформации заболеваний шейки матки.
3. Экспрессия днРНК lincROR и MALAT1 повышена у пациенток с цервикальной интраэпителиальной неоплазией и зависит от степени тяжести интраэпителиальных поражений: при LSIL экспрессия днРНК MALAT1 повышена в 2,26 раз – 3,23 [2,27; 3,92], экспрессия lincROR в 1,4 раза – 1,78 [1,25; 1,93], при HSIL экспрессия MALAT1 повышена в 3,94 раз – 5,73 [3,06; 6,46], lincROR в 1,54 раз – 1,92 [1,83; 2,07] ($p<0,001$).
4. Степень повышения экспрессии мРНК генов PON2, PON3, днРНК lincROR и MALAT1 в цервикальном эпителии зависит от уровня вирусной нагрузки ВПЧ ВКР ($p<0,001$). Наиболее сильная корреляционная связь выявлена между уровнем

вирусной нагрузки и повышением экспрессии мРНК PON2 и PON3 (теснота связи по шкале Чеддока заметная, p <0,001).

5. Пациентки с LSIL, высокой вирусной нагрузкой (более 5,3 lg копий), сверхэкспрессией генов PON2, PON3, MALAT1 и lincROR и ИРМ> 0,5 подвержены повышенному риску развития рака шейки матки, что требует сокращения сроков динамического наблюдения и проведения хирургического лечения шейки матки.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов достигалась путем поэтапного выполнения плана исследования, использования достаточных по объему выборок, высокоточного лабораторного оборудования и выбора адекватных статистических методов. Результаты диссертации были озвучены на XIII Международном конгрессе по репродуктивной медицине (г. Москва, 21-24 января 2019г.), XIV Международном конгрессе по репродуктивной медицине (г. Москва, 21-24 января 2020г.), IV Национальном научно-образовательном конгрессе «Онкологические проблемы от менархе до постменопаузы» (г. Москва, 12-14 февраля 2020г.), научно-практической конференции «Зарождение жизни» (г. Москва, 04 марта 2020г.), XXXIII зимней молодежной научной школе "Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии" (г. Москва, ИБХ РАН, 08-11.02.2021г.), XXII Всероссийском научно-образовательном форуме «МАТЬ И ДИТЯ - 2021», научно-практической конференции с международным участием «Междисциплинарные аспекты гинекологии: от зарождения жизни до профилактики заболеваний» (г. Москва 28 мая 2021 г), XXVII научно-практической конференции «Наука России: Цели и задачи» (г. Екатеринбург, 10 июня 2021 г).

Апробация диссертационной работы состоялась на кафедральной научно-практической конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии ИКМ имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) и врачей гинекологического отделения ГБУЗ «ГКБ имени братьев Бахрушиных ДЗМ» 14 мая 2021г. (протокол № 02-05 от 14.05.2021г.).

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автором самостоятельно проведен библиографический поиск и анализ научной литературы по теме диссертации, сбор и анализ жалоб и данных анамнеза, ретроспективный анализ 198 историй болезней пациенток с заболеваниями шейки матки с 2016 по 2020гг, отбор пациенток для выполнения проспективного исследования. Автором самостоятельно проводилась радиоволновая биопсия/эксцизия шейки матки в гинекологическом отделении ГБУЗ «ГКБ имени братьев Бахруштиных ДЗМ» и амбулаторно в Центральной поликлинике ФГБУЗ КБ №85 ФМБА России, выделены тотальные мРНК, синтезированы кДНК PON1, PON2, PON3, lincROR и MALAT1 в каждом образце и проведено RTQ-PCR исследование под руководством к.б.н., старшего научного сотрудника лаборатории мембранных и биоэнергетических систем Института биоорганической химии имени М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН Антиповой Н.В. Автором самостоятельно выполнена статистическая обработка результатов исследования и построена прогностическая модель вероятности прогрессирования интраэпителиальных неоплазий. Разработан алгоритм ведения пациенток с преинвазивными поражениями шейки матки.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в практику гинекологических отделений ГБУЗ ГКБ им. братьев Бахрушиных ДЗМ, ФБУЗ «Лечебно-реабилитационный и в программу преподавания кафедры акушерства и гинекологии ИКМ имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 3 печатные работы в рецензируемых научных изданиях, определенных перечнем ВАК при Минобрнауки РФ и входящих в наукометрическую базу данных Scopus.

Структура и объем диссертации

Текст диссертации включает 141 страницу, структура диссертации содержит разделы согласно положениям ГОСТа 7.0.11-2011. Список литературы включает 16 публикаций на русском языке и 181 на иностранном языке. Иллюстративный материал включает 39 таблиц и 33 рисунка.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ (обзор литературы)

1.1 Эпидемиология рака шейки матки

Согласно материалам доклада Отдела населения Департамента по экономическим и социальным вопросам ООН 2019г о мировых тенденциях смертности, ежегодно умирает около 58 миллионов людей [123]. Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) внесла онкологические заболевания в рейтинг 10 ведущих причин смерти на шестое место после ишемической болезни сердца, инсульта, хронической обструктивной болезни легких, респираторных инфекций нижних дыхательных путей и болезни Альцгеймера (https://www.who.int). Смертность от онкологических заболеваний с каждым годом стабильно растет: в 2020г от онкологических заболеваний умерло более 9,9 миллионов людей, что практически на 1,8 миллиона больше по сравнению с 2012г (https://gco.iarc.fr/today).

Ежегодно во всем мире более, чем у 500000 женщин диагностируется рак шейки матки, и около 300000 умирает от данного заболевания [4, 14, 43, 91]. В связи с высокими показателями заболеваемости и смертности ВОЗ выступила с Глобальной инициативой по расширению масштабов профилактических, скрининговых и лечебных мероприятий для устранения рака шейки матки как проблемы общественного здравоохранения в XXI веке [15, 154]. В 2020 году зарегистрировано 604127 новых случаев рака шейки матки и 341831 смертей от этого заболевания [4]. Рак шейки матки является четвертым по распространенности раком (1495211 случаев) у женщин после рака молочной железы (7790717 случаев), колоректального рака (2402656 случаев) и рака щитовидной железы (1546208 случаев) (https://gco.iarc.fr/today). Рак шейки матки остается одним из самых тяжелых заболеваний среди женщин репродуктивного возраста [15, 19, 96, 129].

Около 90% всех случаев выявления рака шейки матки приходится на страны с низким и средним уровнем дохода, где плохо организованы скрининг и программы

вакцинации от ВПЧ-инфекции [15, 44, 84, 108]. В странах с высоким уровнем дохода заболеваемость и смертность от рака шейки матки снизились более чем вдвое за последние 30 лет с момента введения официальных программ скрининга [74, 82, 113]. Стандартизированная по возрасту мировая заболеваемость раком шейки матки составляет 13,1 на 100 000 женщин и широко варьирует в зависимости от страны от менее 2 до 75 на 100 000 женского населения [29, 75]. Рак шейки матки является основной причиной смерти от рака у женщин в Восточной, Западной, Центральной и Южной Африке [29, 75, 84, 142]. Самый высокий уровень заболеваемости был зарегистрирован в Эсватини: примерно у 6,5% женщин рак шейки матки развился в возрасте до 75 лет [14, 75]. На Китай и Индию приходится более трети глобального бремени рака шейки матки: 106 000 случаев в Китае и 97 000 случаев в Индии, 48 000 случаев смерти в Китае и 60 000 случаев смерти в Индии [14]. Во всем мире средний возраст постановки диагноза рака шейки матки составлял 53 года, от 44 лет (Вануату) до 68 лет (Сингапур) [14]. Средний глобальный возраст смерти от рака шейки матки составлял 59 лет, от 45 лет (Вануату) до 76 лет (Мартиника) [14].

В России рак шейки матки занимает третье место по частоте встречаемости после злокачественных новообразований молочной железы и тела матки (https://gco.iarc.fr/today). Отмечается рост удельного веса рака шейки матки в структуре онкологических заболеваний женщин репродуктивного возраста: 2020г распространенность рака шейки матки среди женщин детородного возраста в России составила 21361 (13,8%) случаев (https://gco.iarc.fr/today). Летальность в течение года с момента постановки диагноза снизилась за десять лет и составила 16,3% по сравнению с показателем 20,8% в 2004 году [118].

Важно отметить, что в последние годы наблюдается существенное увеличение выявления рака шейки матки в стадии *in situ* с 15,8% до 27,9% в 2004 году и в 2014 году, соответственно [118]. Особую тревогу вызывает увеличение числа больных в возрастной группе до 30 лет на 2,1% в год, а в возрастной группе 30-40 лет на 0,9% [94, 133]. Наиболее эффективным способом профилактики рака шейки матки

является ранняя диагностика и своевременное лечение преинвазивных поражений [111, 121, 165].

1.2 Дисплазия шейки матки

Дисплазия шейки матки – это патологический процесс, возникающий в эпителии шейки матки, морфологически проявляющийся ядерной атипией и утратой нормального строения эпителия без повреждения базальной мембраны и характеризующийся потенциально предраковой трансформацией [128].

Цервикальные интраэпителиальные неоплазии (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN) – это гистологические проявления дисплазии шейки матки, отражающие степень клеточной атипии и нарушения клеточной пролиферации [48]. Дисплазия легкой степени соответствует CIN I и характеризуется нарушением клеточной дифференцировки на глубине до 1/3 толщины многослойного плоского цервикального эпителия [48]. Гистологическими критериями CIN I являются наличие атипичных клеток с признаками дискариоза, фрагментацией хроматина, патологических митозов, нарушением цитоплазменно-ядерного соотношения [48].

Дисплазия тяжелой степени (CIN II-III, carcinoma in situ) – поражение более 2/3 толщины эпителия [101, 162]. При патоморфологическом исследовании выявляется выраженная клеточная атипия, повышенная базальноклеточная пролиферация, нарушение стратификации и толщины эпителиальных слоев, множественные патологические митозы и признаки гипер- и паракератоза [42, 48, 128].

В большинстве наблюдений происходит спонтанный регресс дисплазии шейки матки [47, 48]. Тем не менее, прогрессирование в инвазивный рак происходит примерно у 1% женщин с CIN I, у 5% - при CIN II и в 12-15% наблюдений CIN III [7, 72, 96].

1.3 Факторы риска развития дисплазии шейки матки

За последние два десятилетия мировое научное сообщество пришло к выводу, что единственным достоверным этиологическим фактором развития рака шейки матки является длительная персистенция высокоонкогенных типов вируса папилломы человека (ВПЧ) в базальных и парабазальных клетках цервикального

эпителия [117, 139, 170]. Вирус папилломы человека был выявлен в 99,7% гистологических препаратов рака шейки матки [48], в 70% плоскоклеточных карцином вульвы и в 60% плоскоклеточных карцином влагалища [48, 127].

Впервые гипотезу о вирусной природе рака шейки матки выдвинул в 1970-х немецкий врач и ученый Харальд цур Хаузен *(*Harald zur Hausen*)*, а в 2008г он получил за свое открытие Нобелевскую премию [104, 105].

Папилломавирусная инфекция – наиболее часто встречающаяся инфекция, передаваемая половым путем [39, 67, 157]. По разным данным ВПЧ-инфекция зарегистрирована у 440 – 600 млн населения мира [174]. По подсчетам ученых до 80-90% сексуально активного населения в течение жизни инфицируется ВПЧ, наиболее часто в возрасте 18-30 лет [6]. Наиболее часто женщины заражаются ВПЧ после начала половой жизни [6, 48, 174]. Распространенность ВПЧ-инфекции среди женщин раннего репродуктивного возраста составляет 22-24% [144]. По результатам исследований, у 87% женщин моложе 29 лет с дисплазией шейки матки выявлены высокоонкогенные типы ВПЧ [48]. У женщин старшего возраста этот показатель составляет 75% [149]. Согласно результатам исследования, проведенного M.F. Evans и соавторами в 2006г, ВПЧ высокого онкогенного риска детектировался у 60% женщин с LSIL в возрасте до 30 лет и у 46% женщин старшего возраста [55].

Вирус папилломы человека – эпителиотропный вирус семейства Papillomaviridae размером 45-55 нм. ВПЧ состоит из 72 капсомеров и не имеет внешней оболочки [67, 157, 174]. Генетический материал представлен одной кольцевой двухцепочечной ДНК [175, 182]. Его геном имеет длину 8000 пар оснований и разделен на 3 домена: некодирующий, содержащий 1000 пар нуклеотидов, ранний и поздний [175]. В зависимости от типа ВПЧ его геном содержит от 8 до 9 открытых рамок считывания, которые кодируют коровые белки E и L [25]. В настоящее время изучено 6 ранних белков, кодируемые 4000 парами оснований: регуляторные белки E1, E2 и E4, и вспомогательные белки E5, E6 и E7 [25, 182]. Гены, кодирующие белки E1 и E2, участвуют в репликации вирусного

генома и регуляции вирусной транскрипции, а первичные онкогены E6 и E7 в адаптации и амплификации вируса [114, 182]. Другой участок молекулы ДНК ВПЧ размером 3000 пар нуклеотидов кодирует два структурных (капсидных) белка L1 и L2 [60, 114, 119]. Репликация вирусной ДНК и элементы регуляции транскрипции вирусных белков кодируются длинной некодирующей цис-чувствительной областью (LCR), содержащей 1000 пар оснований [119].

В настоящее время выделены и идентифицированы более 200 генотипов ВПЧ по последовательности генов, кодирующих капсидный протеин L1 [60, 114, 119]. Согласно результатам исследований 60 генотипов ВПЧ относятся к роду *Alphapapillomavirus* (альфа-PV) и способны вызывать заболевания кожи и слизистых оболочек [60]. Род альфа-PV включает в себя 9 групп, из них 4 являются высокоонкогенными и вероятно онкогенными и вызывают более 95% рака шейки матки: альфа-5 (ВПЧ 23, 51, 69 и 82), альфа-6 (ВПЧ 30, 53, 56 и 66), альфа-7 (ВПЧ 18, 39, 45, 59, 68, 70, 85 и 97) и альфа-9 (HPV16, 31, 33, 35, 52, 58 и 67) [60]. Роды *Betapapillomavirus* и *Gammapapillomavirus* в настоящее время плохо изучены [60, 114]. Доказано, что ВПЧ 16 и 18 являются наиболее вирулентными генотипами высокого онкогенного риска, вызывающими около 70% всех инвазивных видов рака шейки матки в мире [48, 175, 182].

По результатам исследований в 90% случаев в течение 12-24 месяцев после инфицирования ВПЧ происходит самопроизвольная элиминация вируса, однако длительная персистенция высокоонкогенных типов ВПЧ увеличивает количество генных мутаций, риск развития дисплазии и рака шейки матки [48, 182]. Согласно результатам исследования S. Rachel Skinner и соавт., включавшего 708 пациенток с ВПЧ инфекцией высокого канцерогенного типа, через 6 месяцев после инфицирования по результатам цитологического исследования CIN I (LSIL) выявлялся в 12,7% случаев, CIN II-III (HSIL) в 9,4% случаев [137].

Несмотря на то, что роль ВПЧ в развитии злокачественного перерождения цервикального эпителия определена, возникновение патологического процесса невозможно без дополнительных факторов риска, приводящих к изменениям

генетического материала клеток, происходящего в результате внедрения генома ВПЧ в геном хозяина [88].

По результатам многочисленных исследований, отмечена связь развития рака шейки матки с курением сигарет [59, 161, 163], ранним началом половой жизни и большим количеством половых партнеров [41, 51, 53, 78], применением гормональных контрацептивов [177, 178], иммуносупрессией [20, 50], травматическим повреждением шейки матки, низким социальным статусом и длительной персистенцией инфекции, передающиеся половым путем [40, 81].

Одним из наиболее значимых факторов риска развития дисплазии шейки матки является раннее начало половой жизни. Эпителиальный барьер клетки врожденного иммунного ответа и секретируемые ими факторы обеспечивают формирование нескольких уровней защиты, снижают риск инфицирования ВПЧ и развития неоплазии. В пубертатном периоде МПЭ, покрывающий влагалищную часть шейки матки морфологически и функционально неполноценен и легко подвергается воздействию различных повреждающих факторов. В подростковом возрасте в условиях ускоренного процесса клеточной трансформации ЦЭ в метапластический, а затем — в МПЭ повреждающая способность канцерогена на шейку матки повышается. После окончания процесса метаплазии эпителия риск развития CIN остается высоким у женщин в том случае, если это процесс оказался незавершенным. Решающими общими факторами риска развития рака шейки матки является начало регулярной половой жизни в подростковом периоде и частая смена половых партнеров. Согласно результатам исследования, проведенного Angermeyer A. et al. в 2019г, из 182 девушек 18-24 лет в 46,9% случаях выявлялись цитологические изменения, среди них наиболее часто (в 29,4%) неспецифическое воспаление и клеточная атипия (10,2%). В 24,3% случаев выявлялось инфицирование ВПЧ ВКР. Определена взаимосвязь между цитологическими изменениями, длительной персистенцией ВПЧ и ранним началом половой жизни ($p < 0,0001$): в 11,9% (21/177) случаев диагностирована дисплазия шейки матки[10]. Значительную роль в злокачественной трансформации цервикального эпителия

играет половая активность и общее количество половых партнеров. По данным систематического обзора Xiao Li et al. 2018г риск развития рака шейки матки повышается в 7.089 раз у женщин, имевших более одного полового партнера в течение жизни[98]. Увеличение числа половых партнерш супруга также повышает вероятность развития дисплазии и рака шейки матки[98].

В 1977г Winkelstein Jr. впервые выдвинул гипотезу о возможном влиянии курения на развитие рака шейки матки[59]. С тех пор роль табачного дыма в процессе канцерогенеза шейки матки стало предметом научных дискуссий. В 2004г Международное агенство по изучению рака (IARC) включило курение сигарет в перечень факторов риска развития рака шейки матки. Многочисленные канцерогенные химические соединения были обнаружены в цервикальной слизи курящих женщин [161, 163]. Gunnell et al. в 2006г обнаружили, что при сочетании курения и высокой вирусной нагрузки ВПЧ-16 типа риск развития карциномы шейки матки in situ (CIS) в 27 раз выше, чем у курящих женщин без ВПЧ инфекции[59]. В 2009г Xi et al. сообщили о более высокой вирусной нагрузке у курящих пациенток с цитологическими заключениями ASCUS и LSIL по сравнению с некурящими и бывшими курильщиками[59, 186]. В метаанализе 2 когортных исследований и 3 исследований случай-контроль, проведенным Y. Sugawara и соавторами (Япония) в 2019г, была выявлена прямая взаимосвязь между курением сигарет и риском развития плоскоклеточного рака шейки матки: относительный риск развития рака шейки матки у курящих женщин в 2,03 раза выше по сравнению с некурящими (95% ДИ 1,49-2,57) [163]. По результатам метаанализа 14 исследований, проведенного Benyu Su et al. в 2018г, пассивное курение также является фактором риска развития рака шейки матки: риск развития рака шейки матки у женщин, регулярно подверженных пассивному курению был в 1,7 раз выше по сравнению с некурящими (95%, ДИ: 1,40 – 2,07, I2=64,3%)[161].

Прием гормональных контрацептивов может влиять на развитие рака шейки матки в сочетании с другими факторами[177, 178]. Имеет значение длительность приема контрацептивных гормональных препаратов, однако причинная связь

определяется наличием одновременно других факторов, например, сексуальным поведением [109]. По данным систематического обзора, проведенного Gierisch et al. в 2013 году, риск развития рака шейки матки увеличивается при длительном приеме оральных контрацептивов [66]. Систематический обзор литературы с 1990 по 2019гг. и метаанализ 19 исследований, проведенный Asthana et al. в 2020г, продемонстрировал взаимосвязь развития аденокарциномы, плоскоклеточного рака шейки матки и длительного использования оральных контрацептивов с ОШ 1,77 (95%; ДИ 1,4 – 2,24) и 1,29 (1,18 – 1,42)[17]. Патологический механизм, лежащий в основе влияния гормональных контрацептивов на развитие рака шейки матки остается не до конца изученным. Наиболее распространенным мнением является воздействие гормональных контрацептивов на цервикальную слизь, которая становится густой и вязкой, что затрудняет элиминацию ВПЧ[63].

Дисбаланс половых гормонов – еще одна возможная причина развития патологических изменений шейки матки. Многие экспериментальные молекулярные исследования доказали канцерогенную роль эстрогенов. В 2006г Wang et al. в исследовании случай-контроль выявили взаимосвязь повышенного уровня эстрадиола и прогестерона в плазме и развития рака шейки матки[181]. Повышенный уровень андрогенов и прогестерона в сыворотке крови нарушает процессы дифференцировки многослойного плоского эпителия шейки матки. Гиперэстрогения приводит к усиленной пролиферации всех слоев эпителия шейки матки, утолщению эпителиального покрова и усиленному его ороговению.

Наличие сопутствующей вирусно-бактериальной инфекции, прежде всего вируса простого герпеса 2 серотипа (ВПГ-2), является одним из кофакторов активации ВПЧ-инфекции[32, 40, 81]. Геномы ВПГ и ВПЧ интегрируются в проонкогене C-tyc, запускающего клеточную пролиферацию и инициацию CIN, а при его абберантной экспрессии – в канцерогенезе и дальнейшей опухолевой прогрессии. По результатам крупного рандомизированного исследования, проведенного Sen Li et al. в 2017г, у пациенток с персистенцией ВПГ-2 риск развития рака шейки матки был выше, чем у женщин без ВПГ-2 инфекции (ОШ =

1,72; 95% ДИ: 1,06-2,79)[97]. Однако в 2014г Cao et al. был проведен систематический обзор 60 статей, включая 20 исследований, в котором не была подтверждена роль вируса ВПГ-2 в патогенезе рака шейки матки (ОШ 1,04 95%; ДИ 0,82-1,31) [32]. Хламидийная инфекция, трихомониаз и другие инфекционные агенты также обладают катализирующим влиянием на ВПЧ, обусловливая прогрессирование диспластических изменений. В исследовании, проведенном в 2002г Jennifer S. Smith, среди пациенток с плоскоклеточным раком шейки матки Бразилии и Филиппин частота встречаемости хламидийной инфекции была статистически выше (47,7%), чем у женщин с интактной шейкой матки (22,1%; p<0,0001) [155]. Среди носительниц хламидийной инфекции в группе пациенток с плоскоклеточным раком шейки матки отмечался более высокий титр антител к C. Trachomatis относительно женщин с нормальной цитологической картиной[155].

Доказана роль ВИЧ-инфекции в патогенезе ВПЧ-ассоциированного рака шейки матки [171, 172]. В 2021году проведен систематический обзор литературы и метаанализ 5 научных баз данных (PubMed, Embase, Global Health [CABI.org], Web of Science, and Global Index Medicus) и оценен совокупный риск развития рака шейки матки среди ВИЧ-инфицированных женщин на 4 континентах (Африка, Азия, Европа и Северная Америка). Метаанализ включал 24 исследования, в которых принимали участие 236127 ВИЧ-инфицированных женщин. Риск развития рака шейки матки был повышен у женщин, живущих с ВИЧ-инфекцией (ОШ 6,07, 95% ДИ 4,40–8,37) [159]. Во всем мире в 2018 году 5,8% (95% ДИ 4,6–7,3) новых случаев рака шейки матки (33 000 новых случаев, 95% ДИ 26 000–42 000) было диагностировано у женщин, живущих с ВИЧ, и 4,9% (95% ДИ 3 6–6 4) было связано с ВИЧ-инфекцией (28 000 новых случаев, 20 000–36 000) [159]. Заболеваемость раком шейки матки среди ВИЧ-инфицированных женщин была наивысшей в странах Африки: в южноафриканских странах 63,8% (95% ДИ 58,9–68,1) больных раком шейки матки жили с ВИЧ (9200 новых случаев, 95% ДИ 8500–9800), и 27,4% (23,7–31,7) женщин Восточной Африки (14 000 новых случаев, 12 000–17 000)[159]. У ВИЧ-инфицированных женщин снижено количество иммунных клеток и

воспалительных цитокинов в эпителии шейки матки при развитии ВПЧ-ассоциированных поражений, что свидетельствует о прямом влиянии ВИЧ на локальный иммунитет шейки матки. Хроническая ВИЧ-индуцированная иммунная активация, выражающаяся в повышении концентрации CD38+ и HLA-DR+ цитотоксических Т-лимфоцитов, приводит к иммунной дисфункции, повреждению слизистой оболочки шейки матки и персистенции ВПЧ-инфекции[34, 90, 136, 171].

Травматическое повреждение шейки матки вследствие диагностических или лечебных манипуляций, абортов и родов приводят к нарушению структуры шейки матки, потери межклеточных контактов, снижению трофики тканей шейки матки изменению зону трансформации и создают условия для действия других повреждающих факторов [62]. В нескольких исследованиях было выявлено, что у женщин с 2-мя и более абортами или родами в анамнезе риск развития рака шейки матки практически в 5 раз выше, чем в популяции [62]. Тем не менее, эта связь не была подтверждена в других исследованиях.

1.4 Современные методы диагностики предраковых поражений шейки матки

Метод цитологической диагностики рака шейки матки был впервые предложен в 1928 году Джоржем Н. Папаниколау и назван в его честь. В 1940-х годах с помощью цитологического метода (Пап-мазка) стали проводить скрининг рака шейки матки [115]. Повсеместное внедрение цитологического исследования позволило более, чем на 50% снизить заболеваемость и смертность от рака шейки матки [4]. Пап-тест является наиболее экономически выгодным средством профилактики рака из когда-либо предложенных [1, 2, 4]. Диагностическая чувствительность цитологического исследования зависит не только от квалификации цитолога, а также от правильности взятия материала и получение достаточного количества клеток. Доказано, что 70-90% ложноотрицательных ответов при цитологическом исследовании связано с неудовлетворительным качеством забора материала, и только в 10-30% от грамотности специалистов лаборатории [15, 209]. Основными критериями удовлетворительного

цитологического материала являются наличие 8000-12000 клеток плоского эпителия для ПАП-теста, 5000 клеток плоского эпителия для жидкостной цитологии и не менее 10 клеток цилиндрического или метаплазированного эпителия [11, 15, 208].

В настоящее время традиционное цитологическое исследование высоко специфично в отношении выявления предраковых поражений и рака шейки матки – 95%, [79;100%] и приемлемой чувствительностью – 47%, [30;80%] [96]. Одним из основных недостатков традиционного Пап-мазка как скринингового метода является относительно высокая встречаемость ложноотрицательных результатов, что связано, в основном, с качеством взятия биоматериала, когда на предметное стекло не наносятся патологически измененные клетки. Недостатки, связанные со взятием материала (недостаточный забор материала с зоны трансформации, где развивается до 90% новообразований, а также несоблюдение пациенткой рекомендаций по подготовке к исследованию), обусловливают примерно 2/3 ложноотрицательных выводов [27, 144, 205]. Использование жидкостной цитологии позволяет преодолеть все основные недостатки традиционного цитологического исследования [152, 153]. Микроскопическое исследование тонкослойных препаратов, приготовленных жидкостным методом, отличается от исследования Пап-мазков, поскольку отсутствуют примеси элементов воспаления и крови, а также толстый слой клеток [152, 153]. Хорошая фиксация клеток уменьшает проявления дегенеративных изменений ядер, поэтому в патологически измененных клетках часто отсутствуют дегенеративная гиперхромия [27]. Вместо этого определяется эухромазия ядер и сохраняется характерная для дисплазии выраженная неровность их контуров.

В 1988г в городе Бетесда (США) была разработана и утверждена единая терминологическая система предраковых поражений шейки матки The Bethesda System (TBS), рекомендованная во всех странах мира для стандартизации лечения заболеваний шейки матки [48]. Согласно классификации TBS выделяют две степени плоскоклеточных интраэпителиальных поражений – низкой (LSIL – low-

grade squamous intraepithelial lesion) и высокой степени (HSIL – high-grade squamous intraepithelial lesion) [79, 177]. Плоскоклеточные интраэпителиальные поражения низкой степени включают изменения, характерные для CIN I и папилломавиросной инфекции, находящейся в продуктивной (эписомальной) стадии, высокой степени – CIN II-III и carcinoma in situ, при которой ВПЧ проникает в ДНК пораженных эпителиальных клеток – стадия интегративной инфекции [48, 167]. Система Bethesda пересматривалась и дополнялась в 1998г, 2001г и в 2014г. Важными дополнениями в данную систему стало повсеместное внедрение жидкостной цитологии в рамках скрининга, как наиболее информативного метода диагностики заболеваний шейки матки, добавление котестинга (ВПЧ-тестирования) и первичного скрининга на ВПЧ, акцентирование внимания на роли ВПЧ в канцерогенезе и широкое внедрение программ вакцинации против ВПЧ [23, 79, 89].

В 2014г в классификацию цервикальных интраэпителиальных поражений Бетесда добавлены негативные в отношении интраэпителиальных поражений и злокачественности мазки (NILM) [45, 124–126]. Данное понятие объединяет все мазки, в которых при цитологическом исследовании не были обнаружены признаки неоплазии.

Проект LAST (Low anogenital squamous terminology) был создан пятью рабочими группами ведущих специалистов в области диагностики и лечения плоскоклеточных поражений. Проведены метаанализ литературы и консенсусная конференция по принятию новых рекомендаций по лечению предраковых заболеваний шейки матки [41, 81, 183]. Основной целью проекта являлась унификация терминологии и подходов к использованию биомаркеров в диагностике плоскоклеточных ВПЧ-ассоциированных поражений [9, 147, 173].

Проект LAST рекомендует использовать двухуровневую классификацию плоскоклеточных интраэпителизальных поражений: плоскоклеточные интраэпителиальные поражения низкой и высокой степени (LSIL и HSIL) [41, 81, 196]. Унификация цитологической и гистологической терминологии приведет к оптимизации и стандартизации диагностики и лечения ВПЧ-ассоциированных

заболеваний. Согласно критериям LAST плоскоклеточные интраэпителиальные поражения (LSIL и HSIL) не являются последовательными стадиями, а двумя разными процессами [48]. В настоящее время нет биомаркеров, подтверждающих существование трех категорий вирус-ассоциированного поражения [48]. Категория CIN II - собирательная и требует дополнительного уточнения (LSIL/ HSIL) [73].

Анализ на ДНК ВПЧ значительно чувствительнее выявляет CIN тяжелой степени и рак шейки матки по сравнению с цитологическим исследованием мазка [23, 77]. Медиана чувствительности скрининга с применением анализа на ВПЧ в сочетании с Пап-мазком составила 100% (диапазон 76-100%), а традиционного цитологического исследования – 68% (диапазон 38-94%) [30, 66, 147]. Особый интерес представляет исследование, проведенное G. Ronco и N. Segnan (2006) в Италии. Это первое рандомизированное контролируемое исследование с использованием анализа на ВПЧ. В основной группе участвовало 16 706 пациенток, в группе цитологического контроля – 16 658 женщин. Авторами показано, что скрининг на ВПЧ среди женщин старше 30 лет выявляет 97% CIN тяжелой степени, а жидкостная цитология только 74%. Тем не менее, анализ на ВПЧ и цитологическое исследование обладали сходной специфичностью – 93 и 95% соответственно [141].

Определение p16INK4a является важным иммуногистохимическим методом для улучшения диагностической точности, надежности и качества в гистопатологии поражений шейки матки [57, 112]. В крупном метаанализе, включившем 17 исследований показано, что чувствительность определения p16INK4a позволяется выявить CIN II-III с высокой диагностической точностью 83,2% (95% ДИ 76,8% - 88,2%) и 83,8% (95% ДИ 73,5% - 90,6%), соответственно [140]. Кроме того, показано, что избыточная экспрессия p16INK4a позволяет прогнозировать развитие CIN II в течение 3 лет среди ВПЧ-положительных женщин, особенно в возрасте 35-60 лет. F. Carozzi и A. Gillio-Tos (2013) сообщают, что CIN II обнаруживают чаще среди p16INK4a-положительных женщин (8,8% (95% ДИ 5,8-

11,8), чем среди пациенток с отрицательным результатом при иммуногистохимии (3,7% (95% ДИ 1,9-5,4) в течение периода наблюдения [18].

Антиген пролиферации Ki-67, который экспрессируется в G2 фазе клеточного цикла и митозе является надежным показателем роста патологического процесса шейки матки. M. Reuschenbach и M. Seiz (2012) проанализировав 138 биоптатов шейки матки показали, что p16INK4a и Ki-67 экспрессируются только в диспластических клетках [138]. Двойной иммуногистохимический анализ p16/Ki-67 в настоящее время доступен для использования в качестве вспомогательного метода в скрининге рака шейки матки [8]. Чувствительность данного метода при дисплазии шейки матки слабой и тяжелой степени составляет 92,2% и 94,2%, а специфичность - 80,6% и 68,0%, соответственно [21]. Таким образом, двойное иммуногистохимическое определение p16 / Ki-67 является перспективным методом диагностики CIN и позволяет правильно квалифицировать тяжесть интраэпителиального поражения.

Несмотря на проведенное большое количество исследовани, поиск и разработку новых методов лечения предраковых поражений шейки матки, до настоящего времени не выработано единой и оптимальной тактики ведения пациенток репродуктивного возраста [96]. Хирургическое лечение заболеваний шейки матки условно подразделяется на два типа: деструктивные методы (криодеструкция, диатермокоагуляция, лазерная вапоризация) и методы, позволяющие удалить патологическую ткань (хирургическая, лазерная и радиоволновая циркулярная эксцизия и конизация шейки матки) [49].

Самыми частыми побочными эффектами хирургического лечения являются кровотечение, рубцовая деформация шейки матки и атрезия цервикального канала [110]. Нарушение анатомической структуры и формирование грубых рубцов шейки матки приводит к потере ее эластичности, снижению частоты наступления беременности, увеличению риска самопроизвольного выкидыша на ранних сроках, истмико-цервикальной недостаточности (ИЦН) и преждевременным родам, а также нарушениям родовой деятельности [97, 98, 125].

Патоморфологическое исследование является заключительным этапом диагностики заболеваний шейки матки и является определяющим при подозрении на инвазивный, микроинвазивный рак и аденокарциному шейки матки [54]. Экстирпация матки при цервикальных интраэпителиальных поражениях выполняется крайне редко, в основном среди пациенток постменопаузального возраста и при наличии сопутствующих гинекологических заболеваний [13].

Одной из важных задач современной онкогинекологии является усовершенствование всех этапов скрининга и разработка новых алгоритмов диагностики и ведения пациенток репродуктивного возраста с доброкачественными и предраковыми заболеваниями шейки матки с целью обеспечения излечивания на ранних стадиях и сохранения функционирования шейки матки.

1.5 Параоксоназы – потенциальные предикторы злокачественного перерождения цервикального эпителия

Свободнорадикальное окисление является важным регуляторным механизмом, предназначенным для восстановления баланса между деградацией и биосинтезом белка, клеточного дыхания, синтеза простагландинов, клеточного сигналинга и фагоцитоза, функционирования цитохромов, в частности цитохрома P450, регуляции процессов пролиферации и апоптоза. Оксидативный стресс вызывает необратимые изменения, накопление дефектных белков и клеточную гибель и лежит в основе патогенеза воспалительных и инфекционных заболеваний, атеросклероза, метаболического синдрома, ревматических и онкологических заболеваний, а также процессов старения [52, 146, 166]. Многие витамины, микро- и макроэлементы, а также ферменты выполняют функции прооксидантов и антиоксидантов для поддержания внутриклеточного редокс-потенциала [25, 157, 162]. Антиоксидантная система включает ферменты супероксиддисмутазу (СОД), каталазу (КАТ) и глутатионпероксидазу (ГП) и защищает клетки от повреждений, вызванных АФК. При снижении восстановительной способности редокс-пар и увеличении редокс-потенциала возникает оксидативный стресс, что приводит к

разрушению клеток [146, 166]. Активные формы кислорода (АФК) продуцируются внутри митохондрий в процессе окислительного фосфорилирования при неполном восстановлении молекулярного кислорода в молекулы воды. Их продукция значительно увеличивается при воспалении, инфекциях, механических и химических травмах клеток, воздействии УФ-излучения и ионизирующего облучения [24]. Низкое внутриклеточное содержание АФК жизненно необходимо, так как без их присутствия невозможны многие физиологические процессы, такие как клеточная пролиферация, дифференцировка и апоптоз, поддержание физико-химических свойств биологических мембран и регуляция активности протеинкиназ. Увеличение концентрации АФК необратимо повреждает биологические макромолекулы, что приводит к клеточной гибели [24].

Семейство генов параоксоназ представлено PON1, PON2, и PON3, расположенных рядом друг с другом на длинном плече хромосомы 7q21.3-22.1[169]. Продукты их экспрессии регулируют клеточную дифференцировку, развитие и обмен веществ, воздействуя на рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами PPAR [61]. По химическим свойствам параоксоназы относятся к гидролазам. Наиболее изучена параоксоназа 1 (PON1). Фермент PON1 преобладает в плазме крови в комплексе с ЛПВП, обладает мощными детоксикационными свойствами и способен нейтрализовать токсичные метаболиты ряда фосфоорганических соединений, таких как паратион, диазинон и хлорпирифос, а также нервнопаралитических веществ, таких как зарин и зоман[46]. PON1 катализирует гидролиз ароматических эфиров и лактонов. Считается, что гидролиз гомоцистеина тиолактона с помощью PON1 защищает от ишемической болезни сердца (ИБС)[120]. Исследования активности, функции и генетического состава подтвердили причастность PON1 к обеспечению ЛПВП антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, исследована его роль в патогенезе атеросклероза и воспалительных заболеваний[33, 69, 131]. PON1 ингибирует индуцированное медью окисление ЛПВП, продлевая лаг-фазу окисления, и снижает содержание пероксидов и альдегидов в окисленных ЛПВП[61]. По

результатам исследований Shih D.M. и соавт. ЛПВП, полученные от мышей с нокаутом PON1, были более склонны к окислению и были менее эффективны в защите ЛПНП от окисления в совместно культивируемых клеточных моделях стенки артерии по сравнению с ЛПВП, полученных от мышей группы контроля[99]. Кроме того, трансфекция PON1-дефицитных перитонеальных макрофагов (выделенных от мышей с нокаутом PON1) человеческим PON1 снижала уровень пероксидов и высвобождение супероксида, а также повышала внутриклеточный уровень восстановленного глутатиона[99]. Также известно, что некоторые биологически активные молекулы, такие как пищевые полифенолы, аспирин и продукт его гидролиза салицилат, стимулируют активацию транскрипции PON1 в печени мыши и клеточной линии HepG2 [169], что подтверждает его детоксикационные свойства.

Ферменты PON2 и PON3 локализованы преимущественно внутри клеток (фермент PON3 также присутствует в плазме, в комплексе с ЛПВП) и регулируют внутриклеточный редокс-потенциал [61]. PON2 обладает кальций-зависимой гидролитической активностью в отношении лактонов, сложных эфиров и ариловых эфиров и, кроме того, действует как антиоксидантный фермент [169]. Сверхэкспрессия PON2 способна нейтрализовать внутриклеточный оксидативный стресс, предотвращать клеточно-опосредованную окислительную модификацию липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и, следовательно, блокировать способность атерогенных ЛПНП индуцировать хемотаксис моноцитов [169]. Благодаря антиоксидантным свойствам параоксоназы снижают уровень активных форм кислорода (АФК), тем самым проявляя антиапоптотический эффект. По данным Штольц и др. (США), PON2 нарушают «чувство кворума» бактерий, гидролизуя N-(3-оксододеканоил)-L-гомосеринлактон, и предположили, что параоксоназы принимают участие в регуляции нормальной микрофлоры организма [160]. Эта гипотеза также была подтверждена экспериментами in vitro, показывающими способность рекомбинантного PON2 ингибировать образование биопленки PAO1 с более высокой эффективностью, чем у PON1[160]. Интересные

данные получены в исследованиях И. Витте и соавт. о возможных канцерогенных эффектах PON2. По результатам исследования фермент PON2 стабилизирует и защищает опухолевые клетки от апоптоза [185]. Гиперэкспрессия PON2 была обнаружена в опухолях поджелудочной железы, печени, почек и легких, а также в опухолях тимуса и неходжкинских лимфомах[106]. Экспрессия PON2 в 2–4 раза повышена в опухолях из мочевого пузыря, печени, почек, лимфоидной ткани и эндометрия по сравнению с нормальной тканью [106]. В опухолях щитовидной железы, яичка, предстательной железы и поджелудочной железы человека наблюдалась небольшая активация PON2 [106]. Другие исследования взаимосвязи PON2 и рака показали, что PON2 способствует прогрессированию и метастазированию рака поджелудочной железы, стимулируя поглощение глюкозы, ускоряет пролиферацию и устойчивость к окислительному стрессу при раке мочевого пузыря, защищает клетки глиобластомы от апоптоза и снижает чувствительность раковых клеток ротовой полости к лучевой терапии [61, 106, 169]. Исследования ДНК-микрочипов выявили сверхэкспрессию PON2 в некоторых солидных опухолях, таких как гепатоцеллюлярная карцинома, карцинома предстательной железы, а также при меланоме, раке желудка и молочной железы [106]. В исследовании Е.М. Швайкерт и соавт. детектировалась сверхэкспрессия PON3 в клетках злокачественных опухолей и доказано антиапоптотитческое действие PON3 [145]. Таким образом, параоксоназы играют занимают важное место в патогенетических механизмах воспаления, сердечно-сосудистых, инфекционных и онкологических заболеваний и могут стать инновационной терапевтической мишенью в лечении многих заболеваний.

1.6 Роль длинных некодирующих РНК (днРНК) в онкогенезе и прогрессировании дисплазии шейки матки

Длинные некодирующие РНК (днРНК, lncRNA) являются ключевыми компонентами некодирующих РНК (ncRNA) длиной более 200 нуклеотидов и обладают высокой тканевой специфичностью [40]. Доказано, что ncRNA играют критическую роль в транскрипции, импринтинге и метилировании ДНК,

трансляции, модификации хроматина и регуляции клеточного цикла [40, 86]. Кроме того, поскольку ncRNA могут быть упакованы во внеклеточные везикулы, включая экзосомы [111, 195, 201], было показано, что они обеспечивают механизм межклеточной коммуникации посредством передачи miRNA и ncRNA к реципиентным клеткам как локально, так и системно [164]. LncRNA играют важную роль в патофизиологии заболеваний человека, особенно в развитии и прогрессировании опухолей через сигнальные пути Wnt, Hedgehog, Notch и PI3K / AKT / mTOR [108, 198]. Нарушение регуляции нескольких lncRNA было обнаружено при различных типах рака, таких как рак груди, яичников, шейки матки и простаты, что предполагает использование днРНК в качестве маркеров для обнаружения и прогноза рака, а также терапевтических целей для лечения рака [40, 86].

Последние исследования доказали, что lncRNA могут играть важную роль в патогенезе рака шейки матки [64, 114, 192, 204]. Например, высокий уровень циркулирующего HOTAIR9 [134, 190], снижение GAS510 и XLOC_01058811 были связаны с неблагоприятным прогнозом рака шейки матки[40, 86].

LincROR (Long Intergenic Non-Protein Coding RNA, Regulator of Reprogramming) – межгенная небелковая кодирующая РНК, считается ключевым регуляторным фактором, влияющим на возникновение и развитие опухолей человека, включая рак груди, колоректальный рак, рак поджелудочной железы, гепатоцеллюлярную карциному и др. [37, 198]. LincROR представляет собой новую и важную канцерогенную lincRNA, размером 2,6 kb, расположенную в 18 хромосоме, которая первоначально была идентифицирована как высокоэкспрессируемый транскрипт плюрипотентных и эмбриональных стволовых клеток [37, 207]. LincROR регулирует перепрограммирование плюрипотентных стволовых клеток [37]. Эта РНК подавляет индукцию опухолевого белка p53 после повреждения ДНК [37, 198]. Эта РНК также может играть внеклеточную роль в модулировании ответа на гипоксию в клетках опухолей [37]. Многие исследования, касающиеся lincROR и туморогенеза в последние годы, показали, что сверхрегуляция lincROR

положительно коррелирует с клинико-патологическими характеристиками и прогрессией опухолей [130]. Рост и метастазирование опухолей стимулируются lincROR посредством активации эпителиально-мезенхимальной трансформации [37, 108]. Кроме того, исследования показали, что уровень экспрессии lincROR был существенно повышен в образцах клеточных линий папиллярных карцином щитовидной железы, а также в образцах метастатических PTC и клеточных линиях PTC [37, 38]. Поскольку lincROR может регулировать пролиферацию, апоптоз, миграцию и инвазию клеток, он может использоваться в качестве потенциального биомаркера для пациентов с опухолями и имеет потенциальное клиническое значение в качестве терапевтической мишени [38, 64, 192].

Другим перспективным биомаркером прогрессирования дисплазии шейки матки является ncRNA MALAT1 (Metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1) – многофункциональная РНК, которая формирует молекулярные каркасы для рибонуклеопротеидных комплексов, регулирующих пролиферацию и миграцию клеток [76, 159, 200]. Таким образом, MALAT1 может действовать как регулятор транскрипции для множества генов, участвующих в метастазировании рака и миграции клеток, а также в регуляции клеточного цикла. Повышенная экспрессия MALAT1 детектировалась при раке молочной железы, яичников, шейки матки и эндометрия [76, 159]. В 2015г группа китайских исследователей во главе с L.Yang выявили повышенную экспрессию MALAT1 при раке шейки матки по сравнению с нормальным эпителием, при этом экспрессия MALAT1 зависела от размера опухоли, стадии FIGO, наличия сосудистой инвазии и метастазов в лимфатические узлы [188]. Когда эндогенный MALAT1 был подавлен, раковые клетки значительно снизили пролиферацию и инвазию и увеличили апоптоз [188].

Таким образом, параоксоназы, lincROR и MALAT1 могут играть потенциальную роль в патогенезе рака шейки матки. Разработка новых диагностических и прогностических маркеров перехода дисплазии шейки матки в рак позволит внедрить эффективные методы снизить частоту развития рака шейки матки.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы исследования

Диссертационное исследование проводилось на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии ИКМ имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) ГБУЗ ГКБ им. братьев Бахрушиных ДЗМ и ФГБУЗ КБ №85 ФМБА России под руководством заведующего кафедрой, доктора медицинских наук, профессора Левакова Сергея Александровича. В период с октября 2015 г. по февраль 2020 г. были обследованы 282 женщины репродуктивного возраста от 18 до 49 лет с диагностированными заболеваниями шейки матки, обратившиеся в Центральную поликлинику ФГБУЗ КБ №85 ФМБА России и в гинекологическое отделение ГБУЗ ГКБ им. братьев Бахрушиных ДЗМ. В соответствии с критериями включения в исследование было отобрано 210 пациенток, которым проводились цитологическое исследование, ВПЧ-тестирование, расширенная кольпоскопия, микроскопическое исследование вагинальных мазков, определение уровня экспрессии мРНК генов антиоксидантной защиты PON1, PON2, PON3 и длинных некодирующих РНК linc-ROR и MALAT1.

На основании цитологического исследования и ВПЧ-тестирования пациентки были разделены на 5 групп: 1 группа – 37 пациенток с цитологическим заключением «NILM» + ВПЧ ВКР, 2 группа – 43 пациентки с цитологическим заключением «LSIL» + ВПЧ ВКР, 3 группа - 46 пациенток с цитологическим заключением «HSIL» + ВПЧ ВКР, 4 группа – 39 пациенток с цитологическим заключением «NILM», гиперкератозом плоского эпителия и отсутствием ВПЧ инфекции, 5 – группа сравнения, включающая 45 женщин с отсутствием интраэпителиальной клеточной атипии по результатам цитологического заключения и ВПЧ-инфекции по результатам ПЦР исследования. Все пациентки, принимавшие участие в исследовании, получили о нем полную информацию и подписали информированное добровольное согласие.

Прицельная радиоволновая биопсия шейки матки с последующим

патоморфологическим исследованием проводилась при отсутствии воспалительных заболеваний нижних отделов генитального тракта по показаниям: наличие плосколеточных интраэпителиальных поражений (SIL) по данным цитологического исследования в сочетании с положительным результатом ВПЧ-тестирования и/или аномальной кольпоскопической картиной, лейкоплакия шейки матки. При цитологическом заключении «HSIL» проводилась радиоволновая циркулярная эксцизия шейки матки и выскабливание цервикального канала последующим гистологическим исследованием операционного материала.

Анализ экспрессии мРНК генов PON1, PON2, PON3, днРНК lincROR и MALAT1 был проведен методом Real-time PCR в лаборатории мембранных и биоэнергетических систем ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (руководитель д.х.н. Шахпаронов Михаил Иванович).

Исследование было одобрено комиссией Локального этического комитета ПМГМУ имени И.М. Сеченова (протокол № 01-18 от 17.01.2018г.)

Критерии включения в исследование

Группы 1, 2, 3

1. Женщины репродуктивного возраста от 18 до 49 лет;
2. Наличие подписанного добровольного информированного согласия на участие в научном исследовании;
3. Подписанное добровольное информированное согласие на проведение прицельной радиоволновой биопсии шейки матки или радиоволновой эксцизии шейки матки и выскабливания цервикального канала при наличии показаний;
4. Регулярный менструальный цикл;
5. Наличие ВПЧ высокого канцерогенного риска: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 и 68 типов.
6. Цитологическое заключение: для группы 1 – «NILM», для группы 2 – «LSIL», для группы 3 – «HSIL».

Группа 4

1. Женщины репродуктивного возраста от 18 до 49 лет;
2. Наличие подписанного добровольного информированного согласия на участие в научном исследовании;
3. Отсутствие ВПЧ инфекции;
4. Регулярный менструальный цикл;
5. Установленный диагноз «лейкоплакия шейки матки», «хронический цервицит»;
6. Цитологическое заключение: NILM

Группа 5 (группа сравнения)

1. Женщины репродуктивного возраста от 18 до 49 лет;
2. Наличие подписанного добровольного информированного согласия на участие в научном исследовании
3. Отсутствие ВПЧ инфекции;
4. Регулярный менструальный цикл;
5. Цитологическое заключение: NILM

Критерии исключения из исследования

1. Острые воспалительные заболевания органов малого таза;
2. Беременность, послеродовый период и лактация;
3. Наличие онкологических и аутоиммунных заболеваний;
4. Экстрагенитальные заболевания в стадии декомпенсации;
5. Прием гормональных препаратов;
6. Отказ пациента от участия в исследовании;
7. Нарушение протокола исследования.
8. Вакцинация от ВПЧ-инфекции

2.2 Методы исследования

Обязательные методы исследования

1) Клинико-анамнестический метод

В период с октября 2015 г. по февраль 2020 г. на клинических базах ГБУЗ ГКБ им. братьев Бахрушиных ДЗМ и ФГБУЗ КБ №85 ФМБА России были обследованы

282 женщины репродуктивного возраста от 18 до 49 лет с диагностированными заболеваниями шейки матки. По результатам обследования с учетом критериев включения пациентки приглашались для участия в исследовании. Проведен сбор паспортных данных, контактной информации, семейного положения, жалоб, эпидемиологического анамнеза, анамнеза жизни, наследственных, перенесенных и хронических заболеваний, оперативных вмешательств, гинекологического и акушерского анамнезов. Гинекологический анамнез включал сведения о возрасте наступления менархе, особенностях менструального цикла, половом дебюте, общего количества половых партнеров, половой активности, сведения о беременностях и их исходах, гинекологических заболеваниях и операциях, методах контрацепции. Учтены данные наследственности, наличия аллергии, вредных привычек (употребление алкоголя, наркотических и токсических препаратов, курение). Подробно описывался анамнез заболеваний шейки матки, включая наличие ВПЧ инфекции, вирусную нагрузку и длительность вирусной персистенции, методы диагностики и лечения заболеваний шейки матки, которые проводились ранее.

После сбора анамнеза проводилось физикальное обследование систем органов, включая нервную, дыхательную, сердечно-сосудистую, пищеварительную, выделительную, покровную, опорно-двигательную системы, в соответствии с требованиями и стандартами в сфере здравоохранения. Пациенткам проводилось антропометрическое исследование (рост, вес, ИМТ), гинекологическое исследование, включающее осмотр шейки матки в зеркалах, расширенную кольпоскопию и бимануальное исследование. При осмотре шейки матки в зеркалах оценивались состояние слизистой стенок влагалища, форма и состояние слизистой шейки матки, состояние наружного зева, расположение зоны трансформации, особое внимание обращали на наличие эктопии, изъязвлений, гипертрофии, наботовых кист, полипов цервикального канала, эндометриоидных гетеротопий, миомы матки с шеечной локализацией узла и других опухолевидных образований, оценивали степень кровоточивости. При бимануальном исследовании

определялись длина, консистенция шейки матки, положение, размеры, болезненность, подвижность матки и придатков, глубина влагалищных сводов, наличие/отсутствие инфильтрации влагалища, лимфоузлы. Для исследования было отобрано 210 пациенток, их клинико-анамнестические данные занесены в электронную базу данных диссертационного исследования.

2) Микроскопический метод

Каждой пациентке проводилось микроскопическое исследование мазков из уретры, влагалища и цервикального канала. Взятие биоматериала для микроскопического исследования мазков из уретры, влагалища и цервикального канала проводилось согласно протоколу:

1) Область наружного отверстия уретры очищалась с помощью стерильного ватного тампона. Взятие материала из уретры проводилось стерильным тонким тупфером Dryswab. Тупфер вводился в уретру на 1 см и с легким нажимом и прокатыванием переносился на предметное стекло;

2) После введения зеркала и обнажения шейки матки стерильными тонкими тупферами Dryswab проводилось взятие материала из заднего свода влагалища и из цервикального канала;

3) Перед взятием мазка из цервикального канала ватным тампоном удалялась слизь, тупфер вводился в цервикальный канал на 1-2 см. Вращательными движениями проводился забор отделяемого из цервикального канала, затем биоматериал переносился на предметное стекло;

4) Взятие клинического материала из влагалища проводилось с боковых стенок и заднего свода влагалища, затем биоматериал равномерно переносился на предметное стекло;

5) После взятия биоматериала для микроскопии стекла высушивались на воздухе, фиксировались 96% раствором этанола, стекла маркировались и в закрытой емкости транспортировались в лабораторию.

3) Цитологический метод

Всем пациенткам, принимавшим участие в исследовании, в амбулаторном

порядке было проведено цитологическое исследование соскобов из эндо- и экзоцервикса. В исследовании использовался метод жидкостной цитологии с окрашиванием по Папаниколау.

Взятие биологического материала для цитологического исследования методом жидкостной цитологии (Liquid-based cytology, LBC, окрашивание по Папаниколау) проводилось по общепринятому протоколу:

1) Взятие материала проводилось щеткой типа cervix-brush со съемной головкой;

2) Шейку матки в асептических условиях обнажали в зеркалах, очищали от слизи сухим ватным тампоном;

3) Конус щеточки аккуратно вводили в цервикальный канал;

4) После введения в цервикальный канал конуса щеточки и прижатия остальной ее части к поверхности эктоцервикса, проводилось 5 полных круговых вращений;

5) Наконечник щеточки с материалом опускался в контейнер с консервирующей жидкостью. Контейнер плотно закрывался, встряхивался, промаркировывался (с указанием номера пробы и данных пациента) и отправлялся в лабораторию.

6) В лаборатории проводилось центрифугирование образцов и нанесение тонкого однородного слоя клеток на предметное стекло с последующим окрашиванием по Папаниколау и микроскопией.

Пациентки были проинформированы о половом воздержании за 48 ч до исследования. Взятие материала для микроскопического и цитологического исследований не проводилось во время менструации при наличии острых воспалительных заболеваний органов малого таза, применении вагинальных препаратов, спермицидов и при спринцевании.

Интерпретация цитологических мазков проводилась в соответствии с цитологической классификацией Bethesda (TBS, пересмотр 2014г).

4) **Метод амплификации нуклеиновых кислот**

Всем участницам исследования проводилось качественное определение ВПЧ высокого канцерогенного риска (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 и 68 типов) с указанием типа вируса в отделяемом из цервикального канала методом Real-time PCR. При выявлении ВПЧ высокого канцерогенного риска проводилось количественное определение вирусной нагрузки методом Real-time PCR.

Обследование на инфекции, передающиеся половым путем (*Trichomonas vaginalis, Neisseria gonorrhoeae, Mycoplasma genitalium, Chlamydia trachomatis*) методом Real-time PCR проводилось всем пациенткам, участвующим в исследовании. ПЦР исследование проводилось в ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора на автоматических анализаторах Rotor Gene 6000, Rotor Gene Q, ДТ 96. Экстракция ДНК/РНК проводилась на автоматах Easy Mag, Xiril.

5) Расширенная кольпоскопия

Всем пациенткам, принимавшим участие в исследовании, проводилась расширенная кольпоскопия с помощью видеокольпоскопа «EVA». Осмотр начинали с макроскопического исследования вульвы, влагалища и влагалищной части шейки матки. Затем с помощью ватного тампона удалялась слизь и под 16-кратным оптическим увеличением проводилась оценка состояния эпителия шейки матки и зоны трансформации. После обработки влагалищной части шейки матки 3% раствором уксусной кислоты при плоскоклеточных интраэпителиальных поражениях проявлялся ацетобелый эпителий. Затем проводилась проба Шиллера с 1% раствором Люголя, основанная на интенсивном окрашивании йодом клеток промежуточного слоя многослойного плоского эпителия, содержащих большое количество гликогена. Атипичные клетки слабо окрашиваются йодом, так как практически не содержат гликоген, и хорошо видны при данной пробе.

При описании кольпоскопического заключения, использовались следующие кольпоскопические критерии:

• цвет, сосудистый рисунок и поверхность эпителия;

• локализация стыка эпителия;

• реакция на 3% раствор уксусной кислоты;

• реакция на 1% раствор Люголя;

• размеры и локализация образований;

• наличие и форма желез.

Результаты кольпоскопического исследования отражались в протоколе согласно Международной кольпоскопической классификацией с дополнениями от 2017 г.

6) Ультразвуковой метод

УЗИ органов малого таза проведено всем участницам исследования с целью исключения патологических процессов органов малого таза (опухоли яичников, миома матки, эндометриоз, гиперплазия эндометрия, полип эндометрия) и беременности. Ультразвуковое исследование органов малого таза выполнялось на аппарате Samsung Medison HS 50 абдоминальным и влагалищным датчиками на 5-10 дни менструального цикла натощак. В течение 2 дней до проведения исследования пациентки исключали из рациона продукты питания, провоцирующие газообразование, и принимали ветрогонные средства с целью улучшения качества визуализации органов малого таза.

7) Лабораторный метод

Всем участницам исследования в амбулаторном порядке проводилось лабораторное обследование в объеме: общий анализ крови с определением СОЭ и лейкоцитарной формулой, коагулограмма (МНО, ПТВ, ПТИ, антитромбин III, АЧТВ, тромбиновое время, фибриноген), биохимический анализ крови (глюкоза, общий белок, альбумин, билирубин общий, холестерин общий, АЛТ, АСТ, креатинин, мочевина, калий, натрий, хлор), определение антител к ВИЧ 1,2, суммарных антител к Treponema pallidum, HbsAg, anti-HCV, анализ крови на в-ХГЧ, общий анализ мочи, ЭКГ.

8) Патоморфологический метод

Прицельная радиоволновая биопсия шейки матки с последующим патоморфологическим исследованием проводилась при отсутствии воспалительных заболеваний нижних отделов генитального тракта по показаниям:

наличие плосколеточных интраэпителиальных поражений (SIL) по данным цитологического исследования в сочетании с положительным результатом ВПЧ-тестирования и/или аномальной кольпоскопической картиной, лейкоплакия шейки матки. При цитологическом заключении «HSIL» проводилась радиоволновая циркулярная эксцизия шейки матки и выскабливание цервикального канала последующим гистологическим исследованием операционного материала.

Прицельная радиоволновая биопсия шейки матки проводилась под местной анестезией амбулаторно.

Радиоволновая эксцизия шейки матки с выскабливанием цервикального канала проводилась в стационарных условиях под внутривенной анестезией. В асептических условиях шейку матки обнажали в зеркалах, обрабатывали раствором антисептика. Шейка матки бралась на пулевые щипцы, затем при наличии показаний кюреткой №2 проводилось выскабливание цервикального канала. Под контролем кольпоскопии радиоволновым петлевым электродом аппарата «Сургитрон» проводилась радиоволновая прицельная или расширенная биопсия подозрительных участков. Процедуру проводили с помощью петлевого электрода в режиме «резанье» на мощности 50-70 Вт. Гемостаз проводился шариковым электродом в режиме «коагуляция». Обработка антисептиком. Толщина биопсийного материала была не менее 3 мм с подлежащей стромой, препарат сразу же фиксировался в растворе формалина.

Гистологическое исследование проводили в Московском городском центре патологоанатомических исследований при ГБУЗ ГКБ им. братьев Бахрушиных. Материалом для патоморфологического исследования были образцы ткани шейки матки, полученные при радиоволновой биопсии / эксцизии шейки матки и соскоб из цервикального канала. Полученный материал фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине и по общепринятой методике заливали в парафиновые блоки. Изготовленные из них на микротоме «Leica» (Germany) гистологические срезы, толщиной 4-5 мкм (не менее 2-х срезов с каждого блока), окрашивали гематоксилином и эозином. Препараты изучали и фотографировали, используя

микроскоп «Leica DM LB» (Germany) с цифровой фотокамерой «Olympus» (Japan). При оценке результатов исследования использовали морфологическую классификацию заболеваний шейки матки (ВОЗ, 2013), основанную на выделении следующих категорий его изменений: CIN I (LSIL), CIN II-III (HSIL), CIS (HSIL).

Дополнительные методы исследования

1) Метод амплификации нуклеиновых кислот (молекулярно-генетический метод)

Взятие биоматериала для исследования проводилось эндоцервикальной щеткой типа D2 с зоны трансформации цервикального эпителия при гинекологическом осмотре. Цитощетку отламывали и помещали в микроцентрифужную пробирку (Эппендорфа) 1,5 мл с 1 мл реагента Trizol с целью ингибирования РНКаз и выделения суммарной мРНК. Крышки пробирок с образцами плотно закручивали и маркировали. Образцы для исследования транспортировали в лабораторию мембранных и биоэнергетических систем ФГБУН Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук в течение 2 часов после взятия биологического материала. Затем образцы гомогенизировали и инкубировали 5 минут при комнатной температуре, периодически перемешивая. Выделение тотальной мРНК проводилось по протоколу Invitrogen. Пробирки с образцами центрифугировали при +4°С и ускорении 12000 x g в течение 15 минут. Верхнюю водную фазу аккуратно собирали срезанным фильтрованным носом в новую пробирку. К образцу добавляли 0.7–1 мкл соосадителя нуклеиновых кислот Satellite Red (Евроген, Россия) и перемешивали пипетированием. К образцам добавляли 1⁄2 объема изопропанола на каждый объем реагента Trizol и перемешивали переворачиванием. После 15 минутной инкубации на комнатной температуре образцы центрифугировали при +4°С и максимальном ускорении 15 минут. Супернатант отбирали и выкидывали, осадок РНК промывали 2 раза 80% этанолом, центрифугировали оба раза при +4°С и максимальном ускорении 10 минут. После последней промывки спирт отбирали досуха, осадок РНК сушили с открытыми

крышками при 50°C в течении 10 минут. Осадок ресуспендировали в 10–20 мкл воды без РНКаз и прогревали на 55°C 5 минут для полного растворения. 1 мкл РНК разводили в 10 раз и использовали 2 мкл для измерения на флуориметре Qubit (Invitrogen/Life Technologies, США) и 8 мкл для оценки сохранности РНК наносили на гель. Оставшуюся РНК хранили при –70°C.

С помощью набора для обратной транскрипции MMLV (Евроген, Россия) проводился синтез первых цепей кДНК со специфическими праймерами, комплементарными высококонсервативным участкам локусов генов PON1, PON2, PON3, lincROR, MALAT1.

В стерильной пробирке смешивались вода для ПЦР, РНК матрица, праймер. Смесь прогревали 2 мин при 70 °C для расплавления вторичных структур РНК, затем образцы переносились в лед. На микроцентрифуге капли реакционной смеси сбрасывались со стенок пробирки. Затем добавляли 11 мкл предварительно подготовленной смеси следующего состава: X мкл воды для ПЦР, 4мкл 5х буфера для синтеза первой цепи, 2мкл смеси dNTP (10 мМ каждого), 2мкл DTT (20 мМ), 1-3мкл MMLV ревертазы. Реакционная смесь аккуратно перемешивалась, капли со стенок сбрасывались на микроцентрифуге. Синтез первых цепей проводили при 42°C в термоциклере с нагревающейся крышкой в течении 1.5 часов. Далее первые цепи кДНК амплифицировали с использованием праймеров, комплементарных участкам экзонов генов PON1, PON2, PON3, lincROR, MALAT1 (таблица 1).

Таблица 1 – Последовательность нуклеотидов специфических праймеров, использованных в исследовании

Ген	Праймеры
18S	18S_for: GGC CCT GTA ATT GGA ATG AGT C 18S_rev: CCA AGA TCC AAC TAC GAG CTT

Продолжение таблицы 1

lincROR	LNCROR_for: CCG TGA GAA AGA TCC ACC TAC A LNCROR_rev: CAA GAA GAT CTG GGA AGG AGT CA
MALAT1	MALAT_for: AGA CTG GAG AAG ATA GGC ATT TGA G MALAT_rev: GCC AAG TCT GTT ATG TTC ACC TG
PON1	PON1_for: CCG AGA GGT ACA ACC CGT AG PON1_rev: TGT GAA TGT GCT AAT CCC ATG
PON2	PON2_for: CAT CTG GGT AGG CTG TCA TC PON2_rev: TTG GAG AAC AGA CCC ATT GT
PON3	PON3_for: TCC CCA CAT GAA GTC CAC TG PON3_rev: TGG TCT GCT GAG ACT GTG AT

Уровень экспрессии генов PON1, PON2, PON3, lincROR и MALAT1 определяли методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени (qRT-PCR) с помощью амплификатора LightCycler® 96 Real-Time PCR System (Roche). ПЦР проводили при следующих условиях: предварительная инкубация –150 с при 95 ºС; 3-шаговая амплификация 20 с при 95 ºС, 20 с при 60ºС, 20 с при 72 ºС - 45 циклов; детекция температуры плавление продуктов реакции. Нормирование образцов кДНК проводилось по контрольному гену рибосомальной 18S РНК. Относительные уровни экспрессии генов linc-ROR и MALAT1 рассчитывали методом $2^{-\Delta\Delta CT}$. Отсутствие побочных продуктов ПЦР определяли по кривой плавления. Для каждой пары праймеров во всех образцах наблюдали одинаковые пики плавления ПЦР каждого образца в 3-х повторах. Полученные значения Ct (cycle threshold) для каждого образца не превышали 35.

2.3 Статистическая обработка результатов

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 2.1.0 (разработчик - ООО "Статтех", Россия).

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50).

Формула расчета критерия Шапиро-Уилка:

$$W = \frac{1}{s^2}\left[\sum_{i=1}^{n} a_{n-i+1}(x_{n-i+1} - x_i)\right]^2,$$

где $s^2 = \sum_{i=1}^{n}(x_i - \overline{x})^2, \overline{x} = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} x_i.$

Числитель является квадратом оценки среднеквадратического отклонения Ллойда. Коэффициенты a_{n-i+1} - известные константы, взятые из таблиц.

Формула расчета критерия Колмогорова-Смирнова:

$$D_n = \sup_x |F_n(x) - F(x)|.$$

X_n - выборка независимых одинаково распределённых случайных величин,

$F_n(x)$ - эмпирическая функция распределения,

$F(x)$ - некоторая "истинная" функция распределения с известными параметрами.

В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3).

Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Сравнение трех и более групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью критерия Краскела-Уоллиса, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой Холма.

Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью, критерия хи-квадрат Пирсона (при значениях ожидаемого явления более 10).

Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (при распределении показателей, отличном от нормального).

Построение прогностической модели вероятности определенного исхода выполнялось при помощи метода логистической регрессии. Мерой определенности, указывающей на ту часть дисперсии, которая может быть объяснена с помощью логистической регрессии, служил коэффициент R^2 Найджелкерка.

Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода, применялся метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определялось по наивысшему значению индекса Юдена.

Дизайн исследования

Ретроспективное исследование

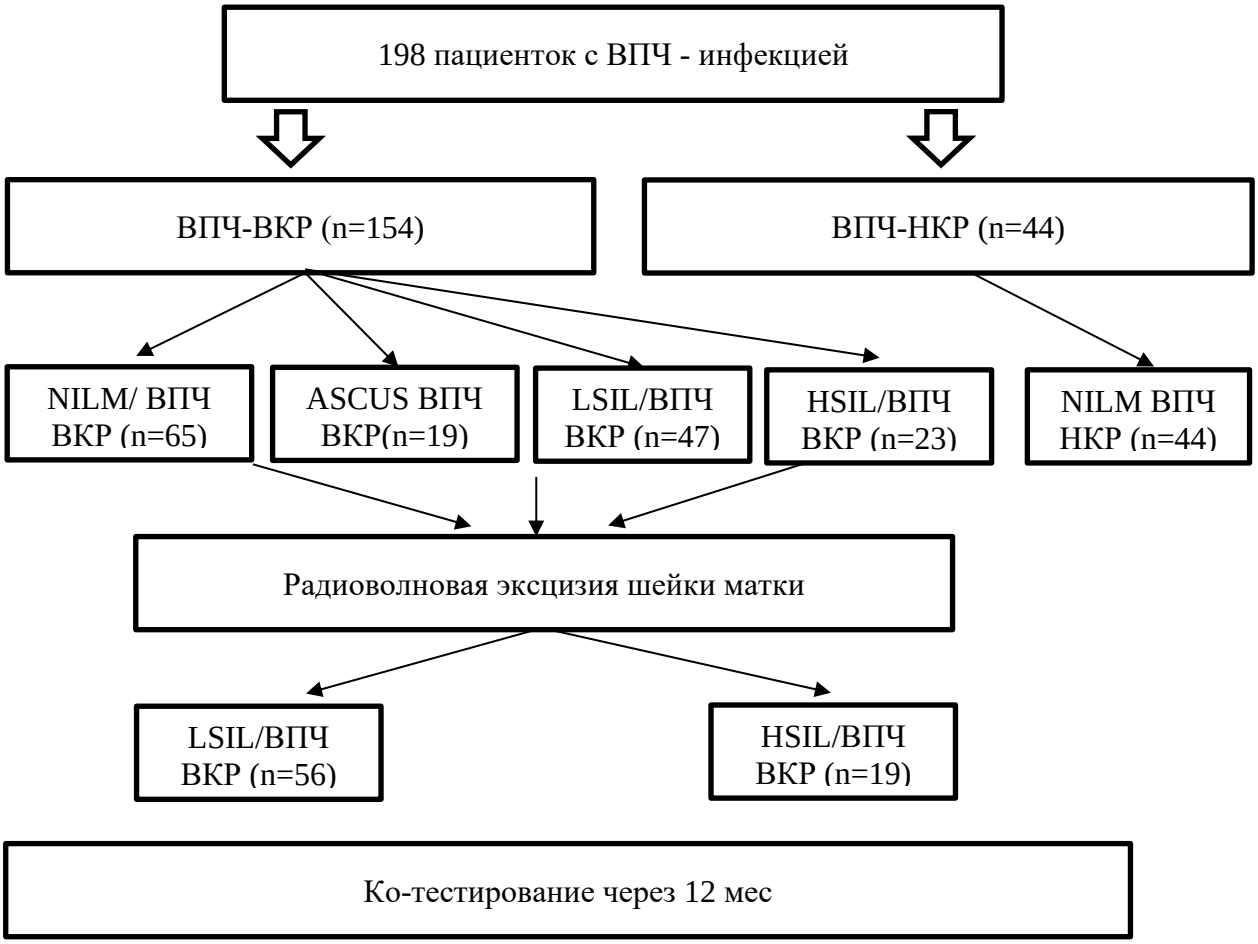

Рисунок 1 – Дизайн ретроспективного исследования

Проспективное исследование

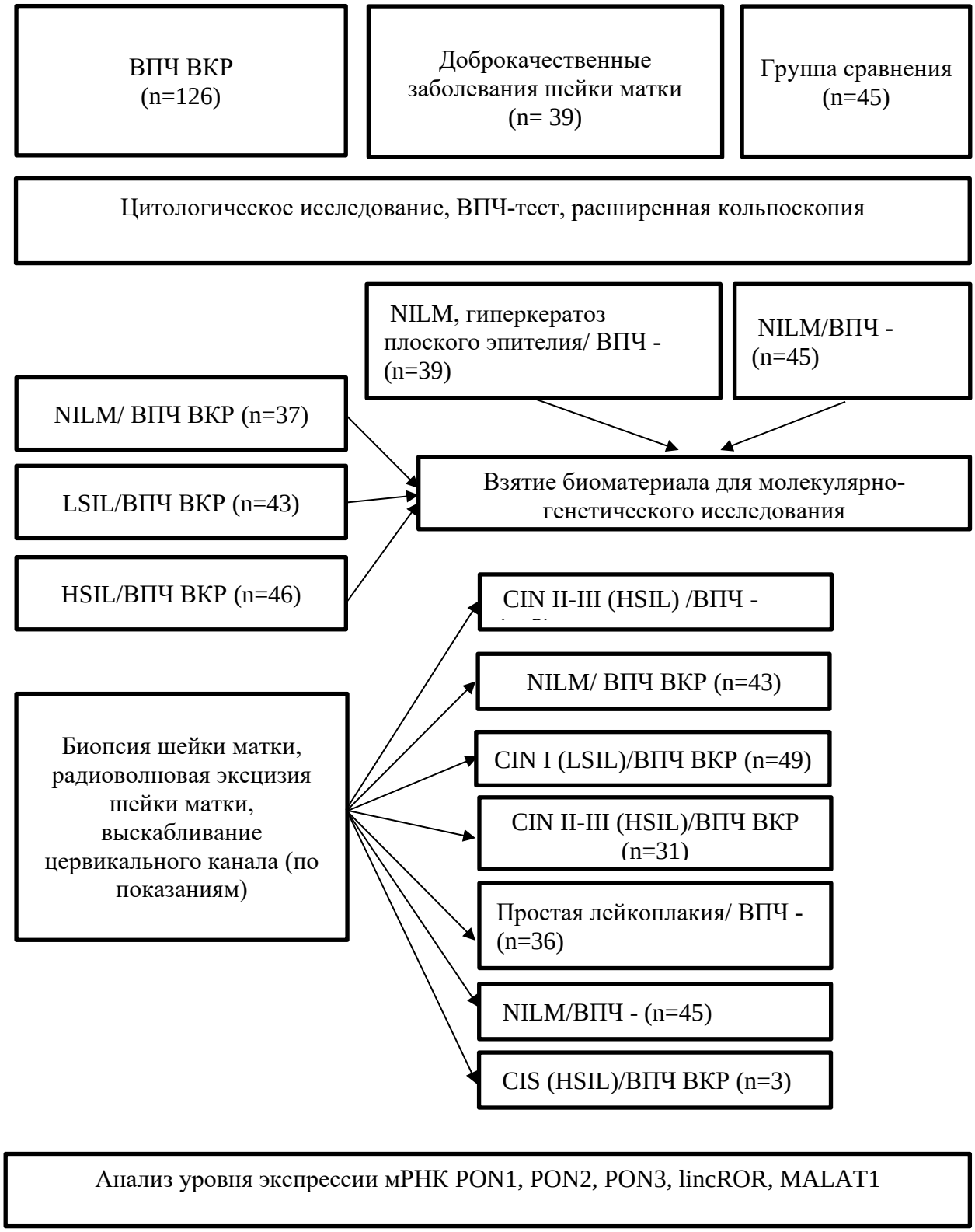

Рисунок 2 – Дизайн проспективного исследования

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Ретроспективное исследование

При анализе 198 историй болезней пациенток репродуктивного возраста (18-49 лет) с ВПЧ-инфекцией частота встречаемости ВПЧ высокого онкогенного риска составила 154 (77,8%), ВПЧ низкого онкогенного риска 44 (22,2%). Медиана возраста исследуемых пациенток составила 29 ± 7,14 лет.

Аномальный результат цитологического исследования выявлен у 89 (44,9%) пациенток: ASCUS в 19 (9,6%), LSIL в 47 (23,73%) и HSIL в 23 (11,62%) случаев. Цитологическое заключение NILM встречалось в 109 (55,05%) изученных историй болезней. При ретроспективном исследовании выявлено статистически значимое преобладание ВПЧ высокого онкогенного риска и нормальная цитологическая картина (критерий Манна-Уитни, $p>0,05$). Дисплазия шейки матки встречалась только у носителей ВПЧ высокого канцерогенного риска. При этом наиболее часто встречались ВПЧ 16 и 18 типов. При прицельной биопсии шейки у пациенток с аномальными цитологическими заключениями дисплазия шейки матки легкой степени (LSIL, CIN I) выявлена у 56 (28,3%) и дисплазия тяжелой степени (HSIL, CIN II-III) у 19 (9,6%) обследуемых пациенток.

При динамическом ко-тестировании через 12 месяцев у 113 (57%) пациенток отмечалась спонтанная регрессия ВПЧ-инфекции, у 11 (5,56%) пациенток прогрессирование до LSIL, и у 7 (3,5%) до HSIL. Результаты проведенного ретроспективного исследования продемонстрированы на рисунках 3 – 5.

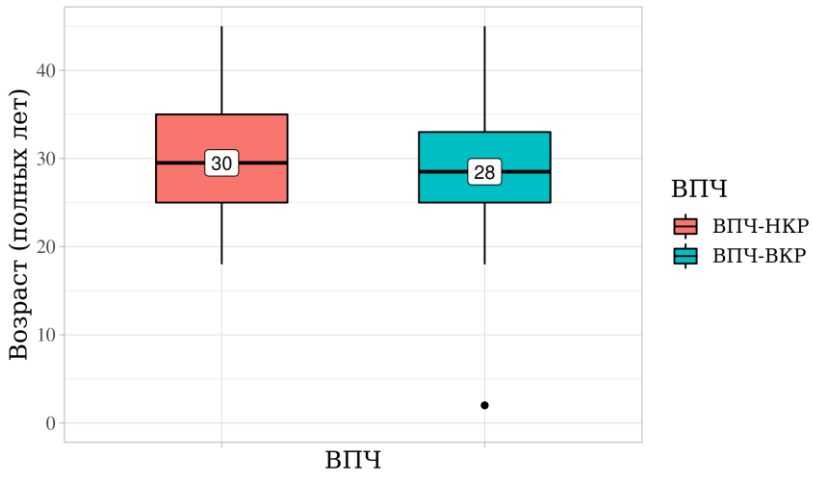

Рисунок 3 – Средний возраст пациентов с ВПЧ-инфекцией

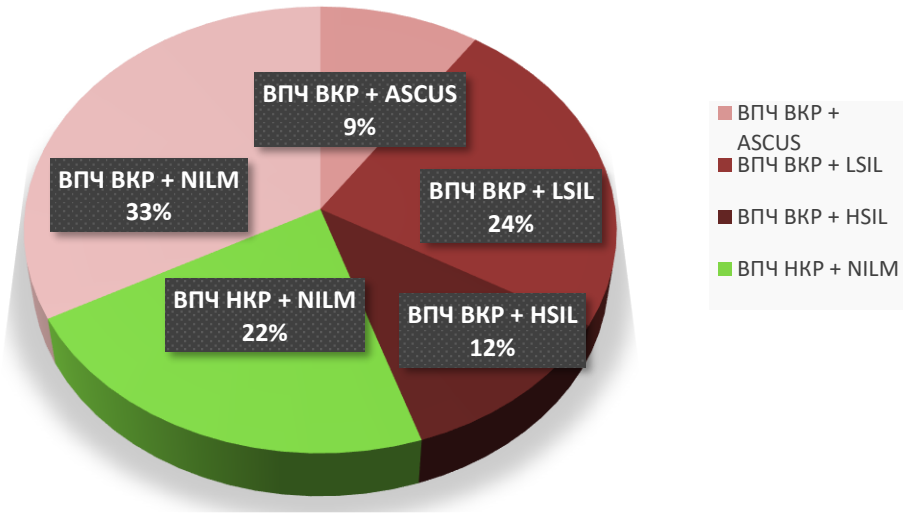

Рисунок 4 – Результаты ко-тестирования (ретроспективное исследование)

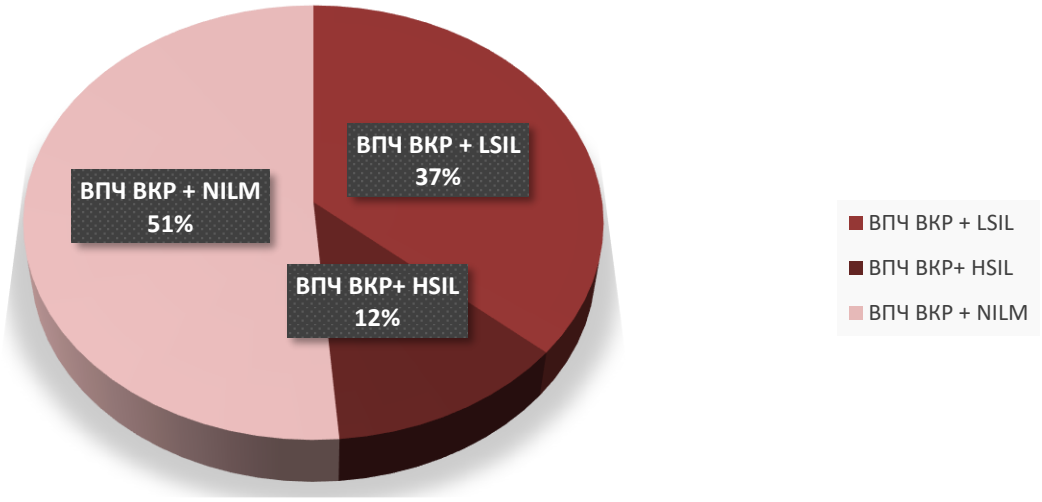

Рисунок 5 – Результаты гистологического исследования биоптатов шейки матки у пациенток с аномальными цитологическими заключениями

Согласно результатам ретроспективного исследования, частота встречаемости ВПЧ высокого риска среди ВПЧ-инфицированных пациентов достоверно выше,

чем ВПЧ низкого онкогенного риска. Среди ВПЧ-положительных пациенток преобладает нормальная цитологическая картина, однако среди пациенток с дисплазией шейки матки по результатам цитологического исследования чаще наблюдалась легкая степень дисплазии (LSIL), что подтвердилось патоморфологически. У пациенток с ВПЧ-ассоциированной дисплазией шейки матки наиболее часто встречались ВПЧ 16 и 18 типов. Отмечена высокая степень самопроизвольного исчезновения ВПЧ инфекции и небольшой процент прогрессирования дисплазии через 12 месяцев наблюдения.

3.2 Клиническая характеристика пациенток, принимавших участие в исследовании

В проспективное исследование включено 165 пациенток репродуктивного возраста (от 18 до 49 лет), обратившихся в Центральную поликлинику ФГБУЗ КБ №85 ФМБА России и ГБУЗ ГКБ им. братьев Бахрушиных ДЗМ в период с октября 2015 г. по февраль 2020 г по поводу заболеваний шейки матки. В группу сравнения включено 45 пациенток, не имеющих заболеваний шейки матки по результатам скрининга.

На основании цитологического исследования и ВПЧ-тестирования пациентки были распределены на 5 групп (таблица 2):

1) Группа 1: NILM + ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) – 37 пациенток
2) Группа 2: LSIL + ВПЧ ВКР – 43 пациентки
3) Группа 3: HSIL + ВПЧ ВКР – 46 пациенток
4) Группа 4: NILM, гиперкератоз плоского эпителия, отрицательный тест на ВПЧ – 39 пациенток
5) Группа 5 (группа сравнения): 45 пациенток репродуктивного возраста с отрицательным тестом на ВПЧ и цитологическим заключением NILM.

Таблица 2 – Распределение пациентов по группам по результатам цитологического исследования и ВПЧ-тестирования

SIL по результатам цитологического исследования	Абс.	%
Группа 1 NILM + ВПЧ ВКР	37	17,6
Группа 2 LSIL + ВПЧ ВКР	43	20,5
Группа 3 HSIL + ВПЧ ВКР	46	21,9
Группа 4 NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ –	39	18,6
Группа сравнения NILM, ВПЧ –	45	21,4

При анализе клинико-анамнестических данных все пациентки, принимавшие участие в исследовании, были сопоставимы по возрасту, характеру менструальной функции и частоте экстрагенитальных заболеваний. Все исследуемые пациентки были в возрасте от 18 до 49 лет. Медиана возраста обследуемых женщин группы 1 (NILM + ВПЧ ВКР) составила 28 лет, группы 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 32 года, группы 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 32 года, группы 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) – 35 лет, группы сравнения (NILM, ВПЧ -) – 29 лет (таблица 3, рисунок 6). По результатам проведенного нами анализа степень тяжести цервикальных интраэпителиальных поражений не была связана с возрастом ($p>0,05$) (используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса). Медиана возраста пациенток с гиперкератозом плоского эпителия шейки матки была достоверно больше остальных групп ($p = 0,003$, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса).

Таблица 3– Анализ возраста пациенток в исследуемых группах

SIL по результатам цитологического исследования, ВПЧ-тест	Возраст			p
	Me	$Q_1 – Q_3$	n	
Группа 1 NILM + ВПЧ ВКР	28	24 – 34	37	0,003* p_{4-1} = 0,006 p_{5-4} = 0,004
Группа 2 LSIL + ВПЧ ВКР	32	26 – 35	43	
Группа 3 HSIL + ВПЧ ВКР	32	26 – 36	46	
Группа 4 NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -	35	28 – 38	39	
Группа сравнения NILM, ВПЧ -	29	25 – 33	45	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

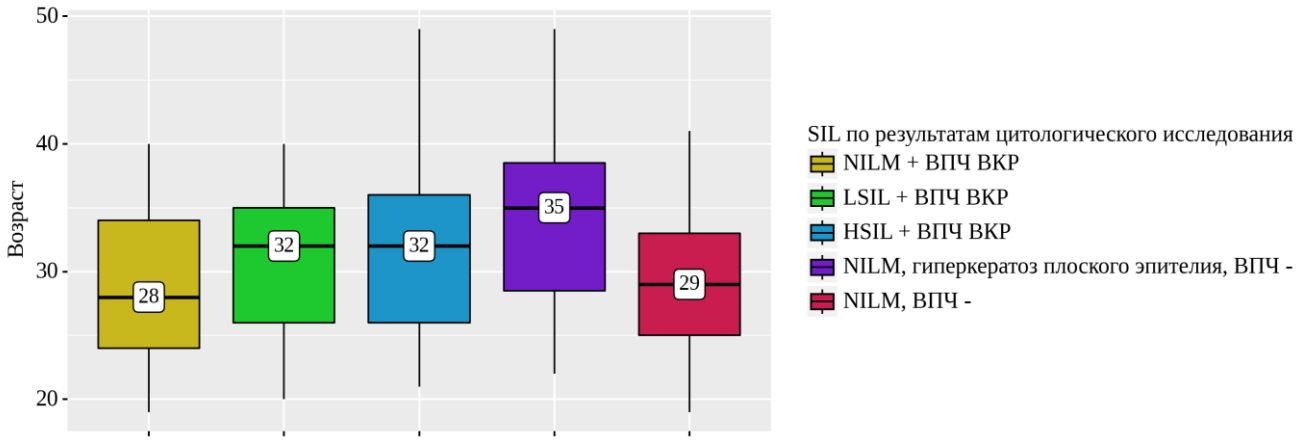

Рисунок 6 – Анализ возраста пациенток в исследуемых группах

При обращении к гинекологу большинство обследуемых женщин (164 – 78,1%) жалоб не предъявляло, 33 пациентки (15,7%) жаловались на обильные молочные выделения из половых путей: группа 1 (NILM + ВПЧ ВКР) – 9 (24,3%), группа 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 17 (39,5%), группа 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 4 (8,7%), группа 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) – 3 (7,7%), группа сравнения (NILM, ВПЧ -) – 0 (0,0%) пациенток (таблица 4, таблица 5, рисунок 7). Сукровичные выделения выявлялись у 5 (2,4%) пациенток: группа 1 (NILM + ВПЧ ВКР) – 0 (0,0%), группа 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 2 (4,7%), группа 3 (HSIL + ВПЧ ВКР)

– 3 (6,5%), группа 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) – 0 (0,0%), группа сравнения (NILM, ВПЧ ВКР) – 0 (0,0%) пациенток (таблица 4, таблица 5, рисунок 7). 8 (3,8%) пациенток жаловались на периодические тянущие боли в нижних отделах живота: группа 1 (NILM + ВПЧ ВКР) – 0 (0%), группа 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 0 (0,0%), группа 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 5 (10,9%), группа 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) – 1 (2,6%), группа сравнения (NILM, ВПЧ ВКР -) – 2 (4,4%) пациенток (таблица 4, таблица 5, рисунок 7).

Таблица 4 - Анализ жалоб обследуемых пациенток

Жалобы	Абс.	%
жалоб нет	164	78,1
бели	33	15,7
сукровичные выделения	5	2,4
тянущие боли	8	3,8

По результатам проведенного анализа среди участниц исследования наиболее часто жалобы на патологические выделения из половых путей встречались при наличии ВПЧ – инфекции и плоскоклеточных интраэпителиальных поражений ($p < 0,001$, используемый метод: Хи-квадрат Пирсона) (таблица 5, рисунок 7).

Таблица 5 – Анализ жалоб пациенток в зависимости от SIL

Жалобы	SIL по результатам цитологического исследования					p
	NILM + ВПЧ ВКР	LSIL + ВПЧ ВКР	HSIL + ВПЧ ВКР	NILM, гиперкератоз, ВПЧ -	NILM, ВПЧ -	
Жалоб нет	28 (75,7)	24 (55,8)	34 (73,9)	35 (89,7)	43 (95,6)	< 0,001* $p_{2-3} = 0,017$ $p_{2-4} = 0,017$ $p_{2-5} < 0,001$
Бели	9 (24,3)	17 (39,5)	4 (8,7)	3 (7,7)	0 (0,0)	

Сукровичные выделения	0 (0,0)	2 (4,7)	3 (6,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Тянущие боли внизу живота	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (10,9)	1 (2,6)	2 (4,4)	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

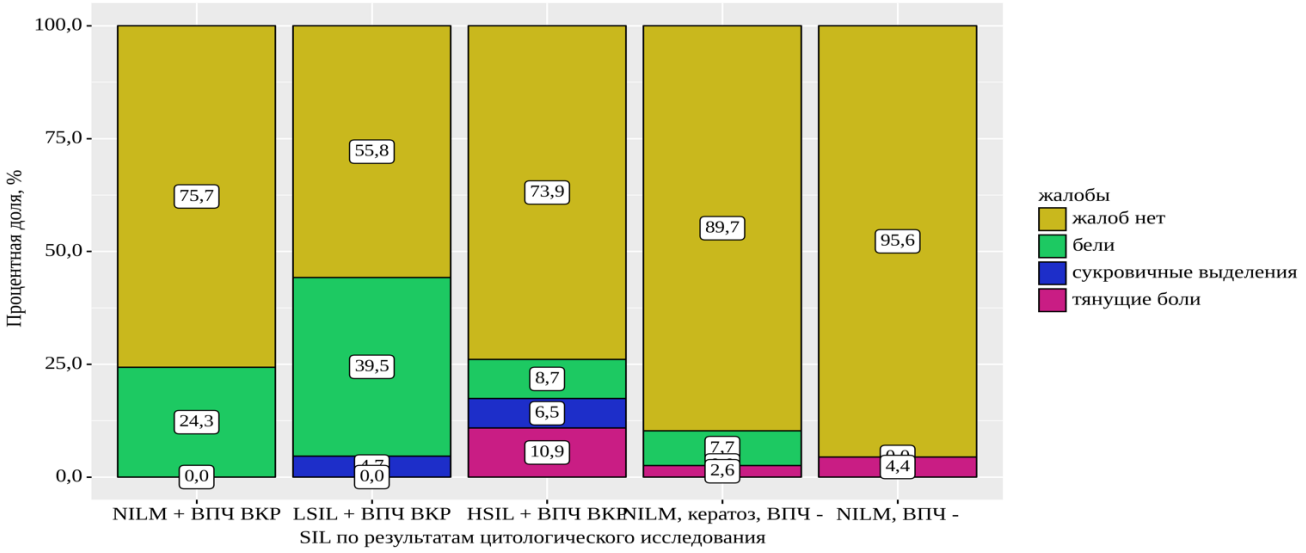

Рисунок 7 – Анализ жалоб пациенток в зависимости от SIL

Наиболее частым экстрагенитальным заболеванием среди участниц исследования был хронический гастрит: группа 1 (NILM+ ВПЧ ВКР) 14 (37,8%), группа 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 17 (39,5%), группа 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 12 (26,1%), группа 4 (NILM, гиперкератоз, ВПЧ -) 9 (23,1%), группа сравнения (NILM, ВПЧ-) – 13 (28,9%) случаев (таблица 6). Хронический пиелонефрит был диагностирован у 24 (11,4%) обследованных пациенток: группа 1 (NILM+ ВПЧ ВКР) 4 (10,8%), группа 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 6 (13,9%), группа 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 5 (10,9%), группа 4 (NILM, гиперкератоз, ВПЧ -) 5 (12,8%), группа сравнения (NILM, ВПЧ-) – 4 (8,9%) случаев (таблица 6). Хроническая железодефицитная анемия выявлялась в 40 (19%) случаев: группа 1 (NILM+ ВПЧ ВКР) 9 (24,3%), группа 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 10 (23,3%), группа 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 7 (15,2%), группа 4 (NILM, гиперкератоз, ВПЧ -) 5 (12,8%), группа сравнения (NILM, ВПЧ-) – 9 (20,0%) случаев (таблица 6). Заболевания сердечно-сосудистой системы выявлялись в 13 (6,2%) случаев: группа 1 (NILM+ ВПЧ ВКР) – 3 (8,1%), группа 2 (LSIL + ВПЧ ВКР)

– 5 (11,6%), группа 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 1 (2,17%), группа 4 (NILM, гиперкератоз, ВПЧ -) 2 (5,12%), группа сравнения (NILM, ВПЧ-) – 2 (4,4%) случаев (таблица 6). Частота встречаемости сахарного диабета среди обследованных пациенток составила : группа 1 (NILM+ ВПЧ ВКР) – 1 (2,7%), группа 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 0 (0,0%), группа 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 2 (4,34%), группа 4 (NILM, гиперкератоз, ВПЧ -) 1 (2,6%), группа сравнения (NILM, ВПЧ-) – 0 (0,0%) случаев. Частота встречаемости экстрагенитальных заболеваний не зависела от наличия ВПЧ-инфекции и заболеваний шейки матки (p> 0,05, используемый метод: Хи-квадрат Пирсона) (таблица 6).

Таблица 6 – Анализ экстрагенитальных заболеваний обследуемых пациенток

Экстрагенитальные заболевания	SIL по результатам цитологического исследования					p
	NILM + ВПЧ ВКР	LSIL + ВПЧ ВКР	HSIL + ВПЧ ВКР	NILM, гиперкератоз, ВПЧ -	NILM, ВПЧ -	
Хронический пиелонефрит	4 (10,8)	6 (13,9)	5 (10,9)	5 (12,8)	4 (8,9%)	p > 0,05
Хронический гастрит	14 (37,8)	17 (39,5)	12 (26,1)	9 (23,1)	13 (28,9)	
Хроническая железодефицитная анемия	9 (24,3)	10 (23,3)	7 (15,2)	5 (12,8)	9 (20,0)	
Сахарный диабет	1 (2,7)	0 (0,0)	2 (4,34)	1 (2,6)	0 (0,0)	
Бронхиальная астма	2 (5,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (5,13)	1 (2,22)	
Гипертоническая болезнь	3 (8,1)	5 (11,6)	1 (2,17)	2 (5,12)	2 (4,4)	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

При анализе менструальной функции статистически значимых отличий между группами не выявлялось (p = 0,520, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса). У всех пациенток, принимавших участие в исследовании, был регулярный менструальный цикл. Медиана возраста менархе составила: в группе 1

(NILM + ВПЧ ВКР) – 12 лет, в группе 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 13 лет, в группе 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 13 лет, в группе 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) – 13 лет, в группе 5 (NILM, ВПЧ ВКР -) – 13 лет (таблица 7, рисунок 8).

Таблица 7 – Анализ возраста менархе в исследуемых группах

Группы пациенток	Возраст менархе			p
	Me	$Q_1 – Q_3$	n	
группа 1 NILM + ВПЧ ВКР	12,0	12,0 – 13,0	37	0,520
группа 2 LSIL + ВПЧ ВКР	13,0	12,0 – 14,0	43	
группа 3 HSIL + ВПЧ ВКР	13,0	12,0 – 13,0	46	
группа 4 NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -	13,0	12,0 – 13,0	39	
группа 5 NILM, ВПЧ ВКР -	13,0	12,0 – 13,0	45	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

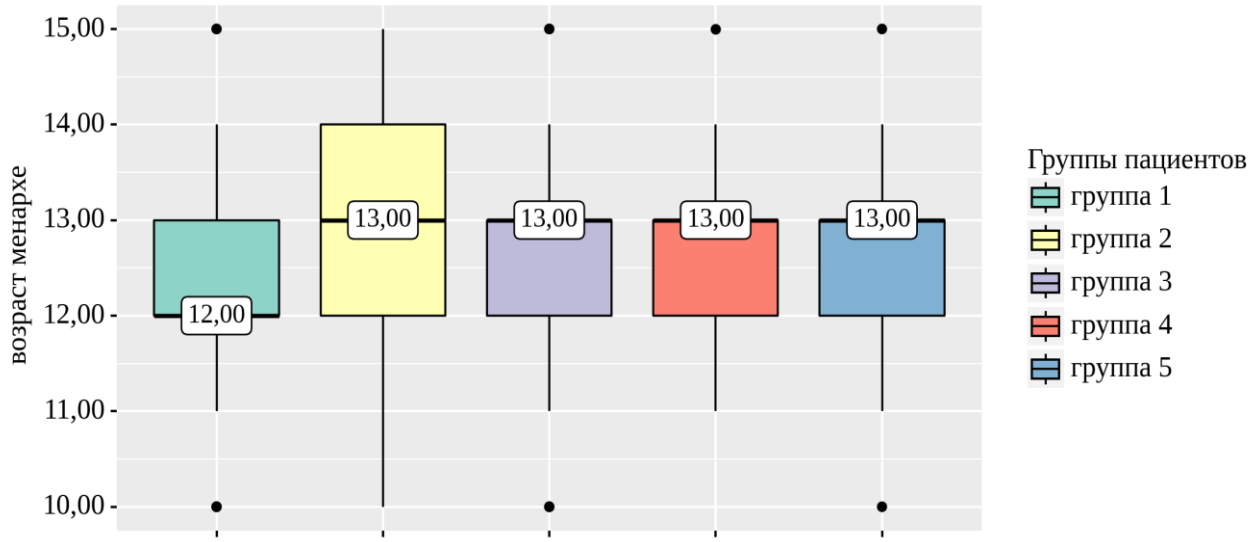

Рисунок 8 – Анализ возраста менархе в исследуемых группах

У всех обследованных пациенток был регулярный менструальный цикл, продолжительностью от 26 до 35 дней, продолжительность менструаций составляла от 3 до 7 дней. У 7 пациенток (3,33%) выявлялись межменструальные маточные кровотечения на фоне регулярного менструального цикла. Болезненные менструации наблюдались 15 (7,1%): группа 1 (NILM+ ВПЧ ВКР) – 3 (8,1%), группа 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 4 (9,3%), группа 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 3 (6,5%), группа 4 (NILM, гиперкератоз, ВПЧ -) 2 (5,1%), группа сравнения (NILM, ВПЧ-) – 3 (6,7%) случаев. Обильные менструации выявлены в 13 (6,2%) случаях: группа 1 (NILM+ ВПЧ ВКР) – 3 (8,1%), группа 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 2 (4,6%), группа 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 2 (4,3%), группа 4 (NILM, гиперкератоз, ВПЧ -) 1 (2,6%), группа сравнения (NILM, ВПЧ-) – 3 (6,6%) случаев. По результатам анализа менструальной функции среди обследуемых групп пациенток не было выявлено статистически значимых различий ($p > 0,05$) (используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса*)*. Особенности менструальной функции исследуемых пациентов отражены в таблице 8.

Таблица 8 – Особенности менструального цикла обследованных пациенток

Характеристика менструальной функции	Группа 1 NILM + ВПЧ ВКР	Группа 2 LSIL + ВПЧ ВКР	Группа 3 HSIL + ВПЧ ВКР	Группа 4 NILM, гиперкератоз, ВПЧ -	Группа 5 NILM, ВПЧ ВКР -	**p
Медиана возраста менархе, лет	12	13	13	13	13	p=0,520
Продолжительность менструации, дней*	5,7 ± 1,2	5,5 ± 0,8	6,2 ± 0,9	6,5 ± 0,7	6,9 ± 0,8	p>0,05
Продолжительность менструального цикла, дней*	28,4 ± 3,2	29,2 ± 2,1	28,1 ± 2,6	28,8 ± 3,3	27,7± 3,4	p>0,05
Болезненные менструации	3 (8,1%)	4 (9,3%)	3 (6,5%)	2 (5,1%)	3 (6,7%)	p>0,05
Безболезненные менструации	34 (91,9%)	39 (90,7%)	43 (93,5%)	37 (94,9%)	42 (93,3%)	p>0,05
Обильные менструации	3 (8,1%)	2 (4,6%)	2 (4,3%)	1 (2,6%)	3 (6,6%)	p>0,05
Скудные менструации	2 (5,4%)	3 (6,9%)	2 (4,3%)	2 (5,1%)	3 (6,7%)	p>0,05

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

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

Анализ особенностей половой жизни пациенток показал, что большинство женщин, включенных в исследование, начинали половую жизнь в 17 – 20 лет. Однако в группах 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) и 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) наблюдался более ранний половой дебют и в среднем составлял 17 лет ($p < 0,001$, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса) (таблица 9, рисунок 9).

Таблица 9 – Анализ возраста полового дебюта в исследуемых группах

Группы пациенток	начало половой жизни			p
	Me	$Q_1 – Q_3$	n	
группа 1 NILM + ВПЧ ВКР	18,0	17,0 – 20,0	49	< 0,001* $p_{4-1} < 0,001$ $p_{5-1} = 0,004$ $p_{4-2} < 0,001$ $p_{5-2} < 0,001$ $p_{4-3} < 0,001$ $p_{5-3} < 0,001$
группа 2 LSIL + ВПЧ ВКР	17,0	16,0 – 19,0	65	
группа 3 HSIL + ВПЧ ВКР	17,0	16,0 – 18,5	47	
группа 4 Доброкачественные заболевания шейки матки, ВПЧ -	20,0	19,0 – 22,0	39	
группа 5 NILM, ВПЧ ВКР -	20,0	18,0 – 22,0	45	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

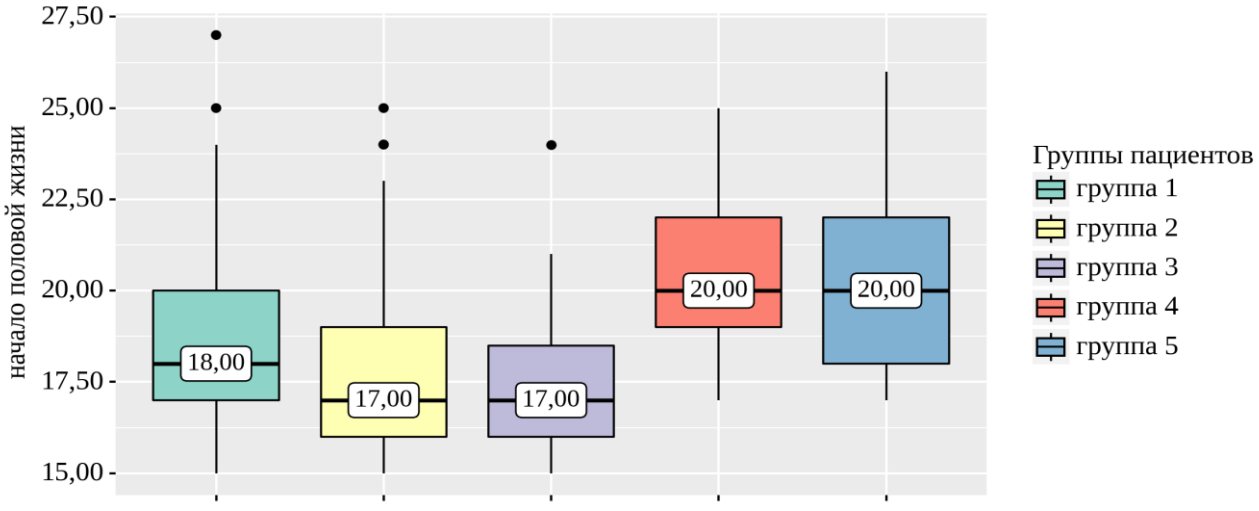

Рисунок 9 – Анализ возраста полового дебюта в исследуемых группах

Среднее количество половых партнеров на момент вступления в исследование: группа 1 (NILM + ВПЧ ВКР) – 2, группа 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 3, группа 3 (HSIL +

ВПЧ ВКР) – 5, группа 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) – 2, группа 5 (NILM, ВПЧ ВКР -) – 2 половых партнера (таблица 10, рисунок 10). По результатам анализа общее количество половых партнеров у пациенток с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями легкой и тяжелой степени статистически больше по сравнению с остальными группами, при этом тяжесть интраэпителиальных поражений зависела от количества половых партнеров ($p < 0,001$) (используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса).

Таблица 10 – Анализ особенностей половой жизни в исследуемых группах

Группы пациенток	Количество половых партнеров			p
	Me	$Q_1 – Q_3$	n	
Группа 1 NILM + ВПЧ ВКР	2,0	2,0 – 3,0	37	< 0,001* $p_{2-1} < 0,001$ $p_{3-1} < 0,001$ $p_{3-2} = 0,013$ $p_{4-2} < 0,001$ $p_{5-2} < 0,001$ $p_{4-3} < 0,001$ $p_{5-3} < 0,001$
Группа 2 LSIL + ВПЧ ВКР	3,0	2,0 – 4,0	43	
Группа 3 HSIL + ВПЧ ВКР	5,0	3,5 – 6,0	46	
Группа 4 NILM, гиперкератоз, ВПЧ –	2,0	1,0 – 2,0	39	
Группа 5 NILM, ВПЧ ВКР –	2,0	2,0 – 2,0	45	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

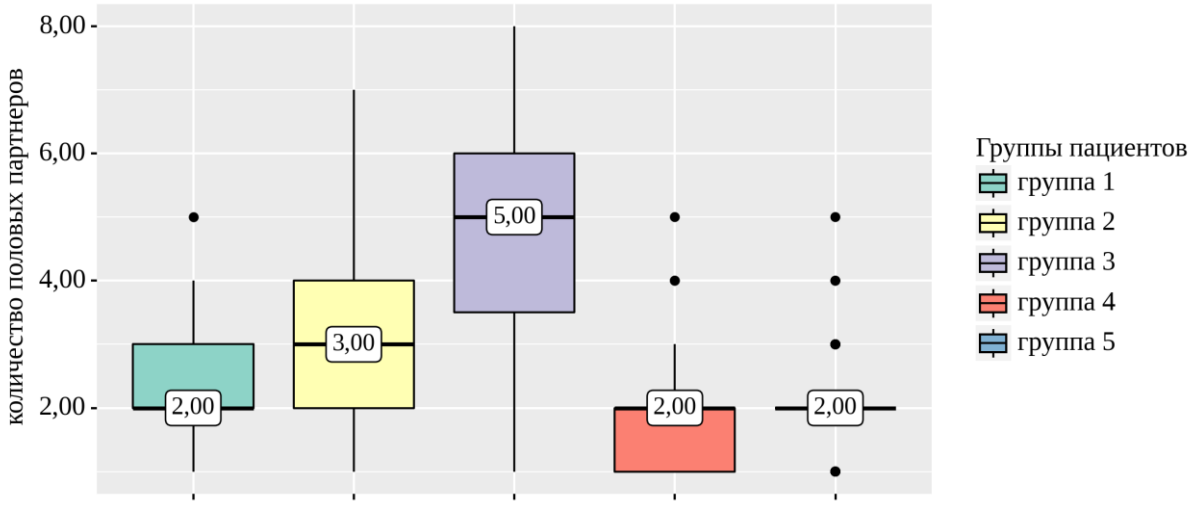

Рисунок 10 – Анализ особенностей половой жизни в исследуемых группах

По результатам исследования длительность персистенции ВПЧ-инфекции также зависела от количества половых партнеров: у пациенток с длительной персистенцией ВПЧ инфекции в среднем в анамнезе было больше половых партнеров (Me=4) по сравнению с пациентками, у которых отсутствовал ВПЧ по результатам ПЦР – исследования или длительностью инфекции менее 2 лет (Me = 2) (p < 0,001, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса) (таблица 11, рисунок 11).

Таблица 11 – Зависимость персистенции ВПЧ- инфекции от количества половых партнеров

Длительность персистенции ВПЧ инфекции	Количество половых партнеров			p
	Me	$Q_1 – Q_3$	n	
ВПЧ отсутствует	2	1 – 2	84	< 0,001*
Персистенция ВПЧ более 2 лет	4	3 – 6	63	p_{1-2}< 0,001
Персистенция ВПЧ менее 2 лет	2	2 – 3	63	p_{3-2}< 0,001

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

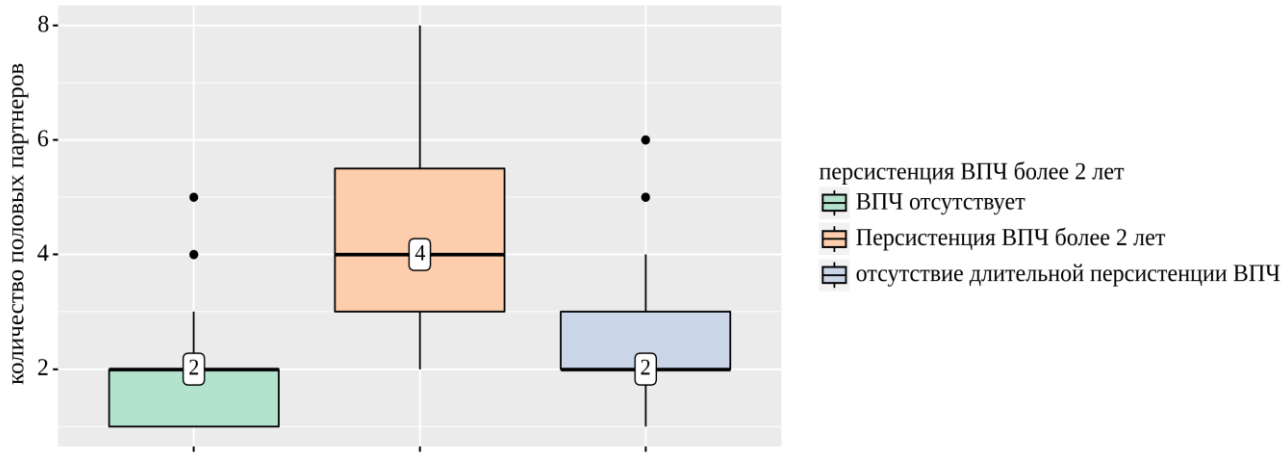

Рисунок 11 – Зависимость персистенции ВПЧ- инфекции от количества половых партнеров

При анализе акушерского анамнеза были выявлены статистически значимые различия: наибольшее количество беременностей наблюдалось в группах пациенток с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями легкой и тяжелой степени и в среднем составляло 4 беременности (таблица 12, рисунок 12). Степень тяжести интраэпителиальных поражений не зависела количества беременностей ($p > 0,05$, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса). Наименьшее количество беременностей в анамнезе наблюдалось в группах 1 и 5 с нормальной цитологической картиной и в среднем составляло 2 беременности ($p < 0,001$, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса).

Таблица 12 – Анализ количества беременностей в исследуемых группах

Группы пациенток	Количество беременностей			p
	Me	$Q_1 – Q_3$	n	
группа 1 NILM + ВПЧ ВКР	2,00	2,00 – 3,00	37	< 0,001* $p_{2-1} < 0,001$ $p_{3-1} < 0,001$ $p_{4-1} < 0,001$ $p_{5-2} < 0,001$ $p_{5-3} < 0,001$ $p_{5-4} < 0,001$
группа 2 LSIL + ВПЧ ВКР	4,00	3,00 – 4,00	43	
группа 3 HSIL + ВПЧ ВКР	4,00	3,00 – 4,00	46	
группа 4 NILM, гиперкератоз, ВПЧ –	3,00	3,00 – 4,00	39	
группа 5 NILM, ВПЧ ВКР –	2,00	2,00 – 3,00	45	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

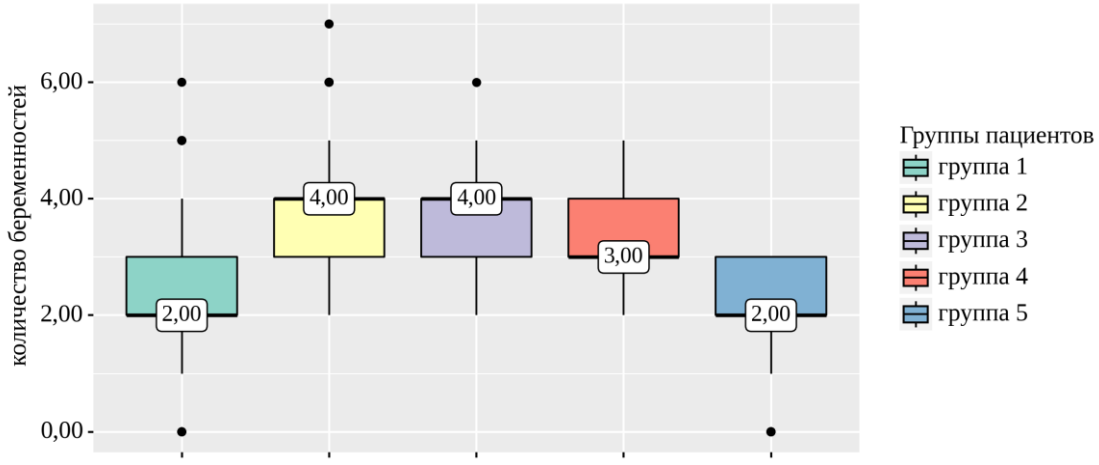

Рисунок 12 – Анализ количества беременностей в исследуемых группах

Наибольшее количество родов выявлялось в группе 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) и в среднем было больше 2 (p = 0,001) (используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса*)* (таблица 13, рисунок 13).

Таблица 13 – Среднее количество родов в исследуемых группах

Группы пациенток	Количество родов			p
	Me	$Q_1 – Q_3$	n	
группа 1 NILM + ВПЧ ВКР	1,00	1,00 – 2,00	49	0,001* p_{3-1} = 0,008 p_{3-2} = 0,010 p_{5-3} = 0,020
группа 2 LSIL + ВПЧ ВКР	2,00	1,00 – 2,00	65	
группа 3 HSIL + ВПЧ ВКР	2,00	2,00 – 3,00	47	
группа 4 NILM, гиперкератоз, ВПЧ –	2,00	2,00 – 2,00	39	
группа 5 NILM, ВПЧ ВКР –	2,00	1,00 – 2,00	45	

* – различия показателей статистически значимы (p< 0,05)

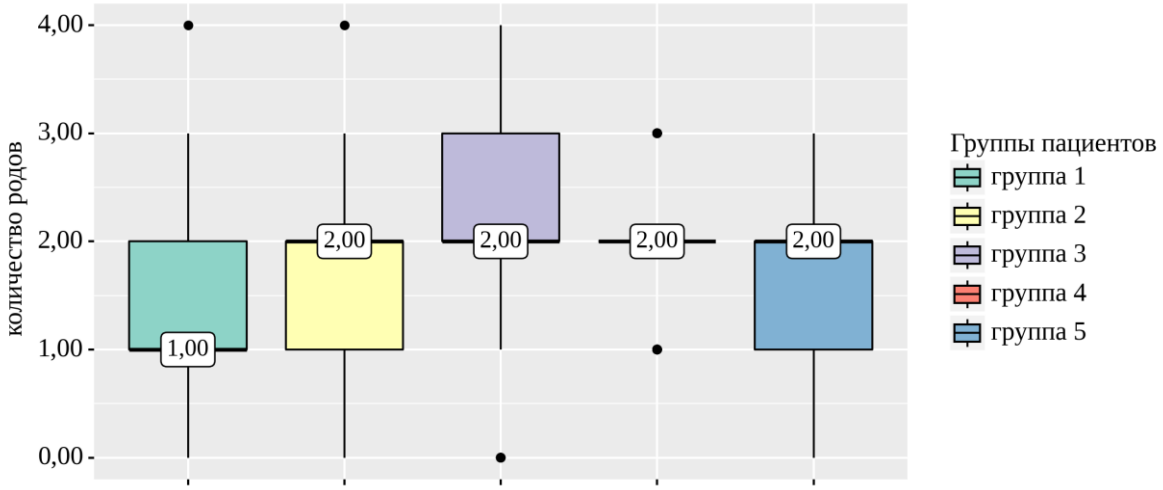

Рисунок 13 – Среднее количество родов в исследуемых группах

Среднее количество абортов в анамнезе было наибольшим в группах 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) и 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) и составляло 2 аборта (таблица 14, рисунок 14). В группах пациенток с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями выявлено статистически больше абортов в анамнезе относительно групп пациентов с нормальной цитологической картиной независимо от наличия ВПЧ-инфекции (p <0,001, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса). Однако по результатам анализа степень интраэпителиальных поражений не зависела от количества абортов в анамнезе. Согласно результатам анализа среднее количество абортов в группе пациенток с лейкоплакией шейки матки (группа 4) статистически не отличалось от группы пациенток без патологических изменений шейки матки (группа 5) (p> 0,05, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса) (таблица 14, рисунок 14).

Таблица 14 – Среднее количество абортов в исследуемых группах

Группы пациенток	Количество абортов			p
	Me	$Q_1 – Q_3$	n	
Группа 1 NILM + ВПЧ ВКР	1,00	0,00 – 1,00	37	< 0,001* $p_{2-1} < 0,001$ $p_{3-1} = 0,003$ $p_{5-2} < 0,001$ $p_{5-2} < 0,001$ $p_{5-3} < 0,001$
Группа 2 LSIL + ВПЧ ВКР	2,00	1,00 – 3,00	43	
Группа 3 HSIL + ВПЧ ВКР	2,00	1,00 – 3,00	46	
Группа 4 NILM, гиперкератоз, ВПЧ -	1,00	0,00 – 2,00	39	
Группа 5 NILM, ВПЧ ВКР -	1,00	0,00 – 1,00	45	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

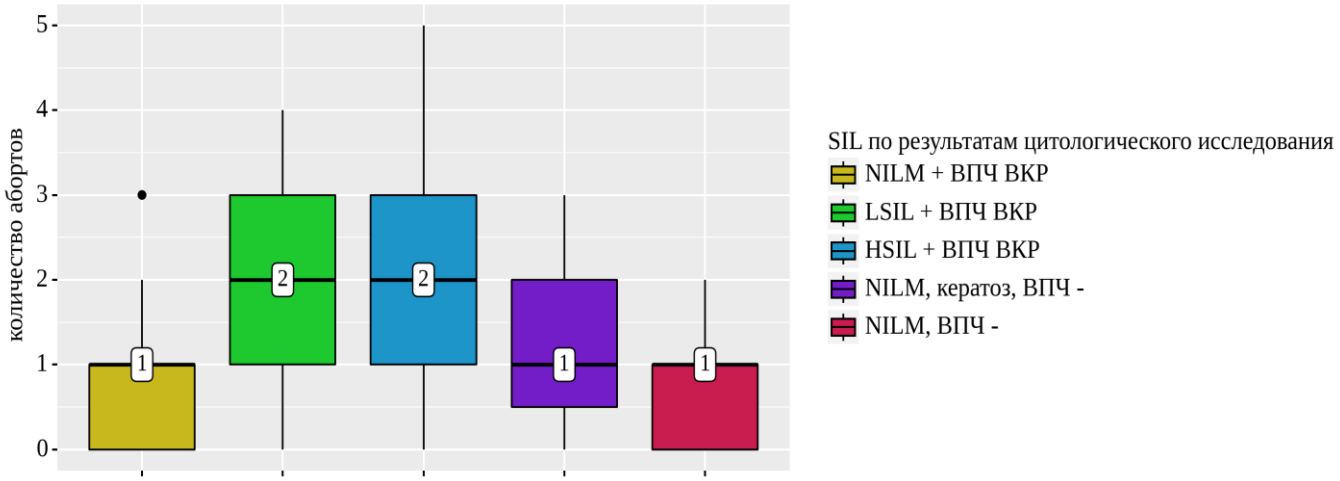

Рисунок 14 – Среднее количество абортов в исследуемых группах

По данным гинекологического анамнеза эктопия шейки матки более 5 лет статистически чаще выявлялась в группах 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) и 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 16 (37,2%), 27 (58,2%) случаев соответственно (рисунок 15). В группе пациенток с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями тяжелой степени наиболее часто выявлялась эктопия шейки матки более 5 лет ($p < 0,001$) (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона).

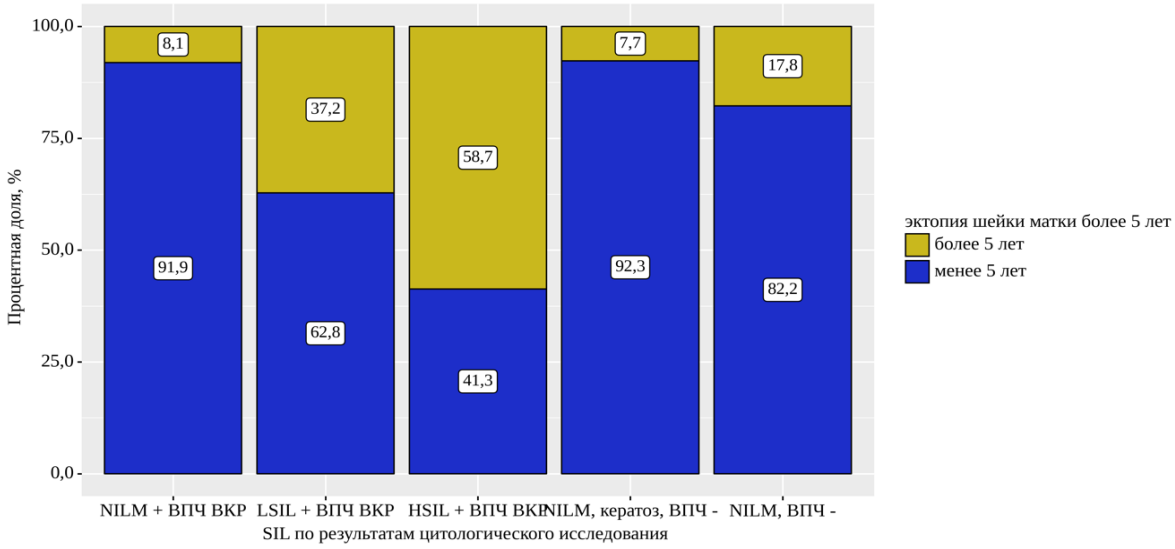

Рисунок 15 – Длительность наличия эктопии шейки матки в исследованных группах

В гинекологическом анамнезе пациенток 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) и 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) групп статистически чаще встречались

заболевания шейки матки ($p < 0,001$, используемый метод: Хи-квадрат Пирсона) (таблица 15). Хирургическое лечение шейки матки проводилось в 45 (88,2%) случаях (таблица 16). Наиболее часто хирургическое лечение заболеваний шейки матки в анамнезе проводилось в группах 2 (LSIL + ВПЧ ВКР), 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) и 4 (доброкачественные заболевания шейки матки, ВПЧ -) ($p = 0,045$, используемый метод: Хи-квадрат Пирсона).

Таблица 15 – Наличие заболеваний шейки матки в анамнезе в исследуемых группах

Заболевания шейки матки в анамнезе	Группы пациенток					p
	группа 1 NILM + ВПЧ ВКР	группа 2 LSIL + ВПЧ ВКР	группа 3 HSIL + ВПЧ ВКР	группа 4 NILM, гиперкератоз, ВПЧ -	группа 5 NILM, ВПЧ ВКР -	
Гипертрофия, элонгация, рубцовая деформация, наботовы кисты, полип шейки матки	7 (18,9)	10 (23,3)	16 (34,8)	16 (41,0)	2 (4,4)	< 0,001* $p_{1-4} = 0,032$ $p_{1-5} = 0,042$ $p_{2-4} = 0,028$ $p_{2-5} = 0,035$ $p_{3-5} < 0,001$ $p_{4-5} < 0,001$
Отсутствие визуальных изменений шейки матки	30 (81,1)	33 (76,7)	30 (65,2)	23 (59,0)	43 (95,6)	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

Таблица 16 – Наличие хирургических вмешательств по поводу заболеваний шейки матки в анамнезе

Хирургическое лечение заболеваний шейки матки в анамнезе	Группы пациенток					p
	группа 1 NILM + ВПЧ ВКР	группа 2 LSIL + ВПЧ ВКР	группа 3 HSIL + ВПЧ ВКР	группа 4 NILM, гиперкератоз, ВПЧ -	группа 5 NILM, ВПЧ ВКР	
Проведено	6 (85,7)	9 (90,0)	15 (93,75)	14 (87,5)	1 (50,0)	0,045*
Не проведено	1 (14,3)	1 (10,0)	1 (6,25)	2 (12,5)	1 (50,0)	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

По результатам исследования персистенция ВПЧ высокого канцерогенного риска в цервикальном эпителии более 2 лет выявлена в 59 (66,3%) случаев плоскоклеточных интраэпителиальных поражений: в группе 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 26 (60,5%) и в группе 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 33 (71,7%) (таблица 17, рисунок 16).

Таблица 17 – Длительность персистенции ВПЧ-ВКР в исследуемых группах

Персистенция ВПЧ ВКР	SIL по результатам цитологического исследования					p
	Группа 1 NILM + ВПЧ ВКР	Группа 2 LSIL + ВПЧ ВКР	Группа 3 HSIL + ВПЧ ВКР	Группа 4 NILM, кератоз, ВПЧ -	Группа 5 NILM, ВПЧ -	
отсутствие ВПЧ инфекции	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	39 (100,0)	45 (100,0)	< 0,001* p_{1-2} < 0,001 p_{1-3} < 0,001
более 2 лет	4 (10,8)	26 (60,5)	33 (71,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	
менее 2 лет	33 (89,2)	17 (39,5)	13 (28,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

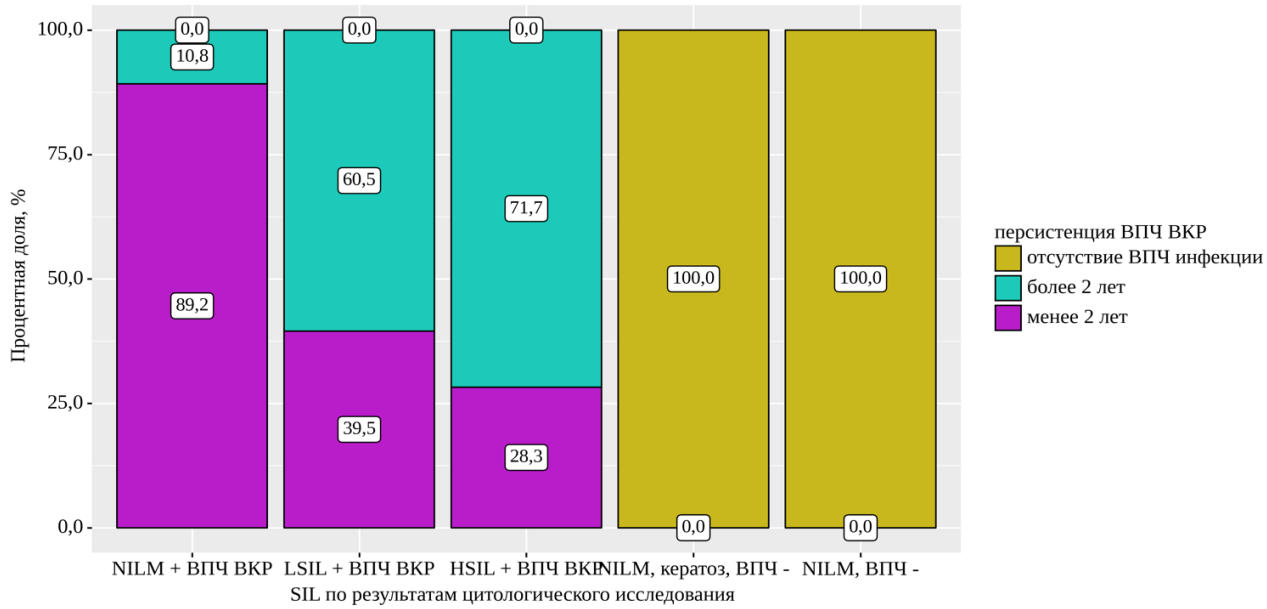

Рисунок 16 – Длительность персистенции ВПЧ-ВКР в исследуемых группах

У пациенток с ВПЧ-инфекцией и плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки статистически чаще встречалось сочетание эндометриоза, миомы матки, гиперплазии эндометрия и доброкачественной дисплазии молочной желез относительно группы сравнения (p <0,001) (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона) (таблица 18). Эндометриоз наиболее часто диагностировался у пациенток с дисплазией шейки матки, однако частота встречаемости не зависела от степени интраэпителиального поражения: группа 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 29 (67,5%), группа 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 27 (58,7%). Частота обнаружения миомы матки при ультразвуковом исследовании органов малого таза также была наивысшей в группах 2 и 3 и составила соответственно 14 (32,6%) и 19 (41,3%). При проведении ультразвукового исследования молочных желез у пациенток с дисплазией шейки матки статистически чаще выявлялась доброкачественная дисплазия молочных желез: группа 1 (NILM + ВПЧ ВКР) – 0 (0%), группа 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 8 (18,6%), группа 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 12 (26,1%), группа 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) – 5 (12,8%), группа сравнения (NILM, ВПЧ -) – 1 (2,2%) пациенток. Эти данные позволяют нам сделать вывод о повышенном пролиферативном потенциале, устойчивости к апоптозу, увеличению ароматазной активности, активации реакций оксидативного стресса и воспаления у женщин с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями. Отягощенный гинекологический анамнез (ОГА) выявлен у 57 (27,14 %) участниц исследования.

Таблица 18 – Анализ гинекологических заболеваний в исследуемых группах

Гинекологические заболевания	SIL по результатам цитологического исследования, ВПЧ-тест					p
	NILM + ВПЧ ВКР	LSIL + ВПЧ ВКР	HSIL + ВПЧ ВКР	NILM, кератоз, ВПЧ -	NILM, ВПЧ -	
Без патологии	9 (24,3)	3 (7,0)	1 (2,2)	8 (20,5)	25 (55,6)	< 0,001

Продолжение таблицы 18

Эндометриоз	12 (32,4)	29 (67,5)	27 (58,7)	9 (23,1)	9 (20,0)	
Миома матки	10 (27,0)	14 (32,6)	19 (41,3)	6 (15,4)	5 (11,1)	
Гиперплазия эндометрия	2 (5,4)	6 (14,0)	4 (8,7)	7 (17,9)	2 (4,4)	
ДДМЖ	0 (0,0)	8 (18,6)	12 (26,1)	5 (12,8)	1 (2,2)	
Хронический сальпингоофорит	2 (5,4)	2 (4,7)	2 (4,3)	2 (5,1)	2 (4,4)	
Опухолевидные образования яичников	2 (5,4)	3 (7,0)	3 (6,5)	2 (5,1)	1 (2,2)	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

Систематическое употребление табака более 5 лет отмечено у 59 (28,1%) обследованных, 43 (20,47%) пациентов бросили курить, 63 (30%) редко курят кальян или сигареты. Наибольшее количество курящих пациенток выявлено в группах с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями: в группе 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) 22 (51,2%) и в группе 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 19 (41,3%) пациенток ($p < 0,001$, используемый метод: Хи-квадрат Пирсона) (таблица 19, рисунок 17). Ни одна участница исследования не злоупотребляла алкоголем и не употребляла наркотики. Злоупотреблением алкоголем считалось употребление 30 г и более чистого спирта в день 2-3 раза в неделю и чаще.

Таблица 19 – Количество курящих пациенток в исследуемых группах

Курение	SIL по результатам цитологического исследования, ВПЧ-тест					p
	NILM + ВПЧ ВКР	LSIL + ВПЧ ВКР	HSIL + ВПЧ ВКР	NILM, кератоз, ВПЧ -	NILM, ВПЧ -	
Курит	7 (18,9)	22 (51,2)	19 (41,3)	7 (17,9)	4 (8,9)	< 0,001* p_{1-2} = 0,019 p_{2-4} = 0,013 p_{3-5} < 0,001 p_{3-5} = 0,003
Не курит	30 (81,1)	21 (48,8)	27 (58,7)	32 (82,1)	41 (91,1)	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

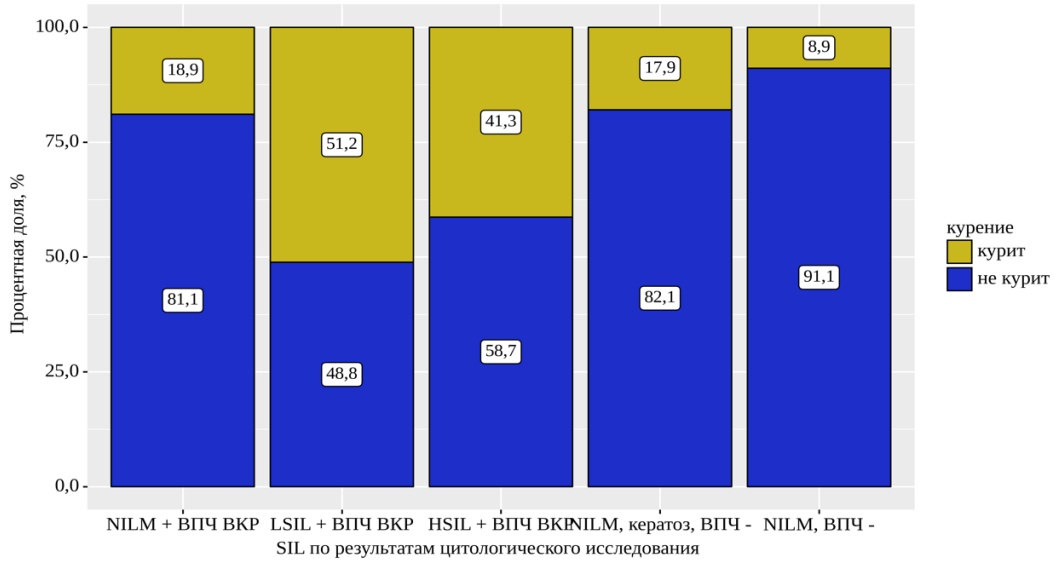

Рисунок 17 – Количество курящих пациенток в исследуемых группах

Гормональной контрацепцией пользовались 36 (17,1%) пациенток: в группе 1 (NILM + ВПЧ ВКР) – 11 (29,7%), в группе 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 8 (18,6%), в группе 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 5 (10,9%), в группе 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) – 4 (10,3%), в группе 5 (NILM, ВПЧ ВКР -) – 8 (17,8%) (таблица 20). Согласно результатам проведенного анализа нам не удалось установить статистически значимых различий между группами (p = 0,148) (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона).

Таблица 20 – Количество пациенток, принимающих гормональную контрацепцию, в исследуемых группах

Гормональная контрацепция	SIL по результатам цитологического исследования, ВПЧ-тест					p
	Группа 1 NILM + ВПЧ ВКР	Группа 2 LSIL + ВПЧ ВКР	Группа 3 HSIL + ВПЧ ВКР	Группа 4 NILM, кератоз, ВПЧ -	Группа 5 NILM, ВПЧ -	
Принимает гормональные контрацептивы	11 (29,7)	8 (18,6)	5 (10,9)	4 (10,3)	8 (17,8)	0,148
Не принимает гормональные контрацептивы	26 (70,3)	35 (81,4)	41 (89,1)	35 (89,7)	37 (82,2)	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

При анализе зависимости длительной персистенции ВПЧ-ВКР в цервикальном эпителии от приема гормональных контрацептивов нам не удалось установить статистически значимых различий (p = 0,428, используемый метод: Хи-квадрат Пирсона) (таблица 21).

Таблица 21 – Анализ зависимости длительной персистенции ВПЧ-ВКР от приема гормональных контрацептивов

Прием гормональных контрацептивов	Персистенция ВПЧ ВКР			p
	отсутствие ВПЧ инфекции	более 2 лет	менее 2 лет	
Принимает	12 (14,3)	10 (15,9)	14 (22,2)	0,428
Не принимает	72 (85,7)	53 (84,1)	49 (77,8)	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

В исследуемых группах относительно часто встречались урогенитальные инфекции. ВПГ-2 выявлялся у 3 (8,1%) пациенток с NILM+ВПЧ ВКР, у 9 (20,9%) пациенток с LSIL, у 8 (17,4%) пациенток с HSIL, у 1 (5,1%) пациентки с лейкоплакией шейки матки и у 2 пациенток группы сравнения. Бактериальные инфекции (Micoplasma genitalium, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Trichomonas vaginalis) выявлены в 25 (11,9%) случаев, из них смешанные бактериально-вирусные инфекции – в 17 (68%). Бактериальный вагиноз выявлялся в 42 случаях (20%): у 5 (13,5%) пациенток с NILM+ВПЧ ВКР, у 9 (20,9%) пациенток с LSIL, у 15 (32,6%) пациенток с HSIL, у 9 (23,1%) пациентки с лейкоплакией шейки матки и у 4 (8,9%) пациенток группы сравнения. Частота и структура нарушений микроценоза влагалища и ИППП по данным анамнеза представлены в таблице 22.

Таблица 22 – Наличие урогенитальных инфекций в исследуемых группах

Урогенитальные инфекции	SIL по результатам цитологического исследования					p
	NILM + ВПЧ ВКР	LSIL + ВПЧ ВКР	HSIL + ВПЧ ВКР	NILM, кератоз, ВПЧ -	NILM, ВПЧ -	
HSV II	3 (8,1)	9 (20,9)	8 (17,4)	2 (5,1)	2 (4,4)	0,019*
Mycoplasma genitalium	2 (5,4)	1 (2,3)	1 (2,2)	1 (2,6)	0 (0,0)	
Chlamydia trachoma's	2 (5,4)	1 (2,3)	3 (6,5)	2 (5,1)	1 (2,2)	
Neisseria gonorrhoeae	1 (2,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Trichomonas vaginalis	2 (5,4)	2 (4,7)	2 (4,3)	2 (5,1)	2 (4,4)	
Бактериальный вагиноз	5 (13,5)	9 (20,9)	15 (32,6)	9 (23,1)	4 (8,9)	

Продолжение таблицы 22

Кандидозный вульвовагинит	2 (5,4)	9 (20,9)	7 (15,2)	4 (10,3)	4 (8,9)	
Отсутствие ИППП	20 (54,1)	12 (27,9)	10 (21,7)	19 (48,7)	32 (71,1)	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

Также мы провели анализ зависимости наличия урогенитальных инфекций от инфицирования ВПЧ-ВКР (таблица 23, рисунок 18). Половые инфекции статистически чаще встречались у пациенток, инфицированных ВПЧ-ВКР (p< 0,012) (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона).

Таблица 23 – Анализ зависимости наличия урогенитальных инфекций от инфицирования ВПЧ-ВКР

Категории	наличие ВПЧ – ВКР		p
	ВПЧ ВКР –	ВПЧ ВКР +	
HSV II	4 (4,8)	20 (15,9)	0,012*
Mycoplasma genitalium	1 (1,2)	4 (3,2)	
Chlamydia trachoma's	3 (3,6)	6 (4,8)	
Neisseria gonorrhoeae	0 (0,0)	1 (0,8)	
Trichomonas vaginalis	4 (4,8)	6 (4,8)	
Бактериальный вагиноз	13 (15,5)	29 (23,0)	
Кандидозный вульвовагинит	8 (9,5)	18 (14,3)	
Отсутствие ИППП	51 (60,7)	42 (33,3)	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

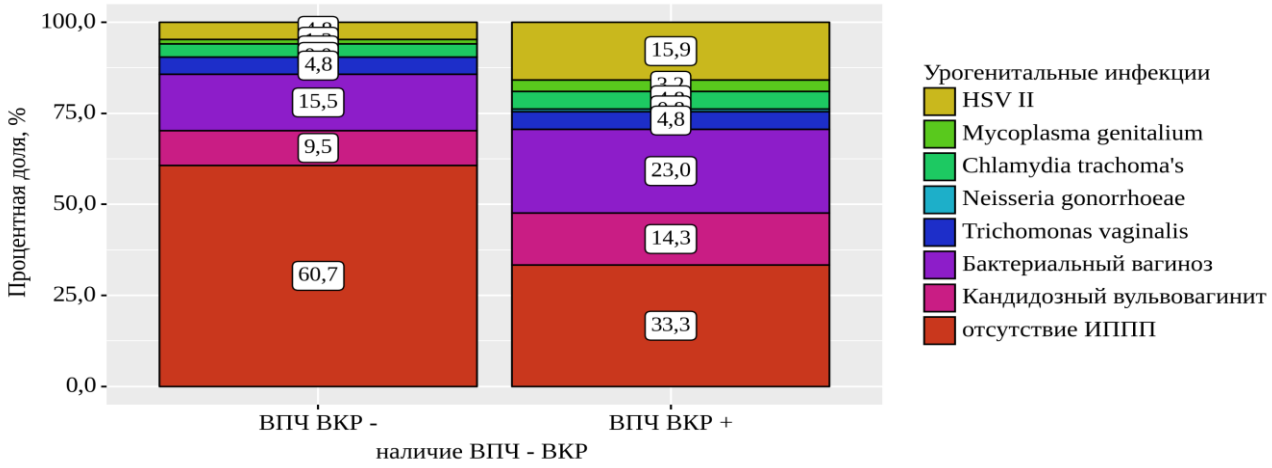

Рисунок 18 – Анализ зависимости наличия урогенитальных инфекций от инфицирования ВПЧ-ВКР

При антропометрическом исследовании достоверных отличий между группами не было выявлено. Ожирение встречалось в 27 (12,86 %) всех наблюдений: в группе 1 (NILM + ВПЧ ВКР) – 5 (13,5%), в группе 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 8 (18,6%), в группе 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 5 (10,9%), в группе 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) – 4 (10,3%), в группе 5 (NILM, ВПЧ ВКР -) – 5 (11,1%) (таблица 24).

Таблица 24 – Оценка ИМТ (кг/м^2) в исследованных группах

ИМТ	SIL по результатам цитологического исследования, ВПЧ-тест					p
	Группа 1 NILM + ВПЧ ВКР	Группа 2 LSIL + ВПЧ ВКР	Группа 3 HSIL + ВПЧ ВКР	Группа 4, NILM, кератоз, ВПЧ -	Группа 5 NILM, ВПЧ -	
ИМТ > 30 кг/м^2	5 (13,5)	8 (18,6)	5 (10,9)	4 (10,3)	5 (11,1)	0,772
ИМТ < 30 кг/м^2	32 (86,5)	35 (81,4)	41 (89,1)	35 (89,7)	40 (88,9)	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

При влагалищном исследовании видимые изменения шейки матки (гипертрофия, эктропион, элонгация шейки матки, наботовы кисты, эктопия шейки

матки) наблюдались у 123 (58,57%) пациенток: группа 1 (NILM + ВПЧ ВКР) – 14 (37,8%), группа 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 17 (39,5%), группа 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 12 (26%) , группа 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) – 23 (59%), группа 5 (NILM, ВПЧ ВКР -) – 8 (17,8%).

Остроконечные кондиломы шейки матки, вульвы и влагалища выявлялись у 18 (8,6%) обследованных пациенток: группа 1 (NILM + ВПЧ ВКР) – 7 (18,9%), группа 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 6 (13,8%), группа 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 5 (10,9%), группы 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) и 5 (NILM, ВПЧ ВКР -) – 0 пациенток. Кондиломы наружных половых органов и влагалища встречались только в группах пациентов, инфицированных ВПЧ.

3.3 Результаты расширенной кольпоскопии

Расширенная кольпоскопия выполнялась всем участницам исследования с целью оценки состояния эпителия шейки матки и отбора пациенток для проведения радиоволновой шейки матки. При выявлении резкой гиперемии, обильных гнойных выделений, кровотечений, выраженных наложений фибрина кольпоскопия расценивалась как неудовлетворительная, и пациентки исключались из исследования. Особое внимание уделялось оценке зоны трансформации, в которой наиболее часто развивается патологический процесс формирования SIL. Стык между многослойным плоским и железистым эпителием полностью визуализировался у 147 (70%) пациенток: в группе 1 (NILM+ ВПЧ ВКР) – в 27 (73%) случаях, в группе 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – в 31 (72,1%), в группе 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – в 16 (34,8%) случаях, в группе 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) – в 35 (89,7%), в группе 5 (NILM, ВПЧ -) – в 43 (95,6%) случаях (таблица 25). Статистически чаще невозможность полной визуализации переходной зоны встречалась в группе 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – у 30 (65,2%) пациентов, что статистически чаще, чем в группах 1 (NILM+ ВПЧ ВКР), 2 (LSIL + ВПЧ ВКР), 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -), 5 (NILM, ВПЧ -) ($p<0,05$, используемый метод: Хи-квадрат Пирсона) (таблица 25).

Одним из главных кольпоскопических признаков SIL является наличие непрозрачных белесоватых очагов на поверхности эктоцервикса (ацетобелого эпителия, АБЭ) при проведении ацетоуксусной пробы. Результаты пробы с уксусной кислотой показали, что степень выраженности ацетобелого эпителия соответствовала тяжести изменений по результатам цитологического метода исследования: тонкий ацетобелый эпителий выявлялся в группе 1 (NILM+ ВПЧ ВКР) в 14 (37,8%) случаев, в группе 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) в 31 (72,1%) случаев, в группе 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) в 10 (21,7) случаях, в группе 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ-) в 7 (17,9%) случаях, в группе 5 (NILM, ВПЧ -) в 2 (4,4%) случаях (таблица 25).

Наиболее часто слабо-выраженные изменения эпителия шейки матки в виде тонкого ацетобелого эпителия, нежной мозаики и нежной пунктации выявлялись в группе пациенток с цитологическим заключением LSIL (группа 2) ($p<0,05$, используемый метод: Хи-квадрат Пирсона). Выраженные изменения цервикального эпителия достоверно чаще выявлялись в группе пациенток с тяжелой степенью интраэпителиальных поражений: плотный ацетобелый эпителий выявлялся в 30 (65,2%) случаях, грубая мозаика в 19 (41,3%) и грубая пунктация в 7 (15,2%) ($p<0,05$, используемый метод: Хи-квадрат Пирсона) (таблица 25, рисунок 19, рисунок 20).

По результатам исследования у 17 (36,9%) пациенток группы 3 (HSIL/ВПЧ ВР) с наличием выраженных кольпоскопических изменений был выявлен ВПЧ 16 типа, у 8 (17,4%) – ВПЧ 31 типа. Выраженные кольпоскопические изменения в виде плотного АБЭ у пациенток с LSIL наблюдались у 9 (20,9%) женщин и были вызваны ВПЧ 16 типа – у 7 (16,2%), ВПЧ 18 – у 2 (4,7%).

Таблица 25 – Результаты расширенной кольпоскопии в исследуемых группах

Результат кольпоскопии	SIL по результатам цитологического исследования					p
	Группа 1 NILM + ВПЧ ВКР	Группа 2 LSIL + ВПЧ ВКР	Группа 3 HSIL + ВПЧ ВКР	Группа 4 NILM, гиперкератоз ВПЧ -	Группа 5 NILM ВПЧ -	
ЗТ визуализируется полностью	27 (73,0)	31 (72,1)	16 (34,8)	35 (89,7)	43 (95,6)	≤ 0,001* p_{1-3} = 0,006 p_{1-5} = 0,036 p_{2-3} = 0,006 p_{2-5} = 0,026 p_{3-4} ≤ 0,001 p_{3-5} < 0,001
ЗТ визуализируется не полностью	10 (27,0)	12 (27,9)	30 (65,2)	4 (10,3)	2 (4,4)	
Тонкий ацетобелый эпителий	14 (37,8)	31 (72,1)	10 (21,7)	7 (17,9)	2 (4,4)	
Нежная мозаика	9 (24,3)	7 (16,3)	2 (4,3)	1 (2,6)	0 (0,0)	
Нежная пунктация	4 (10,8)	10 (23,3)	3 (6,5)	1 (2,6)	0 (0,0)	
Плотный ацетобелый эпителий	0 (0,0)	9 (20,9)	30 (65,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Грубая мозаика	0 (0,0)	1 (2,3)	19 (41,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Грубая пунктация	0 (0,0)	1 (2,3)	7 (15,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Атипичные сосуды	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (8,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Выражен сосудистый рисунок	2 (5,4)	1 (2,3)	4 (8,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Закрытые железы	6 (16,2)	5 (11,6)	14 (30,4)	20 (51,3)	2 (4,4)	
Эктопия шейки матки	14 (37,8)	14 (32,6)	11 (23,9)	8 (20,5)	8 (17,8)	
Эктропион	0 (0,0)	1 (2,3)	0 (0,0)	15 (38,5)	0 (0,0)	
Остроконечные кондиломы вульвы	4 (10,8)	3 (7,0)	2 (4,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Остроконечные кондиломы влагалища	2 (5,4)	1 (2,3)	2 (4,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Остроконечные кондиломы шейки матки	1 (2,7)	2 (4,7)	1 (2,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

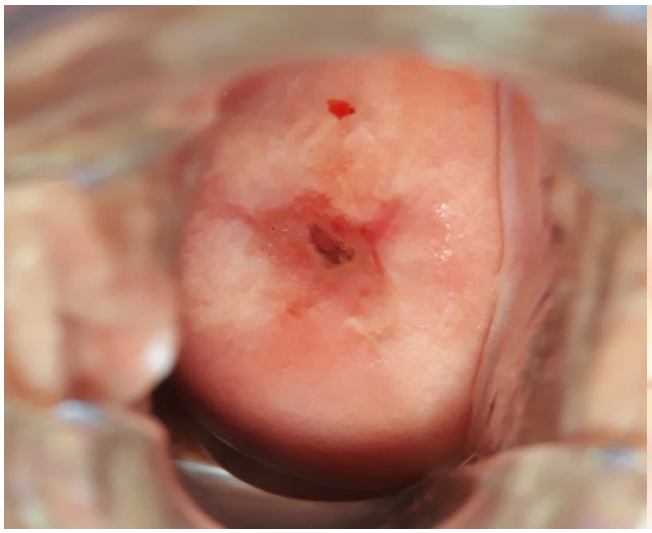

Рисунок 19 – Выраженные кольпоскопические изменения, проба с 3% раствором уксусной кислоты (ВПЧ 16 и 18/ HSIL)

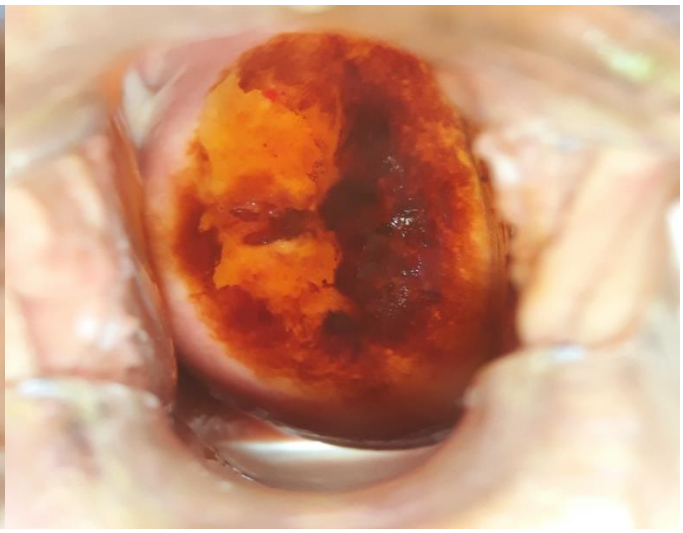

Рисунок 20 – Выраженные кольпоскопические изменения, проба с 1% раствором Люголя (ВПЧ 16 и 18/ HSIL)

Согласно результатам расширенной кольпоскопии достоверно чаще изменения цервикального эпителия наблюдались в группах пациенток с ВПЧ-ВКР инфекцией по сравнению с пациентами, не инфицированными ВПЧ – инфекцией (группы 4 и 5) ($p < 0,05$, используемый метод: Хи-квадрат Пирсона). Среди пациенток, инфицированных ВПЧ-ВКР, наиболее часто слабовыраженные изменения цервикального эпителия при расширенной кольпоскопии наблюдались при цитологическом заключении LSIL ($p < 0,05$, используемый метод: Хи-квадрат Пирсона). Степень выраженности кольпоскопических изменений зависела от степени тяжести интраэпителиальных поражений. Выраженные кольпоскопические изменения цервикального эпителия достоверно чаще наблюдались у пациенток группы 3 (HSIL + ВПЧ ВКР). Проведение расширенной кольпоскопии следует проводить всем пациенткам с наличием ВПЧ-инфекции и при выявлении ВПЧ-инфекции в анамнезе независимо от результатов цитологического исследования.

3.4 Результаты ВПЧ-тестирования

Качественное определение ДНК ВПЧ (14 типов) с указанием типа вируса методом ПЦР было проведено всем участницам исследования. При выявлении ВПЧ-инфекции проводилось определение уровня вирусной нагрузки методом Real-time PCR. В ходе исследования была проанализирована частота встречаемости ВПЧ высокого канцерогенного риска в зависимости от результатов цитологического исследования. Результаты ВПЧ-тестирования продемонстрировали, что наиболее часто встречался ВПЧ 16 типа – в 38 (30,2%) случаев, далее генотипы 18 (11,9%), 31 (11,9%), 33 (6,35%), 35 и 59 (3,9%), 39 (2,3%), 45 (2,3%), 51 (3,9%), 52 (1,59%), 56 и 58 (0,79%) 59 (3,7%), 68 (1,59 %) (таблица 26). Сочетание нескольких генотипов ВПЧ было выявлено в 23 (18,25%) случаях. Среди смешанных инфекций чаще встречались сочетания 16 и 18 генотипов, которые выявлялись в 53,3% случаев, затем 16 и 31 генотипы – в 33,3%, 18 и 33 в 13,4% случаев.

Таблица 26 – Частота встречаемости различных генотипов ВПЧ у исследованных пациенток

Тип ВПЧ	Абс.	%
16	38	30,2
18	15	11,9
31	15	11,9
33	8	6,35
35	5	3,9
39	3	2,3
45	3	2,3
51	5	3,9
52	2	1,59
56	1	0,79

Продолжение таблицы 26

58	1	0,79
59	5	3,9
66	0	0,0
68	2	1,59
смешанная инфекция	23	18,25

Среди пациенток с тяжелой дисплазией шейки матки по результатам цитологического исследования наиболее часто встречались генотипы 16 (17/37,0% случаев) и 31 (10/21,7% случаев) (таблица 27). В группе пациенток с цитологическим заключением LSIL преобладающими генотипами были 16 (11/25,6% случаев) и 18 (6/14% случаев). Инфицирование несколькими генотипами в группе 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) регистрировалась довольно часто и составило 11 (25,6%) случаев. Среди пациенток с нормальным цитологическим заключением преобладающими генотипами также были 16 (10/ 27%), 18 (9/24,3%) и 35 (4/10,8%).

Таблица 27 – Анализ встречаемости генотипов ВПЧ в исследуемых группах

Тип ВПЧ	SIL по результатам цитологического исследования			p
	NILM + ВПЧ ВКР	LSIL + ВПЧ ВКР	HSIL + ВПЧ ВКР	
16	10 (27,0)	11 (25,6)	17 (37,0)	< 0,001*
18	9 (24,3)	6 (14,0)	0 (0,0)	
31	2 (5,4)	3 (7,0)	10 (21,7)	
33	1 (2,7)	3 (7,0)	4 (8,7)	
35	4 (10,8)	0 (0,0)	1 (2,2)	
39	2 (5,4)	0 (0,0)	1 (2,2)	

Продолжение таблицы 27

45	0 (0,0)	1 (2,3)	2 (4,3)	
51	0 (0,0)	3 (7,0)	2 (4,3)	
52	1 (2,7)	0 (0,0)	1 (2,2)	
56	1 (2,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	
58	0 (0,0)	1 (2,3)	0 (0,0)	
59	3 (8,1)	2 (4,7)	0 (0,0)	
68	0 (0,0)	2 (4,7)	0 (0,0)	
смешанная инфекция	4 (10,8)	11 (25,6)	8 (17,4)	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

Медиана уровня вирусной нагрузки в группе 1 (NILM + ВПЧ ВКР) составила 4,2 lg [3,8; 4,9 lg], в группе 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 5,3 lg [4,3; 6,7 lg], в группе 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 6,2 lg [5,2; 6,9 lg] (рисунок 21).

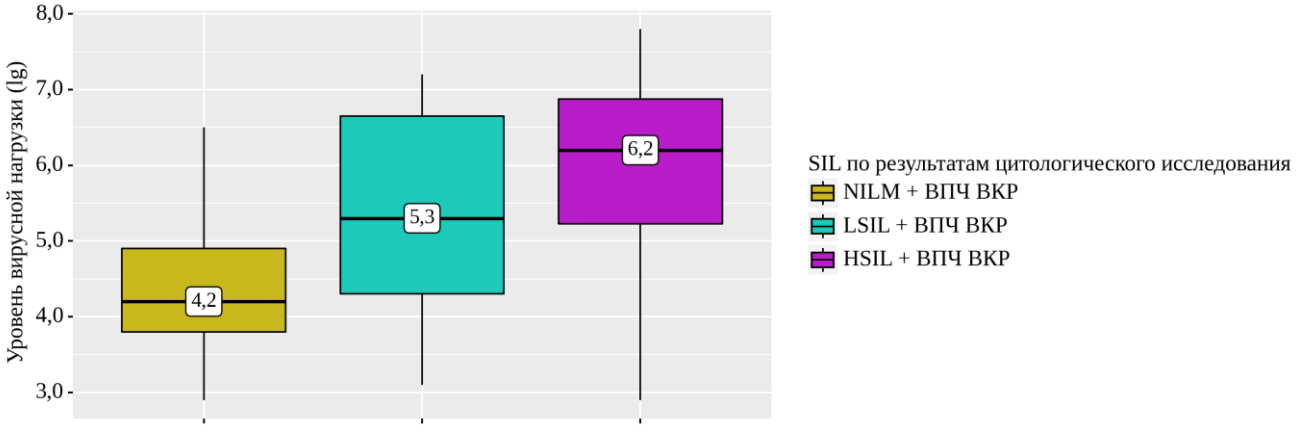

Рисунок 21 – Уровень вирусной нагрузки в исследуемых группах

Таким образом, наивысшая вирусная нагрузка наблюдалась в группе пациенток с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями тяжелой степени, что статистически выше, чем в группах 1 (NILM + ВПЧ) и 2 (LSIL + ВПЧ) (p < 0,001, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса).

3.5 Результаты гистологического исследования

После проведения обследования, включавшего взятие мазка на флору из влагалища, клинический анализ крови, биохимический анализ крови, коагулограмму, анализ крови на ВИЧ, сифилис, гепатиты В,С, определение группы крови по системе АВ0 и резус-фактора, общий анализ мочи, УЗИ органов малого таза, пациенткам с цитологическими заключениями «LSIL», «NILM» (при персистенции ВПЧ ВКР более 18 месяцев), наличием изменений при кольпоскопии, подозрительных в отношении SIL, проводилась прицельная радиоволновая биопсия шейки матки с последующим гистологическим исследованием полученного материала. Радиоволновая эксцизия шейки матки с выскабливанием цервикального канала проводилось при цитологическом заключении «HSIL» и/или при наличии выраженных кольпоскопических изменений. По результатам гистологического метода исследования цервикальная интраэпителиальная неоплазия (CIN) была выявлена в 86 (40,9%) случаях: в группе 1 (NILM+ ВПЧ ВКР) – в 10 (27%) случаях, в группе 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – в 33 (76,7%), в группе 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – в 40 (86,9%) случаях, в группе 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) – в 3 (7,7%) случаях (таблица 28, таблица 29). В группе пациенток с цитологическим заключением HSIL по результатам патоморфологического исследования выявлено 3 (6,5%) случая карциномы in situ (CIS). В 3 (7,69%) случаях пациентов из группы 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ-) по результатам гистологического исследования выявлена CIN II-III (HSIL) (таблица 29).

Согласно результатам проведенного анализа цитологический и гистологический диагноз совпадал в 112 (67,8%) случаях: в группе 1 (NILM+ ВПЧ ВКР) – 27 (62,8%), в группе 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 25 (51,0%), в группе 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – в 21 (67,7%) случаях, в группе 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) – в 36 (92,3%) случаях. Патоморфологическое исследование является золотым

стандартом диагностики заболеваний шейки матки и должно проводиться при малейшем подозрении на SIL, даже при отрицательном тесте на ВПЧ.

Таблица 28 – Распределение пациенток по группам по результатам гистологического исследования

Результаты гистологического исследования	Абс.	%
NILM + ВПЧ ВКР	43	20,5
CIN I (LSIL) + ВПЧ ВКР	49	23,3
CIN II-III (HSIL) + ВПЧ ВКР	31	14,8
Простая лейкоплакия без атипии, ВПЧ -	36	17,1
NILM, ВПЧ -	45	21,4
HSIL, ВПЧ -	3	1,4
CIS (HSIL) + ВПЧ ВКР	3	1,4

Таблица 29 – Соотношение результатов цитологического и гистологического методов исследования

SIL по результатам цитологического исследования	CIN по результатам гистологического исследования						
	NILM + ВПЧ ВКР	CIN I (LSIL) +ВПЧ ВКР	CIN II-III (HSIL) + ВПЧ ВКР	простая лейкоплакия без атипии, ВПЧ -	NILM, ВПЧ– (ПГИ не проводилось)	HSIL ВПЧ -	CIS (HSIL) ВПЧ ВКР
NILM + ВПЧ ВКР	27 (62,8)	8 (16,3)	2 (6,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Продолжение таблицы 29

LSIL + ВПЧ ВКР	10 (23,3)	25 (51,0)	8 (25,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
HSIL + ВПЧ ВКР	6 (14,0)	16 (32,7)	21 (67,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (100,0)
NILM, кератоз, ВПЧ -	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	36 (100,0)	0 (0,0)	3 (100,0)	0 (0,0)
NILM, ВПЧ -	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	45 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

3.6 Результаты экспрессии мРНК генов, кодирующих параоксоназы

Согласно результатам проведенного исследования установлено, что экспрессия гена, кодирующего фермент параоксоназы 1 типа, во всех исследуемых образцах шейки матки не детектировалась.

Уровень экспрессии PON2 в неизмененном эпителии шейки матки составил 2,63 [1,92; 3,73] (таблица 30, рисунок 22). В группе 1 (NILM+ ВПЧ ВКР) уровень экспрессии PON2 достоверно не отличался от группы сравнения и составил 3,37 [2,53; 4,86] ($p > 0,05$, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса). В группе пациенток с простой лейкоплакией шейки матки без атипии 52,8% (19 из 36 случаев) отмечалось повышение уровня экспрессии гена PON 2. Медиана уровня экспрессии PON2 была выше, чем в группе сравнения и составила 3,85 [2,70; 5,66] ($p = 0,039$, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса). При наличии SIL имеет место значимое повышение уровня экспрессии гена PON2: при LSIL медиана уровня экспрессии была в 2,5 раза больше, чем в группе сравнения и составила 6,54 [4,25; 8,26], при HSIL + ВПЧ ВКР отмечено повышение экспрессии в 3,8 раз и составило 10,10 [6,88; 13,75] ($p < 0,001$, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса). Повышенная экспрессия PON 2 в цервикальном эпителии выявлялась в 79,6% (39/49) случаев CIN I (LSIL) и 87% (27/31) случаев CIN II-III(HSIL), инфицированных ВПЧ-ВКР. У пациенток с гистологическим заключением HSIL и отрицательным тестом на ВПЧ медиана уровня экспрессии PON 2 также была

несколько выше относительно группы сравнения и составила 4,54 [4,13; 5,09]. Повышение уровня экспрессии PON2 отмечалось в 66,7% (2/3) случаев HSIL без ВПЧ-инфицирования.

Таблица 30 – Анализ отношения уровней мРНК PON2 в исследуемых группах

CIN по результатам гистологического исследования	Относительный уровень экспрессии PON 2			p
	Me	$Q_1 – Q_3$	n	
NILM + ВПЧ ВКР	3,37	2,52 – 4,86	43	< 0,001* p_{2-1} < 0,001 p_{3-1} < 0,001 p_{7-1} = 0,021 p_{4-2} = 0,008 p_{5-2} < 0,001 p_{4-3} < 0,001 p_{5-3} < 0,001 p_{7-5} = 0,002
CIN I (LSIL) + ВПЧ ВКР	6,54	4,25 – 8,26	49	
CIN II-III (HSIL) + ВПЧ ВКР	10,10	6,88 – 13,75	31	
простая лейкоплакия без атипии, ВПЧ -	3,85	2,70 – 5,66	36	
NILM, ВПЧ –	2,63	1,92 – 3,73	45	
HSIL, ВПЧ -	4,54	4,13 – 5,09	3	
CIS (HSIL) + ВПЧ ВКР	10,29	10,26 – 12,81	3	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

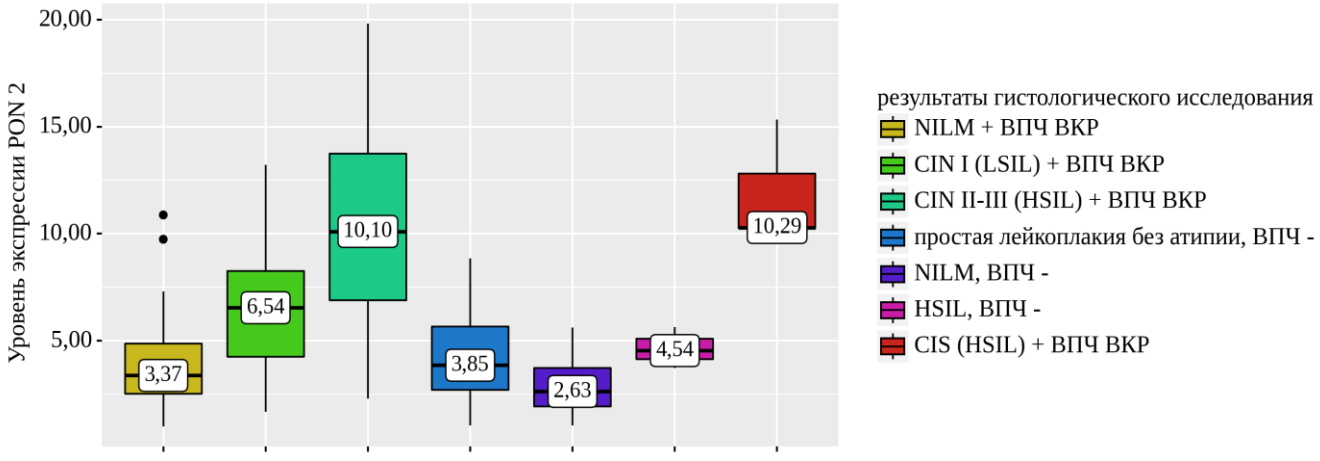

Рисунок 22 – Анализ отношения уровней мРНК PON2 в исследуемых группах

У пациенток с неизмененным эпителием шейки матки (группа сравнения) отмечена экспрессия гена PON3, однако его уровень невысокий и составляет 2,26 [1,25; 3,53] (таблица 31, рисунок 23).

Таблица 31 – Анализ отношения уровней мРНК PON3 в исследуемых группах

CIN по результатам гистологического исследования	Относительный уровень экспрессии PON3			p
	Me	$Q_1 – Q_3$	n	
NILM + ВПЧ ВКР	2,67	1,24 – 3,94	43	< 0,001* $p_{2-1} < 0,001$ $p_{3-1} < 0,001$ $p_{7-1} = 0,012$ $p_{5-2} < 0,001$ $p_{4-3} < 0,001$ $p_{5-3} < 0,001$ $p_{5-4} = 0,049$ $p_{7-5} = 0,003$
CIN I (LSIL) + ВПЧ ВКР	6,25	3,43 – 9,53	49	
CIN II-III (HSIL) + ВПЧ ВКР	12,57	7,59 – 17,10	31	
простая лейкоплакия без атипии, ВПЧ -	5,23	2,53 – 6,33	36	
NILM, ВПЧ -	2,26	1,25 – 3,53	45	
HSIL, ВПЧ -	7,53	6,04 – 7,60	3	
CIS (HSIL) + ВПЧ ВКР	18,53	17,53 – 25,03	3	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

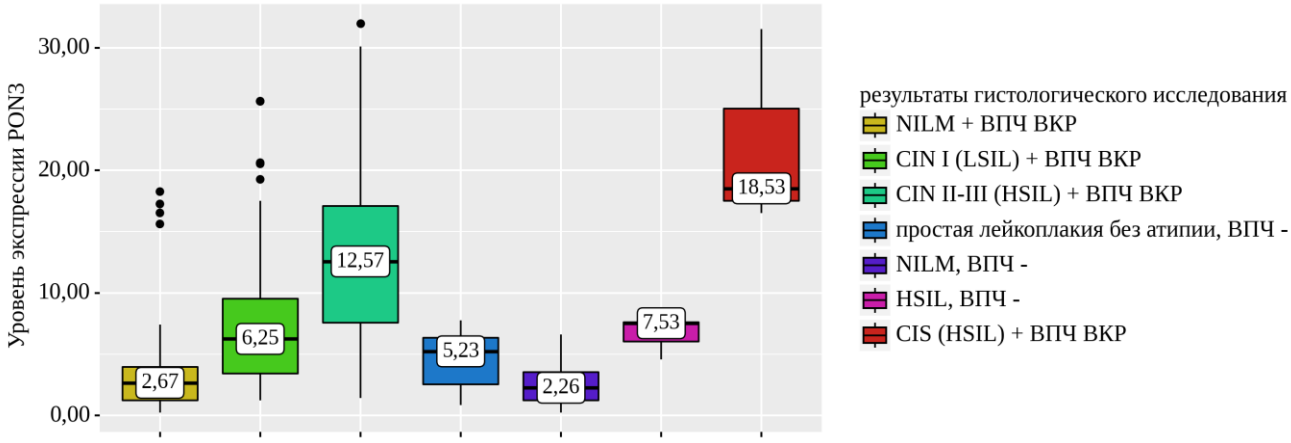

Рисунок 23 – Анализ отношения уровней мРНК PON3 в исследуемых группах

У женщин с CIN I (LSIL) и CIN II-III (HSIL) по результатам гистологического исследования медиана уровня экспрессии гена PON3 в эпителии шейки матки составляет 6,25 [3,43; 9,53] и 12,57 [7,59; 17,10] соответственно, что выше в 2,76 и в 5,56 раз относительно группы сравнения (p<0,001, Критерий Краскела-Уоллиса). Повышение экспресии PON 3 выявлено в 73,47% (36/49) случаев LSIL и в 93,5% (29/31) случаев HSIL. При доброкачественных заболеваниях шейки матки также отмечалась повышенная экспрессия гена PON3 и составила 5,25 [2,58; 6,54], что в 2,32 раза выше, чем в группе сравнения (p=0,006, Критерий Краскела-Уоллиса). Повышенная экспрессия PON3 детектировалась в 61,1% (22/36) случаев лейкоплакии шейки матки и хронического цервицита. В группе пациенток с гистологическим заключением CIS (HSIL) относительный уровень экспрессии гена, кодирующего PON3, был в 8,2 раза выше, чем в группе пациенток с неизмененным цервикальным эпителием и составил 18,53 [17,53; 25,03]. Повышенная экспрессия PON3 выявлялась в 100% (3/3) случаев CIS. При гистологическом заключении HSIL и отсутствии ВПЧ-инфицирования уровень экспрессии PON3 также был повышен в 3,33 раза и составил 7,53 [6,04; 7,60]. Сверхэкспрессия PON3 при HSIL и отсутствии инфицирования ВПЧ отмечалась в 100% (3/3) случаев.

Гены, кодирующие ферменты параоксоназ PON2 и PON3, в неизмененном эпителии шейки матки экспрессируются, однако их продукция остается невысокой. Активация генов параоксоназ PON2, PON3 при формировании цервикальной интраэпителиальной неоплазии может отражать митохондриальную дисфункцию и сниженный уровень апоптоза. Интересно, что уровень экспрессии генов, кодирующих ферменты PON2 и PON3, повышается при всех исследованных вариантах интраэпителиальных поражений шейки матки, при этом уровень повышения экспрессии генов четко коррелирует со степенью тяжести SIL. Полученные данные подтверждают наличие при LSIL митохондриальной дисфункции и дисбаланс процессов пролиферации и апоптоза, степень которых

становится более выраженной по мере прогрессирования опухолевого процесса (HSIL).

3.7 Результаты экспрессии днРНК lincROR и MALAT1 в эпителии шейки матки

Результаты проведенного нами исследования продемонстрировали повышенную экспрессию lincROR при интраэпителиальных поражениях шейки матки относительно группы сравнения: при CINI (LSIL) уровень экспрессии lincROR составлял 1,78 [1,25; 1,93], при HSIL 1,92 [1,83; 2,07], что превышает значения при неизмененном цервикальном эпителии в 1,4 и в 1,54 раз соответственно ($p<0,001$, критерий Краскела-Уоллиса) (таблица 32, рисунок 24).

Таблица 32 – Анализ экспрессии lincROR в исследуемых группах

CIN по результатам гистологического исследования	Относительный уровень экспрессии lincROR			p
	Me	$Q_1 – Q_3$	n	
NILM + ВПЧ ВКР	1,08	1,02 – 1,47	43	< 0,001* $p_{2-1} = 0,004$ $p_{3-1} < 0,001$ $p_{4-2} = 0,018$ $p_{5-2} < 0,001$ $p_{4-3} < 0,001$ $p_{5-3} < 0,001$ $p_{7-5} = 0,043$
CIN I (LSIL) + ВПЧ ВКР	1,78	1,25 – 1,93	49	
CIN II-III (HSIL) + ВПЧ ВКР	1,92	1,83 – 2,07	31	
простая лейкоплакия без атипии, ВПЧ -	1,25	1,09 – 1,53	36	
NILM, ВПЧ -	1,25	1,02 – 1,51	45	
HSIL, ВПЧ -	1,74	1,45 – 1,89	3	
CIS (HSIL) + ВПЧ ВКР	2,03	1,93 – 2,45	3	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

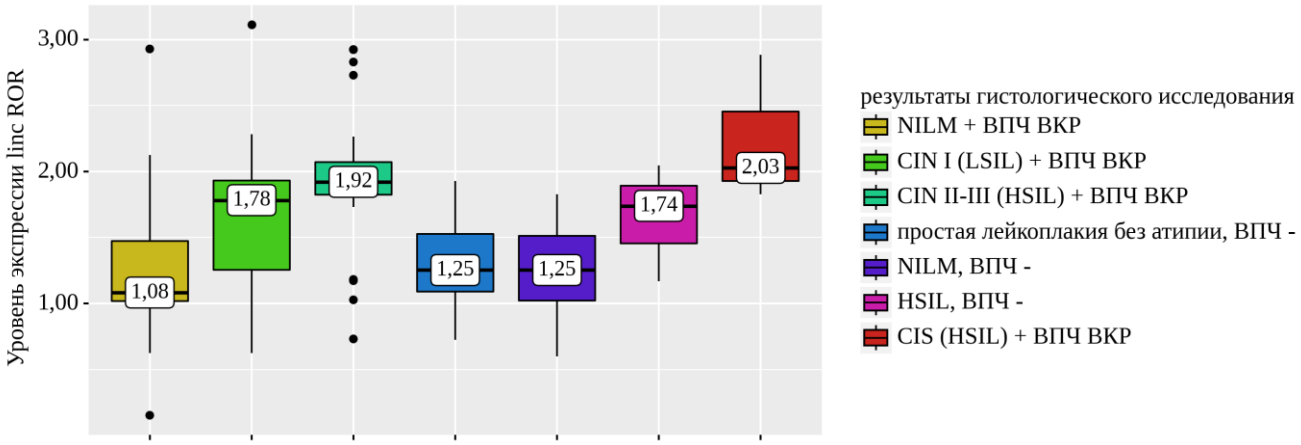

Рисунок 24 – Анализ отношения уровней днРНК lincROR в исследуемых группах

При LSIL сверхэкспрессия lincROR отмечена в 61,22% (30/49) случаев, при HSIL – в 74% (21/31) случаев. В группах 1 (NILM + ВПЧ ВКР), 4 (простая лейкоплакия без атипии, ВПЧ -) и 5 (NILM, ВПЧ -) не было выявлено статистически значимых различий (p>0,05, критерий Краскела-Уоллиса). Наивысший уровень экспрессии lincROR был у пациенток с гистологическим заключением CIS (HSIL) и составлял 2,03 [1,93; 2,45], что превышало нормальные значения в 1,624 раз (p=0,043, критерий Краскела-Уоллиса). У всех 3 пациенток с гистологическим заключением CIS (HSIL) отмечалось повышение уровня экспрессии lincROR.

При анализе уровня экспрессии MALAT1 были установлены статистически значимые различия: при гистологических заключениях CIN I (LSIL) и CIN II-III (HSIL) его уровень экспрессии повышался в 2,26 и 3,94 раз и составлял 3,23 [2,27; 3,92] и 5,73 [3,06; 6,46] соответственно (p<0,001, критерий Краскела-Уоллиса) (таблица 33, рисунок 25). Экспрессия MALAT1 повышалась в 85,7% (42/49) случаев LSIL и в 90,3% (28/31) случаев HSIL. В группе пациенток с нормальной цитологической картиной и ВПЧ-ВКР инфекцией медиана уровня экспрессии MALAT1 была выше относительно группы сравнения и составляла 2,20 [1,70; 2,96] (p= 0,015, критерий Краскела-Уоллиса). При этом повышенная экспрессия выявлялась в 58,1% (25/43) случаев. Экспрессия MALAT1 достоверно не

отличалась в группах пациенток с простой лейкоплакией шейки матки и нормальной цитологический картиной при отсутствии инфицирования ВПЧ и составляла 1,83 [1,28; 2,03] и 1,43 [1,25; 1,93] (p>0,05, критерий Краскела-Уоллиса). В группе с гистологическим заключением HSIL при отсутствии ВПЧ-инфекции уровень экспрессии MALAT1 был повышен относительно группы сравнения в 3,9 раз и составил 5,64 [3,33; 6,46] (p<0,05, критерий Краскела-Уоллиса). Экспрессия MALAT1 повышалась в 66,7% (2/3) случаев. При гистологическом заключении CIS (HSIL) экспрессия MALAT1 в 100% случаев была выше, чем в неизмененном цервикальном эпителии и составила 4,87 [4,36; 7,43] (p= 0,007, критерий Краскела-Уоллиса).

Таблица 33 – Анализ экспрессии днРНК MALAT1 в исследуемых группах

CIN по результатам гистологического исследования	Относительный уровень экспрессии MALAT1			p
	Me	$Q_1 – Q_3$	n	
NILM + ВПЧ ВКР	2,20	1,70 – 2,96	43	< 0,001* p_{2-1} = 0,039 p_{3-1} < 0,001 p_{5-1} = 0,015 p_{4-2} < 0,001 p_{5-2} < 0,001 p_{4-3} < 0,001 p_{5-3}< 0,001 p_{7-4} = 0,023 p_{7-5} = 0,007
CIN I (LSIL) + ВПЧ ВКР	3,23	2,27 – 3,92	49	
CIN II-III (HSIL) + ВПЧ ВКР	5,73	3,06 – 6,46	31	
простая лейкоплакия без атипии, ВПЧ -	1,83	1,28 – 2,03	36	
NILM, ВПЧ -	1,43	1,25 – 1,93	45	
HSIL, ВПЧ -	5,64	3,33 – 6,46	3	
CIS (HSIL) + ВПЧ ВКР	4,87	4,36 – 7,43	3	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

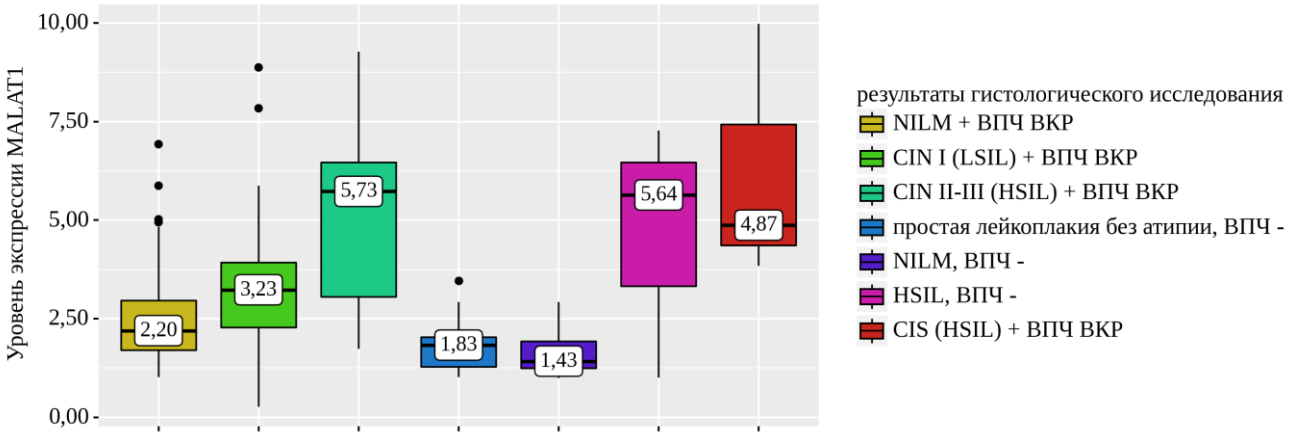

Рисунок 25 – Анализ отношения уровней днРНК MALAT1 в исследуемых группах

Уровень экспрессии MALAT1 повышается при любом варианте интраэпителиальных поражений шейки матки и зависит от степени дисплазии. Уровень гена lincROR также повышен при любой степени тяжести SIL независимо от наличия ВПЧ-инфекции. Таким образом, MALAT1 и lincROR могут стать новыми перспективными прогностическими маркерами диагностики дисплазии шейки матки и перехода цервикальной интраэпителиальной неоплазии в рак, что позволит повысить качество ранней диагностики предраковых заболеваний и рака шейки матки и оптимизировать дифференцированную лечебную тактику.

3.8 Уровень экспрессии мРНК PON2, PON3, днРНК MALAT1 и lincROR и вирусная нагрузка

Мы провели корреляционный анализ взаимосвязи уровней экспрессии генов PON2, PON3, lincROR и MALAT1 и уровня вирусной нагрузки в исследуемых группах.

Наблюдаемая зависимость уровня экспрессии днРНК MALAT1 от уровня вирусной нагрузки описывается уравнением парной линейной регрессии:

$$Y_{MALAT1} = 0{,}624 \times X_{\text{Уровень вирусной нагрузки}} + 0{,}268$$

При увеличении уровня вирусной нагрузки на 1 lg следует ожидать увеличение уровня экспрессии днРНК MALAT1 на 0,624. Полученная модель объясняет 14,9% наблюдаемой дисперсии уровня экспрессии MALAT1 (таблица 34, рисунок 26).

Таблица 34 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи уровня вирусной нагрузки и уровня экспрессии днРНК MALAT1

Показатель	Характеристика корреляционной связи		
	ρ	Теснота связи по шкале Чеддока	p
Уровень вирусной нагрузки – Уровень экспрессии днРНК MALAT1	0,414	Умеренная	< 0,001*

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

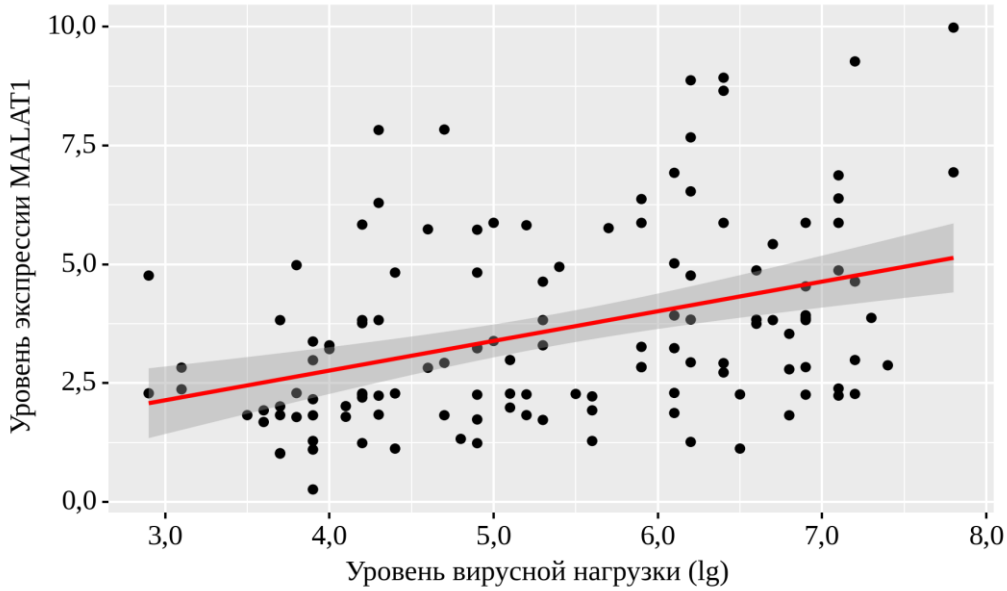

Рисунок 26 – График регрессионной функции, характеризующий зависимость уровня экспрессии днРНК MALAT1 от уровня вирусной нагрузки

Наблюдаемая зависимость уровня экспрессии lincROR от уровня вирусной нагрузки описывается уравнением парной линейной регрессии:

$Y_{\text{Уровень экспрессии linc ROR}} = 0{,}126 \times X_{\text{Уровень вирусной нагрузки}} + 0{,}862$

При увеличении уровня вирусной нагрузки на 1 lg следует ожидать увеличение уровня экспрессии днРНК lincROR на 0,126. Полученная модель объясняет 10,0% наблюдаемой дисперсии уровня экспрессии lincROR (таблица 35, рисунок 27).

Таблица 35 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи уровня вирусной нагрузки и уровня экспрессии днРНК lincROR

Показатель	Характеристика корреляционной связи		
	ρ	Теснота связи по шкале Чеддока	p
Уровень вирусной нагрузки – Уровень экспрессии linc ROR	0,364	Умеренная	< 0,001*

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

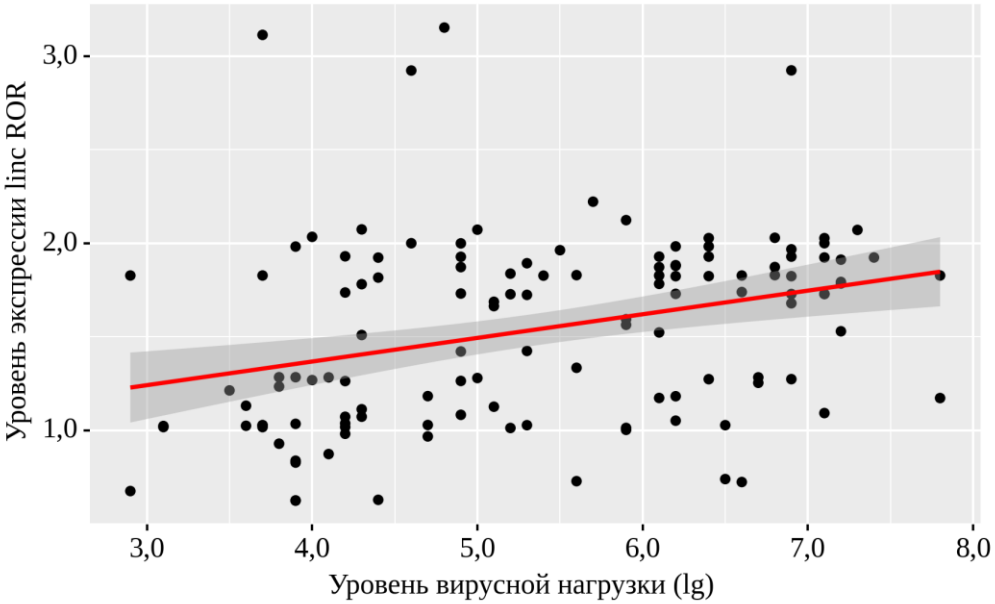

Рисунок 27 – График регрессионной функции, характеризующий зависимость уровня экспрессии днРНК lincROR от уровня вирусной нагрузки

Зависимость уровня экспрессии мРНК PON 2 от уровня вирусной нагрузки описывается уравнением парной линейной регрессии:

$Y_{\text{Уровень экспрессии PON 2}} = 1{,}761 \times X_{\text{Уровень вирусной нагрузки}} - 2{,}729$

При увеличении уровня вирусной нагрузки на 1 lg следует ожидать увеличение уровня экспрессии PON 2 на 1,761. Полученная модель объясняет 29,7% наблюдаемой дисперсии уровня экспрессии PON 2 (таблица 36, рисунок 28).

Таблица 36 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи уровня вирусной нагрузки и уровня экспрессии мРНК гена PON2

Показатель	Характеристика корреляционной связи		
	ρ	Теснота связи по шкале Чеддока	p
Уровень вирусной нагрузки – Уровень экспрессии PON 2	0,552	Заметная	< 0,001*

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

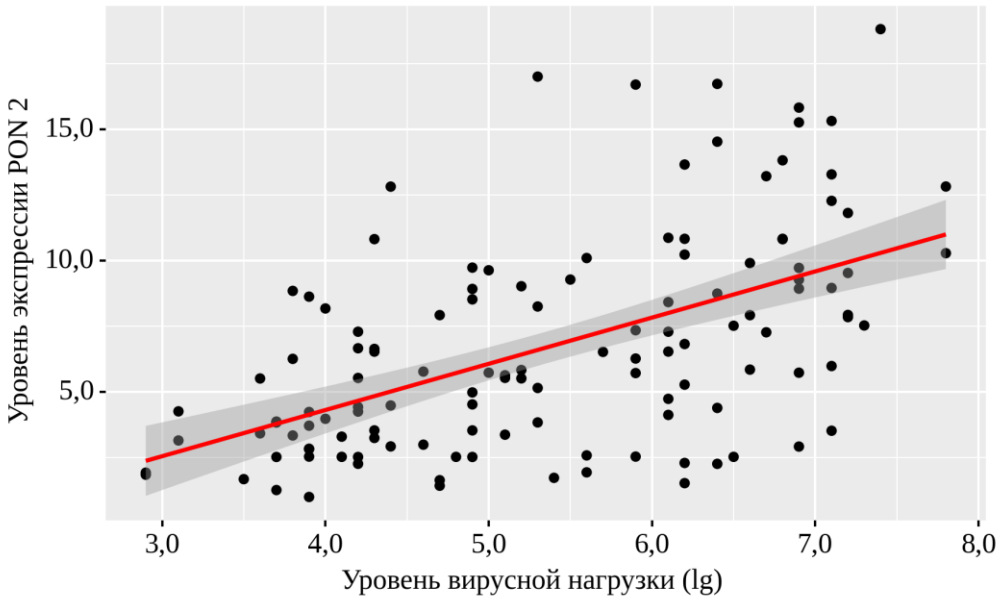

Рисунок 28 – График регрессионной функции, характеризующий зависимость уровня экспрессии мРНК гена PON2 от уровня вирусной нагрузки

Наблюдаемая зависимость уровня экспрессии мРНК гена PON3 от уровня вирусной нагрузки описывается уравнением парной линейной регрессии:

$Y_{\text{Уровень экспрессии PON3}} = 2{,}852 \times X_{\text{Уровень вирусной нагрузки}} - 6{,}799$

При увеличении уровня вирусной нагрузки на 1 lg следует ожидать увеличение уровня экспрессии PON3 на 2,852. Полученная модель объясняет 28,2% наблюдаемой дисперсии уровня экспрессии PON3 (таблица 37, рисунок 29).

Таблица 37 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи уровня вирусной нагрузки и уровня экспрессии мРНК гена PON3

Показатель	Характеристика корреляционной связи		
	ρ	Теснота связи по шкале Чеддока	p
Уровень вирусной нагрузки – Уровень экспрессии PON3	0,574	Заметная	< 0,001*

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

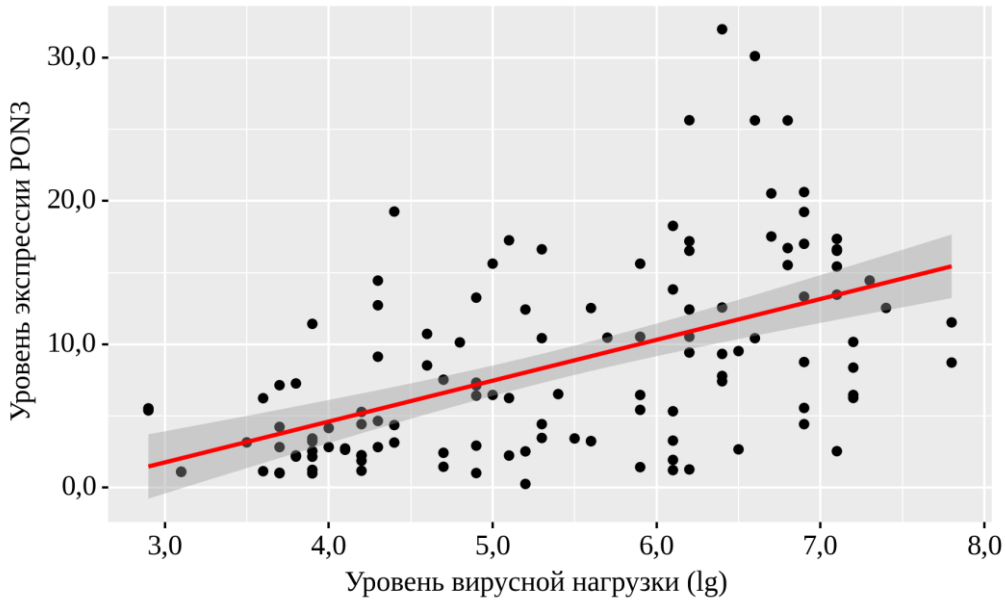

Рисунок 29 – График регрессионной функции, характеризующий зависимость уровня экспрессии мРНК PON3 от уровня вирусной нагрузки

Таким образом, уровень экспрессии генов PON2, PON3, lincROR и MALAT1 в эпителии шейки матки зависит не только от степени интраэпителиального поражения, но и от уровня вирусной нагрузки. Наиболее сильная прямая корреляционная связь выявлена между уровнем вирусной нагрузки и уровнем экспрессии мРНК генов PON2 и PON3 (теснота связи по шкале Чеддока: заметная).

3.9 Прогностическая модель озлокачествления заболеваний шейки матки

С целью выявления группы риска по прогрессированию интреэпителиальных поражений до дисплазии тяжелой степени (HSIL) и рака шейки матки нами был разработан индекс риска малигнизации (ИРМ) с помощью метода бинарной логистической регрессии. Предложенная прогностическая модель учитывает уровни экспрессии мРНК генов PON2, PON3, днРНК MALAT1 и lincROR. Чем ближе ИРМ к 1, тем больше вероятность развития рака шейки матки. Чем ближе ИРМ к 0, тем более вероятен благоприятный прогноз заболевания.

Индекс риска малигнизации рассчитывался по формуле:

$$\text{ИРМ} = \frac{1}{1+e^{-z}}$$

в которой e = 2,71828 – основание натурального логарифма,

$z = -7{,}733 + 0{,}367X_{MALAT1} + 1{,}359X_{linc\ ROR} + 0{,}209X_{PON\ 2} + 0{,}120X_{PON3}$

где ИРМ – индекс риска малигнизации,

X_{MALAT1} – уровень экспрессии MALAT1,

$X_{lincROR}$ – уровень экспрессии lincROR,

$X_{PON\ 2}$ – уровень экспрессии PON 2,

X_{PON3} – уровень экспрессии PON3.

За порог отсечения принята величина 0,5. Если ИРМ больше 0,5, то пациентка должна быть отнесена к группе высокого риска по прогрессированию дисплазии шейки матки.

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p < 0{,}001$). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель объясняет

59,0% наблюдаемой дисперсии показателя "HSIL". Следовательно от факторов, учитываемых в данной модели, вероятность прогрессирования дисплазии шейки матки зависит на 59,0%.

Исходя из значений регрессионных коэффициентов, была установлена прямая связь уровней экспрессии днРНК MALAT1, lincROR, мРНК PON2 и PON3 с вероятностью выявления HSIL (таблица 38, рисунок 30).

Таблица 38 – Характеристики связи предикторов модели с вероятностью выявления HSIL

Предикторы	Unadjusted		Adjusted	
	COR; 95% ДИ	p	AOR; 95% ДИ	p
Уровень экспрессии MALAT1	1,987; 1,594 – 2,477	< 0,001*	1,443; 1,112 – 1,874	0,006*
Уровень экспрессии linc ROR	9,850; 3,680 – 26,364	< 0,001*	3,893; 1,200 – 12,629	0,024*
Уровень экспрессии PON 2	1,542; 1,347 – 1,766	< 0,001*	1,232; 1,053 – 1,441	0,009*
Уровень экспрессии PON3	1,297; 1,196 – 1,406	< 0,001*	1,127; 1,023 – 1,242	0,016*

* – влияние предиктора статистически значимо (p < 0,05)

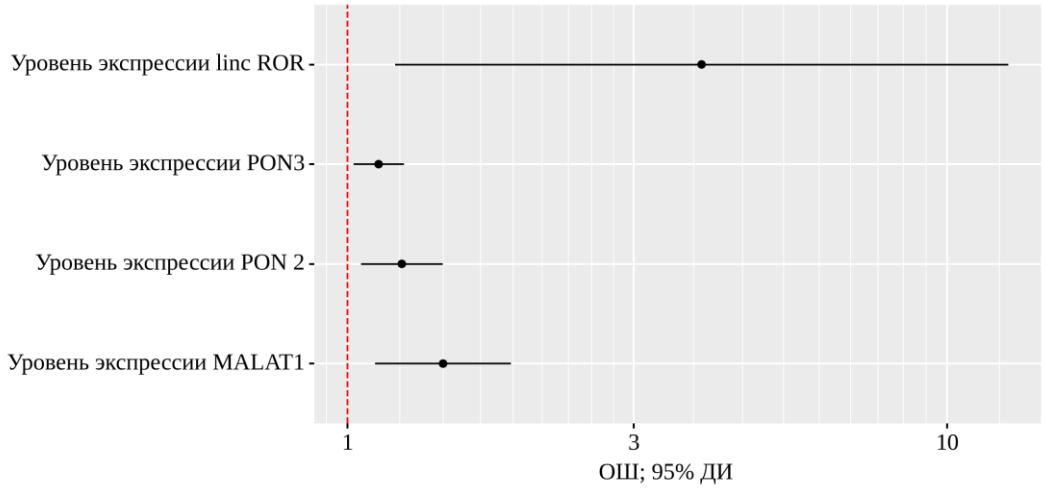

Рисунок 30 – Оценки отношения шансов с 95% ДИ для изучаемых предикторов HSIL

Оценка качества модели была проведена с использованием ROC-кривой. Основным критерием качества модели являлась оценка площади под кривой (AUC), в идеальном случае равняющаяся 1. Отсюда следует, что чем больше AUC, тем большей прогностической значимостью обладает модель.

На рисунке 31 отображена ROC-кривая прогностической модели ИРМ, основанной на уровне экспрессии генов PON2, PON3, MALAT1 и lincROR. Площадь под ROC-кривой составила 0,942 ± 0,028 с 95% ДИ: 0,887 – 0,997. Полученная модель была статистически значимой (p< 0,001).

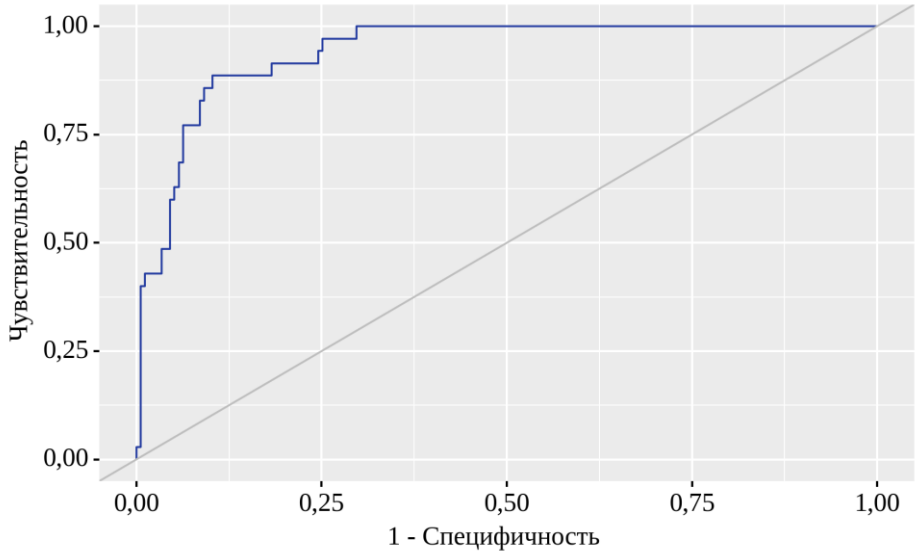

Рисунок 31 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности HSIL от значения логистической функции ИРМ

Пороговое значение логистической функции ИРМ в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 0,218 (таблица 39). HSIL+ прогнозировалось при значении логистической функции P выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность модели составили 88,6% и 89,7%, соответственно (таблица 39, рисунок 32).

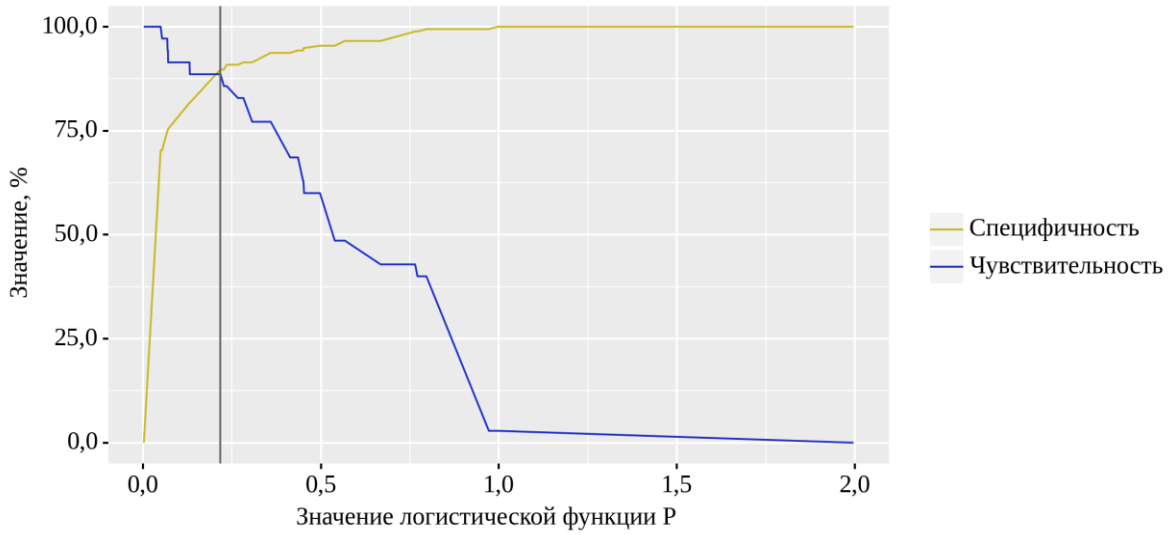

Рисунок 32 – Анализ чувствительности и специфичности модели в зависимости от пороговых значений логистической функции ИРМ

Таблица 39 – Пороговые значения логистической функции ИРМ

Порог	Чувствительность (Se), %	Специфичность (Sp), %	PPV	NPV
0,498	60,0	95,4	92,9	70,5
0,453	60,0	94,9	92,1	70,3
0,451	62,9	94,9	92,4	71,9
0,450	62,9	94,3	91,7	71,7
0,436	68,6	94,3	92,3	75,0
0,414	68,6	93,7	91,6	74,9
0,359	77,1	93,7	92,5	80,4
0,307	77,1	91,4	90,0	80,0
0,282	82,9	91,4	90,6	84,2
0,267	82,9	90,9	90,1	84,1
0,236	85,7	90,9	90,4	86,4
0,228	85,7	89,7	89,3	86,3
0,218	**88,6**	**89,7**	**89,6**	**88,7**
0,132	88,6	81,7	82,9	87,7
0,131	91,4	81,7	83,3	90,5
0,071	91,4	75,4	78,8	89,8
0,070	94,3	75,4	79,3	93,0
0,069	94,3	74,9	78,9	92,9
0,069	97,1	74,9	79,4	96,3
0,054	97,1	70,3	76,6	96,1
0,050	100,0	70,3	77,1	100,0

Нами установлено, что индекс риска малигнизации, учитывающий уровень экспрессии мРНК PON2, PON3, днРНК lincROR и MALAT1 в эпителии шейки матки, с высокой чувствительностью (88,6%) и специфичностью (89,7%) характеризует тяжесть интраэпителиальных поражений. Это позволяет нам рекомендовать использование расчета индекса риска малигнизации для прогнозирования риска озлокачествления заболеваний шейки матки.

3.10 Ведение пациенток с морфологически верифицированным LSIL

При выявлении кольпоскопических измененииий у пациенток с нормальной цитологической картиной, а также при цитологическом заключении «LSIL» выполнялась прицельная радиоволновая биопсия шейки матки, при заключении «HSIL» проводилось выскабливание цервикального канала и радиоволновая циркулярная эксцизия шейки матки. Цервикальная интраэпителиальная неоплазия (CIN) была морфологически верифицирована у 86 (40,9%) обследованных пациенток: в группе 1 (NILM+ ВПЧ ВКР) – в 10 (27%) случаях, в группе 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – в 33 (76,7%), в группе 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – в 40 (86,9%) случаях, в группе 4 (NILM, гиперкератоз плоского эпителия, ВПЧ -) – в 3 (7,7%) случаях (таблица 28, таблица 29).

В группе пациенток с LSIL в аномальное повышение экспрессии гена PON2 выявлено в 46,9% (23/49), PON3 – в 32,65% (16/49), lincROR – в 22,45% (11/49), и MALAT1 – в 53% (26/49) случаев, что свидетельствует о наличии тяжелой степени интраэпителиального поражения. При анализе факторов риска у пациенток с морфологически верифицированным LSIL и сверхэкспрессией генов PON2, PON3, lincROR и MALAT1, характерной для HSIL, в 75% (27/36) случаев, выявлена персистенция ВПЧ ВКР более 2 лет, высокий уровень вирусной нагрузки – 6,1 lg [4,7 – 6,7lg], более 5 половых партнеров в анамнезе. Наиболее часто, в 30,6% (11/36) случаев, встречалось инфицирование несколькими типами ВПЧ ВКР, в 27,8% (10/36) ВПЧ 16 типа, в 16,7% (6/36) ВПЧ 31 типа, в 5,6% (2/36) случаев ВПЧ 18 типа. Урогенитальные инфекции в группе пациенток с аномально высокими

значениями экспрессии генов PON2, PON3, lincROR и MALAT1 встречались статистически чаще, чем у пациенток с нормальными значениями экспрессии данных генов: HSV II в 25% (9/36), Chlamydia trachomatis в 5,6% (2/36), Trichomonas vaginalis в 2,8% (1/36), бактериальный вагиноз в 25% (9/36), кандидозный вульвовагинит в 16,7% (6/36) случаев. Всем пациенткам с LSIL был рассчитан ИРМ. ИРМ> 0,5 выявлен у 34,7% (17/49) пациенток с LSIL, которым в связи с высоким риском прогрессирования дисплазии была выполнена петлевая электрохирургическая эксцизия шейки матки. По результатам гистологического исследования в 64,7% (11/17) случаев был диагностирован HSIL (CIN II-III), что свидетельствует о значимости маркеров PON2, PON3, lincROR и MALAT1 в диагностике предраковых заболеваний шейки матки. Алгоритм обследования пациенток с заболеваниями шейки матки представлен на рисунке 33.

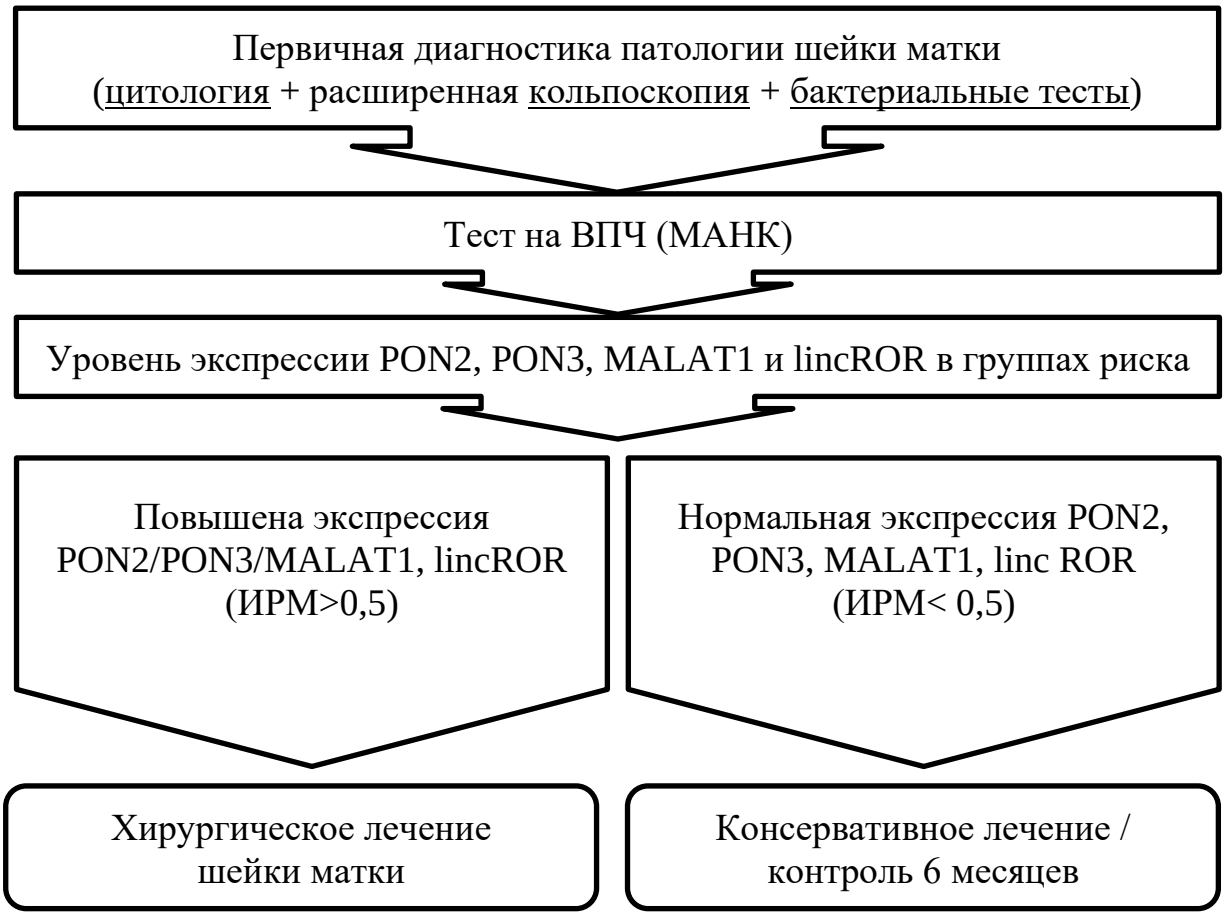

Рисунок 33 – Алгоритм обследования пациенток с заболеваниями шейки матки

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проблема онкологической трансформации цервикального эпителия в настоящее время чрезвычайно актуальна. Несмотря на то, что этиологические агенты рака шейки матки четко определены и во всем мире повсеместно внедрены скрининговые программы и вакцинация от ВПЧ инфекции, оно по прежднему остается на лидирующих позициях по заболеваемости и смертности среди онкологических заболеваний женской репродуктивной системы.

По результатам обзора мировых литературных данных папилломавирусная инфекция является самой распространенной инфекцией в мире, передающейся половым путем [43, 75, 167] и зарегистрирована у 440 – 600 млн населения мира [174]. Длительная персистенция высокоонкогенных типов вируса папилломы человека (ВПЧ) в базальных и парабазальных клетках цервикального эпителия является достоверным этиологическим агентом развития дисплазии и рака шейки матки [126, 150, 180]. Результаты проведенного нами ретроспективного исследования не противоречат мировым литературным данным: дисплазия шейки матки встречалась только у носителей ВПЧ высокого канцерогенного риска, при этом наиболее часто встречались ВПЧ 16 и 18 типов. Согласно результатам проспективного исследования в 3 (7,69%) случаях HSIL не наблюдалось инфицирования ВПЧ, что говорит о важности учитывания иных этиологических факторов и более углубленного изучения патогенеза злокачественной трансформации цервикального эпителия.

Среди ВПЧ-положительных пациенток наиболее часто встречается отсутствие интраэпителиальных изменений и злокачественных процессов. В группах пациенток с интраэпителиальными поражениями статистически чаще наблюдалась легкая степень дисплазии (LSIL), что подтвердилось патоморфологически ($p< 0,01$). По результатам ретроспективного анализа из 198 пациенток с ВПЧ-инфекцией аномальный результат цитологического исследования выявлен в 89 (44,9%) случаев: ASCUS в 19 (9,6%), LSIL в 47 (23,73%) и HSIL в 23 (11,62%)

случаев. Наиболее часто встречалось цитологическое заключение NILM – в 109 (55,05%) изученных историй болезней. Среди пациенток, инфицированных высокоонкогенными штаммами ВПЧ, статистически чаще (в 70,8% случаев) выявлялась нормальная цитологическая картина (критерий Манна-Уитни, $p>0,05$).

По результатам проведенного ретроспективного анализа 198 историй болезней пациенток репродуктивного возраста (18-49 лет) с ВПЧ инфекцией выявлена достоверно более высокая частота встречаемости ВПЧ высокого онкогенного риска по сравнению с ВПЧ низкого онкогенного риска: частота встречаемости ВПЧ высокого онкогенного риска составила 154 (77,8%), ВПЧ низкого онкогенного риска 44 (22,2%) пациенток. Отмечена высокая степень самопроизвольного исчезновения ВПЧ инфекции и небольшой процент прогрессирования дисплазии через 12 месяцев наблюдения.

Существующие на данный момент методы диагностики заболеваний шейки матки, к сожалению, не позволяют в полной мере прогнозировать риск злокачественного перерождения цервикального эпителия. Поэтому исследование вирусной нагрузки, цитологический, морфологический, иммуноцитохимический и гистохимическмй методы дифференциальной диагностики заболеваний шейки матки необходимо дополнить молекулярно-генетическим методом исследования уровня экспрессии мРНК генов, ответственных за антиокидантную защиту, регуляцию процессов апоптоза и клеточной репликации, что позволит выявить нарушения клеточного гомеостаза на раннем этапе развития заболевания.

Целью диссертационного исследования являлась оценка прогнозирования течения заболеваний шейки матки на основе разработки новых молекулярно-генетических диагностических критериев опухолевой трансформации.

В проспективное исследование были включены 165 пациенток репродуктивного возраста (от 18 до 49 лет), обратившихся в Центральную поликлинику ФГБУЗ КБ №85 ФМБА России и ГБУЗ ГКБ им. братьев Бахрушиных ДЗМ в период с октября 2015 г. по февраль 2020 г по поводу заболеваний шейки матки. В зависимости от

результатов ВПЧ-тестирования и цитологического исследования пациентки были распределены по 5 группам: группа 1 – NILM + ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) (n=37), группа 2 – LSIL + ВПЧ ВКР (n=43), группа 3 – HSIL + ВПЧ ВКР (n=46), группа 4 – NILM, гиперкератоз плоского эпителия, отрицательный тест на ВПЧ (n=39). В группу сравнения включено 45 пациенток репродуктивного возраста с отрицательным тестом на ВПЧ и цитологическим заключением NILM. При анализе клинико-анамнестических данных не было выявлено статистически значимых отличий между группами по возрасту, антропометрическим данным, менструальной функции, хроническим заболеваниям.

При анализе перенесенных гинекологических заболеваний были выявлены статистически значимые различия среди исследуемых групп в частоте выявления инфекций, передающихся половым путем (ИППП) в анамнезе. ВПГ-2 выявлялся у 3 (8,1%) пациенток с NILM+ВПЧ ВКР, у 9 (20,9%) пациенток с LSIL, у 8 (17,4%) пациенток с HSIL, у 1 (5,1%) пациентки с лейкоплакией шейки матки и у 2 пациенток группы сравнения. Бактериальные инфекции (Micoplasma genitalium, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Trichomonas vaginalis) выявлены в 25 (11,9%) случаев, из них смешанные бактериально-вирусные инфекции – в 17 (68%). Бактериальный вагиноз выявлялся в 42 случаях (20%): у 5 (13,5%) пациенток с NILM+ВПЧ ВКР, у 9 (20,9%) пациенток с LSIL, у 15 (32,6%) пациенток с HSIL, у 9 (23,1%) пациентки с лейкоплакией шейки матки и у 4 (8,9%) пациенток группы сравнения. Полученные данные не противоречат мировым литературным данным и сопоставимы с результатами исследования, проведенном Y. Zhao и X. Cao в 2012г., в котором было показано, что наличие ВПЧ и ВПГ 2 типа статистически значимо ассоциировано с развитием тяжелой дисплазии (ОШ 34,2; $p<0,01$) и рака шейки матки (ОШ 61,1; $p<0,01$) [194]. Хламидийная инфекция является фактором риска прогрессирования дисплазии шейки матки. Многочисленные исследования доказали связь наличия инфицирования Chlamydia trachomatis с неоплазией и

инвазивным раком шейки матки [122, 176]. В результате крупного когортного исследования ВПЧ-положительных женщин установлено, что наличие в анамнезе хламидиоза служит значимым фактором риска персистенции ВПЧ [156, 176].

Согласно результатам исследования, у пациенток с ВПЧ-инфекцией и плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки статистически чаще встречалось сочетание эндометриоза, миомы матки, гиперплазии эндометрия и доброкачественной дисплазии молочной желез относительно группы сравнения ($p < 0,001$) (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона). Это свидетельствует о взаимосвязанных механизмах патогенеза данных процессов, которые включают дисбаланс половых гормонов, хроническое воспаление, оксидативный стресс, избыточную клеточную пролиферацию и снижение апоптоза.

Анализ половой жизни выявил более ранний половой дебют у пациенток с ВПЧ инфекцией относительно группы сравнения ($p < 0,05$). Среди участниц исследования наиболее рано (в среднем, в 17 лет) половую жизнь начинали пациентки с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями ($p < 0,001$, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса). Тяжесть интраэпителиальных поражений зависела от количества половых партнеров: среднее количество половых партнеров у пациенток с дисплазией шейки матки оказалось статистически больше, чем в остальных группах ($p < 0,001$) (используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса). Наибольшее количество половых партнеров наблюдалось у пациенток с тяжелой степенью интраэпителиальных поражений и в среднем составляло более 5. Длительность персистенции ВПЧ-инфекции также зависела от количества половых партнеров: у пациенток с длительной персистенцией ВПЧ инфекции в среднем в анамнезе было больше половых партнеров (Me=4) по сравнению с пациентками, у которых отсутствовал ВПЧ по результатам ПЦР – исследования или длительностью инфекции менее 2 лет (Me = 2) ($p < 0,001$, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса).

При сравнении встречаемости типов ВПЧ оказалось, что во всех исследованных группах доминирующим типом явился ВПЧ 16 типа – в 38 (30,2%) случаев, далее генотипы 18 (11,9%), 31 (11,9%), 33 (6,35%), 35 и 59 (3,9%), 39 (2,3%), 45 (2,3%), 51 (3,9%), 52 (1,59%), 56 и 58 (0,79%) 59 (3,7%), 68 (1,59 %). Сочетание нескольких генотипов ВПЧ было выявлено в 23 (18,25%) случаях. Среди смешанных инфекций чаще встречались сочетания 16 и 18 генотипов, которые выявлялись в 53,3% случаев, затем 16 и 31 генотипы – в 33,3%, 18 и 33 в 13,4% случаев. В группе пациенток с тяжелой степенью интраэпителиальных поражений наиболее часто встречались генотипы 16 (17/37,0% случаев) и 31 (10/21,7% случаев). Преобладающими генотипами у пациенток с легкой степенью интраэпителиальных поражений были 16 (11/25,6% случаев) и 18 (6/14% случаев).

Вирусная нагрузка в группе 1 (NILM + ВПЧ ВКР) составила 4,2 lg [3,8; 4,9 lg], в группе 2 (LSIL + ВПЧ ВКР) – 5,3 lg [4,3; 6,7 lg], в группе 3 (HSIL + ВПЧ ВКР) – 6,2 lg [5,2; 6,9 lg]. Наивысшая вирусная нагрузка выявлялась в группе пациенток с дисплазией шейки матки тяжелой степени ($p < 0,001$, используемый метод: Хи-квадрат Пирсона). В ходе исследования определена высокая частота встречаемости ВПЧ высокого канцерогенного риска у пациенток как с легкой, так и с тяжелой степенью интраэпителиальных поражений. По результатам исследования, проведенного Wang X. и соавторами в 2018г., ВПЧ 16 и 18 являются наиболее вирулентными генотипами высокого онкогенного риска, вызывающими около 70% всех инвазивных видов рака шейки матки в мире [55, 185, 194].

Изменения эпителия шейки матки при расширенной кольпоскопии статистически чаще выявлялись в группах ВПЧ-инфицированных пациенток по сравнению с остальными группами ($p>0,05$). Степень выраженности изменений напрямую зависела от степени тяжести интраэпителиальных поражений. Выраженные кольпоскопические изменения статистически чаще наблюдались в 3 группе (HSIL + ВПЧ ВКР): плотный ацетобелый эпителий выявлялся в 30 (65,2%) случаях, грубая мозаика в 19 (41,3%) и грубая пунктация в 7 (15,2%) ($p<0,05$,

используемый метод: Хи-квадрат Пирсона). По результатам исследования у 17 (36,9%) пациенток группы 3 (HSIL/ВПЧ ВР) с наличием выраженных кольпоскопических изменений был выявлен ВПЧ 16 типа, у 8 (17,4%) – ВПЧ 31 типа. У пациенток группы 3 (HSIL/ВПЧ ВР) статистически чаще наблюдалась кольпоскопическая картина с невозможностью визуализации ЗТ по сравнению с группами ($p<0,05$, используемый метод: Хи-квадрат Пирсона). Таким образом, у пациенток ЗТ, визуализируемой не полностью, существует риск гиподиагностики цервикальных интраэпителиальных поражений.

В настоящее время в клинической практике не существует диагностических методов, позволяющих прогнозировать течение предраковых процессов шейки матки. Оценка прогнозов злокачественной трансформации цервикального эпителия имеет критически важное значение, поскольку женщины, у которых инвазивный рак обнаруживается на ранних стадиях, имеют существенно более высокие шансы на излечение, что в свою очередь, эффективно с точки зрения экономических затрат. Для решения этой задачи мы исследовали уровни экспрессии мРНК генов антиоксидантной защиты организма (параоксоназ) и длинных некодирующих РНК (lincROR, MALAT 1), регулирующих пролиферацию, апоптоз, миграцию и инвазию клеток, и определили их клиническое значение для выбора научно-обоснованной дифференцированной тактики ведения больных с заболеваниями шейки матки.

Определяющим этапом патогенеза рака, связанного с ВПЧ, является активация вирусных онкогенов Е6 и Е7 в базальных и парабазальных клетках инфицированного эпителия, что приводит к хромосомной нестабильности и серьезным численным и структурным изменениям хромосом клеток-хозяина. Следствием этого является неравномерное распределение общего содержания ДНК (анеуплоидии), что отражается в сдвигах картины окрашивания ядер (интенсивности окрашивания). Когда вирусный геном интегрируется в геном ДНК хозяина, Е6 и Е7 активируются и впоследствии нарушают регуляцию критических

белков в клеточных сигнальных путях, таких как ингибирование двух важных белков-супрессоров опухолей, p53 и pRb. Lau et al. сообщили, что онкогены ДНК вируса, включая E7, могут связывать и подавлять ДНК-сенсорный путь cGAS-STING. Было задокументировано, что не все интеграции обязательно зависят от экспрессии онкогенов E6 и E7. В дополнение, у рака шейки матки есть драйверные мутации, такие как PIK3CA (каталитическая субъединица фосфатидилинозитид-3-киназы α), ключевой белок в пути PI3K, KRAS (гомолог вирусного онкогена саркомы крыс Кирстен) и EGFR (рецептор эпидермального фактора роста).

При плоскоклеточном интраэпителиальном поражении шейки матки низкой степени тяжести происходит раннее нарушение регуляции клеточного цикла. Есть повышенные уровни E6 и E7 в базальном и парабазальном слоях, и поэтому присутствует белковый комплекс обслуживания минихромосом (MCM), необходимый для репликации геномной ДНК. Из-за нарушения регуляции E6 и E7 в нижних слоях эпителия начинает появляться маркер онкогенной активности ВПЧ p16.

В случае плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени тяжести клеточная активность полностью нарушена, и аномальные базальные и парабазальные клетки выталкиваются вверх через клеточные слои. В то же время E4 появляется все выше и выше в клеточных слоях и в конечном итоге исчезает, p16 будет присутствовать и обнаруживаться на гистологическом срезе. Это связано с тем, что p16 сверхэкспрессируется в поражениях высокой степени.

Развитию диспластических процессов шейки матки способствуют многие внешние и внутренние факторы, наиболее значимыми из которых являются инфицированность вирусом ВПЧ [6] и хронические воспалительные заболевания шейки матки [7], сопровождающиеся развитием гипоксии, митохондиальной дисфункции и окислительного стресса [8,9]. В совокупности эти процессы запускают триггерный механизм повреждения цервикального эпителия, что, в

конечном счете, может привести к развитию рака шейки матки. Параоксоназы – это группа ферментов, представленная PON1, PON2, и PON3. Данные ферменты обладают широкой специфичностью и являются универсальными катализаторами многих клеточных процессов, воздействия на рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами PPAR [69, 110, 179]. Паракосоназы по химической структуре относятся к классу гидралаз, поэтому они нейтрализуют свободные радикалы кислорода, защищают липиды клеточных мембран от перекисного окисления, обладают противовоспалительными свойствами, а также регулируют процессы апоптоза [61]. Снижение активности параоксоназ сопровождается усилением окислительного стресса и увеличением риска развития атеросклероза, обменных нарушений, воспалительных заболеваний и опухолевого роста[32, 33, 35, 69, 110, 131, 170]. Повышенная экспрессия гена PON2 была выявлена во многих злокачественных опухолях, включая рак шейки матки.

Апоптоз играет важнейшую роль в регуляции клеточного цикла. Для поддержания стабильности и целостности клеточного генома макроорганизма необходим регулируемый процесс программируемой гибели клетки. Опухолевые клетки способны подавлять апоптоз в связи с неравномерной экспрессией про- и антиапоптических белков. По результатам исследования И. Витте и соавт. (Германия), фермент PON2 стабилизирует и защищает опухолевые клетки от апоптоза [185]. Учеными Е.М. Швайкерт и др. (Германия) выявлен повышенный уровень фермента PON3 в раковых клетках и доказано, что PON3 защищает раковые клетки от гибели [145]. Каждое из приведенных исследований доказывает, что параоксоназы играют важную роль в патогенезе воспалительных процессов, токсикологических, инфекционных и онкологических заболеваний [61, 160].

Согласно результатам диссертационного исследования установлено, что экспрессия гена, кодирующего фермент параоксоназы 1 типа, во всех исследуемых образцах шейки матки не выявлялась. Уровень экспрессии PON2 в неизмененном эпителии шейки матки составил 2,63 [1,92; 3,73]. У носительниц ВПЧ-инфекции с

нормальной цитологической картиной уровень экспрессии PON2 достоверно не отличался от группы сравнения и составил 3,37 [2,53; 4,86] (p >0,05, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса). При простой лейкоплакии шейки матки без атипии выявлен повышенный уровень экспрессии гена PON 2 и составил 3,85 [2,70; 5,66] (p = 0,039, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса). При наличии SIL уровень экспрессии гена PON2 был значительно повышен: при LSIL уровень его экспрессии был в 2,5 раза больше, чем в группе сравнения и составил 6,54 [4,25; 8,26], при HSIL + ВПЧ ВКР отмечено повышение экспрессии в 3,8 раз и составило 10,10 [6,88; 13,75] (p < 0,001, используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса). У пациенток с гистологическим заключением HSIL и отрицательным тестом на ВПЧ уровень экспрессии PON 2 также был несколько выше относительно группы сравнения и составил 4,54 [4,13; 5,09]. Таким образом, при наличии цервикальных интраэпителиальных поражений независимо от наличия ВПЧ-инфекции выявлялся повышенный уровень экспрессии PON2.

В группе пациенток с неизмененным эпителием шейки матки отмечена экспрессия гена PON3 и составляет 2,26 [1,25; 3,53]. При наличии интраэпителиальных повреждений шейки матки уровень экспрессии PON3 значительно возрастает: в 2,76 раз при LSIL и в 5,56 раз при HSIL относительно группы сравнения (p<0,001, Критерий Краскела-Уоллиса). При простой лейкоплакии без атипии также была выявлена повышенная экспрессия гена PON3 и составила 5,25 [2,58; 6,54], что в 2,32 раза выше, чем в группе сравнения (p=0,006, Критерий Краскела-Уоллиса). При CIS (HSIL) относительный уровень экспрессии гена, кодирующего PON3, был в 8,2 раза выше, чем в группе пациенток с неизмененным цервикальным эпителием и составил 18,53 [17,53; 25,03]. При гистологическом заключении HSIL и отсутствии ВПЧ-инфицирования уровень экспрессии PON3 также был повышен в 3,33 раза и составил 7,53 [6,04; 7,60]. Важно отметить, что уровень экспресии генов PON2 и PON3 в цервикальном эпителии напрямую зависит от уровня вирусной нагрузки ВПЧ ВКР (p <0,001). В

ходе исследования выявлена сильная прямая корреляционная связь между уровнем вирусной нагрузки и повышением экспрессии генов PON2 и PON3 (теснота связи по шкале Чеддока заметная, p <0,001).

Таким образом, экспрессия гена, кодирующего фермент PON1, в цервикальном эпителии отсутствует и не изменяется в зависимости от тяжести интраэпителиального поражения. У пациенток с морфологически верифицированным диагнозом LSIL и HSIL имеет место повышенная экспрессия PON2 и PON3, что отражает активацию окислительного стресса и блокирование процессов апоптоза у данной категории женщин. Повышение экспрессии PON2 и PON3 напрямую коррелирует со степенью выраженности цервикальной интраэпителиальной неоплазии и уровнем вирусной нагрузки.

Длинные некодирующие РНК могут играть существенную роль в неопластической трансформации цервикальных интраэпителиальных неоплазий [64, 114, 192, 204]. Проведены исследования, подтверждающие взаимосвязь неблагоприятного прогноза рака шейки матки, высокого уровня циркулирующего HOTAIR9 [134, 190] и низкого уровня GAS510 и XLOC_01058811 [40, 86]. LincROR – регуляторный фактор, влияющий на возникновение и развитие опухолей человека, включая рак груди, колоректальный рак, рак поджелудочной железы, гепатоцеллюлярную карциному и др. [37, 198]. LincROR регулирует процессы перепрограммирования плюрипотентных стволовых клеток и подавляет индукцию опухолевого белка p53 после повреждения ДНК [37, 198]. Эта РНК также способна модулировать ответ на гипоксию в клетках опухолей и активировать эпителиально-мезенхимальный переход [37]. Сверхрегуляция lincROR положительно коррелирует с клинико-патологическими характеристиками и прогрессией опухолей [130]. Уровень экспрессии lincROR был существенно повышен в образцах клеточных линий папиллярных карцином щитовидной железы, а также в образцах метастатических РТС и клеточных линиях РТС [37, 38]. Поскольку linc-ROR может регулировать пролиферацию, апоптоз, миграцию и инвазию клеток, он

может использоваться в качестве потенциального биомаркера для пациентов с опухолями и имеет потенциальное клиническое значение в качестве терапевтической мишени [38, 64, 192].

По результатам проведенного исследования выявлена повышенная экспрессия lincROR при интраэпителиальных поражениях шейки матки: при CINI (LSIL) 1,78 [1,25; 1,93], при CIN II-III (HSIL) 1,92 [1,83; 2,07] ($p< 0,001$, критерий Краскела-Уоллиса). Выраженность экспрессии зависела от степени тяжести дисплазии и уровня вирусной нагрузки. Наивысший уровень экспрессии lincROR был у пациенток с гистологическим заключением CIS (HSIL) и составлял 2,03 [1,93; 2,45], что превышало нормальные значения в 1,624 раз ($p=0,043$, критерий Краскела-Уоллиса).

Экспрессия циркулирующей длинной некодирующей РНК MALAT1 значительно повышена при раке шейки матки, в отличии от здоровых клеток [76, 159, 200]. Его экспрессия в раковых тканях значительно выше, чем в прилегающих нормальных тканях. Экспрессия MALAT1 коррелирует с размером опухоли, стадией FIGO, сосудистой инвазией и метастазами в лимфатические узлы и является независимым предиктором общей выживаемости при раке шейки матки. Когда эндогенный MALAT1 был подавлен, раковые клетки значительно снизили пролиферацию и инвазию и увеличили апоптоз [76, 159, 200]. ДнРНК РНК MALAT1 ускоряет рост опухоли при раке шейки матки путем ингибирования miR-124. MALAT1 может быть признан потенциальной мишенью для улучшения клинических эффектов при прогрессировании рака шейки матки [76, 159, 200]. Таким образом, MALAT1 может действовать как регулятор транскрипции для множества генов, участвующих в метастазировании рака и миграции клеток, а также в регуляции клеточного цикла. Выявлена повышенная экспрессия MALAT1 при раке молочной железы, яичников, шейки матки и эндометрия [76, 159].

Результаты проведенного нами исследования продемонстрировали повышенную экспрессию MALAT 1 при дисплазии шейки матки относительно

группы сравнения: при CIN I (LSIL) и CIN II-III (HSIL) его уровень экспрессии повышался в 2,26 и 3,94 раз и составлял 3,23 [2,27; 3,92] и 5,73 [3,06; 6,46] соответственно ($p<0,001$, критерий Краскела-Уоллиса). При носительстве ВПЧ-ВКР и нормальной цитологической картине уровень экспрессии MALAT1 был выше относительно группы сравнения и составлял 2,20 [1,70; 2,96] ($p= 0,015$, критерий Краскела-Уоллиса). Уровень экспрессии MALAT 1 повышается при любом варианте интраэпителиальных поражений шейки и зависит от степени дисплазии шейки матки, что не противоречит имеющимся литературным данным.

Одна из наиболее важных целей применения опухолевых маркеров – своевременная диагностика заболеваний шейки матки на ранних стадиях. MALAT 1 и lincROR могут использоваться в качестве прогностических маркеров диагностики дисплазии шейки матки и перехода цервикальной интраэпителиальной неоплазии в рак, что позволит повысить качество ранней диагностики предраковых заболеваний и рака шейки матки и оптимизировать дифференцированную лечебную тактику.

Возникновение рака шейки матки у женщин с негативным в отношении злокачественности и интраэпителиального порожения результатом цитологического исследования побуждает нас на поиск новых маркеров озлокачествления заболеваний шейки матки и на оптимизацию и усовершенствование существующего скрининга рака шейки матки. Более того, тактика ведения пациенток с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями легкой степени в настоящее время четко не определена и противоречива, особенно у молодых и нерожавших пациенток. В ходе исследования в группе пациенток с LSIL в аномальное повышение экспрессии гена PON2 выявлялось в 46,9% (23/49), PON3 – в 32,65% (16/49), lincROR – в 22,45% (11/49), и MALAT1 – в 53% (26/49) случаев, что свидетельствовало о наличии тяжелой степени интраэпителиального поражения. В данной группе пациенток был рассчитан ИРМ, которвый превышал пороговое значение 0,5 в 34,7% (17/49)

случаев. В связи с высоким риском прогрессирования дисплазии всем пациенткам из этой группы была выполнена петлевая электрохирургическая эксцизия шейки матки. По результатам гистологического исследования в 64,7% (11/17) случаев был диагностирован HSIL (CIN II-III), что наглядно демонстрирует значимость маркеров PON2, PON3, lincROR и MALAT1 в диагностике предраковых заболеваний шейки матки.

Проведенное исследование позволило установить, что уровень экспрессии генов, кодирующих PON2 и PON3, MALAT 1 и lincROR, является важным прогностическим фактором возможной неопластической трансформации цервикального эпителия. Пациентки, имеющие повышенную экспрессию генов параоксоназ 2 и 3 типа, MALAT 1 и lincROR могут быть отнесены к группе высокого риска по развитию рака шейки матки. Разработана прогностическая модель, учитывающая уровни экспрессии мРНК генов PON2, PON3, днРНК MALAT1 и lincROR, с целью выявления группы риска по прогрессированию интреэпителиальных поражений до дисплазии тяжелой степени (HSIL) и рака шейки матки.

ВЫВОДЫ

1. Прогрессирование и злокачественная трансформация цервикального эпителия ассоциированы с комплексом клинико-анамнестических факторов риска. К наиболее значимым независимым предикторам прогрессирования предраковых заболеваний шейки матки относятся длительная персистенция ВПЧ ВКР (более 2 лет) (ОШ 6,469, 95% ДИ: 2,959 – 14,140), высокий уровень вирусной нагрузки (более 5,3 lg копий) (ОШ 2,280, 95% ДИ: 1,527 – 3,404), ранний половой дебют (до 18 лет) (ОШ 0,813, 95% ДИ: 0,665 – 0,994), большое количество половых партнеров в анамнезе (более 5) (ОШ 1,403, 95% ДИ: 1,130 – 1,744), травматическое повреждение шейки матки (хирургическое лечение, аборты) (ОШ 1,560, 95% ДИ: 1,148 – 2,121), персистирующие урогенитальные инфекции (ОШ 2,129, 95% ДИ: 0,945– 4,797).

2. Экспрессия гена PON2 повышена в эпителии шейки матки 79,6% (39/49) пациенток с LSIL и 87% (27/31) пациенток с HSIL, гена PON3 в 73,47% (36/49) случаев LSIL и 93,5% (29/31) случаев HSIL, что патогенетически отражает активацию оксидативного стресса, митохондриальную дисфункцию и блокирование апоптоза. Степень дисплазии шейки матки напрямую зависит от уровня повышения экспрессии PON2 и PON3: при LSIL экспрессия PON2 повышена в 2,5 раза – 6,54 [4,25; 8,26], при HSIL в 3,8 раз – 10,10 [6,88; 13,75], экспрессия PON3 повышена в 2,76 раз при LSIL – 6,25 [3,43; 9,53], в 5,56 раз при HSIL – 12,57 [7,59; 17,10] ($p < 0,001$). Экспрессия гена PON1 не детектируется в эпителии шейки матки, что демонстрирует отсутствие его прогностической значимости в процессе опухолевой трансформации цервикального эпителия.

3. Отмечена сверхэкспрессия днРНК MALAT1 в 85,7% (42/49) случаев LSIL и 90,3% (28/31) HSIL, днРНК lincROR в 61,22% (30/49) случаев LSIL и 74% (21/31) HSIL. Уровень экспресии lincROR и MALAT1 зависит от степени тяжести интраэпителиальных поражений: при LSIL экспрессия MALAT1 повышена в 2,26 раз – 3,23 [2,27; 3,92], экспрессия lincROR в 1,4 раза – 1,78 [1,25; 1,93], при HSIL

экспрессия MALAT1 повышена в 3,94 раз – 5,73 [3,06; 6,46], lincROR в 1,54 раз – 1,92 [1,83; 2,07] (p<0,001). Повышение экспрессии днРНК lincROR и MALAT1 свидетельствует об усилении клеточной пролиферации, деградации продукта гена p53 – супрессора опухолевого роста и замедлении процессов апоптоза.

4. Степень тяжести интраэпителиальных поражений и уровень экспресии генов PON2, PON3, lincROR и MALAT1 в цервикальном эпителии зависят от уровня вирусной нагрузки ВПЧ ВКР (p <0,001). В группе пациенток с NILM медиана уровня вирусной нагрузки составила 4,2 lg [3,8; 4,9 lg], при LSIL – 5,3 lg [4,3; 6,7 lg], при HSIL – 6,2 lg [5,2; 6,9 lg]. Наиболее сильная прямая корреляционная связь выявлена между уровнем вирусной нагрузки и повышением экспрессии генов PON2 и PON3 (теснота связи по шкале Чеддока заметная, p <0,001).

5. Применение молекулярно-генетического метода исследования уровня экспрессии генов PON2, PON3, lincROR, MALAT1 в эпителии шейки матки и расчет индекса риска малигнизации (ИРМ) с высокой чувствительностью (88,6%) и специфичностью (89,7%) позволяют прогнозировать риск озлокачествления заболеваний шейки матки.

6. При морфологической верификации LSIL значительное повышение экспрессии гена PON2 выявлено в 46,9% (23/49), PON3 – в 32,65% (16/49), lincROR – в 22,45% (11/49), и MALAT1 – в 53% (26/49) случаев, что характерно для тяжелой степени интраэпителиального поражения. ИРМ> 0,5 выявлен у 34,7% (17/49) пациенток с LSIL, которым в связи с высоким риском прогрессирования дисплазии была выполнена петлевая электрохирургическая эксцизия шейки матки. По результатам гистологического исследования в 64,7% (11/17) случаев был диагностирован HSIL (CIN II-III), что свидетельствует о значимости маркеров PON2, PON3, lincROR и MALAT1 в диагностике предраковых заболеваний шейки матки.

Практические рекомендации:

1. В выявлении факторов риска озлокачествления заболеваний шейки матки необходимо учитывать не только факт наличия инфицирования вирусом папилломы человека, но и анамнестическую давность первичного диагноза, длительность персистенциии ВПЧ ВКР, уровень вирусной нагрузки, возраст полового дебюта, количество половых партнеров, наличие инфекций, передаваемых половым путем, травматических повреждений шейки матки в анамнезе, курение сигарет, социально-экономический статус пациентки.
2. У пациенток с морфологически подтвержденным LSIL, при высокой вирусной нагрузке (более 5,3 lg копий) рационально дополнительно проводить определение уровня экспрессии мРНК генов PON2, PON3, MALAT1 и lincROR и рассчитывать ИРМ с целью выявления группы высокого риска по прогрессированию дисплазии шейки матки.
3. При выявлении сверхэкспрессии PON 2 (более 6,88), PON3 (более 7,59), MALAT1 (более 3,06), lincROR (более 1,83) и ИРМ > 0,5 существует высокий риск прогрессирования дисплазии и развития рака шейки матки, что требует сокращения сроков динамического наблюдения и проведения хирургического лечения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АБЭ – ацетобелый эпителий

ВАК – высшая аттестационная комиссия

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВПЧ – вирус папилломы человека

ВПЧ ВКР – вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска

ВПЧ НКР – вирус папилломы человека низкого канцерогенного риска

днРНК (lncRNA) – длинные некодирующие РНК

ДЭК – диатермоэлектрокоагуляция

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ЗТ – зона трансформации

ИМТ – индекс массы тела

ИППП – инфекции, передающиеся половым путем

ИРМ – индекс риска малишгнизации

КС – кольпоскопия

мРНК – матричная РНК

ПЦР – полимеразно-цепная реакция

РШМ – рак шейки матки

СПКЯ – синдром поликистозных яичников

СРО – свободно-радикальное окисление

ACOG – American College of Obstetricians and Gynecologists

ASCUS – atypical squamous cells of undetermined significance

CIN – cervical intraepithelial neoplasia

CIS – carcinoma in situ

FDA – Food and Drug Administration

FIGO - International Federation of Gynecology and Obstetrics HSIL – high-grade squamous intraepithelial lesion

HSIL - high-grade squamous intraepithelial lesion

LEEP – loop electrosurgical excision procedure

LLETZ – large loop excision of the transformation zone

LSIL – low-grade squamous intraepithelial lesion

NILM – negative for intraepithelial lesion or malignancy PCR – polymerase chain reaction

Real-time PCR – ПЦР в режиме реального времени

PON – параоксоназа

Список литературы

1. Абрамовских О. С. [и др.]. Папилломавирусная инфекция урогенитального тракта : эпидемиологические аспекты (обзор) 2016. С. 34–39.

2. Курунова И. И. [и др.]. Эпидемиологические Аспекты Рака Шейки Матки // Дальневосточный Медицинский Журнал. 2013. № 3 (22). С. 130–134.

3. Н.М., ФЁДОРОВ, КАРПОВА А.А. РАК ШЕЙКИ МАТКИ: ДИНАМИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ И СМЕРТНОСТИ ЖЕНСКОГО НАСЕЛЕНИЯ ЮГА ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ ЗА ПЕРИОД 2014–2018 ГОДОВ // Клиническая и профилактическая медицина. 2019. (№4). С. 43–51.

4. Р.В. Пак ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ В МИРЕ // Вестник КазНМУ. 2019. № 46 (№1-2019). С. 17–22.

5. Цхай В.Б. , Круглова Д.Ю. С. А. А. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО СКРИНИНГА И ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА В ПРОФИЛАКТИКЕ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ // Розділ Iv. 2009. (9). С. 173–187.

6. Шахтахтинская Ф.Ч. , Намазова-Баранова Л.С. , Таточенко В.К. , Новикова Д.А. Т. Н. Е. Вирус папилломы человека. Профилактика ВПЧ-ассоциированных заболеваний // Вакцинация в современном мире. 2015. № 1 (12). С. 74–78.

7. Aidé S. [и др.]. Neoplasia intraepitelial cervical: Cervical intraepithelial neoplasia // DST - Jornal brasileiro de doenças sexualmente transmissiveis. 2009. № 4 (21).

8. Alaghehbandan R. p16/Ki-67 Dual-Stain Cytology in the Triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou Cytology: Results From the European Equivocal or Mildly Abnormal Papanicolaou Cytology Study // Yearbook of Pathology and Laboratory Medicine. 2012. (2012).

9. Albuquerque A. [и др.]. Expression of microRNAs 16, 20a, 150 and 155 in anal squamous intraepithelial lesions from high-risk groups // Scientific Reports. 2019. № 1 (9).

10. Angermeyer A. M. [и др.]. Frequency of cervical cytological alterations and human papilloma virus in a sample of university students in Temuco, Chile // Revista Chilena de Infectologia. 2019. № 4 (36). С. 421–427.

11. Antipova A. N. V. [и др.]. Placental expression level of the PON1, PON2, and PON3 genes in patients with uncomplicated pregnancy and preeclampsia // Akusherstvo i ginekologiia. 2018. (7_2018). С. 40–45.

12. Anwariyah K., Sofyan D. Pemodelan Segmentasi Sel Epitel Serviks Pada Citra Digital PAP SMEAR // JTIM : Jurnal Teknologi Informasi dan Multimedia. 2019. № 2 (1).

13. Arbyn M. [и др.]. Human papillomavirus testing versus repeat cytology for triage of minor cytological cervical lesions // Cochrane Database of Systematic Reviews. 2013. Т. 2013. № 3.

14. Arbyn M. [и др.]. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis // The Lancet Global Health. 2020. № 2 (8). С. e191–e203.

15. Arbyn M. [и др.]. The European response to the WHO call to eliminate cervical cancer as a public health problem // International Journal of Cancer. 2021. № 2 (148).

16. Arya M., Mittal N., Singh G. Cervical cancer detection using segmentation on pap smear images 2016.

17. Asthana S., Busa V., Labani S. Oral contraceptives use and risk of cervical cancer—A systematic review & meta-analysis // European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology. 2020. Т. 247.

18. Baussano I. [и др.]. Type-specific human papillomavirus biological features: Validated model-based estimates // PLoS ONE. 2013. № 11 (8).

19. Bedell S. L. [и др.]. Cervical Cancer Screening: Past, Present, and Future // Sexual Medicine Reviews. 2020. Т. 8. № 1.

20. Bedoya A. M. [и др.]. Immunosuppression in cervical cancer with special reference to arginase activity // Gynecologic Oncology. 2014. № 1 (135).

21. Bergeron C. [и др.]. Conjunctive p16INK4a testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia // American Journal of Clinical Pathology. 2010. № 3 (133).

22. Bhan A., Soleimani M., Mandal S. S. Long noncoding RNA and cancer: A new paradigm // Cancer Research. 2017. Т. 77. № 15.

23. Bhatla N., Singhal S. Primary HPV screening for cervical cancer // Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology. 2020. Т. 65.

24. Birben E. [и др.]. Oxidative stress and antioxidant defense // World Allergy Organization Journal. 2012. Т. 5. № 1.

25. Biryukov J., Meyers C. Papillomavirus infectious pathways: A comparison of systems // Viruses. 2015. Т. 7. № 8.

26. Borovkova E. I. [и др.]. Paraoxonase: The Universal Factor of Antioxidant Defense in Human Body // Annals of the Russian academy of medical sciences. 2017. № 1 (72). С. 5–10.

27. Bouchard-Fortier G. [и др.]. Co-testing for detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer compared with cytology alone: A meta-analysis of randomized controlled trials // Journal of Public Health (United Kingdom). 2014. № 1 (36).

28. Bulkmans N. W. J. [и др.]. Long-term protective effect of high-risk human papillomavirus testing in population-based cervical screening // British Journal of Cancer. 2005. № 9 (92).

29. Buskwofie A., David-West G., Clare C. A. A Review of Cervical Cancer: Incidence and Disparities // Journal of the National Medical Association. 2020. № 2 (112).

30. Camps J. [и др.]. Paraoxonases, mitochondrial dysfunction and non-communicable diseases // Chemico-Biological Interactions. 2016. (259).

31. Camps J. [и др.]. Paraoxonases and infectious diseases // Clinical Biochemistry. 2017. Т. 50. № 13–14.

32. Cao S. [и др.]. Herpes simplex virus type 2 and the risk of cervical cancer: a meta-analysis of observational studies // Archives of Gynecology and Obstetrics. 2014. Т. 290. № 6.

33. Cervellati C. [и др.]. Serum paraoxonase and arylesterase activities of paraoxonase-1 (PON-1), mild cognitive impairment, and 2-year conversion to dementia: A pilot study // Journal of Neurochemistry. 2015. № 2 (135).

34. Chatterjee A. [и др.]. Chemokines and Chemokine Receptors in susceptibility to HIV-1 infection and progression to AIDS // Disease Markers. 2012. Т. 32. № 3.

35. Chen W. [и др.]. Relevance Function of Linc-ROR in the Pathogenesis of Cancer // Frontiers in Cell and Developmental Biology. 2020. Т. 8.

36. Chen W. [и др.]. Linc-RoR promotes proliferation, migration, and invasion via the Hippo/YAP pathway in pancreatic cancer cells // Journal of Cellular Biochemistry. 2020. № 1 (121).

37. Chiu H.-S. [и др.]. lncRNA role in cancer pathway // Cell Rep. 2018. № 1 (23).

38. Cho B. J. [и др.]. Classification of cervical neoplasms on colposcopic photography using deep learning // Scientific Reports. 2020. № 1 (10).

39. Cioti A. M. [и др.]. Clinical manifestations and burden of HPV infection - Prevention and therapeutic possibilities // Archives of the Balkan Medical Union. 2019. Т. 54. № 4.

40. Clure C., Rivard C. Primary Herpes Simplex Virus Infection Mimicking a Cervical Malignancy in an Immunocompetent Individual // Cureus. 2018.

41. Cooper D. [и др.]. Determinants of sexual activity and its relation to cervical cancer risk among South African Women // BMC Public Health. 2007. (7).

42. Curty G., Carvalho P. S. de, Soares M. A. The role of the cervicovaginal microbiome on the genesis and as a biomarker of premalignant cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer // International Journal of Molecular Sciences. 2020. Т. 21. № 1.

43. Daniyal M. [и др.]. Update knowledge on cervical cancer incidence and prevalence in Asia // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2015. № 9 (16). С. 3617–3620.

44. Darj E., Chalise P., Shakya S. Barriers and facilitators to cervical cancer screening in Nepal: A qualitative study // Sexual and Reproductive Healthcare. 2019. (20).

45. Davey D. D. [и др.]. Bethesda 2014 implementation and human papillomavirus primary screening practices of laboratories participating in the College of American Pathologists PAP education program // Archives of Pathology and Laboratory Medicine. 2019. Т. 143. № 10.

46. Devarajan A., Shih D., Reddy S. T. Inflammation, infection, cancer and all that...the role of paraoxonases // Advances in Experimental Medicine and Biology. 2014. (824).

47. Dijkstra M. G. [и др.]. Primary hrHPV DNA testing in cervical cancer screening: How to manage screen-positive women? a POBASCAM trial substudy // Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention. 2014. № 1 (23).

48. Dobrokhotova Y. E., Borovkova E. I. International algorithms for the management of patients with uterine cervical dysplasia // Gynecology. 2018. № 5 (20).

49. Dolman L. [и др.]. Meta-analysis of the efficacy of cold coagulation as a treatment method for cervical intraepithelial neoplasia: A systematic review // BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology. 2014. Т. 121. № 8.

50. Dugué P. A. [и др.]. Immunosuppression and risk of cervical cancer // Expert Review of Anticancer Therapy. 2013. Т. 13. № 1.

51. Dutta T. [и др.]. Association between individual and intimate partner factors and cervical cancer screening in Kenya // Preventing Chronic Disease. 2018. № 12 (15).

52. Ebrahimi S., Soltani A., Hashemy S. I. Oxidative stress in cervical cancer pathogenesis and resistance to therapy // Journal of Cellular Biochemistry. 2019. Т. 120. № 5.

53. Endalew D. A. [и др.]. Knowledge and practice of cervical cancer screening and associated factors among reproductive age group women in districts of Gurage zone, Southern Ethiopia. A cross-sectional study // PLoS ONE. 2020. № 9 September (15).

54. Esmyot M. L. I. [и др.]. Cervical surgery for cervical intraepithelial neoplasia and prolonged time to conception of a live birth // BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology. 2013. Т. 120. № 13.

55. Evans M. F. [и др.]. Distribution of human papillomavirus types in ThinPrep papanicolaou tests classified according to the Bethesda 2001 terminology and correlations with patient age and biopsy outcomes // Cancer. 2006. № 5 (106).

56. Fan Y. [и др.]. LncRNA PTENP1 inhibits cervical cancer progression by suppressing miR-106b // Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology. 2020. № 1 (48).

57. Farzanehpour M. [и др.]. P16INK4A immunohistochemistry as a gold standard for cervical cancer and precursor lesions screening // Iranian Journal of Public Health. 2020. № 2 (49).

58. Flores Y. [и др.]. Improving cervical cancer screening in Mexico: Results from the Morelos HPV Study // Salud Publica de Mexico. 2003. № SUPPL. 3 (45).

59. Fonseca-Moutinho J. A. Smoking and Cervical Cancer // ISRN Obstetrics and Gynecology. 2011. (2011).

60. Fujimaki M. [и др.]. Histological subtypes and characteristic structures of HPV-associated oropharyngeal carcinoma; study with Japanese cases // Diagnostic Pathology. 2013. № 1 (8).

61. Furlong C. E. [и др.]. Paraoxonases-1, -2 and -3: What are their functions? // Chemico-Biological Interactions. 2016. (259).

62. Gadducci A. [и др.]. Smoking habit, immune suppression, oral contraceptive use, and hormone replacement therapy use and cervical carcinogenesis: A review of the literature // Gynecological Endocrinology. 2011. № 8 (27).

63. Gao T. [и др.]. Transcriptome analysis reveals the effect of oral contraceptive use on cervical cancer // Molecular Medicine Reports. 2014. № 4 (10).

64. Gatta L. A., Kuller J. A., Rhee E. H. J. Pregnancy outcomes following cervical conization or loop electrosurgical excision procedures // Obstetrical and Gynecological Survey. 2017. T. 72. № 8.

65. Gavgani R. [и др.]. Study of long non-coding RNA highly upregulated in liver cancer (HULC) in breast cancer: A clinical & in vitro investigation // Indian Journal of Medical Research. 2020. № 3 (152).

66. Gierisch J. M. [и др.]. Oral contraceptive use and risk of breast, cervical, colorectal, and endometrial cancers: A systematic review // Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention. 2013. T. 22. № 11.

67. Gravitt P. E., Winer R. L. Natural history of HPV infection across the lifespan: Role of viral latency // Viruses. 2017. T. 9. № 10.

68. Hao Y. [и др.]. IL-6/STAT3 mediates the HPV18 E6/E7 stimulated upregulation of MALAT1 gene in cervical cancer HeLa cells // Virus Research. 2020. (281).

69. He L. [и др.]. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species // Cellular Physiology and Biochemistry. 2017. T. 44. № 2.

70. Hentenryck M. van, Noel J. C., Simon P. Obstetric and neonatal outcome after surgical treatment of cervical dysplasia // European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology. 2012. № 1 (162).

71. Herbert A. [и др.]. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening: Recommendations for cervical cytology terminology // Cytopathology. 2007. № 4 (18).

72. Herbst A. L. Cervical neoplasia // Clinical Obstetrics and Gynecology. 2000. T. 43. № 2.

73. Herrington C. S. The terminology of pre-invasive cervical lesions in the UK cervical screening programme // Cytopathology. 2015. № 6 (26).

74. Jansen E. E. L. [и др.]. Effect of organised cervical cancer screening on cervical cancer mortality in Europe: a systematic review // European Journal of Cancer. 2020. Т. 127.

75. Jedy-Agba E. [и др.]. Trends in cervical cancer incidence in sub-Saharan Africa // British Journal of Cancer. 2020. № 1 (123).

76. Jiang M.-C. [и др.]. Emerging roles of lncRNA in cancer and therapeutic opportunities. // American journal of cancer research. 2019. № 7 (9).

77. Jin X. W. [и др.]. Cost-Effectiveness of Primary HPV Testing, Cytology and Co-testing as Cervical Cancer Screening for Women Above Age 30 Years // Journal of General Internal Medicine. 2016. № 11 (31).

78. Kaneko N. Factors associated with cervical cancer screening among young unmarried Japanese women: Results from an internet-based survey // BMC Women's Health. 2018. № 1 (18).

79. Kang M. [и др.]. Comparison of papanicolaou smear and human papillomavirus (HPV) test as cervical screening tools: Can we rely on HPV test alone as a screening method? An 11-year retrospective experience at a single institution // Journal of Pathology and Translational Medicine. 2020. № 1 (54).

80. Kaprin A. D. [и др.]. the Cervical Cancer Screening - Unsolved Problems // Research'n Practical Medicine Journal. 2015. № 1 (2). С. 36–41.

81. Kenarkoohi A. [и др.]. HSV-TK expressing mesenchymal stem cells exert inhibitory effect on cervical cancer model // International Journal of Molecular and Cellular Medicine. 2020. № 2 (9).

82. Kesic V., Poljak M., Rogovskaya S. Cervical cancer burden and prevention activities in Europe // Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention. 2012. Т. 21. № 9.

83. Kim Grace Harald zur Hausen ' s Experiments on Human Papillomavirus Causing Cervical Cancer (1976 – 1987) [1] // The Embryo Project Encyclopedia. 2017. С. 4–7.

84. Klein C. [и др.]. How the Cervical Microbiota Contributes to Cervical Cancer Risk in Sub-Saharan Africa // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2020. Т. 10.

85. Kopp F., Mendell J. T. Functional Classification and Experimental Dissection of Long Noncoding RNAs // Cell. 2018. Т. 172. № 3.

86. Kyrgiou M. [и др.]. Adverse obstetric outcomes after local treatment for cervical preinvasive and early invasive disease according to cone depth: Systematic review and meta-analysis // Obstetrical and Gynecological Survey. 2016. Т. 71. № 11.

87. Kyrgiou M., Mitra A., Paraskevaidis E. Fertility and early pregnancy outcomes following conservative treatment for cervical intraepithelial neoplasia and early cervical cancer // JAMA Oncology. 2016. № 11 (2).

88. Lagunas-Martínez A., Madrid-Marina V., Gariglio P. Modulation of apoptosis by early human papillomavirus proteins in cervical cancer // Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer. 2010. Т. 1805. № 1.

89. Lam J. U. H. [и др.]. High-grade cervical intraepithelial neoplasia in human papillomavirus self-sampling of screening non-attenders // British Journal of Cancer. 2018. № 1 (118).

90. Lang T. U. [и др.]. Review of HIV-Related Cytopathology // Pathology Research International. 2011. (2011).

91. LAST Foundations , Promises and Uncertainties of Personalized Medicine Address Correspondence to : // Medicine. 2007. С. 15–21.

92. Lee J. H. [и др.]. Anticancer Effects of a Korean Herbal Medicine Formula (H9) via AMPK and HER2-PI3K/Akt Signaling in Breast Cancer Cells // Phytotherapy Research. 2017. № 11 (31).

93. Levakov L. S. A. [и др.]. The expression level of paraoxonases in cervical dysplastic processes // Akusherstvo i ginekologiia. 2020. (2_2020). С. 149–153.

94. Levakov S. A. [и др.]. Detection rates of various serotypes of human papilloma virus in atypical glandular hyperplasia and adenocarcinoma of the endometrium and their

immunomorphological features in virus-positive cases // Arkhiv Patologii. 2007. № 2 (69).

95. Levakov S. A. [и др.]. The role of paraoxonases in the pathogenesis of inflammatory and infectious diseases and cancer // Akusherstvo i Ginekologiya (Russian Federation). 2020. № 3 (2020).

96. Levakov S. A., Sheshukova N. A., Dabagyan L. S. Prevalence and risk factors of cervical intra-epithelial neoplasias // Voprosy ginekologii, akušerstva i perinatologii. 2017. № 5 (16). С. 94–100.

97. Li S., Wen X. Seropositivity to herpes simplex virus type 2, but not type 1 is associated with cervical cancer: NHANES (1999-2014) // BMC Cancer. 2017. № 1 (17).

98. Li X. [и др.]. Systematic literature review of risk factors for cervical cancer in the Chinese population // Women's Health. 2018. Т. 14.

99. Litvinov D., Mahini H., Garelnabi M. Antioxidant and anti-inflammatory role of paraoxonase 1: Implication in arteriosclerosis diseases // North American Journal of Medical Sciences. 2012. № 11 (4).

100. Lou Y. [и др.]. Linc-ROR induces epithelial-to-mesenchymal transition in ovarian cancer by increasing Wnt/β-catenin signaling // Oncotarget. 2017. № 41 (8).

101. Louvanto K. [и др.]. Methylation in predicting progression of untreated high-grade cervical intraepithelial neoplasia // Clinical Infectious Diseases. 2020. № 12 (70).

102. Mackness M., Mackness B. Targeting paraoxonase-1 in atherosclerosis // Expert Opinion on Therapeutic Targets. 2013. Т. 17. № 7.

103. Makler A., Narayanan R. Mining exosomal genes for pancreatic cancer targets // Cancer Genomics and Proteomics. 2017. № 3 (14).

104. Mammas I. N., Spandidos D. A. Four historic legends in human papillomaviruses research // Journal of B.U.ON. 2015. № 2 (20).

105. Mammas I. N., Spandidos D. A. Paediatric virology as a new educational initiative: An interview with nobelist professor of virology harald zur hausen // Experimental and Therapeutic Medicine. 2017. № 4 (14).

106. Manco G., Porzio E., Carusone T. M. Human paraoxonase-2 (Pon2): Protein functions and modulation // Antioxidants. 2021. T. 10. № 2.

107. Mao Y. [и др.]. Prediction of recurrence in cervical cancer using a nine-lncRNA signature // Frontiers in Genetics. 2019. № APR (10).

108. Mapanga W., Girdler-Brown B., Singh E. Knowledge, attitudes and practices of young people in Zimbabwe on cervical cancer and HPV, current screening methods and vaccination // BMC Cancer. 2019. № 1 (19).

109. Marks M. [и др.]. The association of hormonal contraceptive use and HPV prevalence // International Journal of Cancer. 2011. № 12 (128).

110. Martin-Hirsch P. P. L. [и др.]. Surgery for cervical intraepithelial neoplasia // Cochrane Database of Systematic Reviews. 2013. T. 2013. № 12.

111. Maseko F. C., Chirwa M. L., Muula A. S. Health systems challenges in cervical cancer prevention program in Malawi // Global Health Action. 2015. № 1 (8).

112. Mastutik G. [и др.]. Correlation between the expression of E6 HPV with P53 and P16INK4A at cervical adenocarcinoma and cervical normal // Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology. 2021. № 1 (15).

113. Maver P. J., Poljak M. Primary HPV-based cervical cancer screening in Europe: implementation status, challenges, and future plans // Clinical Microbiology and Infection. 2020. T. 26. № 5.

114. Mazul A. HPV Structure and Integration Impact the Genomic Profile of HPV-Positive Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma // International Journal of Radiation Oncology*Biology*Physics. 2018. № 5 (100).

115. McSweeney D. J., McKay D. G. Uterine Cancer: Its Early Detection by Simple Screening Methods // New England Journal of Medicine. 1948. № 25 (238).

116. Mitra A. [и др.]. Cervical intraepithelial neoplasia: Screening and management // British Journal of Hospital Medicine. 2016. № 8 (77).

117. Mohr S. [и др.]. Screening for HPV and dysplasia in transgender patients: Do we need it? // European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology. 2021. (260).

118. Morkhov K. Y., Nechushkina V. M., Kuznetsov V. v. Induction chemotherapy for locally advanced cervical cancer // Voprosy Onkologii. 2015. № 2 (61).

119. Morshed K. [и др.]. Human Papillomavirus (HPV) - Structure, epidemiology and pathogenesis // Otolaryngologia Polska. 2014. Т. 68. № 5.

120. Moya C., Máñez S. Paraoxonases: metabolic role and pharmacological projection // Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 2018. Т. 391. № 4.

121. Murfin J. [и др.]. Education, income and occupation and their influence on the uptake of cervical cancer prevention strategies: A systematic review // Journal of Clinical Nursing. 2020. Т. 29. № 3–4.

122. Naimer M. S. [и др.]. The effect of changes in cervical cancer screening guidelines on chlamydia testing // Annals of Family Medicine. 2017. № 4 (15).

123. Nations T. U., Division World Mortality Report 2017. 2017.

124. Nayar R., Wilbur D. C. The Pap Test and Bethesda 2014 // Acta Cytologica. 2015. № 2 (59).

125. Nayar R., Wilbur D. C. The bethesda system for reporting cervical cytology: Definitions, criteria, and explanatory notes / R. Nayar, D. C. Wilbur, 2015.

126. Nayar R., Wilbur D. C. The Pap test and Bethesda 2014 // Cancer Cytopathology. 2015. № 5 (123).

127. Nieuwenhof H. P. van de [и др.]. The etiologic role of HPV in vulvar squamous cell carcinoma fine tuned // Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention. 2009. № 7 (18).

128. Norenhag J. [и др.]. The vaginal microbiota, human papillomavirus and cervical dysplasia: a systematic review and network meta-analysis // BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology. 2020. № 2 (127).

129. Okunade K. S. Human papillomavirus and cervical cancer // Journal of Obstetrics and Gynaecology. 2020. Т. 40. № 5.

130. Pan Y. [и др.]. The Emerging Roles of Long Noncoding RNA ROR (lincRNA-ROR) and its Possible Mechanisms in Human Cancers // Cellular Physiology and Biochemistry. 2016. Т. 40. № 1–2.

131. Pańczyszyn A., Boniewska-Bernacka E., Głąb G. Telomeres and Telomerase During Human Papillomavirus-Induced Carcinogenesis // Molecular Diagnosis and Therapy. 2018. Т. 22. № 4.

132. Park I. U. [и др.]. Cytology and human papillomavirus Co-test results preceding incident high-grade cervical intraepithelial neoplasia // PLoS ONE. 2015. № 3 (10).

133. Patel A. [и др.]. Cervical cancer incidence in young women: A historical and geographic controlled UK regional population study // British Journal of Cancer. 2012. № 11 (106). С. 1753–1759.

134. Pawłowska E., Szczepanska J., Blasiak J. The long noncoding RNA HOTAIR in breast cancer: Does autophagy play a role? // International Journal of Molecular Sciences. 2017. № 11 (18).

135. Petry K. U. [и др.]. Inclusion of HPV testing in routine cervical cancer screening for women above 29 years in Germany: Results for 8466 patients // British Journal of Cancer. 2003. № 10 (88).

136. Prendergast A. [и др.]. HIV-1 infection is characterized by profound depletion of CD161+ Th17 cells and gradual decline in regulatory T cells // AIDS. 2010. № 4 (24).

137. Rachel Skinner S. [и др.]. Progression of HPV infection to detectable cervical lesions or clearance in adult women: Analysis of the control arm of the VIVIANE study // International Journal of Cancer. 2016. № 10 (138).

138. Reuschenbach M. [и др.]. Evaluation of cervical cone biopsies for coexpression of p16 INK4a and Ki-67 in epithelial cells // International Journal of Cancer. 2012. № 2 (130).

139. Ribeiro A. A. [и др.]. HPV infection and cervical neoplasia: Associated risk factors // Infectious Agents and Cancer. 2015. № 1 (10).

140. Roelens J. [и др.]. P16INK4a immunocytochemistry versus human papillomavirus testing for triage of women with minor cytologic abnormalities: A systematic review and meta-analysis // Cancer Cytopathology. 2012. Т. 120. № 5.

141. Ronco G. [и др.]. Human papillomavirus testing and liquid-based cytology: Results at recruitment from the new technologies for cervical cancer randomized controlled trial // Journal of the National Cancer Institute. 2006. № 11 (98).

142. Runge A. S. [и др.]. Cervical cancer in Tanzania: A systematic review of current challenges in six domains // Gynecologic Oncology Reports. 2019. Т. 29.

143. Saha S. K. [и др.]. Cytokeratin 19 (KRT19) has a role in the reprogramming of cancer stem cell-like cells to less aggressive and more drug-sensitive cells // International Journal of Molecular Sciences. 2018. № 5 (19).

144. Sanad A. S., Kamel H. H., Hasan M. M. Prevalence of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) in patients attending Minia Maternity University Hospital // Archives of Gynecology and Obstetrics. 2014. № 6 (289).

145. Schweikert E. M. [и др.]. PON3 is upregulated in cancer tissues and protects against mitochondrial superoxide-mediated cell death // Cell Death and Differentiation. 2012. № 9 (19).

146. Shah S., Kalal B. S. Oxidative stress in cervical cancer and its response to chemoradiation // Turk Jinekoloji ve Obstetrik Dernegi Dergisi. 2019. № 2 (16).

147. Shain A. F. [и др.]. Utility of p16 Immunohistochemistry in Evaluating Negative Cervical Biopsies Following High-risk Pap Test Results // American Journal of Surgical Pathology. 2018. № 1 (42).

148. Shen F. [и др.]. Overexpression of MALAT1 contributes to cervical cancer progression by acting as a sponge of miR-429 // Journal of Cellular Physiology. 2019. № 7 (234).

149. Sherman M. E., Schiffman M., Cox J. T. Effects of age and human papilloma viral load on colposcopy triage: Data from the randomized atypical squamous cells of undetermined significance/low-grade squamous intraepithelial lesion triage study (ALTS) // Journal of the National Cancer Institute. 2002. № 2 (94).

150. Shrivastava A. [и др.]. An assessment of serum oxidative stress and antioxidant parameters in patients undergoing treatment for cervical cancer // Free Radical Biology and Medicine. 2021. (167).

151. Silva G. Á. F. [и др.]. Oxidative stress: therapeutic approaches for cervical cancer treatment // Clinics (Sao Paulo, Brazil). 2018. Т. 73.

152. Singh S. [и др.]. A study of comparison of liquid-based cytology versus conventional pap smear for evaluation of cervical cytology at a tertiary healthcare hospital // International Journal of Research in Medical Sciences. 2019. № 5 (7).

153. Singh U. [и др.]. Comparative study between liquid-based cytology & conventional pap smear for cytological follow up of treated patients of cancer cervix // Indian Journal of Medical Research. 2018. № March (147).

154. Small W. [и др.]. Cervical cancer: A global health crisis // Cancer. 2017. Т. 123. № 13.

155. Smith J. S. [и др.]. Evidence for Chlamydia trachomatis as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines // Journal of Infectious Diseases. 2002. № 3 (185).

156. Söderlund-Strand A., Wikström A., Dillner J. Evaluation of human papillomavirus DNA detection in samples obtained for routine Chlamydia trachomatis screening // Journal of Clinical Virology. 2015. (64).

157. Song P. F. [и др.]. Pathogenicity of high risk HPV infection in pseudocondyloma of vulvae and its carcinogenicity in inducing cervical lesions // European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2021. № 6 (22).

158. Staples J. N., Wong M. S., Rimel B. J. An educational intervention to improve human papilloma virus (HPV) and cervical cancer knowledge among African American college students // Gynecologic Oncology. 2018. № 1 (149).

159. Stelzle D. [и др.]. Estimates of the global burden of cervical cancer associated with HIV // The Lancet Global Health. 2021. № 2 (9).

160. Stoltz D. A. [и др.]. Paraoxonase-2 deficiency enhances Pseudomonas aeruginosa quorum sensing in murine tracheal epithelia // American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology. 2007. № 4 (292).

161. Su B. [и др.]. The relation of passive smoking with cervical cancer A systematic review and meta-analysis // Medicine (United States). 2018. Т. 97. № 46.

162. Suchonska B. [и др.]. Cervical intraepithelial neoplasia during pregnancy // Indian journal of cancer. 2020. № 1 (57).

163. Sugawara Y. [и др.]. Cigarette smoking and cervical cancer risk: An evaluation based on a systematic review and meta-analysis among Japanese women // Japanese Journal of Clinical Oncology. 2019. № 1 (49).

164. Sun B., Sun Y. Exosomal miR-664-5p derived from human bone marrow mesenchymal stem cells improve ovary function of premature ovarian failureby targeting p53 signaling pathway // Fertility and Sterility. 2019. № 3 (112).

165. Sundström K., Miriam Elfström K. Advances in cervical cancer prevention: Efficacy, effectiveness, elimination? // PLoS Medicine. 2020. Т. 17. № 1.

166. Surai P. F. [и др.]. Antioxidant defence systems and oxidative stress in poultry biology: An update // Antioxidants. 2019. Т. 8. № 7.

167. Syrjänen K. J. Histology, classification and natural history of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) // CME Journal of Gynecologic Oncology. 2009. Т. 14. № 1.

168. Takacs F. Z. [и др.]. Sec62/Ki67 dual staining in cervical cytology specimens: a new marker for high-grade dysplasia // Archives of Gynecology and Obstetrics. 2019. № 2 (299).

169. Taler-Verčič A., Goličnik M., Bavec A. The Structure and Function of Paraoxonase-1 and Its Comparison to Paraoxonase-2 and -3 // Molecules (Basel, Switzerland). 2020. T. 25. № 24.

170. Tao L. [и др.]. Prevalence and risk factors for cervical neoplasia: A cervical cancer screening program in Beijing // BMC Public Health. 2014. № 1 (14).

171. Teixeira N. C. P. [и др.]. Prevalence and risk factors for cervical intraepithelial neoplasia among HIV-infected women // Brazilian Journal of Infectious Diseases. 2012. № 2 (16).

172. Thorsteinsson K. [и др.]. Incidence of cervical dysplasia and cervical cancer in women living with HIV in Denmark: Comparison with the general population // HIV Medicine. 2016. № 1 (17).

173. Thrall M. J. Effect of lower anogenital squamous terminology recommendations on the use of p16 immunohistochemistry and the proportion of high-grade diagnoses in cervical biopsy specimens // American Journal of Clinical Pathology. 2016. № 4 (145).

174. Tikhomirov A. L., Sarsaniya S. I., Filatova G. A. Human papilloma virus: from understanding of immunopathogenesis to rational tactics of management // Gynecology. 2018. № 3 (20).

175. Tikhomirov A. L., Sarsaniya S. I., Filatova G. A. Human papilloma virus: from understanding of immunopathogenesis to rational tactics of management // Gynecology. 2018. № 3 (20). С. 5–11.

176. Ursu A., Sen A., Ruffin M. Impact of cervical cancer screening guidelines on screening for chlamydia // Annals of Family Medicine. 2015. № 4 (13).

177. Vanakankovit N., Taneepanichskul S. Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer // Journal of the Medical Association of Thailand. 2008. № 1 (91).

178. Vecchia C. la, Boccia S. Oral contraceptives, human papillomavirus and cervical cancer // European Journal of Cancer Prevention. 2014. № 2 (23).

179. Vormittag-Nocito E., Groth J. v., Mohapatra G. Next generation sequencing of cervical high grade dysplasia and invasive squamous cell carcinoma: A case study // Pathology Research and Practice. 2020. № 4 (216).

180. Wan S., Zhao H. Analysis of diagnostic and prognostic value of lncRNA MEG3 in cervical cancer // Oncology Letters. 2020. № 5 (20).

181. Wang J. T. [и др.]. Association between endogenous hormones, hormone receptors and cervical cancer // Zhonghua zhong liu za zhi [Chinese journal of oncology]. 2006. № 7 (28).

182. Wang X., Huang X., Zhang Y. Involvement of human papillomaviruses in cervical cancer // Frontiers in Microbiology. 2018. Т. 9. № NOV.

183. Wang Y., Liu Q., Wang F. Potential roles of exosome non-coding RNAs in cancer chemoresistance (Review) // Oncology Reports. 2021. № 2 (45).

184. Waxman A. G. [и др.]. Revised terminology for cervical histopathology and its implications for management of high-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix // Obstetrics and Gynecology. 2012. Т. 120. № 6.

185. Witte I. [и др.]. Protectors or Traitors: The Roles of PON2 and PON3 in Atherosclerosis and Cancer // Journal of Lipids. 2012. (2012).

186. Xi L. F. [и др.]. Relationship between cigarette smoking and human papilloma virus types 16 and 18 DNA load // Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention. 2009. № 12 (18).

187. Xu X. Y. [и др.]. Linc-ROR promotes endometrial cell proliferation by activating the PI3K-Akt pathway // European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2018. № 8 (22).

188. Yang L. [и др.]. High MALAT1 expression predicts a poor prognosis of cervical cancer and promotes cancer cell growth and invasion // European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2015. № 17 (19).

189. Yu J., Dong W., Liang J. Extracellular Vesicle-Transported Long Non-Coding RNA (LncRNA) X Inactive-Specific Transcript (XIST) in Serum is a Potential Novel Biomarker for Colorectal Cancer Diagnosis // Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research. 2020. (26).

190. Yuan C., Ning Y., Pan Y. Emerging roles of HOTAIR in human cancer // Journal of Cellular Biochemistry. 2020. № 5–6 (121).

191. Zahra K. [и др.]. A study of oxidative stress in cervical cancer- an institutional study // Biochemistry and Biophysics Reports. 2021. (25).

192. Zeng J. [и др.]. LncRNA SNHG7 contributes to cell proliferation, invasion and prognosis of cervical cancer // European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2019. № 21 (23).

193. Zhao C. [и др.]. Cytology and human papillomavirus screening test results associated with 2827 histopathologic diagnoses of cervical intraepithelial neoplasia 2/3 // Archives of Pathology and Laboratory Medicine. 2013. № 7 (137).

194. Zhao Y. [и др.]. Relationship between cervical disease and infection with human papillomavirus types 16 and 18, and herpes simplex virus 1 and 2 // Journal of Medical Virology. 2012. № 12 (84).

195. Zhou Q. [и др.]. Linc-ROR promotes the progression of breast cancer and decreases the sensitivity to rapamycin through miR-194-3p targeting MECP2 // Molecular Oncology. 2020. № 9 (14).

196. Zhou Y. [и др.]. IRNet: Instance relation network for overlapping cervical cell segmentation 2019.

197. Сравнительный анализ традиционной и жидкостной цитологии мазков из шейки матки // Research’n Practical Medicine Journal. 2019. № 1 (6).