

*На правах рукописи*

**ГОРРИНГ ХАВА ИЗРАИЛОВНА**

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТАКТИКИ ВЕДЕНИЯ ЛАТЕНТНЫХ И  
СУБКЛИНИЧЕСКИХ ФОРМ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У  
ЖЕНЩИН**

3.1.4. – акушерство и гинекология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Волгоград - 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

**Куценко Ирина Игоревна** - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства, гинекологии и перинатологии

**Официальные оппоненты:**

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

**Лебеденко Елизавета Юрьевна** – заведующий кафедрой акушерства и гинекологии №3 Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры, доктор медицинских наук, доцент

**Ведущая организация:** Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии»

Защита состоится «\_\_\_» июня 2023 г. в \_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 21.2.005.04 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, д. 1).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» МЗ РФ по адресу: 400131 г. Волгоград, пл. Павших борцов, д. 1 и на сайте [www.volgmed.ru](http://www.volgmed.ru), а с авторефератом - на сайте ВАК Министерства образования и науки РФ: [www.vak.ed.gov.ru](http://www.vak.ed.gov.ru).

Автореферат разослан « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 года.

Ученый секретарь диссертационного совета 21.2.005.04

доктор медицинских наук, профессор

Селихова Марина Сергеевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** В настоящее время особое внимание уделяется эпидемиологическим аспектам инфицирования вирусом папилломы человека (ВПЧ), играющего основную роль в этиологии рака шейки матки и вульвы [Ашрафян Л.А., 2020; Зароченцева Н.В., 2021; Chen L. et al., 2021]. При этом до сих пор отсутствуют единые алгоритмы ведения пациенток с отсутствием клинических проявлений папилломавирусной инфекции (ПВИ) (латентные и субклинические формы) [Роговская С.И., 2020; Бебнева Т.Н., 2020; Joura E. et al., 2019]. Консервативные методы вторичной профилактики, применяемые в настоящее время при латентных и субклинических формах ВПЧ не обладают высокой эффективностью - после применения противовирусных и иммуномодулирующих препаратов в 26–82% наблюдений отмечаются рецидивы [Аполихина И.А., 2019; Боровиков И.О., 2021; Loorik D., 2020]. Перспективным представляется адьювантное использование вакцины против ВПЧ, которая уже показала эффективность в отношении профилактики прогрессирования интраэпителиальных неоплазий и цервикального рака [Зароченцева Н.В., 2021; Petrillo M., 2020]. Вопросы менеджмента латентных и субклинических форм ПВИ по-прежнему остаются важной и не до конца решенной медицинской и социальной проблемой.

**Степень разработанности темы.** В последнее время появились единичные публикации, посвященные оценке влияния вакцинации против ВПЧ на снижение риска развития рецидива цервикальных интраэпителиальных неоплазий (CIN) после эксцизионного лечения [Зароченцева Н.В., 2021; Vogani G., 2021; Karimi M., 2020]. Тем не менее, до сих пор остается спорным вопрос о терапевтическом эффекте вакцинации для пациентов с предшествующим воздействием ВПЧ [Mariz F., 2020; Athanasiou A., 2020]. Механизм лечебного воздействия вакцины против ВПЧ остается дискуссионным и должен потенцировать новые исследования [Дубровина С.О., 2021; Зароченцева Н.В., 2021; Давыдов А.И., 2020; Olsson S., 2019; De Martel C., 2020; Cohen P., 2019]. Поэтому представляется актуальным

проведение исследования по возможному терапевтическому использованию вакцины против ВПЧ при латентных и субклинических формах ПВИ.

**Цель исследования:** повышение эффективности вторичной профилактики предрака и рака нижнего отдела гениталий путем разработки алгоритма ведения латентных и субклинических форм папилломавирусной инфекции у женщин.

Сформулированы следующие **задачи исследования:**

1. изучить эпидемиологию инфицированности ВПЧ, оценить состояние профилактики предраковых заболеваний и рака шейки матки в Краснодарском крае в зависимости от места проживания, возраста, социального статуса и стадии поражения;
2. оценить особенности нарушений вагинального микробиоценоза, цитокинового статуса, характера экспрессии белков-регуляторов апоптоза, маркеров пролиферации, соотношения метаболитов эстрогенов, экспрессии рецепторов половых гормонов цервиковагинальной зоны при латентных и субклинических формах ПВИ;
3. установить основные патогенетические факторы, способствующие переходу латентных и субклинических форм ПВИ в интраэпителиальную неоплазию, и оценить их диагностическое и клиническое значение;
4. оценить эффективность применения квадριвалентной вакцины против ВПЧ (6, 11, 16, 18-го типов) с целью вторичной профилактики неопластических процессов нижнего отдела гениталий у пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ;
5. разработать и внедрить в практическое здравоохранение алгоритм ведения пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ.

**Научная новизна работы.** Впервые:

- проанализированы состояние первичной профилактики заболеваний, вызванных ПВИ, у женщин, эпидемиология инфицированности ВПЧ в Краснодарском крае

- с оценкой динамических изменений и разработкой математического прогноза дальнейшего ее распространения;
- определены и систематизированы основные факторы, способствующие реализации инфекции в цервикальную неоплазию (CIN) у женщин, инфицированных ВПЧ (латентная и субклиническая форма ПВИ), с созданием диагностических коэффициентов для прогноза;
  - выявлены особенности гомеостаза (микробиота, локальный иммунитет, оксидативный, цитобиохимический статус цервиковагинальной зоны, особенности молекулярно-биологических маркеров) при латентных и субклинических формах ПВИ;
  - установлено, что формирование неоплазии у пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ тесно взаимосвязано с нарушением вагинального микробиоценоза, увеличением локальной продукции TGF $\beta$  и IL-1 $\beta$ , ростом экспрессии p53mut и bcl-2, гиперэкспрессией c-erbB-2, снижением экспрессии рецепторов эстрогенов, повышением концентрации 16 $\alpha$ -OH-E1;
  - показано, что повышение локального содержания TGF $\beta$  может являться критерием неблагоприятного прогноза для перехода латентных и субклинических форм ПВИ в интраэпителиальную неоплазию;
  - доказана высокая эффективность вакцины против ВПЧ при латентных и субклинических формах ПВИ, снижающая риск развития CIN (в 1,8 раз).

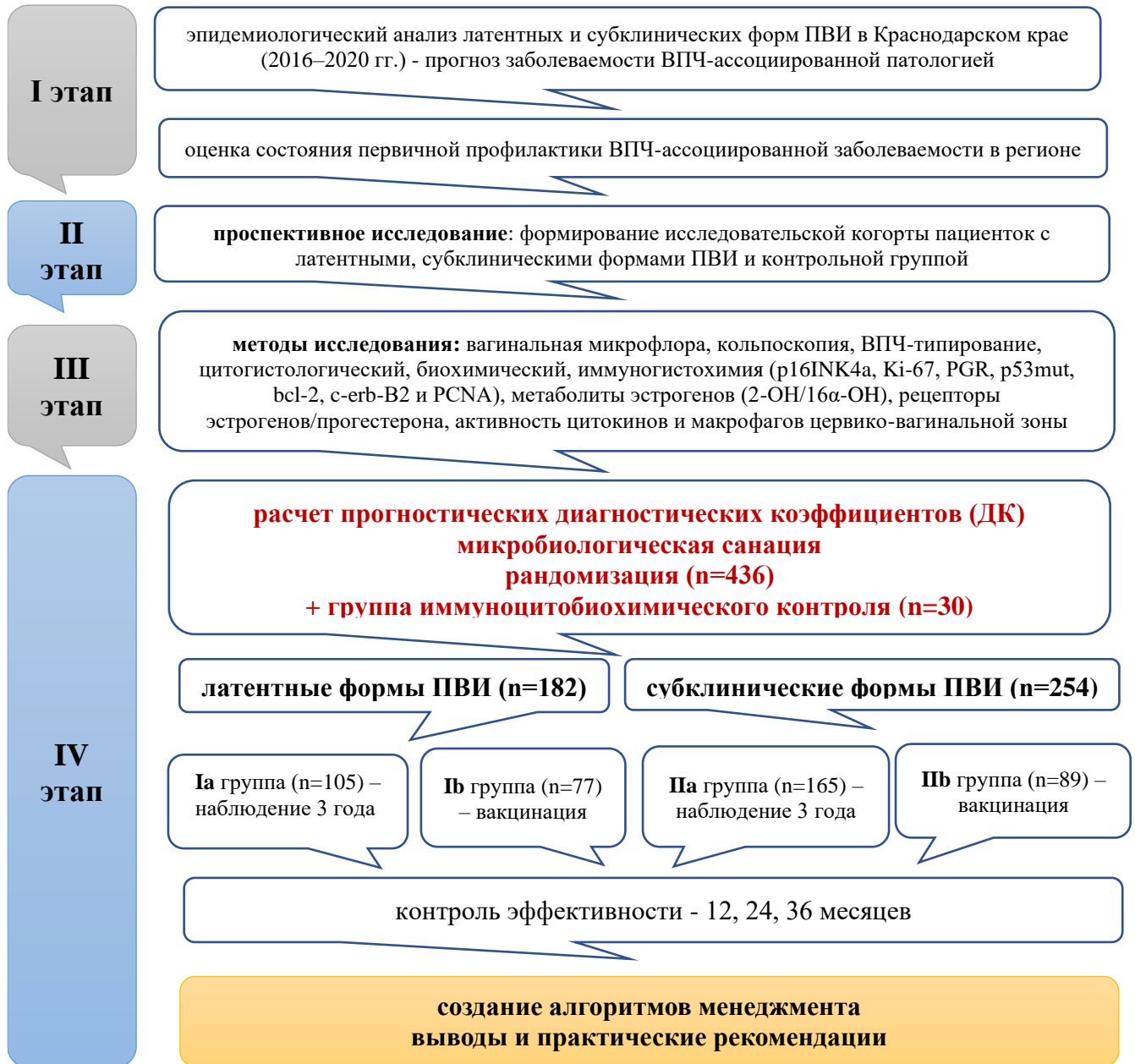
**Теоретическая и практическая значимость работы.** Систематизированы наиболее значимые прогностические клинические, микробиологические, иммунологические и молекулярно-биологические факторы риска развития интраэпителиальной неоплазии. Сформулирована концепция о роли нарушений иммунного, оксидативного статуса, состояния микробиоты цервикальной зоны на фоне наличия молекулярно-генетических маркеров адгезии, пролиферации и экспрессии ВПЧ в патогенезе ассоциированных с ПВИ заболеваний у женщин, которая позволила разработать оптимальные подходы к ведению пациенток с

данной патологией. Создан алгоритм менеджмента пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ, позволивший снизить риск реализации неопластических процессов нижнего отдела гениталий, нормализовать иммуноцитохимические и оксидативные процессы в данной зоне.

**Связь с планом научно-исследовательских работ университета и отраслевыми программами:** исследование выполнено в рамках научной программы КубГМУ «Приоритет 2030» и НИР кафедры акушерства и гинекологии «Пути сохранения репродуктивного здоровья женщин при наиболее значимой акушерской и гинекологической патологии».

**Методология и методы исследования.** Работа выполнялась на клинических базах кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии КубГМУ. На первом (ретроспективном) этапе проведен пятилетний (2016–2020 гг.) анализ в отдельном регионе (Краснодарский край): оценена распространенность латентных и субклинических форм ПВИ, уровень их диагностики, меры профилактики (6239 латентных и 1806 случаев субклинических форм ПВИ) (схема 1). На II-IV этапах на протяжении 36 месяцев комплексное обследование и мониторинг 436 пациенток (182 с латентными и 254 субклиническими формами ПВИ (МКБ 10 - А63.0); 30 женщин – группа контроля). Далее в зависимости от варианта менеджмента пациентки были разделены на 4 группы: **Ia группа** (n=105) – латентная форма ПВИ – наблюдение с ежегодным контролем вирусной нагрузки, кольпоскопией и онкоцитологией; **Ib группа** (n=77) – латентная форма ПВИ – квадριвалентная рекомбинантная вакцину против ВПЧ (6, 11, 16, 18-го типов) (в/м 3 дозы: вторая и третья дозы вводились через 1 и 3 месяца после первой); **IIa группа** (n=165) – субклиническая форма ПВИ – наблюдение, аналогичное Ia гр.; **IIb группа** (n=89) – субклиническая форма ПВИ – вакцина против ВПЧ – 3 дозы по той же схеме. Оценку эффективности лечения проводили на основе динамики следующих показателей: кольпоскопии; цитологического (Pap-тест), молекулярно-биологического (ПЦР), иммуноцитохимического исследования. Основные

критерии включения: диагностированная латентная или субклиническая форма ПВИ; согласие на участие в исследовании (правила GCP). Критерии исключения: возраст до 18 и старше 45 лет; планирование беременности в период наблюдения.



**Схема 1.** Дизайн исследования

Статистическая обработка результатов проводилась методом вариационной статистики с использованием пакетов программ Statistica 6.0 и SPSS 16.0 for Windows. Различия между группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. За 5 лет в Краснодарском крае количество ВПЧ-носителей увеличилось в 1,7 раз, а субклинических форм ПВИ в 10 раз. Основными инфекционными агентами при латентных и субклинических формах ПВИ являются высокоонкогенные типы ВПЧ – 16, 18, 31 и 51 (72,4±5,8%). При этом первичная профилактика ВПЧ-инфекции находится на весьма низком уровне.
2. Папилломавирусная инфекция манифестируется на фоне сопутствующей генитальной инфекции, чаще - анаэробных дисбиозов. Прогрессирование заболеваний, ассоциированных с ПВИ связано с нарушением продукции цитокинов (преобладание иммуносупрессивного влияния TGFβ и нивелированием цитотоксического и антипролиферативного эффектов TNFα и IL-1β), угнетением макрофагального звена локального иммунитета, способствующего Th-2 девиации, уменьшением рецепторов эстрогенов в сочетании с увеличением содержания 16α-гидроксиэстрогена в сочетании с высоким индексом массы тела, гиперэкспрессией онкогенов p53mut и bcl-2, маркеров пролиферации c-erb-B2 и PCNA.
3. Расчет диагностических коэффициентов с учетом клинико-anamnestических, лабораторных и инструментальных данных позволяет определить риск перехода латентных и субклинических форм ПВИ в CIN - суммарно риск реализации более 95% выявлен у 87,8% пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ.
4. Разработанный алгоритм менеджмента пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ, включающий цервикальный и цитологический скрининг, формирование групп риска по развитию ВПЧ-ассоциированных неопластических процессов, а также индивидуализированная терапия с применением вакцины против ВПЧ снижает риск развития CIN.

**Личный вклад автора в исследовании.** Автором выполнены анализ, отбор для исследования амбулаторных карт пациенток для исследования, составление



анкет, индивидуальных карт. Результаты клинико-лабораторных показателей проанализированы в соответствии с критериями, разработанными соискателем для формирования базы данных и статистической обработки материалов. Лично выполнены кольпоскопия, забор материала для цитологического, гистологического и цитобиохимического исследования, разработаны прогностические шкалы и алгоритм менеджмента ВПЧ-патологии. Подготовлены доклады, статьи.

**Степень достоверности и апробация результатов.** *Основные положения диссертации доложены и обсуждены на:* 1) клинических конференциях кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии КубГМУ; 2) клинических конференциях Краевого перинатального центра; 3) региональных и всероссийских конференциях (X региональный научно-образовательный форум «Мать и дитя» (Геленджик, 2017), XI общероссийский семинар «Репродуктивный потенциал России: версии и контрарверсии» (Сочи, 2018), Межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием «Акушерство и гинекология: от науки к практике» (Краснодар, 2018), Научно-практическая конференция «Амбулаторная акушерско-гинекологическая помощь в сохранении репродуктивного здоровья» (Краснодар, 2019)).

*Реализация результатов исследования.* Результаты исследования внедрены в практическую деятельность женских консультаций и гинекологических отделений Перинатального центра ГБУЗ ККБ №2 (ул. Красных Партизан, д. 6, к. 3), Краевого перинатального центра ГБУЗ ДККБ (Пл. Победы, 1), МБУЗ Роддом г. Краснодара (ул. Комсомольская, д. 44), что подтверждается актами внедрения. Материалы диссертации используются в учебном процессе у студентов, клинических ординаторов и аспирантов КубГМУ (Краснодар, ул. Седина, д. 4).

**Соответствие диссертации Паспорту научной специальности.** Диссертационное исследование соответствует п.3 «Исследование эпидемиологии, этиологии, патогенеза гинекологических заболеваний», п.4 «Разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики осложненного течения

беременности и родов, гинекологических заболеваний. Оптимизация диспансеризации беременных и гинекологических больных» и п.5 «Экспериментальная и клиническая разработка методов оздоровления женщины в различные периоды жизни, вне и во время беременности и внедрение их в клиническую практику» паспорта специальности 3.1.4 – «акушерство и гинекология».

*Объем и структура диссертации.* Материалы диссертационной работы изложены на 187 страницах компьютерного текста и содержат введение, обзор литературы, материалы и методы, собственные исследования, обсуждение полученных результатов, выводы, практические рекомендации, иллюстрирована 61 таблицами, 47 рисунками и 3 схемами. Библиографический указатель включает 107 источников, из них 50 отечественных и 57 зарубежных авторов.

*Публикации.* По материалам диссертации опубликована 11 печатных работ, в том числе 8 из перечня изданий, рекомендованных ВАК РФ (3 из базы SCOPUS).

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Результаты исследования и их обсуждение**

*1 этап исследования. Эпидемиология латентных и субклинических форм ПВИ в Краснодарском крае.* Зарегистрировано, что за 5 лет количество женщин, носителей ВПЧ (двойная детекция ВПЧ в течение 6 месяцев), увеличилось в 1,7 раза (с 24161 на 100 тысяч женского населения до 40318), а субклинических форм в более чем 10 раз (с 1026 до 10714). Основной уровень инфицированности ВПЧ происходит уже с первыми половыми контактами, при этом наибольшее количество латентных форм приходится на возраст 18–25 лет ( $70,7 \pm 6,9\%$ ), затем снижение (до  $18,6 \pm 4,5\%$ ) с увеличением субклинических форм: пик -  $30,9 \pm 5,3$  лет (суммарно реализация носительства в субклинические формы происходит в 21–35 лет -  $72,9 \pm 9,4\%$ ). «Социальный портрет» пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ не выявил популяционных различий. По нашему мнению, в случае инфицирования ВПЧ критическим является не сам возраст, а временной интервал

между половым дебютом и моментом обследования. При этом у одних пациенток активизируются эпигенетические факторы иммунной защиты, а у других, наоборот, ВПЧ-носительство переходит в продуктивную фазу с активацией неопластических процессов.

Картографический анализ распределения коэффициентов заболеваемости ВПЧ-ассоциированной патологией нижнего отдела гениталий по территориям Краснодарского края позволил установить, что из 47 районов в зоны риска вошел 21, то есть 44,7% территории края. Типирование ВПЧ выявило, что основными инфекционными агентами в регионе при латентном носительстве и субклинической форме являются высокоонкогенные типы – 16 (25,1 и 39,3% соответственно), 18 (19,7 и 22,4%) и 51 типы (24,6 и 21,1%): самостоятельно и в ассоциациях они встречались у 69,4% вирусоносителей и у 82,8% пациенток с субклиническими формами ПВИ (сочетание нескольких типов ВПЧ составляло при латентных формах ПВИ - 13,1%, а при субклинических – 12,8%).

Эпидемиологический анализ прогноза заболеваемости с вычислением доверительных интервалов с 95%-ной вероятностью показывал, что в 2023–2024 гг. следует ожидать незначительное повышение ВПЧ-ассоциированной патологии нижнего отдела гениталий. Это связано, с одной стороны, налаженным скринингом уже детектируемой заболеваемости, с другой - существующей эпидемиологической и социальной обстановкой.

Основным методом первичной профилактики рака вульвы, влагалища и шейки матки служит вакцинация против ВПЧ. За 12 лет в крае выявлена непостоянная динамика вакцинации с наибольшим подъемом в 2015–2018 гг. и последующим уменьшением их количества (всего вакцинировался 7271 человек). Основная группа вакцинированных приходится на возраст от 15 до 20 лет (77,0%), но намечается некоторый рост в возрастной группе 9–14 лет (с 16,7 до 22,3%) и 26–30 лет (с 1,9 до 8,2%). По нашему мнению, невысокие цифры вакцинированных

связаны в большей степени с высокой стоимостью вакцины, а также с вакциндиссидентством и COVID-пандемией.

II-III этапы исследования. *Проспективный анализ пациенток (182 с латентными и 254 субклиническими формами ПВИ).* Кольпоскопия у пациенток с субклиническими формами выявила следующие изменения: воспалительные, характерные для специфического вагинита и цервицита в 52,7%, варианты аномальной картины – нежный ацетобелый плоский (26,4%) и микропапиллярный (28,7%) эпителий, нежные мозаика (22,8%) и пунктация (24,0%); сочетание аномальных картин с нормой - 44,6±5,1%. Результаты цитологии, соответствующие понятию «норма» регистрировались в 42,2% (52,2% - воспалительная реакция; 5,6% - ASC-US). Койлоцитарная клеточная атипия выявлялась у 83,9% пациенток с субклиническими формами ПВИ, а основным цитологическим субстратом был цервицит (81,9%). ПЦР-тест показал, что основными типами ВПЧ как при латентных, так и при субклинических формах ПВИ являлись типы 16 (54,4±3,1%), 18 (18,65±2,4%), 31 (11,85±1,9%) и 51 (14,6±1,4%); из низкоонкогенных эпидемиологическое значение имели 6 (24,0±1,4%) и 11 (19,45±1,3%) типы. Сочетания нескольких типов ВПЧ отмечено в 27,9±2,2%.

Среднее количество нормальных вагинальных мазков в группах определялось в 17,8±6,4% ( $p>0,05$ ) - при субклинических формах ПВИ в 2,1 раза меньше, чем при латентных (11,4% против 24,2%). Анализ микробиоценоза влагалища методом ПЦР-РВ с определением ДНК *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Lactobacillus spp.* и общего количества бактерий с расчетом коэффициентов соотношений подтвердил, что у пациенток с латентной формой ПВИ количество вагинальных нормоценозов было в 2,4 раза выше, чем с субклиническими (58,8% против 24,0% соответственно). Персистенция условно-патогенной микрофлоры ведет к изменениям локальных биохимических параметров за счет, с одной стороны, уменьшения количества лактобактерий, с другой - за счет конкуренции за ресурсы, активации цитолитических процессов, связанные как с воздействием

продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, так и с усилением неопластических процессов в эпителии. У пациенток с субклиническими формами ПВИ зарегистрировано снижение уровня  $H_2O_2$  и молочной кислоты (в среднем на  $39,5 \pm 5,5\%$  и  $17,0 \pm 1,5\%$ ), глюкозы (на  $13,3\%$  по сравнению с латентными формами), железа и меди (на  $40,1\%$  и  $73,8\%$  соответственно), с повышением активности внутриклеточных ферментов - АЛТ в 4,1 раза, АСТ в 2,6 раза и амилазы в 2,8 раза.

Проведенная оценка локальной продукции цитокинов позволила при субклинических формах ПВИ выявить увеличение  $TGF\beta$  на фоне стабильных значений  $IL-1\beta$  и  $TNF\alpha$  - длительная персистенция ВПЧ приводит к изменению антигенной структуры эпителиоцитов, инициируя девиацию активности иммунокомпетентных клеток и преобладанию Th-2 иммунного ответа.

Иммуноцитохимическое исследование показало отсутствие p53mut в нормальном цервикальном эпителии. При субклинических формах ПВИ частота детекции p53mut составила  $11,6 \pm 3,8\%$ , что на фоне снижения экспрессии, стабилизирующего клеточную мембрану эпителиоцитов bcl-2, может быть связано со снижением интенсивности апоптоза и рассматриваться, как один из значимых маркеров прогрессирования ВПЧ-ассоциированной патологии. Экспрессия p16ink4a установлена у  $6,8\%$  пациенток с латентными и  $23,5\%$  субклиническими формами ПВИ (в 3,4 раза больше) ( $p < 0,05$ ). Оценка соотношения метаболитов эстрогенов зарегистрировала преобладание  $16\alpha$ -ОНЕ1 над 2-ОНЕ1 у  $21,1\%$  пациенток с субклиническими формами ПВИ - среднее значение 2-ОНЕ1/ $16\alpha$ ОНЕ -  $1,25 \pm 0,08$ , а при латентной -  $1,89 \pm 0,04$  ( $p < 0,05$ ) (при этом наибольшее количество нарушений их соотношения ( $\leq 1,5$ ) определялось у женщин с ИМТ  $> 30$ ). ИЦХ-анализ рецепторного статуса эстрогенов и прогестерона в цервикальном эпителии показал, что частота выявления сочетанной экспрессии обоих рецепторов (ER+PgR+) при латентной форме составила  $59,7 \pm 6,9\%$ ; при субклинических -  $44,6 \pm 5,4\%$  ( $p < 0,05$ ).

Для оценки прогноза развития VAIN/CIN на фоне латентных и субклинических форм ПВИ были разработаны две прогностические таблицы, в

которые были включены анамнестические, клинические и лабораторные данные (в расширенную таблицу были включены молекулярно-биологические и иммунные маркеры неоплазии), позволяющие определить прогноз развития неопластической трансформации в нижнем отделе гениталий. Диагностические коэффициенты (ДК) рассчитывали для каждого из признаков посредством последовательного анализа Вальда. Произведенный расчет выявил, что ДК от -26 до +18 бит (благоприятный исход - перехода в CIN не предвидится) наблюдался у  $33,0 \pm 8,2\%$  пациенток (при латентных формах в 1,7 раза больше, чем при субклинических), ДК от +19 до +26 бит (вероятность перехода - 95%), - в  $52,9 \pm 3,4\%$  случаев и ДК свыше 26 бит (вероятность перехода - 99%) – в  $14,1 \pm 4,8\%$  (при субклинических формах в 2 раза больше, чем при латентных). Таким образом, суммарно риск реализации латентных форм ПВИ в CIN более 95% выявился у 58,8% женщин, а субклинических форм - у 75,2% пациенток, то есть суммарно  $67,0 \pm 8,2\%$ .

*IV этап исследования. Исследование эффективности вакцинации против ВПЧ.* Мониторинг групп с латентными формами ПВИ показал следующую динамику: через 12 месяцев в Ia группе (наблюдение) выявлено 3,1% женщин, у которых ВПЧ-носительство перешло в субклиническую форму, а при через 36 месяцев - 24,5% (CIN I в этой группе обнаружены у 7,1%); в Ib группе реализации в CIN не наблюдалось на всем сроке мониторинга, а субклинических форм за 3 года диагностировано 6,8%. Обнаружение ВПЧ в детектируемых титрах вирусной нагрузки было зафиксировано у 64,3% пациенток Ia и у 17,6% – Ib группе, при этом у большинства пациенток наблюдалось персистирование генотипов ВПЧ, диагностированных при рандомизации, что свидетельствует о высокой частоте как персистенции вирусов (50,0%), так и возможности повторного инфицирования новыми генотипами (14,3%) женщин, которым не проводилась вакцинация. Средняя вирусная нагрузка ВПЧ ВКР в Ia группе за трехлетний срок составила  $45,6 \pm 6,3$ , в Ib – значимо (в 1,8 раз) ниже -  $25,0 \pm 4,1$ . Оценка содержания метаболитов эстрогенов выявила достоверную динамику уменьшения пациенток с

коэффициентом 2-ОНЕ1/16 $\alpha$ -ОНЕ1 менее 1,5 в Ib группе (в 1,7 раза по сравнению со стабильным коэффициентом в Ia группе). Таким образом, в группе пациенток, вакцинированных против ВПЧ (Ib) диагностировано в 3,6 раз меньшее количество субклинических форм ПВИ, отсутствие реализации латентных форм в VIN/CIN с уменьшением (в 4,1 раза) персистенции ВПЧ, вирусной нагрузки ВПЧ ВКР, снижением количества пациенток с низким коэффициентом метаболитов эстрогенов (ОНЕ1/16 $\alpha$ -ОНЕ1) - в 1,7 раза.

Динамика цито-кольпоскопической картины пациенток с субклиническими формами ПВИ: во IIa группе через 12 месяцев у 4,4% женщин зарегистрирован CIN, нормализация картины наблюдалась в 25,9% случаев, что, по-видимому, обусловлено улучшением состояния вагинального гомеостаза после проведения микробиологической санации; при последующем наблюдении (36 мес.) количество CIN увеличилось с 4,4 до 18,3%, а детекция «нормальной» кольпоскопической картины (NILM) уменьшилось с 58,3% до 21,5%. Во IIb группе, на годичном сроке мониторинга нивелирование субклинических форм ПВИ диагностировано у 70,9% (утяжеления в виде CIN не наблюдалось), а через 36 мес. нормальная кольпоскопическая картина присутствовала у 79,7% пациенток. Таким образом, по результатам оценки кольпоскопических признаков ВПЧ-поражения нижнего отдела гениталий пациенток с субклиническими формами ПВИ выявлено, что пассивное динамическое наблюдение с микробиологической санацией уrogenитального тракта ведет к нормализации кольпоскопической картины в  $27,8 \pm 7,3\%$ , а применение при данной патологии вакцинации против ВПЧ - в  $75,9 \pm 4,4\%$  (эффективность выше в 2,7 раза). Детекция генотипа ВПЧ пациенткам субклиническими формами ПВИ с определением значимой вирусной нагрузки выявило, что во IIa группе ПЦР-негативация ДНК ВПЧ обнаружена у  $71,1 \pm 11,7\%$  пациенток, во IIb – у  $18,1 \pm 1,9\%$  (в 3,9 раз чаще). Персистирование генотипов ВПЧ, диагностированных при рандомизации, наблюдалось у 72,1% пациенток IIa и 10,1% IIb группе (в 7 раз реже), повторное инфицирование среди вакцинированных

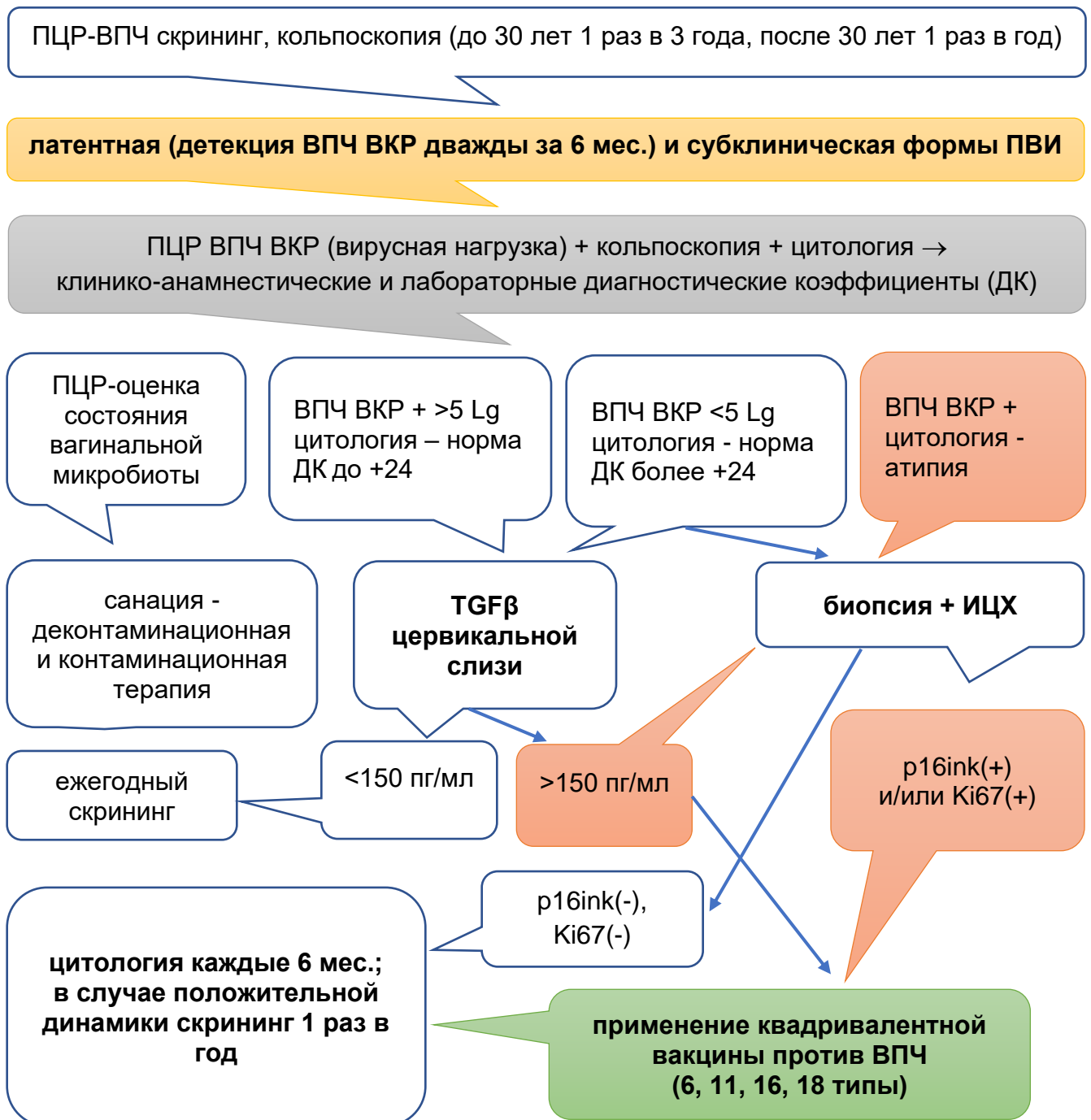
пациенток было в минимальном количестве – 6,3% и, в основном, было связано с не входящими в состав квадтивалентной вакцины генотипами ВПЧ (45, 52 и 66). Результаты анализа вирусной нагрузки в этих группах показали, что высокая ВПЧ нагрузка ( $>5 \text{ Lg}$ ) в среднем наблюдалась в  $53,2 \pm 1,3\%$ : снижение высокой вирусной нагрузки у пациенток Па группы зарегистрировано в среднем до  $29,7 \pm 2,6\%$ , Пб -  $2,1 \pm 0,4\%$  (в 14 раз больше). Оценка сравнительной эффективности профилактической терапии субклинических форм ПВИ (вакцинация против ВПЧ) по сравнению с динамическим наблюдением выявило, в среднем, в 10 раз большую (по критериям как ПЦР-негативации ВПЧ, так и уменьшения вирусной нагрузки) эффективность вакцинации.

Одним из маркеров активности ВПЧ может служить концентрация в цервикальной слизи  $\text{TGF}\beta$ : в группах латентных и субклинических форм ПВИ, где проводилось лишь наблюдение, средние значения  $\text{TGF}\beta$  за трехлетний период были в пределах  $74,9 \pm 11,7$  пг/мл (Ia группа) и  $155,2 \pm 21,9$  пг/мл (IIa), то есть повысились от исходных значений в 1,4 и 1,1 раза соответственно ( $p < 0,05$ ). В группах, где применялась вакцинация данный провоспалительный цитокин уменьшился до  $37,9 \pm 9,1$  (Ib) и  $81,2 \pm 49,3$  пг/мл (IIb) – снизился в 1,4 и 1,8 раз ( $p < 0,05$ ).

Динамика сочетания экспрессии биомаркера p16ink4D и низкого коэффициента  $2\text{-ONE1}/16\alpha\text{-ONE1}$  (менее 1,5) у пациенток с субклиническими формами ПВИ: в течение годовичного мониторинга экспрессия p16 во IIa группе уменьшилась с 6,7 до 3,1%, затем увеличилась (средние значения -  $4,1 \pm 0,95\%$ ); во IIb группе через 1 год p16 не был обнаружен, в течение последующего мониторинга его количество определялось в 7,7 раз меньше исходного ( $0,9 \pm 0,1\%$ ). Коэффициент  $2\text{-ONE1}/16\alpha\text{-ONE1} < 1,5$  во IIa группе тестировался в среднем в  $25,8 \pm 4,85\%$  (снизился в 0,6 раза), во IIb - в  $7,2 \pm 1,2\%$  случаев (уменьшился в 5,6 раза). Изучение сравнительной эффективности лечения субклинических форм ПВИ по динамике изменения гиперэкспрессии p16 и снижению коэффициента  $2\text{-ONE1}/16\alpha\text{-ONE1}$



выявило высокую эффективность вакцинации против ВПЧ (в 3,1 раза больше, чем при динамическом наблюдении).



**Схема 2.** Алгоритм ведения пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции

Сравнительный анализ клинико-микробиологической эффективности различного менеджмента пациенток с субклиническими формами ПВИ показал, что

вакцинация против ВПЧ явилась более эффективной в отношении микробиологической санации, исчезновении косвенных кольпоскопических проявлений субклинических форм ПВИ, практически отсутствию их утяжеления с переходом в цервикальную неоплазию, активации иммунных механизмов саногенеза и нормализации вагинального гомеостаза. На основании систематизации проанализированных данных, был разработан алгоритм ведения пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ, позволяющий индивидуализировать объем лечебно-диагностических мероприятий и повысить эффективность ведения пациенток (схема 2).

В проблеме менеджмента латентных и субклинических форм ПВИ можно выделить несколько этапов: во-первых, обнаружение ВПЧ с оценкой вирусной активности и степени тяжести неопластического процесса, во-вторых - индивидуализация тактики ведения таких пациенток. Особый интерес представляют факторы, помогающие прогнозировать течение ПВИ, кроме того, немаловажно определить не только присутствие вируса, но и подтвердить, находится он в активной или латентной стадии. В качестве критерия оценки тяжести неопластического поражения может использоваться анализ концентрации TGF $\beta$  в цервикальной слизи, позволяющего прогнозировать как течение инфекции, так и контролировать качество менеджмента - при уровне продукции TGF $\beta$  менее 150 пкг/мл (при норме 40-90 пкг/мл) возможно проведение ежегодного скринингового обследования, при более высоких концентрациях требуется дополнительное цитологическое обследование с возможным применением вакцинации против ВПЧ.

Прогнозирование течения ВПЧ-инфекции основывается на проведении ИЦХ исследования материала влагалища и шейки матки. Благоприятное клиническое течение процесса взаимосвязано с отсутствием коэкспрессии p16ink4 $\alpha$ /Ki-67; экспрессии p53mut, умеренным уровнем bcl-2, низкой экспрессией c-erb-B2 и PCNA, наличием экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона. Предложенное разделение пациенток на группы низкого и высокого риска реализации

интраэпителиальных неоплазий с расчетом диагностических коэффициентов предполагают возможность выбора оптимальной тактики ведения, что позволяет прогнозировать течение заболевания и контролировать терапию.

Таким образом своевременная диагностика и рациональное ведение пациенток с латентными и субклиническими формами папилломавирусной инфекции является реальной основой для повышения эффективности вторичной профилактики интраэпителиальных неоплазий и рака шейки матки.

Проведенное исследование позволяет сделать следующие **выводы**:

1. В Краснодарском крае за 5 лет (2016–2020 гг.) количество женщин, носителей ВПЧ, увеличилось в 1,7 раза, а субклинических форм - в более чем 10 раз. В зону повышенного риска заболеваемости ВПЧ-ассоциированной патологией входит 44,7% территории края. Основными типами ВПЧ являлись 16 ( $54,4 \pm 3,1\%$ ), 18 ( $18,65 \pm 2,4\%$ ), 31 ( $11,85 \pm 1,9\%$ ) и 51 ( $14,6 \pm 1,4\%$ ); из низконкогенных эпидемиологическое значение имеют 6 ( $24,0 \pm 1,4\%$ ) и 11 типы ВПЧ ( $19,45 \pm 1,3\%$ ).
2. Основной уровень инфицированности ВПЧ происходит уже с первыми половыми контактами, наибольшее количество латентных форм ПВИ приходится на возраст 17–25 лет (70,7%), пик обнаружения субклинических форм - в возрасте 26–30 лет (30,9%); суммарно реализация ВПЧ-носительства в субклинические формы происходит в возрасте  $28,4 \pm 2,6$  лет. При этом первичная профилактика ВПЧ-инфекции в регионе находится на достаточно низком уровне (за 12 лет ВПЧ-вакцинацию прошли 7271 жительницы края - 0,24% от всего женского населения региона).
3. Предикторами активации цитолитических и неопластических процессов в эпителии нижнего отдела гениталий служат нарушения вагинального микробиоценоза (изменение коэффициентов соотношений условно-патогенной микрофлоры к лактобактериям), биохимического состава вагинальной жидкости (снижение уровня перекиси водорода и молочной кислоты, глюкозы, железа и меди, повышение активности внутриклеточных ферментов и амилазы).

4. Локальные иммунные изменения при латентных и субклинических формах ПВИ, характеризующиеся снижением концентрации провоспалительных цитокинов  $IFN\gamma$ ,  $IL-1\beta$  и  $TNF\alpha$ , активности миелопероксидазы и неспецифической эстеразы в макрофагах цервикавагинальной зоны, приводят к оксидативным нарушениям в эпителиоцитах с повышением образования реактивных форм кислорода и азота, вызывающего пероксидативные процессы липидов, интенсивное образование свободнорадикальных форм кислорода, предопределяя возникновение локальной иммуносупрессии и возможность перехода в клиническую стадию.
5. Комплексный анализ экспрессии p16ink4a, Ki-67, p53mut, bcl-2, c-erb-B2, PCNA, соотношения метаболитов 2-гидроксиэстрогена и 16- $\alpha$ -гидроксиэстрогена, локальной продукции TGF $\beta$  позволяет более точно диагностировать стадию инфекции, определить прогноз развития неопластического процесса и дифференцировать терапевтические мероприятия.
6. Расчет диагностических коэффициентов риска перехода латентных и субклинических форм ПВИ в неопластические процессы нижнего отдела гениталий позволяет прогнозировать их исход. Риск реализации латентных форм ПВИ в VAIN/CIN более 95% был выявлен у 58,8% женщин, а субклинических форм у 75,2% – суммарно  $67,0\pm 8,2\%$ .
7. При латентных формах ПВИ на фоне коррекции дисбиотических вагинальных нарушений вакцинация квадριвалентной рекомбинантной вакциной против ВПЧ 6, 11, 16, 18-го типов позволила в ходе трехгодичного мониторинга снизить в 3,6 раз количество субклинических форм ПВИ с отсутствием ее реализации в вульварную и цервикальную неоплазию, уменьшить (в 4,1 раз) персистенцию ВПЧ и появление их новых генотипов (в 2,6 раз), вирусную нагрузку высокоонкогенными типами ВПЧ (в 1,8 раз), количество пациенток с низким коэффициентом метаболитов эстрогенов (ОНЕ1/16 $\alpha$ -ОНЕ1) в 1,7 раз.

8. При субклинических формах ПВИ применение вакцинации против ВПЧ показало высокую эффективность - в 2,7 раза ( $75,9 \pm 4,4\%$  «нормальных» кольпоскопических картин против  $27,8 \pm 7,3\%$  - пассивное наблюдение).
9. Разработанный алгоритм менеджмента пациенток с латентными и субклиническими формами ПВИ с расчетом диагностических коэффициентов и вакцинацией против ВПЧ позволяет оптимизировать диагностическую и лечебную тактики их ведения, и снизить реализацию данной патологии в интраэпителиальные неоплазии.

### **Практические рекомендации**

1. На этапе диагностики ВПЧ-ассоциированных заболеваний нижнего отдела гениталий необходимо комплексное обследование, включающее кольпоскопию, цитологию, ПЦР-тестирование ВПЧ высокого канцерогенного риска.
2. При составлении прогноза течения латентных и субклинических форм ПВИ необходимо учитывать клинико-anamnestические и лабораторные данные, позволяющие произвести индивидуальный расчет диагностических коэффициентов - суммы полученных битов (табл. 1). Для повышения качества прогноза целесообразно оценить уровень TGF $\beta$  в цервикальной слизи: при значении TGF $\beta \geq 150$  пкг/мл требуется продолжить обследование на экспрессию иммуногистохимических маркеров (p16ink4 $\alpha$  и/или Ki-67). При отсутствии возможности оценки молекулярных и иммунных маркеров неоплазии можно ориентироваться на клинико-anamnestические данные.
3. Пациенткам с латентными и субклиническими формами ПВИ рекомендуется микробиологическая санация (деконтаминационная и контаминационная терапия) с ежегодным контролем ВПЧ ВКР, цитологическим исследованием и кольпоскопией. При выявлении высоких ( $\geq 95\%$ ) коэффициентов риска, рассчитанных по таблице прогностических признаков (или высоких клинико-anamnestическим рискам), рекомендуется проведение вакцинации против ВПЧ (обязательное взятие информированного добровольного согласия) (схема 2).

**Таблица 1.** Прогностические критерии реализации латентных и субклинических форм ПВИ в CIN

№№	Анамнестические признаки	ДК*
1	половой дебют	
	до 15 лет	+6
	15–18 лет	+3
2	возраст	
	до 20 лет	+4
	21–25 лет	+2
3	интервал от менархе до сексуального дебюта в 1–3 года	+4
4	Количество половых партнеров	
	1	-2
	2	+3
	3 и более	+6
5	курение	+6
6	отягощенная онкологическая наследственность	+3
7	метаболический синдром	+6
	<b>Клинико-лабораторные признаки</b>	
8	аногенитальные бородавки	+7
9	цервицит	+5
10	вагинит/вагиноз	+4
11	pH>5,5	+6
12	инфекции, передаваемые половым путем	+4
	гонококковая, трихомонадная инфекция	+3
	хламидийная \ микоплазменная ( <i>M.gominis</i> ) инфекция	+6
	урогенитальный герпес, цитомегаловирус	+8
	микстинфицирование (ИИ 3 и более)	+8
	неспецифическая условно-патогенная микрофлора	+6
13	вагинальный биоценоз	
	вагинит	+3
	дисбиоз	+7
14	ВПЧ высокого онкогенного риска	+3
	микстинфицирование высокоонкогенными типами ВПЧ	+7
15	TGFβ ≥150 пкг/мл	+16
	гиперэкспрессия p16ink4a и/или Ki-67	+16

\* Расчет диагностического коэффициента (ДК): ДК до +16 битов - благоприятный исход; ДК от +16 до +24 битов - вероятность реализации в CIN 95%; ДК более +24 битов - вероятность реализации 99%

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Работы, опубликованные в изданиях базы SCOPUS (1,08 п.л.)

1. **Горринг, Х.И.** Опыт применения иммуномодулирующего препарата в терапии папилломавирусной инфекции гениталий у женщин / И.О. Боровиков, И.И. Куценко // Акушерство и гинекология. 2018; 3: 122-128 (0,36 п.л., личный вклад 75%)
2. **Горринг, Х.И.** Опыт клинического применения дииндолилметана в лечении ассоциированного с вирусом папилломы человека цервикального поражения низкой степени / И.О. Боровиков, И.И. Куценко, А.С. Магай, А.А. Горбулина // Медицинский Совет. 2020; 3: 25-31 (0,36 п.л., личный вклад 50%)
3. **Горринг, Х.И.** Бесплодие на фоне хронического эндометрита и вагинального дисбиоза: опыт предимплантационной подготовки / И.И. Куценко, И.О. Боровиков, В.П. Булгакова, Э.Р. Рубинина // Медицинский Совет. 2020; 3: 115-121 (0,36 п.л., личный вклад 60%)

Работы, опубликованные в изданиях, рекомендованных ВАК РФ (2,14 п.л.)

4. **Горринг, Х.И.** Профилактика неопластических процессов в шейке матки при латентных формах папилломавирусной инфекции / И.И. Куценко, И.О. Боровиков // Исследования и практика в медицине. 2017; 2: 32-33 (0,12 п.л., личный вклад 75%)
5. **Горринг, Х.И.** Коррекция нарушений цитобиохимических процессов в слизистой шейки матки при цервикальной интраэпителиальной неоплазии / И.О. Боровиков, Е.Э. Герасименко // РМЖ. Мать и Дитя. 2018;1(2):108-112 (0,24 п.л., личный вклад 75%)
6. **Горринг, Х.И.** Новые подходы к комплексной терапии рецидивирующих вульвовагинальных кандидозов / И.И. Куценко, И.О. Боровиков, И.И. Кравцов // Главный врач Юга России. 2018; 3(62): 33-38 (0,32 п.л., личный вклад 70%)
7. **Горринг, Х.И.** Смешанные неспецифические инфекционные заболевания влагалища: опыт локальной терапии / И.И. Куценко, В.П. Булгакова, Э.Р. Рубинина // РМЖ. Мать и дитя. 2020; 3(4):221-227 (0,36 п.л., личный вклад 80%)
8. **Горринг, Х.И.** Вакцинация против вируса папилломы человека после адьювантной терапии цервикальных интраэпителиальных неоплазий / И.О. Боровиков, И.И. Куценко, О.В. Томина, В.П. Булгакова, О.И. Боровикова // Кубанский научный медицинский вестник. 2022; 29(3): 103-120 (1,10 п.л., личный вклад 60%)

Работы, опубликованные в других изданиях (0,90 п.л.)

9. **Горринг, Х.И.** Преконцепционная подготовка женщин с рецидивирующим генитальным кондиломатозом / И.О. Боровиков // Материалы III Всероссийской конференции с международным участием "Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству". С-Петербург. 2017: 40-42 (0,12 п.л., личный вклад 75%)
10. **Горринг, Х.И.** Профилактическая терапия пациенток с латентными формами папилломавирусной инфекции / И.О. Боровиков, М.В. Галустян // Материалы X юбилейного регионально-образовательного форума "Мать и дитя". Геленджик. 2017: 9-10 (0,12 п.л., личный вклад 70%)
11. **Горринг, Х.И.** Иммунокорректоры в терапии хронических вульвовагинальных кандидозов / И.И. Куценко, И.О. Боровиков, Э.Р. Рубинина, Е.Э. Герасименко // International medical journal. 2018; 3(32): 36-42 (0,36 п.л., личный вклад 75%)
12. **Горринг, Х.И.** Вакцинация женщин при латентных и субклинических формах папилломавирусной инфекции / И.О. Боровиков // Научные исследования 2023. Сборник статей V международной научно-практической конференции. Пенза. 2023: 156-158 (0,30 п.л., личный вклад 75%)

### Список сокращений

ВПЧ ВКР – вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска

ДК - диагностический коэффициент

ИЦХ, ИГХ – иммуногистохимия, иммуноцитохимия

ПВИ – папилломавирусная инфекция

bcl-2 – ген регулятор апоптоза

c-erb-B2 – протоонкоген, кодирующий рецептор 2 эпидермального фактора роста человека

p53mut – мутантный ген-супрессор клеточной трансформации

p16ink4a – онкопротеин, ингибитор циклинзависимых киназ

TGFβ – трансформирующий фактор роста

CIN – цервикальная интраэпителиальная неоплазия