

Епифанова Ольга Викторовна

**Оптимизация ведения пациенток с ВПЧ-индуцированными цервикальными
интраэпителиальными неоплазиями I-II степени**

3.1.4. – Акушерство и гинекология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Пензенском институте усовершенствования врачей - филиале федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России, Пенза, Россия

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Виноградова Ольга Павловна**

Официальные оппоненты:

Ледина Антонина Виталиевна, доктор медицинских наук, доцент, врач акушер-гинеколог женской консультации Клинического госпиталя «Лапино» Группы компаний «Мать и дитя»

Боровиков Игорь Олегович, доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии, доцент кафедры

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «.....» 2023 г. в «.....» часов на заседании диссертационного совета 21.2.005.04 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 400131, Волгоград, пл. Павших борцов, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 400131, Волгоград, пл. Павших борцов, 1 и с авторефератом на сайтах: www.volgmed.ru, www.vak2.ed.gov.ru.

Автореферат разослан « » _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 21.2.005.04
доктор медицинских наук, профессор

Селихова Марина Сергеевна
(подпись ученого секретаря)

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Рак шейки матки (РШМ) является одной из важных социальных и медицинских проблем, так как влияет на репродуктивную функцию, значительно снижает качество жизни современных женщин [С.И. Роговская, 2021]. В настоящее время продолжается поиск новых методов диагностики и прогнозирования течения дисплазии. В клинической практике особые трудности возникают при выборе тактики ведения пациенток с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями (Cervical Intraepithelial Neoplasia - CIN), при которых нередко используются неэффективные деструктивные методы или варианты консервативного лечения, приводящие к рецидиву заболевания [В. Н. Прилепская, 2020, Л. И. Анохова, 2021, Д. И. Агтоева, 2021]. Все вышеизложенное определяет актуальность исследования, направленного на поиск молекулярно-биологических и иммунологических маркеров неопластической трансформации, что позволит активировать процессы элиминации вируса папилломы человека (ВПЧ), улучшить результаты лечения, сохранить репродуктивное здоровье и повысить качество жизни больных. В связи с этим становится необходимым разработать, клинически апробировать и внедрить в практику современные препараты консервативной иммунопротивовирусной терапии с целью ослабления или устранения действия факторов, приводящих к рецидивированию CIN [D. L. Long, 2021, G. M. Magalhães, 2021].

Степень разработанности темы

Современные эпидемиологические и молекулярно-биологические исследования подтверждают, что примерно в 95% случаев в тканях опухолей плоскоклеточного рака шейки матки присутствует ДНК-вируса ВПЧ [Franciosi, M.L.M., do Carmo, T.I.T., Zanini, D. et al., 2022]. Широкая распространенность ВПЧ, вариабельность его типов, устойчивость к традиционным нехирургическим методам терапии, а также длительная персистенция, способная провоцировать канцерогенные изменения эпителия, побуждает исследователей продолжать углублённое изучение патогенеза папилломавирусной инфекции (ПВИ), тщательно анализировать механизмы, способствующие развитию диспластических изменений в эпителии и развитию рака шейки матки. Ввиду неоднозначной системной реакции организма человека при ПВИ до конца не изучены молекулярные механизмы иммунного ответа, способствующего его элиминации и длительной персистенции [О. А. Гизингер, 2021, L. Bruni, 2021]. В исследованиях [J. Manzo-Merino, S. D. Toro-Arreola, L. Rocha-Zavaleta et al., 2020, R.Schindler, 2022] показано, что по мере прогрессирования атипии и развития cancer in situ происходит изменение цитокиновой регуляции локального иммунного ответа на ВПЧ, проявляющейся в снижении уровня секреции провоспалительных цитокинов, достигавшие высоких значений в образцах нормального эпителия. Цитокины, представляющие гормоноподобные белки и

пептиды, являются группой факторов межмолекулярного взаимодействия иммунного ответа, в которую входят интерфероны (IFN), интерлейкины (IL), ростовые факторы. А. Paaso, Н. М. Koskima, М. J. P. Welters et al. [2021] высказали предположение, что увеличение количества провоспалительных цитокинов, в том числе IL-18, в организме должно способствовать элиминации исследуемого вируса. На данном механизме действия основан терапевтический эффект ряда препаратов, применяемых при лечении ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки, поскольку они вызывают индукцию IL-18, IFN- γ , TNF- α [Г. Х. Викулов, С. Л. Вознесенский, Д. И. Фролкин, 2020]. Таким образом, изучение механизмов иммунного ответа, взаимосвязанного с определением уровней цитокинов при реализации ПВИ, знание патофизиологических процессов, происходящих на местном уровне, являются важными аспектами на пути разработки рациональных методов терапии, основанных прежде всего на иммунокоррекции с целью профилактики РШМ, а определение референсных значений позволит обеспечить раннюю диагностику нарушений.

Цель работы

Повысить эффективность комплексного лечения пациенток с ВПЧ-индуцированными цервикальными интраэпителиальными неоплазиями легкой и умеренной степени тяжести путем разработки прогностических диагностических критериев выявленных иммунных нарушений.

Задачи исследования

1. Определить видовую структуру папилломавирусов при интраэпителиальных неоплазиях легкой и умеренной степени тяжести в республике Мордовия.
2. Изучить уровни интерлейкина-18, γ - интерферона, фактора некроза опухоли- α цервикальной слизи у женщин без патологии шейки матки и без папилломавирусной инфекции.
3. Исследовать диагностическую и прогностическую роль цитокинов интерлейкина-18, γ - интерферона, фактора некроза опухоли- α при развитии и течении цервикальных интраэпителиальных неоплазий легкой и умеренной степени тяжести, ассоциированных с ВПЧ.
4. Оптимизировать схемы ведения ВПЧ-положительных пациенток с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями легкой и умеренной степени тяжести с учетом оценки параметров иммунологических показателей цервикальной слизи.
5. Оценить эффективность использования противовирусного, иммуномодулирующего препарата («Аллоферон®») в терапии цервикальных интраэпителиальных неоплазий I и II степени с позиции отдалённых результатов.

Научная новизна

Впервые изучена видовая структура папилломавирусной инфекции при CIN I, CIN II шейки матки в Республике Мордовия. Впервые определена диагностическая и прогностическая роль цитокинов (интерлейкина-18, γ - интерферона, фактора некроза опухоли- α) при развитии и

течении ВПЧ-ассоциированных цервикальных интраэпителиальных неоплазий легкой и средней степени тяжести изучены референсные значения уровни интерлейкина-18, γ -интерферона, фактора некроза опухоли- α цервикальной слизи у здоровых женщин без ВПЧ. Впервые исследована эффективность применения противовирусного препарата гистидил-глицил-валил-серил-глицил-гистидил-глицил-глутаминил-гистидил-глицил-валил-гистидил-глицин («Аллоферон®») в терапии ВПЧ индуцированных дисплазий шейки матки I и II степени с учетом иммунологических параметров и изучения отдаленного эффекта терапии с длительностью наблюдения 18 месяцев.

Научная новизна проведенного диссертационного исследования подтверждена свидетельством о патентном изобретении №2773799.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты работы позволяют определить наиболее часто встречающиеся комбинации серотипов ВПЧ при формировании дисплазии I и II степени тяжести.

Результаты диссертационного исследования более детально отражают механизмы иммунологических изменений в нормальных клетках и при CIN легкой и умеренной степени тяжести, индуцированных вирусом папилломы человека.

На основании полученных результатов проведенного исследования изменения иммунологических показателей цервикальной слизи (интерлейкина-18 (IL-18) и γ -интерферона IFN- γ), фактора некроза опухоли- α (TNF α)) могут применяться в качестве маркеров нарушений в цервикальном эпителии и быть внедрены в качестве дополнительных диагностических тестов для определения степени поражения эпителия, эффективности применения иммуномодулирующего препарата, динамического контроля на фоне проводимой терапии, а также для дальнейших научных исследований.

Методология и методы исследования

Исследование проводилось на базе амбулаторно-поликлинического учреждения общества с ограниченной ответственностью «Центр женского здоровья» Республики Мордовия, где и осуществлялся набор пациентов. Лабораторные исследования проводились в медицинской лаборатории «ДиаЛаб», лаборатории Медицинского института Национального исследовательского Мордовского государственного университета имени Н.П. Огарёва.

Методология исследования основана на подробном изучении и анализе имеющихся научных данных по этиологии и патогенезу CIN у женщин репродуктивного возраста. На основании сформулированных цели и задач работы был выстроен дизайн с определением объектов исследования, основных этапов работы, а также выбора адекватных диагностических методов обследования. В работе применены следующие методы: сбор жалоб и анамнеза, гинекологический осмотр; оценка качественного и количественного микробиоценоза нижнего

отдела гениталий методом ПЦР в режиме «real-time» ФЕМОФЛОР®; цитологическое исследование методом жидкостной цитологии; простая и расширенная кольпоскопия с применением традиционных методов с 3%-м раствором уксусной кислоты и 2%-м водным раствором Люголя; мультифокусная биопсия шейки матки с дальнейшим гистологическим исследованием; метод выявления ДНК ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР) с использованием ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «real-time» и определением вирусной нагрузки; определение показателей IL-18, IFN- γ , TNF- α методом конкурентного иммуноферментного анализа. Обработку полученных данных производили с помощью персонального компьютера на базе Intel ® Core (TM) i7 CPU операционной системы Windows 10 и пакета приложений Microsoft Office. Статистический анализ данных проводился с помощью пакета программ Statistica 6.0.

Положения, выносимые на защиту

1. У женщин Республики Мордовия при интраэпителиальных неоплазиях легкой степени преобладают 16 и 31 типы ВПЧ ВКР и при интраэпителиальных неоплазиях умеренной степени тяжести – сочетание типов ВПЧ ВКР 16, 18, 51, 52, 56.

2. Местная иммунологическая недостаточность на фоне ВПЧ, ассоциированная с подавлением продукции IL - 18 и повышением IFN γ , способна приводить к длительной персистенции вируса в клетке, прогрессированию неопластических процессов и высокому проценту рецидивов (21%) без использования противовирусной иммунологической терапии.

3. Иммунологические параметры цервикальной слизи (IL-18, IFN- γ , TNF- α) являются одними из дополнительных прогностически значимых критериев определения вероятности степени поражения цервикального эпителия и позволяют более точно оценить прогноз течения заболевания на фоне проводимой терапии.

4. Применение в терапии противовирусного иммуномодулирующего препарата гистидил- глицил- валил-серил- глицил- гистидил- глицил- глутаминил- гистидил- глицил- валил- гистидил- глицин (Аллоферон) достоверно повышает терапевтические возможности цервикальных неоплазий, ассоциированных с папилломавирусом, легкой степени тяжести в 2,9 раза, умеренной степени тяжести в 1,37 раз, а также снижает частоту рецидивов на 20,9%.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность научных результатов подтверждается объемом проведенных исследований, применением методов исследования и статистики. Дизайн исследования соответствует целям и задачам. Представленные в работе результаты получены автором лично или при его непосредственном участии.

Обсуждение результатов диссертационного исследования проводилось на совместной научной конференции кафедр акушерства и гинекологии Пензенского института

усовершенствования врачей – филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» и кафедры акушерства и гинекологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пензенский государственный университет», на межрегиональной конференции «Акушерство и гинекология: Актуальные и дискуссионные вопросы» (г. Пенза, 2019); Международной научной конференции, посвященной 80-летию Пензенской области «Актуальные проблемы медицинской науки и образования» (г. Пенза, 2019); XX межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы диагностики, лечения и реабилитации больных» (г. Пенза, 2020); XIV Общероссийском научно – практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (г. Сочи, 2020); Научно-практическая конференции «Современные вопросы акушерства и гинекологии: наука в практику» (г. Пенза, 2022); 2nd International conference on Gynecology and Obstetrics (Дубай, 2022).

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 158 страницах, состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов исследования, двух глав собственных результатов исследования, заключения и обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшего исследования и списка использованной литературы (85 отечественных и 56 иностранных наименований). В работу включены 43 таблицы, 14 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования: обследовано 215 женщин в возрасте от 18 до 47 лет, средний возраст составил $27,9 \pm 1,04$ лет. Исследование является проспективным рандомизированным открытым контролируемым.

Первым этапом исследования стало формирование групп исследования путем проведения цитологического скрининга и ПЦР диагностики на выявление ВПЧ в цервикальном канале шейки матки. На основании критериев включения и критериев исключения были отобраны 172 женщины: I группа – 86 пациенток с ВПЧ-ассоциированным и гистологически верифицированным диагнозом CIN I; II группа – 86 пациенток с ВПЧ-ассоциированным и гистологически верифицированным диагнозом CIN II. Группу контроля составили 43 ВПЧ-негативные женщины с цитологической картиной NILM ($n = 43$). Критерии включения в исследование: CIN I и II гистологически верифицированы; наличие ВПЧ ВКР; зоны трансформации (ЗТ) I или II типа; письменное информированное добровольное согласие, комплаентность пациенток; отсутствие сопутствующей гинекологической и экстрагенитальной патологии; отсутствие применения иммуномодулирующих препаратов в течение как минимум

1 года; «нормоценоз» влагалища; отсутствие инфекций передающихся половым путем; барьерный метод контрацепции. Критерии исключения: беременность, лактация; CIN 3 и рак in situ; наличие тяжелой генитальной и экстрагенитальной патологии, способных существенно повлиять на результат исследования; сопутствующие психические заболевания; прием противовирусных и иммуномодулирующих препаратов менее 1 года; вакцинация против ВПЧ.

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.



Рисунок 1 – Дизайн исследования

Второй этап состоял из клинико-лабораторного исследования. Для цитологического исследования применялась методика жидкостной цитологии. Количественное определение ДНК ВПЧ ВКР (типы 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58,59) проводили методом ПЦР в режиме «real-time». Результаты концентрации ДНК ВПЧ выражались в Ig (ВПЧ. на 100 тыс. клеток) и оценивались следующим образом: менее 3 Ig – малозначимая концентрация, от 3 Ig до 5 Ig – клинически значимая и более 5 Ig - повышенная вирусная нагрузка. Оценка качественного и количественного микробиоценоза нижнего отдела гениталий осуществлялась с помощью метода ПЦР в режиме «real-time» с использованием набора реагентов ФЕМОФЛОР® по классификации: 1- нормоценоз: количество лактобактерий 50-100%, облигатно-анаэробная флора менее 0,1%, микоплазмы и уреоплазмы отсутствуют или их количество менее 10^4 , грибы рода Candida отсутствуют или их количество менее 10^3 ; 2 - умеренный дисбиоз: количество

лактобактерий 10-50%, облигатно-анаэробная флора 0,1%-10%, микоплазмы и уреоплазмы отсутствуют или их количество более 10^4 , грибы рода *Candida* отсутствуют или их количество более 10^3 ; 3 - выраженный дисбиоз: количество лактобактерий 0-10%, облигатно-анаэробная флора 0,01%-100%, микоплазмы и уреоплазмы отсутствуют или их количество более 10^4 , грибы рода *Candida* отсутствуют или их количество более 10^3 ; 4 - патогенные микроорганизмы. Расширенная кольпоскопия проводилась с применением традиционных методов с 3%-м раствором уксусной кислоты и 2%-м водным раствором Люголя. Подтверждающим методом диагностики CIN I и CIN II было проведение мультифокусной биопсии шейки матки. Уровни цитокинов определяли в цервикальной слизи методом конкурентного ИФА.

Третьим этапом для оценки эффективности подхода к лечению женщин стало разделение групп с помощью генератора случайных чисел на подгруппы: Ia подгруппа – 43 женщины с диагнозом CIN I, которым применялась наблюдательная тактика. Ib подгруппа - 43 пациентки диагнозом CIN I, которые получали терапию препаратом гистидил-глицил-валил-серил-глицил-гистидил-глицил-глутаминил-гистидил-глицил-валил-гистидил-глицин («Аллоферон») по схеме согласно инструкции (подкожно 1 мг через день 6 инъекций). Pa подгруппа – 43 женщины с диагнозом CIN II, которым была проведена LEEP-эксцизия шейки матки; Pb подгруппа – 43 пациентки с CIN II, которым наряду с LEEP-эксцизией шейки матки была проведена терапия препаратом гистидил- глицил- валил- серил- глицил- гистидил-глицил- глутаминил- гистидил-глицил- валил- гистидил -глицин («Аллоферон»).

Четвертый этап заключался в оценке изменений показателей локального иммунитета (IL-18, IFN – γ , TNF- α) через 10 дней, через 12 месяцев, и клинико-лабораторных исследований через 6, 12 и 18 месяцев с целью отслеживания отдаленных результатов.

На основании полученных результатов проводилась статистическая обработка данных (пятый этап). Статистический анализ данных позволил сформировать оптимальную тактику ведения пациентов с CIN I и CIN II, выводы и клинические рекомендации (шестой этап).

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для решения поставленных задач проведено исследование на видовую структуру ВПЧ ВКР у исследуемых женщин. При CIN I чаще всего обнаруживались типы 16 (38,37%), 31 (30,23%), 18 (26,74%), 51 (24,42%). Сочетание двух и более типов ВПЧ определялось у 57,8%. У пациенток с CIN II 16 тип ВПЧ определялся в 43,02%, 51 (40,70%), 18 (38,37%), 56 (31,40%) 52 (1,2%). Сочетание двух и более типов ВПЧ выявлено у 79,4% пациенток, что позволяет сделать заключение о том, что в формировании ВПЧ-ассоциированной цервикальной неоплазии II степени могут участвовать несколько типов ВПЧ ВКР.

С целью поиска референсных значений для показателей IFN- γ , IL – 18, TNF- α в цервикальной слизи проведено обследование группы контроля (таблица 1).

Таблица 1 - Иммунологические показатели цервикальной слизи группы контроля

Контроль (n=43)	M±m
IFN- γ , пг/мл	89,44±0,85
IL-18 , пг/мл	8,12±0,07
TNF- α , пг/мл	2,66±0,05

Согласно дизайну исследования (рисунок 1), было проведено клинико-лабораторное исследование пациенток первой группы - с CIN I. Средний возраст женщин составил 35,01±0,71 лет. Пациенток старше 35 лет в данной группе исследования не было. В 56,3% случаев обследованные отмечали ранний дебют половых отношений (до 18 лет), 14 (16,2%) пациенток имели более 5 половых партнеров. Никотиновая зависимость выявлена у 32 пациенток.

При проведении ВПЧ-типирования и определения вирусной нагрузки у пациенток 1 группы было установлено сочетание нескольких типов вируса с клинически значимой вирусной нагрузкой (4,69±0,07 lg ВПЧ на 100 тыс. клеток).

Чувствительность метода жидкостной цитологии, применяемой в работе, составляет 85%. Ложноотрицательные результаты наблюдались у 12 (14%) пациенток группы с CIN I (таблица 2).

Таблица 2 – Результаты цитологического исследования мазков у группы пациенток с CIN I

Результат	Абсолютные числа (удельный вес, %)
NILM	12 (14%)
LSIL	74 (86%)
HSIL	-

Отмечены сильные прямые связи между возрастом пациентки > 30 лет и цитологическим заключением LSIL (R = 0,7486, p = 0,0202); возрастом пациентки > 30 лет и клинически значимой вирусной нагрузкой (>5lg, 3–5lg) (R = 0,7582, p = 0,0003); дебютом половой жизни раньше 18 лет и клинически значимой вирусной нагрузкой (>5lg, 3–5lg) (R = 0,7122, p = 0,0005); количеством половых партнеров > 5 и клинически значимой вирусной нагрузкой (>5lg, 3–5lg) (R = 0,7015, p = 0,0004). Это объясняется тем, что важными факторами риска развития цервикальной интраэпителиальной неоплазии, ассоциированной с ВПЧ, являются возраст пациентки более 30 лет, дебют половой жизни раньше 18 лет и более 5 половых партнеров.

При оценке состава микрофлоры урогенитального тракта у всех женщин группы с CIN I (100%) заключение соответствовало «нормоценозу».

При проведении расширенной кольпоскопии в группе с CIN I отмечалась аномальная кольпоскопическая картина в виде нежной мозаики (33,8%), нежной пунктации (9,3%), тонкого ацеботелого эпителия (АБЭ) (45,3%), а выраженные изменения – у 1 пациентки (1,2%) (табл.3).

Таблица 3 - Результаты расширенной кольпоскопии пациенток с CIN I (группа I)

Аномальная кольпоскопическая картина I степени (слабовыраженное поражение)	
Нежная мозаика	29 (33,8 %)
Нежная пунктация	8 (9,3 %)
Сочетание мозаики и пунктации	9 (10,4 %)
Тонкий ацетобелый эпителий	39 (45,3%)
Аномальная кольпоскопическая картина II степени (выраженное поражение)	
Плотный АБЭ	1 (1,2%)

Значения IFN- γ и IL - 18 в группе ВПЧ-положительных пациенток с CIN I достоверно отличались от группы контроля ($p < 0,05$) (табл.4). Показатели IFN- γ и IL - 18, были достоверно выше референсных, TNF- α не отличался от соответствующего показателя в группе контроля.

Таблица 4 - Уровни цитокинов в цервикальной слизи у женщин с CIN I, $M \pm m$

Показатели	Группа контроля (n = 43)	Группа I (CIN I) (n = 86)	Уровень достоверности p
IFN- γ пг/мл	89,44 \pm 0,85	123,85 \pm 1,66	0,0001*
IL-18, пг/мл	8,12 \pm 0,07	8,97 \pm 0,12	0,0001*
TNF- α пг/мл	2,66 \pm 0,05	2,76 \pm 0,05	0,1236

Примечание: * – достоверное отличие между группами (тест Манна-Уитни, $p < 0,05$)

При проведении корреляционного анализа были установлены сильные прямые связи между уровнем IL-18 и клинически значимой вирусной нагрузкой ($>51g$, 3–51g) ($R = 0,7476$, $p = 0,0001$); уровнем IL-18 и возрастом пациентки > 30 лет ($R = 0,7235$, $p = 0,0002$); уровнем IL-18 и уровнем IFN- γ ($R = 0,7982$, $p = 0,0001$); уровнем IFN- γ и клинически значимой вирусной нагрузкой ($>51g$, 3–51g) ($R = 0,7164$, $p = 0,0002$); уровнем IFN- γ и возрастом пациентки > 30 лет ($R = 0,7623$, $p = 0,0003$).

Полученные результаты показателей IFN- γ - 123,85 \pm 1,66 пг/мл и IL - 18 - 8,97 \pm 0,12пг/мл, достоверно отличающиеся от показателей группы контроля ($p=0,0001$), отражают, вероятно, факт активации специфического клеточного иммунитета на фоне присутствия ВПЧ ВКР и повышение IFN- γ происходит в результате его синтеза иммунокомпетентными клетками в ходе развернутого иммунного ответа.

Средний возраст пациенток II группы (пациенток с CIN II) составил 36,90 \pm 0,48 лет. При этом 54% отметили раннее начало половой жизни, а количество половых партнеров более 5 подтвердили 34% женщин. Средний возраст первого коитуса в данной группе составил 16,7 \pm 1,3 лет. Вирусная нагрузка составила в среднем 4,63 \pm 0,10 lg ВПЧ на 100 тыс. клеток.

По результатам жидкостной цитологии пациентки группы с CIN II имели ложноотрицательное заключение LSIL в 21% (n=18) случаев (таблица 5). Это требует гистологического подтверждения для исключения тяжелого поражения.

Таблица 5 – Результаты цитологического исследования мазков у группы пациенток с CIN II

Результат	Абсолютные числа (удельный вес, %)
NILM	-
LSIL	18 (21%)
HSIL	68(79%)

По заключению цитологии поражение высокого канцерогенного риска HSIL выявлено у 79 % женщин (n = 68) и обязательно требует проведения гистологического исследования.

«Нормоценоз» влагалища по данным «Фемофлор» выявлен в 100% случаев.

Установлены прямые сильные корреляционные связи между дебютом половой жизни раньше 18 лет и клинически значимой вирусной нагрузкой (>5lg, 3–5lg) (R = 0,7252, p = 0,0004); дебютом половой жизни раньше 18 лет и гистологическим заключением, соответствующим HSIL/CIN II (R = 0,7234, p = 0,0003). Эти взаимосвязи подтверждают факт раннего начала половой жизни как фактора риска развития CIN.

По кольпоскопии слабовыраженное поражение визуализировано у 47 (54,7%) пациенток, выраженное поражение – у 39 (45,3%), что соответствует аномальной кольпоскопической картине 2 степени (таблица 6).

Таблица 6 - Результаты расширенной кольпоскопии пациенток с CIN II (группа II)

Аномальная кольпоскопическая картина I степени	
Нежная мозаика	21 (24,4 %)
Нежная пунктация	12 (14 %)
Тонкий АБЭ	14 (16,3 %)
Аномальная кольпоскопическая картина II степени	
Плотный АБЭ	29 (33,7%)
Грубая мозаика	10 (11,6%)

При анализе IFN- γ , IL – 18 – показатели достоверно отличались от группы контроля (p<0,05) (таблица 7).

Таблица 7 - Уровни цитокинов в цервикальной слизи у женщин с CIN II, M \pm m

Показатели	Группа контроля (n = 43)	Группа II (CIN II) (n = 86)	Уровень достоверности p
IFN- γ пг/мл	89,44 \pm 0,85	166,34 \pm 1,95	0,0001*
IL-18 , пг/мл	8,12 \pm 0,07	5,75 \pm 0,11	0,0001*
TNF- α пг/мл	2,66 \pm 0,05	2,68 \pm 0,04	0,0640

Примечание: * – достоверное отличие между группами (тест Манна-Уитни, p<0,05)

Установлены сильные прямые связи между уровнем IL-18 и клинически значимой вирусной нагрузкой (>5lg, 3–5lg) (R = 0,7276 , p = 0,0004); уровнем IL-18 и гистологическим

исследованием, соответствующим HSIL/CIN II ($R = 0,7196$, $p = 0,0005$); уровнем IFN- γ и возрастом пациентки > 30 лет ($R = 0,7365$, $p = 0,0004$); уровнем IFN- γ и табакокурением ($R = 0,7623$, $p = 0,0003$); уровнем IFN- γ и клинически значимой вирусной нагрузкой ($>5lg$, $3-5lg$) ($R=0,7344$, $p=0,0003$); уровнем IFN- γ и гистологическим заключением, соответствующим HSIL/CIN II ($R = 0,7843$, $p = 0,0003$).

Полученные изменения показателей цитокинового ряда (IL – 18, IFN- γ , TNF- α) сопряжены с недостаточностью фагоцитарных реакций, это доказывает их участие в развитии и прогрессировании цервикальных интраэпителиальных неоплазий шейки матки, ассоциированных папилломавирусом.

Достоверное снижение уровня IL-18 ($5,75\pm 0,11$, в группе контроля $8,12\pm 0,07$, $p<0,0001$), играющего важную роль в формировании иммунного ответа с участием CD8+ Т-лимфоцитов в цервикальной слизи у пациенток с CIN II, подтверждает наличие выраженной местной иммуносупрессии у пациенток с цервикальной интраэпителиальной неоплазией.

Уровень провоспалительного цитокина – TNF- α – в цервикальном секрете составил $2,68\pm 0,04$ пг/мл и не отличался от показателя группы контроля ($2,66\pm 0,05$ пг/мл). Поскольку уровень TNF- α является показателем активности воспаления и коррелирует с тяжестью течения инфекционного процесса, который у пациенток, включенных в исследование являлся критерием исключения, то данный показатель не был изменен в силу отсутствия выраженной воспалительной реакции.

В ходе исследования был проведен ROC-анализ (Receiver Operator Characteristic – операционная характеристика приёмника), который позволил выявить пороговые значения переменных предикторов. Для показателя IFN- γ : $99,325$ до $114,175$ пг/мл – CIN I и $\geq 114,75$ пг/мл – CIN II, $<99,325$ пг/мл – норма. Для показателя IL-18: $\geq 8,445$ пг/мл – CIN I, $<7,225$ пг/мл – CIN II, $7,225-8,445$ пг/мл – норма.

Следующим этапом стало построение непосредственно модели для дифференциации женщин на группы с CIN I, CIN II и здоровых женщин группы контроля методом пошагового регрессионного анализа. Модель для диагностики характера течения заболевания имеет вид:

$$y = 0,0160 \times x_1 - 0,0796 \times x_2 - 0,3389,$$

где y – код группы (код группы: 0 – контроль, 1 – CIN I, 2 – CIN II), x_1 – IFN- γ , x_2 – IL-18.

Полученная модель по исходным значениям выбранных факторов-предикторов позволяет путем подстановки в указанную формулу значений показателей IFN- γ и IL-18 получить критерий принадлежности к группе здоровых женщин или больных с CIN I и CIN II с целью отбора женщин, которым необходимо применение противовирусной терапии препаратом гистидил-глицил-валил-серил-глицил-гистидил-глицил-глутаминил-гистидил-глицил-валил-гистидил-глицин «Аллоферон» ввиду нарушения регуляции иммунного ответа и риска

прогрессирования неопластического процесса. При значении y – меньше 0,5 женщину можно отнести к группе здоровых, от 0,5 до 1,5 – к CIN I и выше 1,5 – к CIN II.

Контроль излеченности оценивали на основании данных цитологических заключений, кольпоскопии, результатов тестирования на ВПЧ ВКР – методом ПЦР диагностики. Оценка эффективности выбранной терапии проводилась через 6, 12 и 18 месяцев внутри групп с CIN I, CIN II на основании отсутствия ВПЧ и/или снижения вирусной нагрузки ниже значимых величин.

При оценке результатов исследования цитологических соскобов с шейки матки через 6 месяцев улучшение было отмечено у 19 (44,2%) пациенток подгруппы Ib, ранее имевших в мазках ВПЧ-эффект и LSIL. У 9 (20,9%) наблюдалась цитограмма реактивных изменений без признаков LSIL, у 15 (34,8%) женщин сохранялась слабая дисплазия эпителия шейки матки. Вероятно, восстановление нормальных клеточных и тканевых процессов в шейке матки обусловлено активацией иммунного ответа вследствие применения препарата «Аллоферон» (таблица 8) и последующей элиминацией вирус-этиотропного агента.

Таблица 8 – Результаты цитологического исследования мазков в динамике у пациенток с CIN I (подгруппы Ia и Ib)

	CIN I подгруппа Ia			CIN I подгруппа Ib			Уровень достоверности		
	6 месяцев	12 месяцев	18 месяцев	6 месяцев	12 месяцев	18 месяцев	p1	p2	p3
NILM	9 (20,9%)	8 (18,6%)	7 (16,3%)	19 (44,2%)	36 (83,8%)	39 (90,7%)	0,003*	0,002*	0,001*
Реактивные изменения	1 (2,3%)	4 (9,3%)	5 (11,6%)	9 (20,9%)	2 (4,6%)	1 (2,3%)	0,004*	0,061	0,036
LSIL	28 (65,1%)	27 (62,8%)	26 (60,5%)	15 (34,8%)	5 (11,6%)	3 (6,9%)	0,002*	0,003*	0,004*
HSIL/ CIN II	5 (11,6%)	4 (9,3%)	5 (11,6%)	-	-	-	0,001*	0,001*	0,001*

Примечание. * – достоверное отличие ($p < 0,05$) (критерий Уилкоксона–Манна–Уитни): p1 – достоверное отличие между «Ia» и «Ib» через 6 месяцев; p2 – достоверное отличие между «Ia» и «Ib» через 12 месяцев; p3 – достоверное отличие между «Ia» и «Ib» через 18 месяцев.

По результатам расширенной кольпоскопии через 12 месяцев в подгруппе Ia нежная пунктация выявлена у 4 (9,3%) женщин, нежная мозаика — у 10 (23,2%), тонкий АБЭ – у 10 (23,2%), плотный АБЭ – у 1 (2,3 %). Через 18 месяцев у женщин подгруппы Ia аномальная кольпоскопическая картина обнаружена у 24 (55,8%) пациенток.

В подгруппе Ib наблюдается положительная динамика: через 6 месяцев нормальная кольпоскопическая картина выявлена у 27 (62,8%), через 12 месяцев – у 29 (67,4%), к концу 18 месяца – у 38 (88,4%) пациенток. Аномальные кольпоскопические признаки в виде нежной

мозаики в 18 месяцев отмечены у 5 пациенток (11,6%). Наблюдение показало, что в группе Ia аномальные кольпоскопические признаки не исчезли.

Статистическая обработка данных с применением критерия Уилкоксона–Манна–Уитни, показала, что кольпоскопические признаки имели статистически значимую разницу (нормальная кольпоскопическая картина по результатам расширенной кольпоскопии через 6, 12 и 18 месяцев, $p=0,0003$, $p=0,004$, $p=0,006$, соответственно), сочетание мозаики и пунктации через 6, 12 и 18 месяцев ($p=0,004$, $p=0,003$, $p=0,001$, соответственно) (таблица 9).

Таблица 9 – Результаты расширенной кольпоскопии у пациенток с CIN I в динамике (подгруппы Ia и Ib)

Подгруппа	CIN I подгруппа Ia			CIN I подгруппа Ib			Уровень Достоверности		
	6 месяцев	12 месяцев	18 месяцев	6 месяцев	12 месяцев	18 месяцев	p1	p2	p3
Временной промежуток									
Нормальная кольпоскопическая картина	15 (35%)	14 (32,7%)	19 (44,2%)	27 (62,8%)	29 (67,4%)	38 (88,4%)	0,003*	0,004*	0,002*
Аномальная кольпоскопическая картина I степени									
Тонкий АБЭ	9 (20,9%)	10 (23,2%)	9 (20,9%)	6 (14%)	5 (11,6%)	-	0,006	0,004*	0,001*
Нежная мозаика	10 (23,2%)	10 (23,2%)	7 (16,3%)	7 (16,3%)	6 (14%)	5 (11,6%)	0,002*	0,002*	0,076
Нежная пунктация	4 (9,3 %)	4 (9,3 %)	4 (9,3 %)	1 (2,3 %)	1 (2,3 %)	-	0,007*	0,002*	0,001*
Сочетание нежной мозаики и нежная пунктации	4 (9,3 %)	4 (9,3 %)	4 (9,3 %)	2 (4,7 %)	2 (4,7 %)	-	0,006*	0,004*	0,001*
Аномальная кольпоскопическая картина II степени									
Плотный АБЭ	1 (2,3%)	1 (2,3%)	-	-	-	-	-	-	-

Примечание. * – достоверное отличие ($p < 0,05$) (критерий Уилкоксона–Манна–Уитни): p1 – достоверное отличие между «Ia» и «Ib» через 6 месяцев; p2 – достоверное отличие между «Ia» и «Ib» через 12 месяцев; p3 – достоверное отличие между «Ia» и «Ib» через 18 месяцев.

В подгруппе Ib снижение вирусной нагрузки и/или полное исчезновение ВПЧ ВКР наблюдалось у 14 (33%) женщин через 6 месяцев и у 20 (46%) через 12 месяцев (рисунок 2), в то время как у пациенток подгруппы Ia этот показатель составил не более 20% через 12 месяцев. Эффективность терапии через 18 месяцев в подгруппе Ib достоверно выросла и составила 64%, что на 18% выше показателей через 12 месяцев ($p < 0,05$). В подгруппе Ia самоэлиминация вируса произошла у 3 женщин (7%).



Рисунок 2 - Оценка эффективности терапии у пациенток с CIN I

При измерении иммунологических показателей в цервикальной слизи максимальный уровень IL-18 был достигнут в Ib подгруппе спустя 10 дней после лечения и составил $12,61 \pm 0,35$ пг/мл (таблица 10).

Таблица 10 – Определение уровней IFN- γ , IL-18, TNF- α в динамике при CIN I

Исследуемый параметр	IFN- γ , (пг/мл)	IL – 18, (пг/мл)	TNF- α , (пг/мл)
Группа контроля	$89,44 \pm 0,85$	$8,12 \pm 0,07$	$2,66 \pm 0,05$
До лечения	$123,85 \pm 1,66$	$8,97 \pm 0,12$	$2,76 \pm 0,05$
Через 10 дней	CIN I подгруппа Ia	$116,46 \pm 1,66$	$9,12 \pm 0,10$
	CIN I подгруппа Ib	$159,65 \pm 4,83$	$12,61 \pm 0,35$
Через 12 месяцев	CIN I подгруппа Ia	$115,68 \pm 1,80$	$9,10 \pm 0,10$
	CIN I подгруппа Ib	$127,23 \pm 3,96$	$11,58 \pm 0,21$
Уровень достоверности	p1	0,010*	0,023*
	p2	0,002	0,015*
	p3	0,030*	0,001
	p4	0,002*	0,002*

Примечание: * достоверное отличие (тест Манна–Уитни, $p < 0,05$); p1 – достоверное отличие между «Ia» и «Ib» через 10 дней; p2 – достоверное отличие между «Ia» и «Ib» через 12 месяцев; p3 – достоверное отличие между «Ia» и «до лечения»; p4 – достоверное отличие между «Ib» и «до лечения».

Содержание IFN- γ в цервикальной слизи была достоверно выше в подгруппе Ib ($159,65 \pm 4,83$ пг/мл), чем в подгруппе Ia ($116,46 \pm 1,66$ пг/мл). Снижение IFN- γ к 12-му месяцу связано с подавлением репликации ВПЧ и устранением местного воспалительного процесса в шеечном эпителии. Показатели уровня цитокинов в динамике через 10 дней и 12 месяцев у

женщин группы Ia свидетельствуют о нарушении работы клеточных механизмов, что является отражением персистирующего течения ПВИ.

При сравнительном анализе пациенток с CIN II в подгруппе IIa у 38 (88,3 %) пациенток и в подгруппе IIб у 41 (95,34%) наблюдалась картина NILM. Но, спустя 12 месяцев у 8 (18,6%) пациенток в подгруппе IIa без применения иммунопротивовирусной терапии на основании жидкостной цитологии констатирован рецидив в виде слабой степени цервикальной интраэпителиальной неоплазией LSIL. Важно отметить, что это были женщины позднего репродуктивного возраста (более 40 лет). У 1 пациентки (2,3%) выявлена HSIL (по данным цитологии). В подгруппе IIб, где пациентки принимали Аллоферон, через 12 месяцев у 40 (93,02 %) женщин цитологическая картина соответствовала NILM. Заключение LSIL/HSIL у женщин подгруппы IIб не было выявлено ни через 6 месяцев, ни через 12 месяцев, что обусловлено своевременно начатым и эффективным лечением (таблица 11).

Таблица 11 – Результаты цитологического исследования мазков у пациенток с CIN II (подгруппы IIa и IIб)

	CIN II подгруппа IIa			CIN II подгруппа IIб			Уровень достоверности		
	6 месяцев	12 месяцев	18 месяцев	6 месяцев	12 месяцев	18 месяцев	p1	p2	p3
NILM	38 (88,4%)	34 (79%)	40 (93%)	41 (95,4%)	40 (93%)	41 (95,4%)	0,004*	0,001*	0,074
Реактивные изменения	-	-	3 (7%)	2 (4,6%)	3 (7%)	2 (4,6%)	-	0,001*	0,081
LSIL	5 (11,6%)	8 (18,7%)	-	-	-	-	0,001*	0,001*	-
HSIL/CIN II	-	1 (2,3%)	-	-	-	-	-	0,001*	-

Примечание. * – достоверное отличие ($p < 0,05$) (критерий Уилкоксона–Манна–Уитни): p1 – достоверное отличие между «IIa» и «IIб» через 6 месяцев; p2 – достоверное отличие между «IIa» и «IIб» через 12 месяцев; p3 – достоверное отличие между «IIa» и «IIб» через 18 месяцев.

А сохранение CIN II через 12 месяцев у пациентки в подгруппе IIa связано, вероятно, с возможным нарушением процессов регуляции иммунного ответа, с более длительной персистенцией вируса и, как результат, возникновением рецидива.

С учетом особенностей течения неопластической трансформации, обнаружение измененной ткани шейки матки по данным цитологии и подтвержденные гистологическим исследованием в период обследования между 6 и 12 месяцами после проведенной первичной эксцизии принимали за неизлеченность, после 12 месяцев от эксцизии – рецидив.

Пациентке группы II, у которой через 12 месяцев сохранялась картина, цитологически соответствующая заключению HSIL, проводилась реэксцизия ввиду риска прогрессия

заболевания. Нормальное цитологическое заключение через 18 месяцев была выявлено у 41 (95,34 %) пациенток подгруппы Пб и у 40 (93%) подгруппы Па. Заключение цитологии LSIL у пациенток подгруппы Пб не выявлены. У 2 (4,6 %) пациенток через 18 месяцев результат цитограммы показал наличие реактивных изменений без признаков атипии.

Проводя анализ динамики изменения кольпоскопических картин у пациенток с CIN II положительная динамика выявлена в подгруппе Па и в подгруппе Пб (таблица 12).

Таблица 12 – Результаты расширенной кольпоскопии у пациенток с CIN II в динамике (подгруппы Па и Пб)

Подгруппа	CIN II подгруппа Па			CIN II подгруппа Пб			Уровень достоверности		
	6 месяцев	12 месяцев	18 месяцев	6 месяцев	12 месяцев	18 месяцев	p1	p2	p3
Временной промежуток	6 месяцев	12 месяцев	18 месяцев	6 месяцев	12 месяцев	18 месяцев			
Нормальная кольпоскопическая картина	35 (81,4%)	33 (76%)	40 (91,1%)	40 (91,1%)	41 (95,4%)	42 (97,7%)	0,003*	0,004*	0,074
Аномальная кольпоскопическая картина I степени									
Нежная Мозаика	2 (4,6%)	2 (4,6%)	1 (2,3%)	-	1 (2,3%)	1 (2,3%)	0,061	0,061	0,089
Нежная пунктация	3 (7%)	4 (9,3%)	2 (4,6%)	1 (2,3%)	1 (2,3%)	-	0,004*	0,003*	0,063
Сочетание нежной мозаики и нежной пунктации	3 (7%)	4 (9,3%)	-	2 (4,6%)	-	-	0,087	0,001*	-
Аномальная кольпоскопическая картина II степени									
Плотный АБЭ	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание. * – достоверное отличие ($p < 0,05$) (критерий Уилкоксона–Манна–Уитни): p1 – достоверное отличие между «Па» и «Пб» через 6 месяцев; p2 – достоверное отличие между «Па» и «Пб» через 12 месяцев; p3 – достоверное отличие между «Па» и «Пб» через 18 месяцев.

Однако более активная эпителизация шейки матки наблюдалась в подгруппе Пб, пациентки которой получали лечение Аллофероном по сравнению с пациентками подгруппы Па. По данным уксусной пробы у пациенток подгруппы Пб не было обнаружено аномальных кольпоскопических картин (ацетобелого эпителия, пунктуации, мозаики). Нормальная кольпоскопическая картина к 18 месяцам достигнута в подгруппах Па и Пб у 40 (91,1 %) и 42 (97,7%), соответственно.

В подгруппе Па через 6 месяцев вирус папилломы человека не определялся у 24 (55%) женщин, снижение вирусной нагрузки отмечено у 14 (32%) пациенток, таким образом суммарная эффективность терапии составила 87%. В подгруппе Пб ВПЧ ВКР не был выявлен у 34 (80%) обследованных, вирусная нагрузка ниже клинически значимой обнаружена у 5 (12%)

женщин (суммарный показатель 92%). Через 12 месяцев в группе женщин с CIN II не получавших лечение Аллофероном (подгруппа IIa) снижение вирусной нагрузки отмечено у 11% пациенток, отрицательным тест был у 25 (58%) (суммарный показатель – 69%). В подгруппе IIb (получавших Аллоферон) у 3 (7%) диагностировано снижение вирусной нагрузки ниже клинически значимой, у 38 (88%) не было выявлено ВПЧ-ВКР (суммарно 95%) через 12 и 18 месяцев, что говорит о активной элиминации ВПЧ при комбинированном лечении с применением иммунного препарата (рис.3).

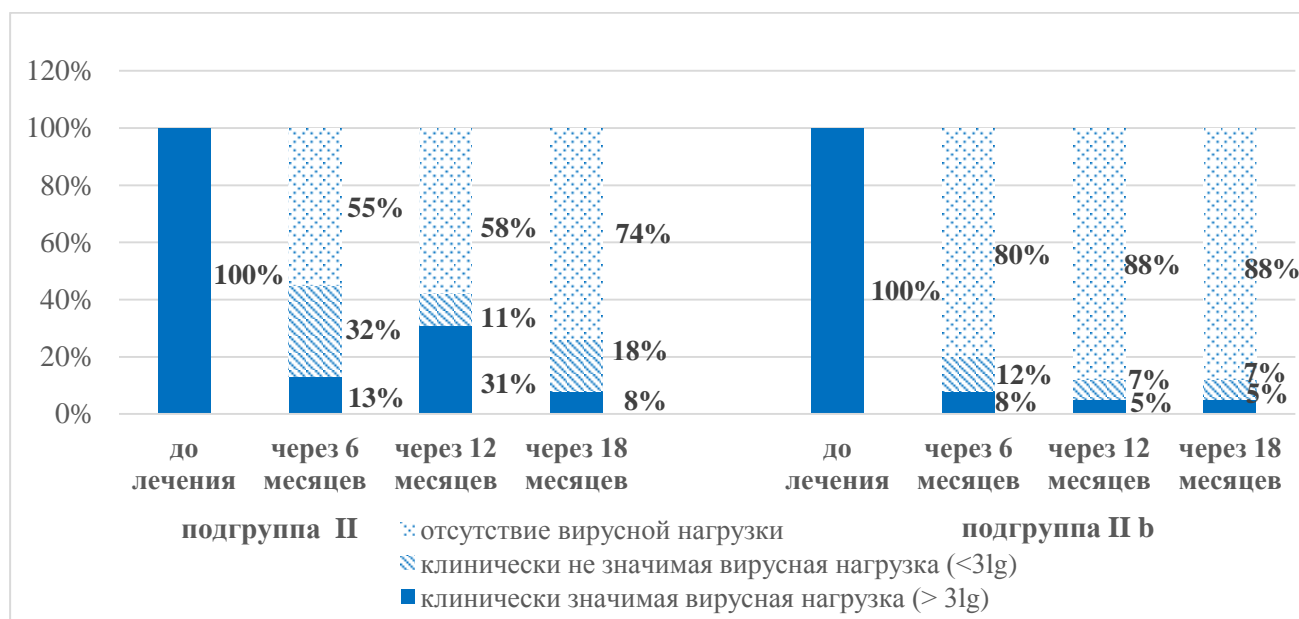


Рисунок 3 - Оценка эффективности терапии у пациенток с CIN II

Уровни IFN- γ , IL-18, TNF- α в динамике при CIN II отражены в табл.13.

Таблица 13 – Определение уровней IFN- γ , IL-18, TNF- α в динамике при CIN II

Исследуемый параметр		IFN- γ , (пг/мл)	IL – 18, (пг/мл)	TNF- α , (пг/мл)
Группа контроля		89,44 \pm 0,85	8,12 \pm 0,07	2,66 \pm 0,05
До лечения		163,61 \pm 2,06	5,78 \pm 0,12	2,72 \pm 0,04
Через 10 дней	CIN II подгруппа IIa	168,03 \pm 2,76	5,65 \pm 0,15	2,75 \pm 0,06
	CIN II подгруппа IIb	174,98 \pm 2,75	10,43 \pm 0,34	2,76 \pm 0,06
Через 12 месяцев	CIN II подгруппа IIa	167,14 \pm 2,79	5,43 \pm 0,15	2,77 \pm 0,07
	CIN II подгруппа IIb	155,43 \pm 3,51	9,17 \pm 0,28	2,72 \pm 0,07
Уровень достоверности	p1	0,654	0,001*	0,986
	p2	0,001*	0,001*	0,718
	p3	0,809	0,686	0,836
	p4	0,001*	0,001*	0,815

Примечание: * достоверное отличие (тест Манна–Уитни, $p < 0,05$); p1 – достоверное отличие между «IIa» и «IIb» через 10 дней; p2 – достоверное отличие между «IIa» и «IIb» через 12 месяцев; p3 – достоверное отличие между «IIa» и «до лечения»; p4 – достоверное отличие между «IIb» и «до лечения».

Противовирусная активность препарата «Аллоферон» связана с запуском биохимических процессов в макрофагах, способствующим усилению продукции интерлейкинов, повышение его уровня через 10 дней после воздействия противовирусного препарата у подгруппы Пб является положительным эффектом терапии. Снижение уровня ИЛ-18 к 12-му месяцу после лечения у пациенток, как показали наши исследования, ассоциировано с подавлением репликации ВПЧ.

При оценке различных вариантов терапии CIN наибольший эффект был достигнут в группе с противовирусным лечением, которое способствовало к медикаментозной активации НК-клеток, опосредованно запуску цитокиновых реакций, что привело к прямому лизису зараженных клеток [98]. В то время как у пациенток без противовирусного лечения клетки с ВПЧ были «защищены» от лимфоцитов за счет блокирования активности НК-клеток [102]. Применение препарата «Аллоферон» - иммуномодулятора с противовирусным действием в сочетании с эксцизией в терапии CIN II степени повышает процент эффективности в долгосрочном наблюдении, позволяет снизить риск рецидивирования и применения реэксцизии.

Перспективы дальнейшей разработки темы

В качестве перспектив разработки темы предполагаем продолжить изучение иммунопатогенетических механизмов развития неоплазий для совершенствования комплексной терапии с целью улучшения отдаленных результатов. Требуется дальнейшее изучение вопросов патогенеза поражения шейки матки и исследование иммунологических показателей при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях разных степеней, включая CIN III.

ВЫВОДЫ

1. В республике Мордовия лидирующим генотипом при CIN I и CIN II является 16 тип, на втором месте по частоте встречаемости у больных с CIN I степени определяется 31 тип, при CIN II отмечено сочетание типов ВПЧ ВКР [16, 18, 31, 51] с высокой клинически значимой вирусной нагрузкой (более 3 Ig).

2. Проведенный анализ уровней IFN- γ , ИЛ – 18, TNF- α цервикальной слизи у женщин без патологии шейки матки и без папилломавирусной инфекции позволил определить доверительные интервалы нормы для показателя IFN- γ : <99,325 пг/мл, ИЛ–18: 7,225-8,445 пг/мл, TNF- α : <2,66 пг/мл.

3. Иммунологические параметры цервикальной слизи (ИЛ-18 и IFN- γ) являются одними из прогностически значимых критериев: при CIN I отмечается повышение IFN- γ в 1,4 раза ($p<0,05$), уровня ИЛ-18 в 1,1 раза ($p<0,05$), что связано с нарушением работы клеточных механизмов, приводящее к длительной персистенции ВПЧ-инфекции. При CIN II отмечено

снижение IL-18 в 1,4 раза ($p < 0,05$) в связи с выраженной иммуносупрессией. Отсутствие местной воспалительной реакции подтверждается стабильным показателем TNF- α , ввиду отсутствия цитопатических свойств у ВПЧ.

4. Доверительные интервалы показателей IFN- γ : 99,325 до 114,175 нг/мл для CIN I и \geq 114,75 нг/мл для CIN II; IL-18: \geq 8,445 нг/мл для CIN I, $<$ 7,225 нг/мл для CIN II позволяют оценивать вероятность развития соответствующей степени поражения цервикальной интраэпителиальной неоплазии в качестве дополнительного неинвазивного теста.

5. Терапия препаратом гистидил-глицил-валил-серил-глицил-гистидил-глицил-глутаминил-гистидил-глицил-валил-гистидил-глицином при лечении CIN I, повышает эффективность лечения в 2,3 раза, составляя 46% по сравнению с 20% в группе динамического наблюдения через 12 месяцев и в 2,9 раза через 18 месяцев (64% и 22%, соответственно). Одновременное использование противовирусной терапии совместно с хирургическим методом лечения при лечении CIN II повышает эффективность лечения в 1,4 раза (95%) по сравнению с группой, где проведено только эксцизионное лечение (69%) и позволяет избежать рецидивирования патологического процесса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Проведение цитологического скрининга CIN в настоящее время сочетать с обследованием на ВПЧ ВКР. Женщинам, у которых в цервикальном канале идентифицирована ДНК ВПЧ ВКР, рекомендуется комплексное обследование, включающее проведение расширенной кольпоскопии, цитологическое исследование мазков с шейки матки, определение уровней IFN- γ , IL – 18, TNF- α в цервикальной слизи для оценки рисков персистенции ВПЧ и прогрессии ВПЧ-ассоциированной патологии эпителия шейки матки.

2. Учитывая результаты корреляционных исследований и выявленных связей необходимо более тщательное наблюдение за женщинами старше 30 лет, начавших половую жизнь ранее 18 лет и имеющие более 5 половых партнеров, ввиду высокого риска развития ВПЧ-ассоциированных CIN.

3. Женщинам с дисплазией шейки матки рекомендовано дополнительно исследовать иммунологические показатели цервикальной слизи: уровня IL-18, IFN- γ , TNF- α с целью выбора лечебной тактики и оценки эффективности лечения. При повышении IFN- γ и снижении уровня IL-18 необходимо применять противовирусный иммуномодулирующий препарат Аллоферон для снижения риска рецидивов.

4. Ввиду высокой распространенности ВПЧ среди сексуально-активного населения необходимо проводить санитарно-просветительную работу, рекомендовать по использованию барьерных методов контрацепции, более ответственно относиться к выбору половых партнеров и исключать случайные половые контакты.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Епифанова, О. В.** Сравнительный анализ и частота встречаемости серотипов папилломавирусной инфекции в Республике Мордовия у женщин с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями / О. В. Епифанова, О. П. Виноградова, Н. А. Андреева // **Лечащий врач.** 2018. № 9. С. 86-87.
2. **Епифанова, О. В.** Региональные особенности распространенности и спектра генотипов вируса папилломы человека высокого риска у женщин Республики Мордовия / О. В. Епифанова, О. П. Виноградова, Н. А. Андреева // **Материалы международной конференции «Научные исследования стран ШОС: синергия и интеграция».** Пекин, КНР. 2019. С. 203-206.
3. **Епифанова, О. В.** Цитокиновый профиль при цервикальной интраэпителиальной неоплазии II степени у женщин с папилломавирусной инфекцией / О. В. Епифанова, О. П. Виноградова, Н. А. Андреева // **Российский вестник акушера-гинеколога.** 2020. Т.20, №5. С. 21–25.
4. **Епифанова, О. В.** Особенности консервативной иммунопротивовирусной терапии пациенток с ВПЧ-ассоциированными цервикальными интраэпителиальными неоплазиями I степени / О. В. Епифанова, О. П. Виноградова, Н. А. Андреева // **Акушерство и гинекология.** 2020. №3. С. 174–80. [Scopus].
5. **Епифанова, О. В.** Иммунологический дисбаланс при интраэпителиальных поражениях шейки матки на фоне персистирующей папилломавирусной инфекции / О. В. Епифанова, О. П. Виноградова, Н. А. Андреева // **Актуальные вопросы диагностики, лечения и реабилитации больных в условиях новой коронавирусной инфекции: материалы XX Межрегиональной научно-практической конференции.** – М.: Издательство Ассоциации врачей первичного звена СИРАНО, 2020. С. 214.
6. **Epifanova, O. V.** Possible pathogenetic factors in the development of cervical intraepithelial neoplasia II / O. V. Epifanova, N. A. Andreeva, H. J. Kadhim // **American Scientific Journal.** 2020. №27 P. 18-20.
7. **Епифанова, О.В.** Иммунологические особенности цервикальной слизи у пациенток с папилломавирусной инфекцией при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях I степени / О. В. Епифанова, О. П. Виноградова, Н.А. Андреева // **Тезисы XV Общероссийского научно-практического семинара «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» и VIII Общероссийской конференции «Контраверсии неонатальной медицины и педиатрии».** StatusPraesens. Сочи. 2021. С. 12-13.
8. **Епифанова, О. В.** Эффективность применения иммунопротивовирусной терапии цервикальных интраэпителиальных неоплазий I степени на фоне папилломавирусной инфекции

/ О. В. Епифанова, О. П. Виноградова, Н. А. Андреева, О. И. Артемова // **Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирёва**. 2021. Т. 8, № 3. С. 155–166.

9. **Епифанова, О. В.** Вирусная нагрузка как фактор персистенции папилломавирусной инфекции при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях I степени / О. В. Епифанова, О. П. Виноградова, Н. А. Андреева // **Уральский медицинский журнал**. 2021. Т. 20, № 4. – С. 24-30.

10. **Епифанова, О. В.** Активность маркеров апоптоза при HPV-ассоциированных патологиях шейки матки / О. В. Епифанова, О. П. Виноградова, Е. А. Орлова, О. И. Артемова, Н. А. Андреева // **Международный научно-исследовательский журнал**, Екатеринбург. 2021. №7 С. 71-74.

11. **Епифанова, О. В.** Цервикальные интраэпителиальные неоплазии II степени: эффективность противовирусной терапии / О. В. Епифанова, О. П. Виноградова, Н. А. Андреева, О. И. Артемова // **Доктор.Ру**. 2022; Т.21, №1. С. 54–58.

12. **Епифанова, О. В.** Отдалённый эффект применения противовирусной терапии цервикальных интраэпителиальных неоплазий II степени / О. В. Епифанова, О. П. Виноградова, Н. А. Андреева, О. И. Артемова // **Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирёва**. 2022. Т. 9, № 4. С. 239-246.

13. **Епифанова, О. В.** Изменение факторов иммунного ответа при терапии цервикальных интраэпителиальных неоплазий / О. В. Епифанова, О. П. Виноградова, Н. А. Андреева, О. И. Артемова // **Сибирское медицинское обозрение**. 2022. № 6. С. 71-77.

14. **Епифанова, О. В.** Способ прогнозирования эффективности проводимого лечения цервикальных интраэпителиальных неоплазий I-II степени / О. В. Епифанова, О. П. Виноградова, Н. А. Андреева // Патент № 2773799 С1 RU, МПК G01N 33/53. № 2021111243; заявл. 21.04.2021, опубл. 09.06.2022.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АБЭ – ацето-белый эпителий

ВПЧ ВКР – вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска

ИФА – иммуноферментный анализ

ПВИ – папилломавирусная инфекция

IFN- γ –interferon gamma

IL – interleukin

HSIL – high-grade squamous intraepithelial lesions

TNF- α – tumor necrosis factor alpha

CIN – cervical intraepithelial neoplasia

NILM – negative for intraepithelial lesion or malignancy

