

ПЕНЗЕНСКИЙ ИНСТИТУТ УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ВРАЧЕЙ –  
ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО  
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «РОССИЙСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ  
АКАДЕМИЯ НЕПРЕРЫВНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

Епифанова Ольга Викторовна

**ОПТИМИЗАЦИЯ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОК С  
ВПЧ-ИНДУЦИРОВАННЫМИ ЦЕРВИКАЛЬНЫМИ  
ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫМИ НЕОПЛАЗИЯМИ I-II СТЕПЕНИ**

3.1.4. – Акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,

профессор

Виноградова Ольга Павловна

Пенза 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1 .....	14
СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НЕОПЛАЗИЯХ ШЕЙКИ МАТКИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	14
1.1 Дискуссионные этиологические аспекты и канцерогенные факторы интраэпителиальных заболеваний шейки матки .....	14
1.2 Распространенность ВПЧ и патогенетические механизмы предопухолевой и опухолевой трансформации шейки матки .....	18
1.3 Иммунный ответ при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях, ассоциированных папилломавирусом.....	23
1.4 Особенности диагностики и информативность различных методов обследования больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями....	27
1.5 Краткие фармакологические и физико-химические характеристики методов терапии .....	31
ГЛАВА 2.....	34
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	34
2.1 Клиническая характеристика обследованных групп женщин.....	34
2.2 Клинико-anamnestические методы исследования .....	38
2.3 Методы исследования.....	38
2.3.1 Оценка микробиоценоза урогенитального тракта .....	38
2.3.2 Цитологическое исследование.....	39
2.3.3 Кольпоскопическое исследование.....	40
2.3.4 Морфологическое исследование биоптатов шейки матки .....	41
2.3.5 Обнаружение и количественное определение ДНК ВПЧ ВКР (молекулярно-биологические методы исследования) .....	43

2.3.6 Определение содержания уровня IL-18, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ .....	44
2.4 Статистические методы обработка данных.....	45
ГЛАВА 3.....	46
СОБСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	46
3.1 Социально-anamnestическая и клиничко-диагностическая характеристика женщин группы контроля.....	46
3.2 Социально-anamnestическая и клиничко-диагностическая характеристика пациенток с ВПЧ-ассоциированной CIN I степени .....	48
3.3 Социально-anamnestическая и клиничко-диагностическая характеристика пациенток с ВПЧ-ассоциированной CIN II степени.....	58
3.4 Разработка и применение дополнительных иммунологических параметров оценки степени поражения эпителия шейки матки, ассоциированного вирусом папилломы человека.....	71
ГЛАВА 4.....	81
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАРИАНТОВ ТЕРАПИИ ПАЦИЕНТОК С ВПЧ-АССОЦИИРОВАННЫМИ CIN I-II .....	81
4.1 Сравнительный анализ и оценка эффективности вариантов терапии пациенток группы с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями I степени, ассоциированными папилломавирусом .....	81
4.2 Сравнительный анализ и оценка эффективности вариантов терапии пациенток группы с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями II степени, ассоциированными папилломавирусом .....	89
ЗАКЛЮЧЕНИЕ. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	100
ВЫВОДЫ .....	113
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	115
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ .....	116

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	117
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....	118
ПРИЛОЖЕНИЕ 1 .....	135
ПРИЛОЖЕНИЕ 2 .....	139
ПРИЛОЖЕНИЕ 3 .....	143
ПРИЛОЖЕНИЕ 4 .....	147
ПРИЛОЖЕНИЕ 5 .....	152
ПРИЛОЖЕНИЕ 6 .....	156

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность работы

Распространенность цервикального рака не имеет тенденцию к снижению, он влияет на репродуктивную функцию, качество жизни и продолжает оставаться важной социальной и медицинской проблемой. Согласно прогнозам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), к 2030 году количество женщин, умерших от рака шейки матки (РШМ), увеличится до 435 000 женщин [35, 41].

В настоящее время уже изучена клинико-морфологическая концепция развития рака шейки матки, однако в клинической практике врача акушера-гинеколога часто имеется несоответствие заключений цитологического, кольпоскопического и гистологического исследований, что не позволяет отразить истинную тяжесть поражения ткани [8, 76, 105]. Продолжается поиск новых методов диагностики и прогнозирования течения дисплазии [10, 20, 37]. 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 [47]. Зачастую предполагаемые алгоритмы терапии цервикальных интраэпителиальных неоплазий, построенные на противоречивых взглядах, несут определенные риски и лечебные ошибки [4].

Из года в год пересматриваются многие подходы к скринингу и ранней диагностике предраковых состояний. У основной когорты женщин заболевание на стадии CIN диагностируется редко, и всё чаще приходится сталкиваться с развернутой клинической картиной микроинвазивного и даже инвазивного рака шейки матки в виду упущенного времени. В отличие от онкологических заболеваний других органов и систем, развитию РШМ предшествует многолетний процесс, охватывающий 3 этапа цервикального канцерогенеза: CIN I (дисплазия легкой степени), CIN II (дисплазия умеренной степени), CIN III (дисплазия тяжелой степени). При этом персистенция, прогрессия или регрессия заболевания

возможна на каждом этапе развития [46, 113]. Чем больше степень CIN, тем вероятность регрессии становится меньше. Своевременное выявление и адекватное лечение предраковых заболеваний шейки матки позволяют профилакттировать развитие рака шейки матки, занимающего четвертое место по частоте среди злокачественных новообразований половых органов у женщин и шестое в структуре общей онкологической заболеваемости [31].

До сегодняшнего дня, несмотря на большое предложение различных противовирусных препаратов, в лечении цервикальных неоплазий часто применяются только лишь хирургические методы воздействия на пораженный эпителий шейки матки. Связано это, в первую очередь, с неточным пониманием механизма действия предлагаемых анти-ВПЧ средств, а во вторую – с отсутствием наблюдений за процессом саногенеза в эпителии шейки матки после эрадикации ВПЧ из организма. Ликвидация патологического очага на шейке матки условно традиционными методами не всегда приводит к полному устранению инфекционного инфекта.

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 иммунной и противовирусной терапии с целью ослабления или устранения действия факторов, приводящих к рецидивированию CIN.

### **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 [102, 118, 140].

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 [12, 22, 132]. В исследованиях 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 [90, 117].

Цитокины, представляющие гормоноподобные белки и пептиды, являются группой факторов межмолекулярного взаимодействия иммунного ответа, в которую входят интерфероны (IFN), интерлейкины (IL), ростовые факторы. 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.

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 исследования**

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,  $\gamma$ -интерферона, фактора некроза опухоли- $\alpha$  цервикальной слизи у женщин без патологии шейки матки и без папилломавирусной инфекции.

3. Исследовать диагностическую и прогностическую роль цитокинов интерлейкина-18,  $\gamma$ -интерферона, фактора некроза опухоли- $\alpha$  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,  $\gamma$ -интерферона, фактора некроза опухоли- $\alpha$ ) при развитии и течении ВПЧ-ассоциированных цервикальных интраэпителиальных неоплазий легкой и средней степени тяжести, изучены референсные значения уровни интерлейкина-18,  $\gamma$ -

интерферона, фактора некроза опухоли- $\alpha$  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**

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  $\gamma$ - интерферона IFN- $\gamma$ ), фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF $\alpha$ )) 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- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  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 $\gamma$ , 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- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) 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%.

#### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.1.4. – «Акушерство и гинекология» по нескольким областям:

Пункт 3. Исследование эпидемиологии, этиологии, патогенеза гинекологических заболеваний.

Пункт 4. Разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики осложненного течения беременности и родов, гинекологических заболеваний.

Пункт 5. Экспериментальная и клиническая разработка методов оздоровления женщины в различные периоды жизни, вне и во время беременности и внедрение их в клиническую практику.

#### **Степень достоверности и апробация результатов**

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.

### **Апробация диссертации**

Основные положения диссертации доложены и обсуждены 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).

### **Внедрение результатов исследования**

Полученные в ходе исследования данные применены в работе практикующих врачей акушеров-гинекологов женских консультаций Республики Мордовия, внедрены в учебный процесс и научные исследования кафедры акушерства и гинекологии Пензенского института усовершенствования врачей – филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования».

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 медицинский институт».

### **Личный вклад автора**

Автор лично участвовал в выборе темы и направления исследования, формировании задач, полном клинико-лабораторном обследовании пациенток, заборе биологического материала, в оформлении и анализе медицинской документации, лечении, в статистическом анализе полученных результатов, формировании выводов и практических рекомендаций.

### **Публикации**

По материалам диссертационного исследования опубликовано 13 работ, из них 7 – в изданиях, рекомендованных ВАК, 1 – в журнале, входящее в международную базу цитирования Scopus и Web of Science. Имеется 1 патент РФ на изобретение.

### **Структура и объем 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.

## ГЛАВА 1

# СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НЕОПЛАЗИЯХ ШЕЙКИ МАТКИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

### 1.1 Дискуссионные этиологические аспекты и канцерогенные факторы интраэпителиальных заболеваний шейки матки

Под термином «Cervical Intraepithelial Neoplasia» подразумевается группа поражений шейки матки с атипической трансформацией плоскоклеточного эпителия без инвазии в строму. Характерной особенностью этой группы заболеваний, является отсутствие правильного митотического деления эпителиальных клеток, нарушение их дифференцировки, созревания и эксфолиации.

Следует констатировать, что процесс канцерогенеза является многостадийным и морфологически уже доказан постепенный переход нормального эпителия к внутриэпителиальному раку [46]. Поэтому в каждом случае РШМ имеет длительную историю, не возникает без предшествующих нарушений, проходит через прогрессирование различных стадий многоступенчатого неопластического процесса. На каждом из его этапов возможна персистенция, прогрессия или регрессия [18].

Вероятность развития инвазивного рака при CIN I степени составляет 1%, вероятность регрессии – 60%. При CIN II степени инвазивный рак развивается в 1,5% случаев, вероятность обратного развития – 40%, при CIN III инвазивный рак развивается в 12% случаев, а регрессия до CIN II или CIN I наблюдается в 32% случаев [49, 57, 64]. Американское общество по раку (ACS) установило, что для трансформации неопластического поражения из CIN III в рак для женщин молодого возраста в возрасте до 25 лет потребуется примерно 54-60 месяцев, для женщин в возрастной категории от 26 до 50 лет – 41-42 месяцев, для женщин старшего возраста (более 51 года) – около 70-80 месяцев [87]. Патогенетические механизмы такой длительной персистенции ВПЧ, регрессии или прогрессии неоплазии

на молекулярно-генетическом уровне изучены недостаточно широко, а результаты проведенных исследований имеют разноречивый характер.

Многочисленные данные отечественной и зарубежной литературы свидетельствуют о полиэтиологичности патологических процессов экто и эндоцервикса. Так, ряд авторов придерживались гормональной теории генеза цервикальных интраэпителиальных поражений шейки матки [11, 88]. Сторонники этой теории считали, что одной из причин развития CIN является гормональный дисбаланс на фоне изменения в гипоталамо-гипофизарной системе, в частности, при беременности [125]. Вследствие чего возникает дефицит прогестерона и гиперэстрогения, которая, в свою очередь, вызывает пролиферацию эпителия эктоцервикса и приводит к развитию гиперпластических процессов в органах-мишенях, в том числе и в эпителии шейки матки.

В других исследованиях был установлен повышенный риск возникновения рака шейки матки у женщин, которые длительное время применяли гормональные противозачаточные препараты [111, 115], что было подтверждено многими данными [88, 131]. На международных конгрессе по гинекологии и эндокринологии [75, 86], обсуждался вопрос развития и повышения частоты премалигнизационного поражения шейки матки у женщин в возрасте 45-54 лет, ранее применявших оральные контрацептивы. Другие исследователи выделяют механическое травмирование шейки матки во время родов, выскабливания цервикального канала и полости матки, а также электро- и хирургическое вмешательства эпителия шейки матки [56, 84]. В результате чего, по их мнению, происходит посттравматические трофические нарушения, микроциркуляции, расстройство процессов обмена в тканях шейки матки, что способствует пролиферации тканей. По данным исследования Thakur A (2015), вероятность развития РШМ повышен у женщин, в анамнезе которых 7 и более родов [136].

Среди прочих этиологических концепций немаловажное значение имеет состояние иммунной системы. Слизистый секрет клеток эндоцервикального эпителия представляет собой сложно организованную биологическую жидкость. Исследованиями последних десятилетий установлено, что при цервикальных

интраэпителиальных неоплазиях наблюдается формирование местного дисбаланса иммунного ответа [14, 30, 54, 116]. Это сопровождается нарушением клеточно-опосредованных механизмов защиты за счет снижения количества Т-клеток и эффективности фагоцитарного звена иммунной системы [139]. Некоторые авторы описывают изменения в гуморальных факторах местной защиты, проявляющееся повышением уровня IgM на фоне снижения Ig A и IgG в цервикальной слизи у больных с заболеваниями шейки матки [16, 96].

Однако состояние иммунной системы, как правило, является «проблемой внутри проблемы» и имеет непосредственную причинно-следственную связь с воспалительными заболеваниями экто- и эндоцервикса. До недавнего времени обсуждалась роль вируса простого герпеса (ВПГ), так как у женщин с РШМ в 80% случаев женщин обнаружены признаки предшествующей герпетической инфекции [20, 97]. Однако ВПГ не был ассоциирован с развитием рака шейки матки в 100% случаев. Итогом фундаментальных исследований явилось открытие вируса папилломы человека (ВПЧ) и его этиологической значимости в развитии злокачественных новообразований репродуктивной системы женщины [38, 85, 105].

Вирусы папилломы человека (ВПЧ) – группа ДНК - содержащих вирусов семейства Papovaviridae, обладающих продуктивным и трансформирующим воздействием. Диаметрально вирус очень мал и составляет 55 нм, его геном представлен двуспиральной, кольцевидно скрученной ДНК, размером 8 тысяч пар оснований [12]. ВПЧ является высококонтагиозным, инкубационный период составляет от 3–4 недель до 8 месяцев, в среднем 3 месяца [3, 95].

ВПЧ имеет интегративный тип взаимодействия (виrogenия), т.е. способность вирусного генома встраиваться в состав клеточных хромосом. Онкогенные возможности ВПЧ значительно варьируют. Среди идентифицированных более 300 различных его типов около 40 поражают слизистые уrogenитального тракта. ВПЧ условно подразделяют на две группы: группу высокого онкогенного риска (типы 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 и

59) и группу низкого онкогенного риска (типы 6, 11, 36, 42, 43, 44, 46, 47 и 50) [96, 121].

К наиболее важным и достаточно изученным факторам риска инфицирования ВПЧ относятся ранний половой дебют, частая смена половых партнеров, отсутствие барьерного метода контрацепции и табакокурение [26, 134].

В возрастном периоде от 16 до 18 лет особенно подвержен действию канцерогенных и ко-канцерогенных агентов незрелый многослойный плоский эпителий (МПЭ) шейки матки [7, 70]. В разные возрастные периоды жизни женщины расположение области перехода между МПЭ влагалищной порции шейки матки и высоким цилиндрическим эпителием (ЦЭ) цервикального канала изменяется. В большинстве случаев у девочек зона стыка может находиться на вагинальной части ШМ. По мере роста и полового созревания организма женщины ЦЭ начинает постепенно медленно трансформироваться в МПЭ за счет резервных клеток, и происходит смещение переходной зоны в область наружного зева. Сформировавшаяся в результате замещения цилиндрического эпителия многослойным эпителием зона трансформации с наличием участков незрелого метапластического эпителия является уязвимым местом для воздействия ВПЧ высокого онкогенного риска, поэтому раннее начало половой жизни – фактор риска, способствующий не только инфицированию, но и персистенции ВПЧ. Поэтому этому факту уделяется большое внимание. Окончательно слизистая оболочка женских половых органов созревает лишь к 20-23 годам.

Так как основным путем инфицирования ВПЧ является половой путь, беспорядочные половые связи с наличием 5 и более половых партнеров являются главной предпосылкой к приобретению инфекции [94]. Следует учитывать и высокую контагиозность ВПЧ ВКР: заражение при однократном половом контакте происходит в 60% случаев [32].

В доступной литературе имеются убедительные данные о достоверном снижении риска развития РШМ при использовании барьерных методов

контрацепции, даже несмотря на то, что презерватив защищает от инфекций, в том числе и ВПЧ, примерно в 80% случаев [39, 42].

Другими значимыми факторами риска являются никотин и котинин, находящиеся в табачном дыме, они имеют способность трансформироваться в нитрозамины (канцерогенные агенты), при взаимодействии с которыми молекулы ДНК изменяют свою структуру, что служит началом для злокачественного роста. В цервикальной слизи курящих женщин зафиксирован никотин и другие составляющего табачного дыма (антрацен и 3-4 бензопирен), которые способствуют уменьшению числа клеток Лангерганса, играющих важную роль в обеспечении Т-лимфоцитарного клеточно-опосредованного иммунитета [120, 138].

По данным литературы основными факторами риска инфицирования ВПЧ и прогрессирования интраэпителиальных поражений являются раннее начало половой жизни, наличие более 5 половых партнеров, табакокурение и ряд других факторов.

## **1.2 Распространенность ВПЧ и патогенетические механизмы предопухолевой и опухолевой трансформации шейки матки**

На основании данных эпидемиологических исследований частота встречаемости ВПЧ в разных территориальных зонах переменна и связана с этнико-географическими, социально-поведенческими и медико-экономическими условиями.

Мета-анализ ВОЗ установил мировой показатель инфицированности ВПЧ среди женского населения с нормальным цитологическим результатом соскоба с шейки матки - 11,7% (95% доверительный интервал: 11.6-11.7) [41].

Центром по контролю и профилактике заболеваний (CDC, США) зафиксировано около 15% от популяции (более 20 млн человек) инфицированных вирусом папилломы человека. Ежегодно показатель увеличивается на 6,2 млн. и может объективно отражать распространенность папилломавирусной инфекции.

Мировые исследования показали, что ДНК ВПЧ в Германии выявляют у 22,8% обследованных женщин, на о. Тайвань - у 16,2%, в Бельгии и Франции - 12%, в Корее - 12,6%, в Японии - 14,5%.

Достоверная статистика о распространенности ВПЧ в России отсутствует, ввиду того, что не всегда удается правильно интерпретировать результаты. Эпидемиологические данные о распространенности РШМ напрямую связаны с папилломавирусной инфекцией.

Частота встречаемости злокачественный новообразований шейки матки среди населения территорий России растет с каждым годом. Абсолютно число зарегистрированных случаев новообразований *in situ* за 2021 год по Российской Федерации составило 5159 (среднероссийский показатель 34,4 на 100 000 населения 100 впервые выявленных злокачественных новообразований шейки матки), за 2020 год - 4781 (среднероссийский показатель 31,5 на 100 впервые выявленных злокачественных новообразований шейки матки), также остаются высокими показатели РШМ: в 2020 г – 15500 случаев, в 2021 - 15364 случаев [78].

Высокие показатели активного выявления злокачественных новообразований шейки матки отмечены в Тамбовской области (84,5%), низкие – в Чеченской Республике (0%) [34].

Официальные данные о распространённости ВПЧ-инфекции отсутствуют, так как статистически регистрируются лишь некоторые из её клинических проявлений и далеко не все формы ВПЧ визуально диагностируются, например латентная и субклиническая формы. Учёт ПВИ в каком-либо виде отдельно не производится [71].

Частота инфицирования ВПЧ в разных возрастных категориях варьирует. Пик приходится на лиц более молодого возраста (<25 лет) [107, 122]. Рост инфицированности ВПЧ в более старшем возрасте ( $\geq 45$  лет) отмечен в Центральной и Южной Америке. В Азии и Африки, где зафиксирован низкий уровень дохода, показатель пораженности ВПЧ одинаков среди женского населения всех возрастных групп.

Наиболее часто в мире распространены типы ВПЧ 16 и 18. По статистическим данным РФ в Челябинской области ВПЧ 16 типа выявлен у 27,8% женщин, в Свердловской области - 23,6%, в Московской области - 18,2%, в республике Мордовия в 19,5% случаев [3, 21].

Женщины могут быть инфицированы одним либо одновременно несколькими типами ВПЧ, а также дополнительно инфицироваться в течение жизни, например, при смене половых партнеров. Так, в исследованиях W.D. Rosenfeld и соавт., отмечено, что среди обследуемых женщин (n=52) в возрасте до 21 года, ведущих активную сексуальную жизнь без средств контрацепции, при первом посещении ВПЧ был выявлен у 39,2%, при повторном через 13 месяцев у 25,5%. Этот факт указывает на реинфекцию новыми типами ВПЧ. И только у одной пациентки изначально и при повторной явке был выявлен один и тот же тип ВПЧ [130].

В Российской Федерации диагностика ВПЧ установлена приказом Минздрава России от 20.10.2020 N 1130н "Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю "акушерство и гинекология": ВПЧ-типирование, в том числе с использованием технологии самозабора совместно с цитологическим исследованием для женщин возраста 30-65 лет 1 раз в 5 лет.

Изучению вирусного канцерогенеза ШМ были посвящены многолетние исследования. ВПЧ является эпителиотропом. Доказанным путем передачи ВПЧ является половой [27, 51, 60, 61]. Основной мишенью для воздействия вируса являются базальные и незрелые метапластические клетки многослойного плоского эпителия, которые обеспечивают непрерывное обновление эпителиального пласта [46]. Попав в организм половым путем через микротрещины слизистой оболочки шейки матки при непосредственном контакте со слущенными кератиноцитами инфицированного человека, ВПЧ подвергает изменению ряд клеточных процессов. Кератиноциты имеют «естественный» короткий срок жизни и находятся далеко от «центров» иммунной системы, поэтому разрушать клетки вирионам ВПЧ нет необходимости. Цитопатическими

свойствами ВПЧ не обладает, поэтому воспалительной реакции и ответа иммунной системы не происходит [80].

В функциональном отношении геном ВПЧ разделяют на три основных зоны (А.Н. Маянский 2010) [55]:

- некодирующий фрагмент (LCR) – переменный длинный контролирующий участок, состоящий из 400-1000 пар оснований. Здесь находится участок, с которого запускается процесс репликации.

- «ранний» фрагмент (E). Содержит гены, кодирующие ранние белки: E1, E2, E3, E4, E5, E6 и E7. Это неструктурные белки (не входят в состав вириона).

- «поздний» фрагмент (L). В нем находятся гены, которые кодируют структурные белки вириона: L1 и L2.

Жизненный цикл вируса тесно связан с дифференцировкой клетки-хозяина. Процесс репликации вирусной ДНК и синтез белков вируса запускается благодаря 5 «ранним» белкам (E1, E2, E3, E4, E5) и происходит в клетках наиболее дифференцированных слоях МПЭ, а в клетках других слоев вирусные частицы лишь персистируют. Дозревая по мере продвижения на поверхность, они утрачивают способность к делению. Оказавшись в клетке, вирусная ДНК транспортируется в ядро.

Существует два основных механизма развития ПВИ:

I. Стадия репродукции. В этой стадии вирусный геном находится в эписомальной форме, т.е. вне хромосом. Чаще всего наблюдается при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях низкой степени.

II. Стадия интеграции. Характеризуется встраиванием ДНК вируса в геном инфицированных клеток с последующим нарушением метаболических реакций. Наблюдается при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях высокой степени онкогенного риска и раке шейки матки.

При попадании в организм вирусный геном находится в промежуточном слое МПЭ в эписомальной форме. С этим, возможно, и связана высокая частота рецидивирования цервикальных поражений ШМ. Данные литературы о частоте и причинах, способствующих персистенции ВПЧ, немногочисленны и разноречивы.

По сведениям С.И. Роговской и В.Н. Прилепской (2016), у женщин носительство ВПЧ утрачивается в возрасте от 18 до 30 лет в среднем за 1,5-2 года. На более поздних стадиях вирусный генетический материал проходит стадию интеграции, что сопровождается частичной потерей генетического материала и в результате чего утрачивается способность к его полной репликации [29, 70]. Продуктивная папилломавирусная инфекция наблюдается при неинтегрированной форме, так как в образуются вирусные неповрежденные частицы, которые способствуют формированию остроконечных кондилом и рассматриваются как доброкачественные образования с очень низкой малигнизацией. При интегрированной форме ДНК вирусные частицы не производятся и в этом случае образуются невидимые невооруженным глазом плоские кондиломы, являющиеся опасным поражением.

Процесс интеграции вирусной ДНК представляет собой мощный механизм злокачественной прогрессии и сопровождается нестабильностью хромосом. На этой стадии в эпителиальных клетках регистрируется одновременная сверхэкспрессия онкопротеинов Е6 и Е7, которые вызывают иммортализацию клеток МПЭ, т.е. способность к неограниченному росту.

За счет взаимодействия онкопротеина Е6 с эндогенным супрессором опухолевого роста р53, осуществляющим контроль за клеточном циклом, происходит подавление активности циклинзависимой киназы и нарушается сигнализация индукции программы апоптоза [89].

Таким образом, вследствие подавления функции «ключевых» белков-регуляторов пролиферативной активности клеток происходит дерегуляция клеточного цикла. Клетка становится независимой, перестает реагировать на сигналы, угнетающие рост, и не подвергается апоптозу. Бесконтрольная пролиферация инфицированных клеток приводит к накоплению генетических повреждений и в конечном итоге к опухолевой трансформации.

Следующим этапом начинающейся трансформации является процесс ангиогенеза. По данным научной литературы [9, 33, 49] образование новых кровеносных сосудов из существующих ранее происходит за счет повышения

активности эндотелиального фактора роста сосудов и угнетения ингибитора ангиогенеза тромбоспондина-1 под влиянием белка Е6.

Вышеприведенные этапы ВПЧ-опосредованных механизмов цервикальной патологии представляют собой молекулярно-биологические изменения клеточной структуры эпителия ШМ вследствие внедрения новой генетической информации вируса и способности продуктов его жизнедеятельности управлять клеточной регуляцией в целом. Таким образом, исходя от основных аспектов этиопатогенеза ВПЧ-ассоциированных заболеваний ШМ, на сегодняшний день можно предотвратить и профилактировать развитие предраковых процессов и РШМ. В настоящее время разрабатываются перспективные тактики ведения и инновационные методы лечения больных с фоновыми процессами ШМ, направленные на блокирование основных звеньев вирусного канцерогенеза [2].

### **1.3 Иммунный ответ при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях, ассоциированных папилломавирусом**

Ключевую роль среди эндогенных модифицирующих факторов в генезе малигнизации эпителия шейки матки играют локальные иммунные механизмы, в частности цитокиновая регуляция локального иммунного ответа на ВПЧ.

Цитокины объединяют группу факторов взаиморегулируемого межмолекулярного воздействия, каждый из которых может усиливать или подавлять действие друг друга. В нее входят интерфероны (IFN), интерлейкины (IL), ростовые факторы.

Клетки цервикального эпителия способны секретировать цитокины, осуществлять разграничение верхнего и базального слоев и являться мишенью для воздействия цитокинов, вырабатываемых другими клетками [90, 117]. При попадании ВПЧ в организм человека на ранних стадиях процессы инфекционного распознавания, воспаления, клиренса, клеточной смерти взаимосвязаны благодаря управляющему действию системы врожденного иммунитета. Патогенраспознающие рецепторы (ПРР) вступают во взаимодействие с

молекулярными структурами, связанные с патогенами – PAMPs (pathogen associated molecular patterns), которые позиционируются в качестве «образов патогенности». В результате данного взаимодействия происходит секреция провоспалительных цитокинов и экспрессия генов цитокинов [114]. В свою очередь, они привлекают в очаг инфицирования лейкоциты — моноциты, нейтрофилы, натуральные киллеры и другие форменные элементы крови. Под действием активации этих клеток запускается фагоцитоз – основной процесс первой линии защиты. Если этого не происходит, то геномы ВПЧ в клетках базального эпителия становятся постоянными резервуарами инфекции.

Одним из наиболее важных представителей семейства паттерн-распознающих рецепторов, располагающихся на эпителиоцитах шейки матки, являются толл-подобные рецепторы (Toll-like receptor, TLR). Отличительной особенностью их от рецепторов приобретенного иммунитета, является способность распознавать эволюционно консервативные структуры PAMPs, которые широко представлены у микроорганизмов и вирусов [54, 99, 101].

Для развития клеточного иммунного ответа и активации Th1-лимфоцитов важно, распознавание патоген-ассоциированных молекулярных паттернов TLR. Образуются две основные разновидности Т-хелперов, отличающиеся набором секретируемых цитокинов - Т-хелперы 1-го типа (Th1), участвующие в развитии иммунного ответа клеточного звена и 2-го (Th2) типа, отвечающие за гуморальный иммунитет [73]. Дисбаланс Th1/ Th2-клеток приводит к персистенции и хронизации ПВИ. По биологическому действию цитокины условно разделяют на провоспалительные (IL-1, -2, -6, -1 $\beta$ , -12, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , ГМ-КСФ) и противовоспалительные (IL-4, -10, -13) [45].

Основополагающими факторами противовирусной защиты на ранних этапах иммунных процессов являются НК-клетки, выполняющие литическую функцию. Они не являются антигенспецифическими клетками, вызывают независимый от антител и комплемента лизис клеток-мишеней, распознают свои клетки-мишени без участия антигенов гистосовместимости и относятся к факторам естественной резистентности. При первичном контакте с ВПЧ НК-

клетки осуществляют быстрый цитолиз [91]. Мембраны клеток содержат рецепторы, реагирующие на стимул. НК-клетки содержат рецепторы для цитокинов.

Гранулы содержащиеся в цитоплазме НК с белком перфорином (цитолизинном) играют не маловажную роль в процессе апоптоза. В результате стимулированного воздействия при попадании ВПЧ содержимое внутриклеточных гранул НК выбрасывается во внеклеточное пространство. Перфорин встраивается в мембрану клетки-мишени и образует трансмембранные поры, что приводит к гибели клетки, поскольку содержимое клетки вытекает через эти поры. Таким образом, инициируется апоптоз.

Однако несмотря на то, что НК-клетки реализуют цитотоксическую реакцию без развернутого иммунного ответа, они нуждаются в предварительной активации, их пролиферация и активация НК регулируется под контролем цитокинов IL-2, IL-15, IL-18. Синергия между действием IL-12 и IL-18. IL-12 и IL-18 –это основные IFN- $\gamma$  индуцирующие цитокины, стимулирующие моноциты и АПК в ответ на патогены, попадающие во внутриклеточное пространство. IFN- $\gamma$  активирует мононуклеарные фагоциты, его основным действием является непосредственное влияние на дифференцировку Т- и В-лимфоцитов. С его участием происходит активизация нейтрофилов и естественных киллеров, а также он является активатором эндотелиальных клеток. IL-18, также известный как IFN $\gamma$ -индуцирующий фактор представляет собой негликозилированный полипептид.

IL-18 влияет на секрецию IFN- $\gamma$  и быстро активирует клетки моноцитарно/макрофагальной системы, что ведет к активации противовирусных и противоопухолевых ответных реакций. Индукция IL-18 происходит в результате стрессового воздействия, вслед за ним усиливается продукция IFN $\gamma$  / IL-18, способствующего образованию моноцитов/макрофагов [106]. Происходит увеличение их ICE (ICE - IL-1 Converting Enzyme)-активности, которая вновь приводит к образованию IL-18. IL-18 стимулирует синтез IFN $\gamma$  и модулирует его функциональную активность. Fas (CD95), FasL, TRAIL, CD40L, CD27L, OX30L,

DR4 (TRAIL-R1), DR5 (TRAIL-R2), а также TNF- $\alpha$  и другие входят в семейство TNF. Выше указанная цитокиновая группа обладает не только противоопухолевой цитотоксичностью, но и воспалительной и иммунной реактивностью. Они способны оказывать прямое повреждающее действие на клетки-мишени. TNF- $\alpha$  - один из основных представителей этой группы, являющийся индуктором апоптоза и воспринимающийся рецепторами, по структуре напоминающими Fas.

IL-18 самостоятельно (FasL) или посредством IFN $\gamma$  (Fas) стимулирует инициализацию процессов апоптоза [100]. Однако в большинстве случаев, система иммунологического контроля оказывается несостоятельной и ряд иммунных реакций претерпевает торможение. С одной стороны, это связано с иммунной недостаточностью организма, а с другой стороны, со способностью вируса модулировать местный и системный иммунный ответ, защищаясь от элиминации эффекторами иммунной системы. Феномен ускользания вирионов вируса папилломы человека был приобретен в процессе эволюции от иммунологической защиты. Это происходит за счет иммуносупрессивных свойств вирусных белков, обусловленных угнетением Th1-звена клеточного иммунитета и сдвигом баланса в сторону Th2-иммунной реакции. Запускается реакция непродуктивного воспаления, в процесс включается активация ангиогенеза за счет матриксных металлопротеиназ, трансформирующего фактора роста и интерлейкина-10 [64, 213]. Клеточный иммунитет запускается с первых репликационных этапов эписомального генома, за счет блокирующего действия белка E5 на антигенпрезентирующие свойства клеток Лангерганса. Белки E6/E7 обладают свойством снижать продукцию провоспалительных цитокинов и интерферонов. Доказано, что белок E6 ВПЧ нейтрализующе действует по отношению к IL-18, играющего немаловажную роль в формировании иммунного ответа с участием CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов [60].

Данный самозащитный механизм позволяет достаточно долго существовать вирусу в эписомальной фазе, что необходимо для его количественного синтеза онкогенных белков E6/E7 и транслокации в геном. Многочисленные исследования, посвященные изучению цитокинов у больных с ПВИ,

характеризуются разноречивостью результатов [80, 126, 127]. С прогрессированием CIN и с онко-развитием шейки матки, происходит локальное снижение уровня секреции провоспалительных цитокинов [133], изначально имевших высокие значения в образцах многослойного и цилиндрического эпителия. Увеличение количества провоспалительных цитокинов и IL-18 в организме ВПЧ-инфицированных, вероятно должно способствовать борьбе с вирусной нагрузкой. Препараты, вызывающие индукцию IL-18, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  могут быть предложены в качестве лекарственных средств против ВПЧ.

Следовательно, иммунный ответ при папилломавирусной инфекции характеризуется дисбалансом иммунорегуляторных Th1/ Th2 цитокинов, что приводит к длительной персистенции ВПЧ в организме и рецидивам заболевания.

#### **1.4 Особенности диагностики и информативность различных методов обследования больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями**

На сегодняшний день наиболее признанный, имеющий наивысшую доказательность по эффективности метод, рекомендованный в качестве «золотого стандарта» диагностики интраэпителиальных неоплазий со слизистой цервикального канала и влагалищной части шейки - цитологический, включая метод жидкостной цитологии [17, 53, 63, 66, 83]. Жидкостная цитология основана на морфологическом изучении и оценке клеточного материала, рекомендована и признана мировыми организациями и международными консенсусами (FDA, Американское противораковое общество и др.) для своевременного и эффективного скрининга рака шейки матки [52, 82]. Для цитологического исследования материал забирается из цервикального канала, переходной зоны и экзоцервикса с помощью одноразовой эндоцервикальной щеточки. Исследования последних лет показали - жидкостная цитология, информативнее обычной

цитологии, а, следовательно, избирательна для скрининга рака шейки матки [119]. Чувствительность метода отмечается в 85-90% случаев [59]. Для интерпритации результатов цитологического анализа в настоящее время используют цитологическую классификацию Bethesda, принятую в 1988г, дополненную в 1991, 2001 и 2015гг [63].

Поскольку все случаи РШМ сопряжены с ВПЧ ВКР, в ряде стран широко применяется ВПЧ-тестирование. Наиболее перспективным считают метод диагностики ПЦР в «real-time», позволяющий определить количество вирусных генов [92, 93]. Суть метода заключается в многократном копировании (амплификации) в пробирке определенных участков ДНК в процессе повторяющихся температурных циклов с участием термостабильной полимеразы [67]. Благодаря этому происходит многократное увеличение количества специфических фрагментов ДНК, что дает возможность количественно определить возбудителя заболевания [48]. Кроме определения ДНК вируса, разрабатываются способы ВПЧ тестирования с определением мРНК Е6/Е7. Однако чувствительность теста на мРНК оказалась ниже, чем на ДНК (64,1% против 96,4%).

Расширенная кольпоскопия используется для дообследования женщин с целью оценки состояния эпителия и выбора места забора морфологического материала для гистологической верификации диагноза [24, 128]. Суть пробы с уксусной кислотой заключается в том, что под ее действием происходит кратковременный отек эпителия, набухание клеток, сокращение подэпителиальных сосудов, анемизация тканей, проявляющиеся кольпоскопически в виде изменения цвета - белесоватый цвет за счет коагуляции белков кислотой. Патологически расширенные сосуды с морфологически измененной стенкой (отсутствие гладкомышечных элементов, коллагеновых, эластичных волокон) остаются зиять и выглядят кровенаполненными. Под действием раствора Люголя зрелые клетки поверхностного слоя МПЭ окрашиваются в темно-коричневый цвет за счет содержащегося в них гликогена (йодпозитивный эпителий). В патологически измененном эпителии МПЭ

окрашивается слабо либо вообще остается неокрашенным (йоднегативный эпителий). Кольпоскопические заключения интерпретируются в соответствии с современной Международной классификацией, предложенной в 2011г. IFCPS (Rio de Janeiro). Кольпоскопия относится к субъективным методам диагностики и обладает 49-86% специфичности и 67-79 % чувствительности.

Гистологическая верификация диагноза с использованием прицельной биопсии под кольпоскопическим контролем является высокоинформативным методом и составляет до 92,9% [58, 62]. Однако этот метод не может применяться в качестве оценки проводимой терапии и/или динамического контроля изменений на шейке матки ввиду невозможности многократного использования. Терапевтический выбор и прогноз при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях связан с наличием и отсутствием микроинвазии, диагностический поиск которой крайне затруднителен [72].

В последние годы в диагностике атипических поражений эпителия шейки матки используется портативный диагностический сканер TruScreen, позволяющий распознать присутствие предопухолевых изменений эпителия ткани шейки матки в режиме «real-time» при проведении стандартного гинекологического осмотра [28]. Действие аппарата TruScreen основано на измерении степени отражения и преломления света, который прошел сквозь эпителиальную ткань шейки матки. С помощью одноразового наконечника зонда в результате касания к вагинальной поверхности шейки матки происходит считывание изменений в эпителии шейки матки, далее результат сравнивается с обширной базой данных прибора, формируется и печатается соответствующее заключение в бумажном форме.

Сравнение основных диагностических методов скрининга шейки матки приведено в таблице 1.1.

Таблица 1.1 — Сравнение основных диагностических методов скрининга шейки матки

Методы	Достоинства/недостатки		Чувствительность/специфичность, %	
	Достоинства	Недостатки	Чувствительность	Специфичность
Цитология жидкостная	Испытанный, доступный	время ожидания	85—90	78—95
ВПЧ – генотипирование	Высокочувствительный	время ожидания, дорогой, низкая специфичность	66—99	68—97
Кольпоскопия	Простой, дешевый, доступный	Низкоспецифичный	67—79	49—86
TruScreen	режим «real-time»	Неапробированный, не везде доступный	≤70	≤80

С целью формирования прогностических исходов течения заболевания ведется изучение молекулярно-биологических маркеров на каждой степени цервикальных интраэпителиальных неоплазий. Диагностика CIN и РШМ трудна из-за отсутствия макроскопических признаков опухолевого роста. Наиболее изученными маркерами являются маркеры пролиферации и апоптоза: белок-продукт гена –опухолевого супрессора – p53, белок p16<sup>INK4a</sup>, белок Ki67-маркер клеточной пролиферации, находящийся в поздней G1, S, G2 и M фазах цикла; каспазы 3 и 9, маркеры начала инвазии: матриксные металлопротеиназы (matrix metalloproteinases – MMP), маркеры гипоксии и неоангиогенеза: фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF) [5, 25, 57, 104, 108, 129, 137].

Однако не все методы демонстрируют высокую информативность в определении степени повреждения и прогнозирования течения ввиду чего продолжается поиск новых тестовых систем.

## 1.5 Краткие фармакологические и физико-химические характеристики методов терапии

На сегодняшний день предложено много различных методов лечения цервикальных интраэпителиальных поражений шейки матки. Выбор того или иного метода лечения ПВИ шейки матки зависит от морфологии, размеров, обширности распространения поражения, возраста пациентки, наличия беременности у пациентки и финансового состояния.

До недавнего времени с целью лечения воспалительного процесса ШМ использовались химические концентрированные растворы кислот, щелочей, солей, вызывающие цитолиз и некроз тканей и оставляющие после себя ряд тяжелых осложнений, таких как нарушение эпителизации и трофики слизистой оболочки [74].

Определенные успехи в лечении заболеваний ШМ были достигнуты с внедрением в практику физиохирургических методов лечения. В качестве хирургического метода лечения в работе при постановке диагноза CIN II использовали эксцизию LEEP (Loop Electrosurgical Excision Procedure, петлевая электрохирургическая эксцизия). При данном виде пораженный эпителий шейки матки иссекается тонкими проволочными петлями разными размерами с обязательным захватом зоны цервикального канала разной глубины: при зоне трансформации I типа глубина не менее 7 мм, II типа глубина до 10 мм [58].

Однако локальная эксцизия очагов клинических и субклинических проявлений ПВИ при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях II степени не позволяет полностью избавить организм от ВПЧ-инфекции [68]. Важным и даже необходимым компонентом лечения ПВИ является медикаментозная иммунокорректирующая терапия, позволяющая в комплексе воздействовать не только на патологический очаг, но и на причину заболевания [44, 77].

Фармакологический механизм иммуностимулирующих препаратов с противовирусной активностью связан с усилением угнетающего действия на синтез мРНК лимфоцитов и повышением продукции лимфоцитами, которые

обладают свойствами интерферонов- $\alpha$  и -  $\gamma$ . За счет угнетения РНК вируса и фермента дигидроптероатсинтетазы (DHPS), принимающего участие в репликации некоторых вирусов происходит подавление биосинтеза РНК вируса и трансляции вирусных белков.

С целью восстановления нарушенных показателей клеточного и гуморального иммунитета и нормализации работы окислительно – антиокислительной системы организма перспективно назначение иммуномодулирующих препаратов. Применение данных групп препаратов способствует нормализации иммунорегуляторного индекса, увеличению продукции специфических антител, что значительно снижает риск рецидивов и подавляет активность ВПЧ.

Однако в анализируемой нами литературе исследования, направленные на инактивацию ВПЧ без применения деструктивных методов, ведущие к излеченности CIN, не проводились. Перспективным методом лечения ВПЧ, участвующего в злокачественной трансформации, является иммунопротивовирусный, который не ведет к постоянными рецидивами, что крайне важно при длительной персистенции вируса у пациенток с CIN [15].

В исследовании использовался препарат Аллоферон (действующее вещество гистидин-глицил-валил-серил-глицил-гистидил-глицил-глутаминил-гистидил- глицил-валил-гистидил-глицин). Он представляет собой синтетический линейный олигопептид с молекулярной массой 1265 дальтон и состоящий из 13-ти L-аминокислот. Не вызывает аллергических реакций, так как для развития аллергических реакций препарат должен состоять как минимум из 20-ти аминокислот. Он активирует систему естественных киллеров, способен стимулировать распознавание и лизис дефектных клеток цитотоксическими лимфоцитами. Аллоферон способствует активации синтеза интерлейкина 18 - провоспалительного цитокина, принадлежащий к семейству IL-1. Аллоферон активирует его синтез макрофагами, что в свою очередь приводит к активации НК-лимфоцитов и IFN- $\gamma$ -индукцию переключая иммунный ответ на Th1 – зависимый путь. Кроме того, аллоферон вызывает индукцию синтеза эндогенных

интерферонов, преимущественно, IFN- $\gamma$ , вызывает активацию цитотоксических Т-клеток CD3+HLA-DR+ даже на фоне снижения абсолютного числа CD3+ CD8+ клеток, что важно для реализации противоопухолевого и противовирусного ответов. Это лекарственное средство оказывает иммуотропное действие, усиливает продукцию интерферона- $\gamma$  клетками-киллерами [6, 43]. В отличие от некоторых индукторов интерферона Аллоферон выступает кофактором, позволяя лейкоцитам, продуцирующим интерферон- $\alpha$ , реактивно реагировать на антиген вируса. Это обеспечивает повышение уровня противовоспалительных цитокинов в очаге инфекции.

Выбор метода лечения CIN является ключевым в системе профилактики рака шейки матки, поэтому совершенствование подходов, методик, внедрение современных препаратов является важным направлением в гинекологической практике.



Первым этапом исследования стало формирование групп исследования путем проведения цитологического скрининга и ПЦР диагностики на выявление ВПЧ в цервикальном канале. На основании результатов ПЦР на наличие ВПЧ ВКР и заключения гистологии биоптатов шейки матки сформирована первая группа, в которую вошли женщины в возрасте 18-35 лет в количестве 86 пациенток с гистологически верифицированным заключением CIN I, вызванной ВПЧ, средний возраст которых составил  $35,01 \pm 0,7$  лет. Вторую группу составили 86 пациенток с гистологически верифицированным заключением CIN II, вызванной ВПЧ, средний возраст которых составил  $36,90 \pm 0,48$  лет.

**Критерии включения** для проведения исследования, на основании которых были отобраны 172 женщины: 1) наличие репликации вируса папилломы человека высокого риска в цервикальном канале, установленное методом ПЦР; 2) CIN легкой и умеренной степени тяжести, гистологически верифицированы; 3) зона трансформации 1 или 2 типа с наличием полной визуализации зоны стыка; 4) письменное добровольное информированное согласие; 5) отсутствие сопутствующей генитальной и экстрагенитальной патологии; 6) отсутствие применения иммуномодулирующих препаратов в течение как минимум 1 года; 7) «нормоценоз» влагалища; 8) отсутствие инфекций передающихся половым путем; 9) использование барьерного метода контрацепции.

**Критерии исключения:** 1) беременность, период лактации; 2) CIN 3 и рак *in situ*; 3) наличие тяжелой генитальной и экстрагенитальной патологии, способных существенно повлиять на результат исследования; 4) сопутствующие психические заболевания; 5) прием противовирусных и иммуномодулирующих препаратов менее 1 года; 6) вакцинация против ВПЧ.

Учитывались **критерии выведения** из исследования: 1) появление в процессе исследования критериев исключения; 2) индивидуальная непереносимость препарата в ходе исследования; 3) несоблюдение режима приема препарата; 4) решение забеременеть; 5) злоупотребление алкоголем или наркотическими средствами; 6) по усмотрению исследователя, если тот считает,

что продолжение исследования наносит вред пациенту; 7) наличие медицинских показаний или возникновение нежелательных явлений, которые могут быть расценены как связанные с применением медикаментозного препарата; 8) решение пациента прекратить свое участие в исследовании.

С целью формирования группы контроля были отобраны условно здоровые женщины, которые обратились в амбулаторно-поликлинические учреждения г. Рузаевка с целью прохождения медицинского осмотра в период с 2018г по 2020г. Данная когорта представлена вирус-негативными по ВПЧ женщинами, без патологических изменений на шейке матки, с нормальной кольпоскопической, цитологической картиной, в которую вошли 43 женщины, средний возраст которых составил  $33,86 \pm 1,04$ .

Для группы контроля были определены следующие **критерии включения**: 1) женщины в возрасте 18 - 47 лет; 2) отсутствие вируса папилломы человека в цервикальном канале, установленное методом ПЦР, 3) отсутствие вируса герпеса 4) отсутствие ИППП, 5) информированное добровольное письменное согласие; 6) отсутствие генитальной и экстрагенитальной патологии, которая смогла бы повлиять на результат исследования; 7) оценка «нормоценоз» по результату микроскопии; 8) зона трансформации I или II типа; 9) отсутствие проведения вакцинации от ВПЧ.

Для группы контроля **критерии исключения** следующие: 1) наступление беременности и/или её планирование; 2) неудовлетворительная картина цитологического и/или кольпоскопического исследования; 3) прием лекарственных препаратов, которые могли повлиять на исследуемые показатели; 4) невозможность следовать условиям протокола.

Все пациентки, вошедшие в исследование, перед вступлением в протокол были ознакомлены с используемыми методами обследования и подписали информированное добровольное согласие на проведение комплекса обследования.

Второй этап состоял из клинико-лабораторного исследования, куда вошли гинекологический осмотр; оценка качественного и количественного микробиоценоза нижнего отдела гениталий методом ПЦР в режиме «real-time»;

жидкостная цитологическая диагностика; простая и расширенная кольпоскопия с применением традиционных методов: 3%-го раствора уксусной кислоты и 2%-го водного раствора Люголя; мультифокусная биопсия шейки матки с дальнейшим гистологическим исследованием; метод выявления ДНК ВПЧ ВКР с использованием полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «real-time» и определением вирусной нагрузки; определение показателей IL-18 и IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  методом ИФА.

Третьим этапом для оценки эффективности подхода к лечению женщин репродуктивного возраста с CIN I и CIN II, имеющую зону трансформации I-II типа, стало разделение групп с помощью генератора случайных чисел на равные по численности подгруппы. Ia подгруппа 43 пациентки с гистологически верифицированным заключением CIN I проходили динамическое наблюдение без применения терапии в течение 6, 12 и 18 месяцев; Ib подгруппа – 43 пациентки с гистологически верифицированным заключением CIN I получали терапию противовирусным иммуномодулирующим препаратом «Аллоферон» согласно протоколу по схеме.

IIa подгруппа включала 43 женщины с гистологически верифицированным заключением CIN II, у которых использовалось только хирургическое воздействие на патологический очаг шейки матки.

Подгруппа сравнения IIb - 43 пациентки с гистологически верифицированным заключением CIN II, у которых использовалось комбинированное лечение: хирургическое воздействие на патологический очаг шейки матки с и терапия препаратом «Аллоферон» согласно протоколу по схеме. Четвертый этап заключался в оценке изменений показателей локального иммунитета (IL -18, IFN –  $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) через 10 дней, через 12 месяцев, и клинико-лабораторных исследований через 6, 12 и 18 месяцев.

Учитывая особенности цитокинового взаимодействия, а также период полувыведения иммуномодулирующего препарата (6-8 часов) и сохранение противовирусной активности на протяжении недели после однократного введения

препарата под кожу целесообразным было признано взятие параметров на 10 день и через 12 месяцев с целью отслеживания отдаленного эффекта терапии [81].

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).

## **2.2 Клинико-anamнестические методы исследования**

На первом этапе обследования важной задачей явилось клинико-визуальное исследование: сбор жалоб, анамнеза, анкетирование, гинекологический осмотр. Оценивались регулярность профилактических обращений, а также наличие имеющейся гинекологической и соматической патологии.

Кроме того, методом анкетирования подробно изучались социально-экономические условия труда и быта, половой дебют, число половых партнеров, наличие вредных привычек (курение, прием наркотических препаратов и алкоголя) с целью установления возможных факторов, спровоцировавших возникновение заболеваний шейки матки.

## **2.3 Методы исследования**

### **2.3.1 Оценка микробиоценоза урогенитального тракта**

Оценка качественного и количественного микробиоценоза нижнего отдела гениталий осуществлялась с помощью метода ПЦР в режиме реального времени с использованием набора реагентов ФЕМОФЛОР® согласно инструкции, что позволило дать оценку состава микрофлоры урогенитального тракта женщины.

Результаты исследования микробиоценоза урогенитального тракта женщин репродуктивного возраста оценивали 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.

Забор материала проводился до проведения мануального исследования. Соскоб эпителиальных клеток для данного исследования получали стерильным одноразовым зондом с бокового или заднего нижнего свода влагалища, уретры и цервикального канала.

Интерпретацию результатов диагностики проводили автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с амплификатором детектирующим. Учитывалось количество лактобактерий, типичных для урогенитального тракта женщин, наличие аэробных и анаэробных микроорганизмов, патогенов, микоплазм, грибов рода *Candida*.

### **2.3.2 Цитологическое исследование**

Взятие материала для проведения жидкостного цитологического анализа осуществлялось строго до проведения бимануального исследования. Шейка матки бережно очищалась от слизи с целью избежания трудностей интерпретации результатов иммуноцитохимического окрашивания в дальнейшем. В наружный зев шейки матки аккуратно вводилась цитощеточка, далее осуществлялось пять вращений по кругу на  $360^\circ$  - три по часовой стрелке и два - против часовой стрелки, направляя центральную ее часть по оси цервикального канала. Полученный материал погружался в контейнер с обогащенной средой с консервирующей жидкостью, сохраняющую свойства клеток при транспортировке. Головка щеточки не извлекалась, поэтому весь собранный

материал был доставлен в лабораторию и изучен. С целью получения равномерной клеточной взвеси использовалось устройство для встряхивания первичной виалы Vortexer (TriPathImagingInc., США). Для переноса исследуемого образца из первичной виалы в центрифужную пробирку применялся прибор PrepMate (TriPathImagingInc., США). Центрифуга Rotima 380 (TriPathImagingInc., США) использовалась в двух режимах.

Первый – для отделения чистого клеточного материала от слизи, компонентов крови и т.п. Второй – для получения плотного клеточного осадка. Аспиратор EZAspirator использовался для удаления надсадочной жидкости после первого центриф-угирования.

Для приготовления и окрашивания микропрепаратов по технологии SurePath при проведении цитологического исследования использовалась система BD PrepStain (TriPathImagingInc., США). Работа системы основывается на полуавт-оматической процедуре подготовки аспирата цервикальных клеток.

Поэтапное окрашивание образцов способствует созданию тонкослойного препарата материала. PrepStain повторно растворяет гранулированные клеточные образцы в деионизированной буферной воде, затем помещает клеточную взвесь в осадочные камеры, установленные на предметные стекла SurePath®PreCoat.

Система управляется с помощью программного обеспечения. В течение периода инкубации клетки осаждаются на поверхность предметного стекла, затем прибор выполняет последовательность промывок и окрашиваний по методу Папаниколау. Исследование микропрепарата выполнялось в лаборатории «ДиаЛаб» при 10-кратном увеличении «змеевидным» методом по всему стеклу. Классификацию полученных результатов проводили по терминологии Bethesda (TBS), 2001 г.[63].

### **2.2.3 Кольпоскопическое исследование**

В качестве дополнительного метода, обеспечивающий полную визуализацию и обширность патологического процесса применялась

*расширенная кольпоскопия* с применением традиционных методов: 3%-го раствора уксусной кислоты, и затем 2%-го водного раствора Люголя. Исследование проводилось по общепринятой методике с помощью кольпоскопа ЭКС-1М (Белоруссия) с цифровым видеопередающим модулем, обеспечивающий 7-15-30-кратное увеличение.

Основной задачей являлось последовательное исследование плоского и цилиндрического эпителия, переходной зоны, ее размеров, границы и оценка тяжести найденных патологических изменений.

Полученные кольпоскопические результаты графически оформляли в индивидуальной карте пациентки с помощью условного циферблата (рисунок 2.2)

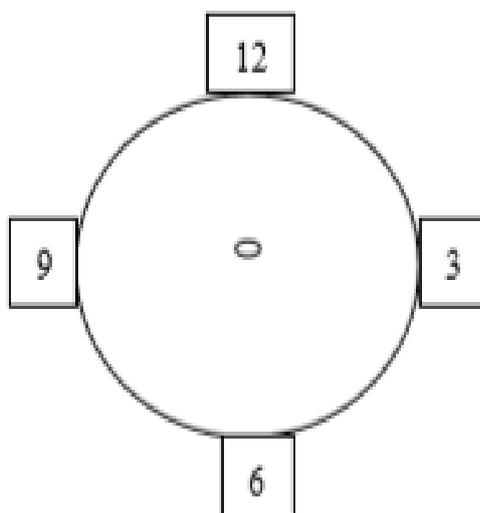


Рисунок 2.2 – Графическая интерпретация результатов кольпоскопического исследования

#### **2.3.4 Морфологическое исследование биоптатов шейки матки**

Кольпоскопия не позволяет с высокой степенью точности установить глубину, характер и распространенность изменений в шейке матки. Поэтому женщинам при аномальной кольпоскопической картине было рекомендовано гистологическое исследование биоптата, имеющее решающее значение в постановке диагноза и выборе дальнейшей тактике ведения.

Согласно общепринятым требованиям, мультифокусная биопсия шейки матки всегда должна быть прицельной. Всем женщинам забор материала осуществлялся под визуализацией кольпоскопа биопсийной петлей высокочастотного электрохирургического аппарата "ФОТЕК Е81М" после проведения уксусной пробы для оценки состояния эпителия.

Биоптаты полученного экзоцервикса помещали на 24 часа в 10% нейтральный забуференный при рН 6,8-7,0 формалин. Соотношение объема фиксирующего агента и тканевого образца составляло не менее 20:1. Фиксация образцов осуществлялась при комнатной температуре. Для получения наилучших результатов при проводке и заливке материала использовали парафин высокого качества с температурой плавления 56°C (отсутствием легко-и тугоплавких фракций), гомогенностью (мелкозернистый вид поверхности разлома застывшего парафинового блока) и пластичностью (отсутствием растекания при замораживании до - 20°C). Для комплекса первичной лабораторной обработки тканей, включая фиксацию, промывку, обезвоживание и пропитку материала использовали тканевой процессор карусельного типа LeicaTP1020 (Германия). После осуществления заливки материала в парафин приготавливали парафиновые блоки с помощью прибора Microm EC350 (Германия). Для изготовления парафиновых срезов использовали механический «ротационный» микротом LeicaRM 2125 (Германия), обеспечивающий механизированную подачу образца на жестко закрепленный нож, возможность использования одноразовых лезвий, ретракция, различные варианты автоматизации. И каждого парафинового блока формировались плоскопараллельные серийные срезы толщиной в 5-7 мкм. Затем для проведения микроскопии после полного депарафинирования тканевые срезы окрашивались гематоксилином и эозином по общепринятым методикам. Для оптимального окрашивания рН раствора эозина стабилизировали на значении около 5,0.

Заключение гистологии трактовали согласно предложенной в 1995 году M.N. Schiffman морфологической классификации изменений шейки матки, вызываемых ВПЧ (доброкачественная атипия, плоскоклеточное

внутриэпителиальное поражение низкой степени тяжести, плоскоклеточное внутриэпителиальное поражение высокой степени тяжести, дисплазия выраженной степени или интраэпителиальный рак).

### **2.3.5 Обнаружение и количественное определение ДНК ВПЧ ВКР (молекулярно-биологические методы исследования)**

Методом выявления ДНК ВПЧ ВКР служил ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени при помощи диагностического комплекта «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-FL», согласно рекомендациям производителя ФБУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора (г.Москва). Набор реагентов предназначен для выявления и количественного определения ДНК ВПЧ ВКР 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59 типов в клиническом материале. Исследование проводилось в лаборатории Медицинского института Национального исследовательского Мордовского государственного университета имени Н.П. Огарёва с соблюдением общепринятых санитарно-эпидемических правил СанПиН 1.3.2322-08, СанПиН 2.1.7.2790-10.

Забор материала проводился в соответствии с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанными Центральным научно-исследовательским институтом эпидемиологии МЗ РФ и утвержденными МЗ РФ (Москва, 2009 г). Материал забирался до проведения мануального исследования. Перед взятием материала стерильным ватным тампоном удалялась слизь и обработка шейки матки стерильным физиологическим раствором. С помощью одноразового зонда забирался соскоб с МПЭ шейки матки, ЗТ из цервикального канала, если соединение многослойного плоского и призматического эпителия было смещено в цервикальный канал. Переносили зонд с биоматериалом в пробирку с транспортной средой, тщательно ополаскивали, после чего его извлекали и утилизировали. Транспортировались и хранились образцы до начала исследования при температуре от 2 °С до 8 °С в течение не более 24 часов.

Построение калибровочной прямой и расчет концентраций ДНК человека и ДНК ВПЧ происходило программой автоматического учета результатов «AmpliSens FRT HR HPV GenotypeQuantResults Matrix.xls». Конечный результат нормированной концентрации ДНК ВПЧ на количество клеток человека рассчитывали по формуле:

$$I_g \times 200000] = I_g \text{ (ВПЧ на 100 тыс клеток)}$$

Результаты концентрации ДНК ВПЧ выражались в  $I_g$  (ВПЧ. на 100 тыс. клеток) и оценивались следующим образом: менее 3  $I_g$  -малозначимая, от 3  $I_g$  до 5  $I_g$  —клинически значимая и более 5  $I_g$  - повышенная вирусная нагрузка.

Амплификацию и детекцию ВПЧ ВР с определением генотипа и вирусной нагрузки, а также анализ результатов проводили на приборе «CFX96» («BioRad», США).

### 2.3.6 Определение содержания уровня IL-18, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$

Материалом для изучения локального иммунного ответа являлась цервикальная слизь. Забор цервикального отделяемого производили методом аспирации с помощью туберкулинового шприца с катетером (без иглы) из цервикального канала в первую фазу менструального цикла.

Образец биологической жидкости разбавляли промывочным буфером (ФСБ-Т) в соотношении от 1:1 до 1:4 до получения гомогенной, текучей взвеси. Тщательно перемешивали с использованием прибора для встряхивания (типа Wortex). Осветляли центрифугированием (10 000G, 3 мин.). Определенную концентрацию цитокина умножали на фактор разведения в соответствие с предложенными инструкциями. Для определения цитокинов использовали образцы как свежеприготовленные, так и хранившихся не более 3 месяцев при температурном режиме не выше минус 16°C. При температурном режиме не выше минус 40°C хранение образцов возможно до 1 года. Перед постановкой анализа замороженные образцы быстро размораживались и обязательно тщательно перемешивались до однородной консистенции.

Оценивались следующие показатели: уровень IL-18 и IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ . Уровни цитокинов в цервикальной слизи определяли методом ИФА с помощью наборов реагентов «Вектор-БЕСТ» (г. Новосибирск). Исследование проводилось по методикам, приложенным к тест-системам. Тест-системы основаны на «сэндвич»-методе твердофазного ИФА с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента. Оптическая плотность каждой лунки планшета измерялась на полуавтоматическом вертикальном фотометре MultiskanAscent фирмы ThermoElectron при длине волны 450 нм. Учет результатов производился с помощью иммуноферментного анализатора. Результаты выражались в пг/мл.

#### **2.4 Статистические методы обработки данных**

Результаты исследования обрабатывались методом вариационной статистики с помощью критерия достоверности (t) Стьюдента при нормальном распределении показателей. Оценку статистической значимости различий между подгруппами и группами сравнения при неправильном распределении показателей проводили с использованием непараметрических методик, критерия U-критерия Манна — Уитни (количественное определение вирусной нагрузки ВПЧ, интерлейкина в цервикальной слизи и др.). Для анализа таблиц сопряженности качественных признаков использовали точный тест Фишера. Проводили ROC-анализ с целью оценки качества прогнозирования. Все различия, связи и зависимости считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Корреляционный анализ осуществляли методом ранговой корреляции Спирмена. Расчеты и графические построения выполнены с помощью пакетов KyPlot (v.2.0 beta 15), ROCKIT (v. 1.0.1 beta 2) и «Statistica 6.0».

Таким образом, в результате обследования было отобрано 2 группы ВПЧ – позитивных женщин, которым на основании результатов обследования был установлен диагноз CIN I и CIN II. В соответствии с условием протокола женщины подписали информированное согласие на дальнейшее участие в исследовании и последующем наблюдении в течение 18 месяцев.

## ГЛАВА 3

### СОБСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 3.1 Социально-анамнестическая и клинико-диагностическая характеристика женщин группы контроля

Прежде чем перейти к решению поставленных задач нашего исследования, на первом этапе были отобраны условно здоровые женщины, которые обратились в амбулаторно-поликлинические учреждения г. Рузаевка с целью прохождения медицинского осмотра в период с 2018 года по 2020 год. Данную группу составили 43 женщины с нормальной цитологической картиной шейки матки и без наличия ВПЧ ВКР. Таким образом, была сформирована группа контроля. Мы проанализировали у этих пациенток социально-анамнестические и клинико-лабораторные данные, которые позволили определить референсные значения с целью дальнейшего сравнительного анализа в исследуемых группах.

Средний возраст женщин, вошедших в группу контроля, составил  $33,86 \pm 1,04$ . Женщины, вошедшие в группу контроля были расформированы по группам с учетом возраста (таблица 3.1).

Таблица 3.1 – Возраст женщин группы контроля

Возраст	Количество	Удельный вес, %
От 18 до 30 лет	36	84
От 31 до 47 лет	7	16

С целью сбора анамнеза проведен социологический опрос. В анкетировании приняли участие все пациентки. Результаты проведенного анкетирования помогли оценить социальный статус, семейное положение, акушерско-гинекологический анамнез, сопутствующие заболевания, а также наличие вредных привычек пациенток. Основную часть составили преимущественно трудоустроенные женщины, состоящие в зарегистрированном браке (81,39%).

Из обследованных женщин регулярный менструальный цикл имели 93% (40 пациенток) и нерегулярный – 7% (3 пациентки). Возраст наступления менархе составил в среднем  $13,7 \pm 0,5$  лет.

Наркотическая и/или никотиновая зависимость не была отмечена ни у одной из исследованных пациенток.

Из сопутствующих экстрагенитальных заболеваний на момент проведения обследования у женщин не отмечалось наличие декомпенсированных заболеваний или острых состояний, которые могли бы существенно повлиять на результат исследования. Цитологический скрининг патологии шейки матки осуществлялся с помощью метода жидкостной цитологии. Группу контроля составили женщины, имеющие цитологический результат классификации NILM.

Оценивая качественный и количественный микробиоценоза нижнего отдела гениталий по результатам исследования вагинального содержимого методом ПЦР в режиме «real-time» у женщин группы контроля в 100 % (n=43) отмечено состояние нормального биотопа влагалища: доминирование лактобацилл, отсутствие грам отрицательной микрофлоры, бластоспор, псевдомицелия, лейкоцитов; единичные эпителиальные клетки, соответствующие фазе менструального цикла.

При проведении расширенной кольпоскопии в качестве дополнительного метода диагностики с целью определения возможных изменений на шейке матки у всех женщин группы контроля многослойный плоский эпителий (МПЭ) имел бледно-розовый цвет, гладкую блестящую поверхность. При обработке шейки матки 3% раствором уксусной кислоты визуализировали равномерное и незначительное побледнение эпителия, при проведении пробы с 2 % водным раствором Люголя - равномерное темно-коричневого окрашивание. У всех пациенток наблюдалась зона трансформации I-II типа, адекватная кольпоскопическая картина.

Далее согласно плану, проведен анализ иммунологических показателей, включенные в исследование. Учитывая факт, что в доступных литературных источниках нормы показателей IFN- $\gamma$ , IL – 18, TNF- $\alpha$  в цервикальной слизи, не отражены, было произведено обследование группы контроля с целью поиска

референсных значений (таблица 3.2).

Таблица 3.2 – Показатели IFN- $\gamma$ , IL – 18, TNF- $\alpha$  в цервикальной слизи пациенток группы контроля

Контроль (n=43)	M $\pm$ m
IFN- $\gamma$ , пг/мл	89,44 $\pm$ 0,85
IL - 18 , пг/мл	8,12 $\pm$ 0,07
TNF - $\alpha$ , пг/мл	2,66 $\pm$ 0,05

В группе контроля значения IFN- $\gamma$  соответствовали 89,44 $\pm$ 0,85 пг/мл, значения IL - 18 - 8,12 $\pm$ 0,07 пг/мл, а значения TNF - $\alpha$  были равны 2,66 $\pm$ 0,05 пг/мл.

Отсутствие чужеродного агента в виде вируса папилломы человека, не приводящее к запуску цепных реакций у женщин группы контроля, свидетельствует в данном случае о балансе исследуемых цитокинов. Возможно, это и является залогом устойчивости организма к возникновению вирусной инфекции, либо быстрой ликвидации патологического процесса.

### 3.2 Социально-анамнестическая и клинико-диагностическая характеристика пациенток с ВПЧ-ассоциированной CIN I степени

С целью дальнейшего изучения и решения задач были выбраны 86 женщин от 19 до 47 лет с верифицированными цервикальными интраэпителиальными поражениями I степени по результатам жидкостной цитологии, подтвержденные гистологически. Средний показатель в группе женщин с CIN I составил 35,01 $\pm$ 0,7 лет. Учитывая ранее описанные факторы, способствующие прогрессированию цервикальных неоплазий, ассоциированных папилломавирусом, пациентки группы с CIN I были разделены по возрастным категориям (таблица 3.3).

Таблица 3.3 – Возраст пациенток группы с CIN I

Возраст	Количество	Удельный вес (%),
От 18 до 30 лет	65	76
От 31 до 47 лет	21	24

65 пациенток (76%) составили женщины в возрасте 18-30 лет, 21 пациентка (24%) была в возрасте от 31 до 35 лет. Пациенток старше 35 лет в данной группе исследования не было. Исходя из данных литературы [109], спонтанная элиминация вируса высока для женщин молодого возраста и крайне низкая у женщин более 30 лет. Исследуя анамнез, 67,44% опрошенных женщин группы I в качестве контрацепции использовали презерватив, остальные не имели половых актов.

Таблица 3.4 – Анализ зависимости исследуемых параметров и возраста более 30 лет у группы пациенток с CIN I

Параметры	Число наблюдений	Возраст более 30 лет	
		Коэффициент корреляции R	Уровень p
Табакокурение	86	0,1265	0,0320
Дебют половой жизни раньше 18 лет	86	0,3015*	0,0034
Число половых партнеров >5	86	0,5648*	0,0004
Нарушение менструальной функции	86	0,5341*	0,0004
Аномальная кольпоскопическая картина	86	0,2473*	0,0001
Цитологическое заключение LSIL	86	<b>0,7486*</b>	0,0202
Вирусная нагрузка ВПЧ (>5lg, 3–5lg)	86	<b>0,7582*</b>	0,0003
IL-18	86	<b>0,7235*</b>	0,0002
IFN- $\gamma$	86	<b>0,7623*</b>	0,0003
TNF- $\alpha$	86	0,4531*	0,0005
Заключение гистологии, соответствующее LSIL	86	0,6228*	0,0002

Примечание: \* – достоверно значимая корреляционная зависимость ( $p < 0,05$ )

Выявлены сильные корреляционные связи между возрастом пациентки более 30 лет и цитологическим заключением LSIL ( $R = 0,7486$ ,  $p = 0,0202$ ), и клинически значимой вирусной нагрузкой >5lg, 3–5lg ( $R = 0,7582$ ,  $p = 0,0003$ ). (таблица 3.4).

Учитывая факт никотиновой зависимости в группе пациенток с CIN I у 32 пациенток, далее был проведен анализ зависимости табакокурения с исследуемыми параметрами (таблица 3.5).

Таблица 3.5 – Анализ зависимости табакокурения и исследуемых параметров у группы пациенток с CIN I

Параметры	Число Наблюдений	Табакокурение	
		Коэффициент корреляции R	Уровень p
Возраст более 30 лет	86	0,1265	0,0320
Дебют половой жизни раньше 18 лет	86	0,4343*	0,0004
Число половых партнеров >5	86	0,5922*	0,0005
Нарушение менструальной функции	86	0,6132*	0,0005
Аномальная кольпоскопическая картина	86	0,4578*	0,0003
Цитологическое заключение LSIL	86	0,6382*	0,0002
Вирусная нагрузка ВПЧ (>5lg, 3–5lg)	86	0,4582*	0,0002
IL-18	86	0,6235*	0,0002
IFN- $\gamma$	86	0,6623*	0,0003
TNF- $\alpha$	86	0,5341*	0,0005
Заключение гистологии, соответствующее LSIL	86	0,6817*	0,0002

Примечание: \* – достоверно значимая корреляционная зависимость ( $p < 0,05$ )

По мнению авторов [120, 138], никотин и котинин, найденные в цервикальной слизи курильщиц, способны трансформироваться в нитрозамины. Эти канцерогенные агенты изменяют структуру молекулы ДНК, что служит началом для неопластического процесса. В нашем проведенном исследовании не отмечается сильных корреляционных связей табакокурения ни с одним из исследуемых показателей.

Далее сбор анамнеза и изучение особенностей половой функции у пациенток группы с CIN I показали, что возраст начала половой жизни оказался наиболее ранним (до 18 лет) у 56,3% пациенток, что, по-видимому, и обуславливает большую частоту абортс среди женщин данной группы, 38% пациенток половой дебют отметили в 19-21 год, 5,7% обследованных отмечали позднее начало половой жизнью 25,5- 30 лет. Среди исследуемых 22 пациентки (25%) были не замужем и 14 (16,2%) из них имели более 5 половых партнеров.

Анализ сексуального поведения и исследуемых параметров выявил наличие прямой сильной корреляционной связи между клинически значимой вирусной

нагрузкой >5lg, 3–5lg и дебютом половой жизни раньше 18 лет и ( $R = 0,7122$ ,  $p = 0,0005$ ); между количеством половых партнеров более 5 и клинически значимой вирусной нагрузкой >5lg, 3–5lg ( $R = 0,7015$ ,  $p = 0,0004$ ) (таблица 3.6).

Таблица 3.6 – Анализ зависимости сексуального поведения и исследуемых параметров у группы пациенток с CIN I

Параметры	Число наблюдений	Дебют половой жизни раньше 18 лет		Число половых партнеров >5	
		Коэффициент корреляции R	Уровень p	Коэффициент корреляции R	Уровень p
Возраст более 30 лет	86	0,3015*	0,0034	0,5648*	0,0004
Дебют половой жизни раньше 18 лет	86	1,0000	-----	0,4736*	0,0005
Число половых партнеров >5	86	0,4445*	0,0003	1,0000	-----
Нарушение менструальной функции	86	0,5365*	0,0004	0,5103*	0,0003
Табакокурение	86	0,4343*	0,0004	0,5922*	0,0005
Аномальная кольпоскопическая картина	86	0,4105*	0,0003	0,5012*	0,0003
Цитологическое заключение LSIL	86	0,4127*	0,0004	0,3425*	0,0001
Вирусная нагрузка ВПЧ (>5lg, 3–5lg)	86	<b>0,7122*</b>	0,0005	<b>0,7015*</b>	0,0004
IL-18	86	0,6184*	0,0002	0,6235*	0,0001
IFN- $\gamma$	86	0,6921*	0,0001	0,6623*	0,0001
TNF- $\alpha$	86	0,5255*	0,0005	0,5341*	0,0004
Заключение гистологии, соответствующее LSIL	86	0,6427*	0,0003	0,6817*	0,0003

Примечание: \* – достоверно значимая корреляционная зависимость ( $p < 0,05$ )

Оценивая анамнез менструальной функции пациенток, у 72,5% из них отмечался регулярный менструальный цикл, 17,3% принимали комбинированные оральные контрацептивы, как в целях контрацепции, так и в целях регуляции

менструального цикла, и 10,2% обследованных женщин не имели регулярности цикла от 35 до 90 дней - это может быть рассмотрено, как пусковой гормональный механизм в развитии патологии шейки матки (таблица 3.7).

Таблица 3.7 – Анализ зависимости нарушения менструальной функции и исследуемых параметров у группы пациенток с CIN I

Параметры	Число наблюдений	Нарушение менструальной функции	
		Коэффициент корреляции R	Уровень p
Возраст более 30 лет	86	0,5341*	0,0004
Дебют половой жизни раньше 18 лет	86	0,6234*	0,0002
Число половых партнеров >5	86	0,4245*	0,0001
Нарушение менструальной функции	86	1,0000	-----
Табакокурение	86	0,6132*	0,0005
Аномальная кольпоскопическая картина	86	0,3165	0,057
Цитологическое заключение LSIL	86	0,2865*	0,0003
Вирусная нагрузка ВПЧ (>5lg, 3–5lg)	86	0,6232*	0,0005
IL-18	86	0,6846*	0,0005
IFN- $\gamma$	86	0,6784*	0,0004
TNF- $\alpha$	86	0,6232*	0,0005
Заключение гистологии, соответствующее LSIL	86	0,6846*	0,0005

Примечание: \* – достоверно значимая корреляционная зависимость ( $p < 0,05$ )

У всех женщин группы с CIN I ДНК ВПЧ ВКР выявлена методом ПЦР у 100% (n=86), что являлось одним из критериев отбора в исследование. Молекулярное типирование – дифференциация 12 типов вируса папилломы человека ВКР (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) показало, что у пациенток с CIN I отмечалась высокая частота встречаемости 16, 31 типа ВПЧ: 38,37%, 30,23%, соответственно. Примерно с равной частотой регистрировались типы 18 (26,74%) и 51 (24,42%) типы. Несколько реже обнаруживались другие типы: у 16 пациенток – ВПЧ 52 типа, у 11 – ВПЧ 33 типа. В 10,47% выявлялись типы 39 и 59. Наиболее часто наблюдались типы 16, 18, 31 [21] (рисунок 3.1).

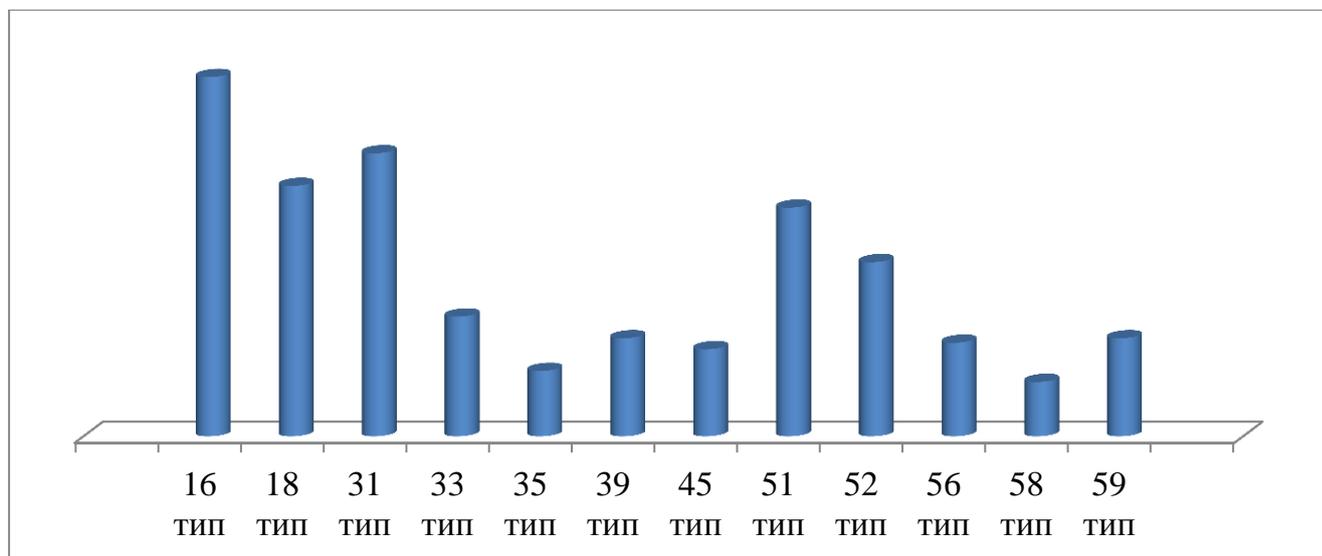


Рисунок 3.1 – Распределение типов ВПЧ ВКР у пациенток в группе с CIN I

Частота встречаемости ВПЧ 16 и 18 типов суммарно составила в исследуемой группе 65,11%. Сочетание двух и более типов ВПЧ определялось у 57,8% женщин с CIN I.

Однако не всегда качественное выявление ВПЧ является важным прогностическим маркером тяжести поражения шейки матки. Клинически значимая вирусная нагрузка, превышающая 3 lg ВПЧ на  $10^5$  клеток, рассматривается как агрессивный фактор прогрессии неопластического процесса. Проведенное количественное определение ДНК ВПЧ ВР методом ПЦР в real-time установило средний показатель вирусной нагрузки в группе исследуемых с CIN I, ассоциированными ПВИ (таблица 3.8).

Таблица 3.8 – Вирусная нагрузка lg ВПЧ на  $10^5$  копии у женщин с CIN I

Группа	Вирусная нагрузка копии, M±m
CIN I (n=86)	4,69±0,07

Корреляционный анализ определил прямую сильную зависимость между клинически значимой вирусной нагрузкой  $>5\lg$ , 3–5lg и возрастом пациентки более 30 лет ( $R = 0,7582$ ,  $p = 0,0003$ ), клинически значимой вирусной нагрузкой  $>5\lg$ , 3–5lg и дебютом половой жизни раньше 18 лет ( $R = 0,7122$ ,  $p = 0,0005$ ), клинически значимой вирусной нагрузкой  $>5\lg$ , 3–5lg и числом половых

партнеров > 5 ( $R = 0,7015$ ,  $p = 0,0004$ ), а также с уровнем исследуемых IL-18 ( $R = 0,7476$ ,  $p = 0,0001$ ) и IFN- $\gamma$  ( $R = 0,7164$ ,  $p = 0,0002$ ) (табл.3.9).

Таблица 3.9 – Анализ зависимости клинически значимой вирусной нагрузки ВПЧ и исследуемых параметров у группы пациенток с CIN I

Параметры	Число наблюдений	Клинически значимая вирусная нагрузка ВПЧ (3–5lg, >5lg)	
		Коэффициент корреляции R	Уровень p
Возраст более 30 лет	86	<b>0,7582*</b>	0,0003
Дебют половой жизни раньше 18 лет	86	<b>0,7122*</b>	0,0005
Число половых партнеров >5	86	<b>0,7015*</b>	0,0004
Нарушение менструальной функции	86	0,6232*	0,0005
Табакокурение	86	0,4582*	0,0002
Аномальная кольпоскопическая картина	86	0,5014*	0,0003
Цитологическое заключение LSIL	86	0,4912*	0,0005
Вирусная нагрузка ВПЧ (>5lg, 3–5lg)	86	1,0000	-----
IL-18	86	<b>0,7476*</b>	0,0001
IFN- $\gamma$	86	<b>0,7164*</b>	0,0002
TNF- $\alpha$	86	0,4625*	0,0005
Заключение гистологии, соответствующее LSIL	86	0,4472*	0,0003

Примечание: \* – статистически значимая корреляционная зависимость ( $p < 0,05$ )

При оценке состава микрофлоры урогенитального тракта у всех женщин группы с CIN I (100%) инфекций передающие половым путем и других микроорганизмов, значимых для развития дисбиотических процессов различной степени тяжести выявлено не было. По результату исследования заключение соответствовало «нормоценозу», что являлось одним из критериев включения в исследование.

Расширенная кольпоскопия с использованием традиционных методик применялась всем пациенткам. В группе с CIN I в 45,3% наблюдений выявлен

тонкий ацетобелый эпителий, в 33,8% на шейке матки определялся атипичский эпителий, представленный нежной мозаикой. Но при свечении в зеленом фильтре, атипичски - измененных сосудов в виде запятых, штопорообразных сосудов, мы не визуализировали, что являлось прогностически благоприятным признаком (таблица 3.10).

Таблица 3.10 – Кольпоскопические результаты у группы пациенток с CIN I

Аномальная кольпоскопическая картина I степени	
Мозаика нежная	29 (33,8%)
Пунктация нежная	8 (9,3%)
Сочетание мозаики и пунктации	9 (10,4%)
Ацетобелый эпителий тонкий	39 (45,3%)
Аномальная кольпоскопическая картина II степени	
Ацетобелый эпителий плотный	1 (1,2%)

При проведении пробы с 2% водным раствором Люголя, многослойный плоский эпителий был окрашен в равномерно коричневый цвет, а поверхность цилиндрического эпителия прокрашивалась неравномерно.

Корреляционный анализ выявил корреляционную зависимость между аномальной кольпоскопической картиной и цитологическим заключением LSIL ( $R = 0,7421$ ,  $p = 0,0005$ ) (таблица 3.11).

Таблица 3.11 – Анализ зависимости аномальной кольпоскопической картины и исследуемых параметров у группы пациенток с CIN I

Параметры	Число наблюдений	Аномальная кольпоскопическая картина	
		Коэффициент корреляции R	Уровень p
Возраст более 30 лет	86	0,2473*	0,0001
Дебют половой жизни раньше 18 лет	86	0,4105*	0,0003
Число половых партнеров >5	86	0,5012*	0,0003
Нарушение менструальной функции	86	0,3165	0,057
Табакокурение	86	0,4578*	0,0003
Аномальная кольпоскопическая картина	86	1,0000	-----
Цитологическое заключение LSIL	86	<b>0,7421*</b>	0,0005

Вирусная нагрузка ВПЧ (>5lg, 3–5lg)	86	0,5014*	0,0003
IL-18	86	0,5678*	0,0003
IFN- $\gamma$	86	0,3445*	0,0004
TNF- $\alpha$	86	0,5346*	0,0004
Заключение гистологии, I соответствующее LSIL	86	0,3422*	0,0003

Примечание: \* – достоверно значимая корреляционная зависимость ( $p < 0,05$ )

Однако исходя из вышеизложенного, даже нормальная кольпоскопическая картина не может отрицать наличие цервикальной неоплазии ввиду того, что кольпоскопический метод имеет примерно 30-60% специфичности и не более 80-90 % чувствительности и используется в качестве дополнительной субъективной оценки измененной ткани шейки матки. Кроме того, с помощью применения кольпоскопии возможно более точно визуализировать наиболее подозрительные участки и осуществить забор ткани для дальнейшего гистологического исследования.

Чувствительность метода жидкостной цитологии, применяемой в работе, составляет 85%. Ложноотрицательные результаты наблюдались у 12 (14%) пациенток группы с CIN I (табл. 3.12).

Таблица 3.12 – Цитологические результаты у группы пациенток с CIN I

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

С целью изучения функциональной активности провоспалительных цитокинов и сравнительного анализа нами проведены исследования IFN- $\gamma$ , IL – 18, TNF- $\alpha$  цервикальной слизи у женщин с ВПЧ – ассоциированной CIN I степени.

Показатели IFN- $\gamma$  и IL - 18, были достоверно выше референсных, TNF- $\alpha$  не отличался от соответствующего показателя в группе контроля. Результаты выражались количественно, в пг/мл. Показатели отражены в таблице 3.13.

Таблица 3.13 – Показатели IFN- $\gamma$ , IL – 18, TNF- $\alpha$  в цервикальной слизи у пациенток группы CIN I

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

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

Полученные результаты показателей IFN- $\gamma$  - 123,85 $\pm$ 1,66 пг/мл и IL - 18 - 8,97 $\pm$ 0,12 пг/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- $\gamma$  происходит в результате его синтеза иммунокомпетентными клетками в ходе развернутого иммунного ответа.

Достоверной разницы при исследовании TNF- $\alpha$  между пациентками группы с CIN I и группой контроля не было выявлено ( $p = 0,1236$ ).

Активация воспалительной реакции с увеличением очага цитопатологических изменений часто связана с локальным повышением продукции TNF- $\alpha$  и в ряде случаев может свидетельствовать о его проканцерогенной деятельности. Отсутствие местной воспалительной реакции ввиду того, что ВПЧ не обладает цитопатическими свойствами и не разрушает кератиноциты, в которых он размножается, подтверждается стабильным показателем TNF- $\alpha$  в исследуемых группах.

Проведенный анализ установил сильные прямые корреляционные связи между уровнем IL-18 и клинически значимой вирусной нагрузкой  $>5\lg$ , 3–5 $\lg$  ( $R = 0,7476$ ,  $p = 0,0001$ ); уровнем IL-18 и возрастом пациентки более 30 лет ( $R = 0,7235$ ,  $p = 0,0002$ ); уровнем IL-18 и уровнем IFN- $\gamma$  ( $R = 0,7982$ ,  $p = 0,0001$ ); уровнем IFN- $\gamma$  и клинически значимой вирусной нагрузкой  $>5\lg$ , 3–5 $\lg$  ( $R = 0,7164$ ,  $p = 0,0002$ ); а также уровнем IFN- $\gamma$  и возрастом пациентки более 30 лет ( $R = 0,7623$ ,  $p = 0,0003$ ) (таблица 3.14).

Таблица 3.14 – Анализ зависимости уровней IFN- $\gamma$ , IL – 18, TNF- $\alpha$  и исследуемых параметров у группы пациенток с CIN I

Параметры	Число наблюдений	IL-18		IFN- $\gamma$		TNF- $\alpha$	
		Коэффициент корреляции R	Уровень p	Коэффициент корреляции R	Уровень p	Коэффициент корреляции R	Уровень p
Возраст более 30 лет	86	<b>0,7235*</b>	0,0002	<b>0,7623*</b>	0,0003	0,4531*	0,0005
Дебют половой жизни раньше 18 лет	86	0,6184*	0,0002	0,6921*	0,0001	0,5255*	0,0005
Число половых партнеров >5	86	0,6235*	0,0001	0,6623*	0,0001	0,5341*	0,0004
Нарушение менструальной функции	86	0,6846*	0,0005	0,6784*	0,0004	0,6232*	0,0005
Табакокурение	86	0,6235*	0,0002	0,6623*	0,0003	0,5341*	0,0005
Аномальная кольпоскопическая картина	86	0,5678*	0,0003	0,3445*	0,0004	0,5346*	0,0004
Цитологическое заключение LSIL	86	0,6133*	0,0004	0,6117*	0,0004	0,6194*	0,0004
Вирусная нагрузка ВПЧ (>5lg, 3–5lg)	86	<b>0,7476*</b>	0,0001	<b>0,7164*</b>	0,0002	0,4625*	0,0005
IL-18	86	1,0000	-----	<b>0,7982*</b>	0,0001	0,4575*	0,0001
IFN- $\gamma$	86	<b>0,7982*</b>	0,0001	1,0000	-----	0,4125*	0,0001
TNF- $\alpha$	86	0,4575*	0,0001	0,4125*	0,0001	1,0000	-----
Заключение гистологии, соответствующее LSIL	86	0,4175*	0,0005	0,4764*	0,0003	0,4892*	0,0005

Примечание: \* – достоверно значимая корреляционная зависимость ( $p < 0,05$ )

### 3.3 Социально-анамнестическая и клинико-диагностическая характеристика пациенток с ВПЧ-ассоциированной CIN II степени

Дальнейший этап нашего исследования заключался в обследовании женщин с CIN II степени. В данную группу было отобрано равное количество пациенток

(n=86). Средний возраст женщин 2-й группы составил  $36,90 \pm 0,48$  лет, однако наибольшую категорию женщин составила старшая репродуктивная группа n=55 (63,95%) (таблица 3.15).

Таблица 3.15 – Возраст пациенток группы с CIN II

Возраст	Количество	Удельный вес (%)
От 18 до 30 лет	31	36
От 31 до 47 лет	55	64

Несмотря на то, что с увеличением возраста снижается риск заражения ВПЧ, вероятность вирусной персистенции возрастает у женщин после 35-40 лет [109]. Элиминация ВПЧ и регрессия имеющегося патологического процесса на ранних стадиях происходит быстрее в возрасте до 30 лет по сравнению с женщинами старшего возраста (более 40 лет). Доказан факт повышения риска развития РШМ при персистенции ВПЧ ВКР в течение 5-20 лет более чем в 100 раз [110]. Таким образом, можно предположить у пациенток с CIN II в анамнезе длительную персистенцию вируса в связи с поздней обращаемостью и/или игнорированием скрининговых программ.

Среди опрошенных женщин с CIN II степени ВПЧ-ассоциированного генеза, 48 женщин (55%) курили по  $\frac{1}{2}$  пачки в день. Согласно данным [123] под действием никотина и канцерогенных агентов компонентов дыма в шейке матки снижается число клеток Лангерганса, которые являются важной частью Т-лимфоцитарного клеточно-опосредованного иммунитета.

Корреляционный анализ выявил сильную прямую связь между возрастом женщины более 30 лет и цитологическим заключением HSIL/CIN II ( $R = 0,7193$ ,  $p = 0,0003$ ), возрастом женщины более 30 лет и клинически значимой вирусной нагрузкой  $>5lg$ ,  $3-5lg$  ( $R = 0,7814$ ,  $p = 0,0003$ ), возрастом женщины более 30 лет и уровнем IFN- $\gamma$  ( $R = 0,7365$ ,  $p = 0,0004$ ), возрастом женщины более 30 лет и гистологическим заключением соответствующее HSIL/CIN II ( $R = 0,7569$ ,  $p = 0,0003$ ) (таблица 3.16).

Таблица 3.16 – Анализ зависимости возраста более 30 лет и исследуемых параметров у группы пациенток с CIN II

Параметры	Число наблюдений	Возраст более 30 лет	
		Коэффициент корреляции R	Уровень p
Дебют половой жизни раньше 18 лет	86	0,1621	0,0201
Число половых партнеров >5	86	0,5075*	0,0004
Нарушение менструальной функции	86	0,5694*	0,0003
Табакокурение	86	0,5583*	0,0004
Аномальная кольпоскопическая картина	86	0,3424*	0,0001
Цитологическое заключение HSIL/CIN II	86	<b>0,7193*</b>	0,0003
Вирусная нагрузка ВПЧ (>5lg, 3–5lg)	86	<b>0,7814*</b>	0,0003
IL-18	86	0,5773*	0,0002
IFN- $\gamma$	86	<b>0,7365*</b>	0,0004
TNF- $\alpha$	86	0,4835*	0,0005
Заключение гистологии, соответствующее HSIL/CIN II	86	<b>0,7569*</b>	0,0003

Примечание: \* – достоверно значимая корреляционная зависимость ( $p < 0,05$ )

На основании проведения корреляционного анализа зависимости показателей с табакокурением у пациенток с CIN II были установлены сильные связи с состоянием иммунного звена: уровнем IFN- $\gamma$  ( $R = 0,7623$ ,  $p = 0,0003$ ), TNF- $\alpha$  ( $R = 0,7425$ ,  $p = 0,0005$ ). Результаты проведенного анализа отражены в таблице 3.17.

Таблица 3.17 – Анализ зависимости табакокурения и исследуемых параметров у группы пациенток с CIN II

Параметры	Количество наблюдений	Табакокурение	
		Коэффициент корреляции R	Уровень p
Возраст более 30 лет	86	0,5583*	0,0004
Дебют половой жизни раньше 18 лет	86	0,4739*	0,0002
Число половых партнеров >5	86	0,4351*	0,0003
Нарушение менструальной функции	86	0,4932*	0,0005

Аномальная кольпоскопическая картина	86	0,3920*	0,0003
Цитологическое заключение HSIL/CIN II	86	0,3355*	0,0002
Вирусная нагрузка ВПЧ (>5lg, 3–5lg)	86	0,4859*	0,0002
IL-18	86	0,4348*	0,0002
IFN- $\gamma$	86	<b>0,7623*</b>	0,0003
TNF- $\alpha$	86	<b>0,7425*</b>	0,0005
Заключение гистологии, соответствующее HSIL/CIN II	86	0,4512*	0,0002

Примечание: \* – достоверно значимая корреляционная зависимость ( $p < 0,05$ )

Анализ сексуального поведения по данным анкетирования пациенток с CIN II показал, что дебют половой жизни раньше 18 лет имели 54% опрошенных, а половых партнеров более 5 отметили 34% женщин. Средний возраст первого полового акта в данной группе с CIN II составил  $16,7 \pm 1,3$  лет.

Проведен анализ зависимости дебюта половой жизни раньше 18 лет, числом половых партнеров более 5 и исследуемых параметров у группы пациенток с CIN II. Выявлены прямые сильные корреляционные связи: клинически значимой вирусной нагрузкой >5lg, 3–5lg и дебютом половой жизни раньше 18 лет ( $R = 0,7252$ ,  $p = 0,0004$ ); заключением гистологии, соответствующим HSIL/CIN II и половым дебютом ранее 18 лет ( $R = 0,7234$ ,  $p = 0,0003$ ) (таблица 3.18).

Таблица 3.18 – Анализ зависимости дебюта половой жизни раньше 18 лет, числом половых партнеров > 5 и исследуемых параметров у группы пациенток с CIN II

Параметры	Число наблюдений	Дебют половой жизни раньше 18 лет		Число половых партнеров >5	
		Коэффициент корреляции R	Уровень p	Коэффициент корреляции R	Уровень P
Возраст более 30 лет	86	0,1621	0,0201	0,5075*	0,0004
Дебют половой жизни раньше 18 лет	86	1,0000	-----	0,3282*	0,0001
Число половых партнеров >5	86	0,3282*	0,0001	1,0000	-----
Нарушение менструальной функции	86	0,4718*	0,0003	0,4254*	0,0003

Табакокурение	86	0,4739*	0,0002	0,4351*	0,0003
Аномальная кольпоскопическая картина	86	0,3729*	0,0003	0,4832*	0,0003
Цитологическое заключение HSIL/CIN II	86	0,4030*	0,0003	0,4457*	0,0001
Вирусная нагрузка ВПЧ (3–5lg, >5lg)	86	<b>0,7252*</b>	0,0004	<b>0,7148*</b>	0,0002
IL-18	86	0,5384*	0,0002	0,6312*	0,0001
IFN- $\gamma$	86	0,5321*	0,0001	0,6427*	0,0004
TNF- $\alpha$	86	0,5535*	0,0005	0,4471*	0,0003
Заключение гистологии, соответствующее HSIL/CIN II	86	<b>0,7234*</b>	0,0003	<b>0,7456*</b>	0,0002

Примечание: \* – достоверно значимая корреляционная зависимость ( $p < 0,05$ )

Выявлены прямые сильные корреляционные связи: клинически значимой вирусной нагрузкой  $>5lg$ ,  $3-5lg$  и дебютом половой жизни раньше 18 лет ( $R = 0,7252$ ,  $p = 0,0004$ ); заключением гистологии, соответствующим HSIL/CIN II и половым дебютом ранее 18 лет ( $R = 0,7234$ ,  $p = 0,0003$ ). Выявленные при анализе взаимосвязи подтверждают факт раннего начала половой жизни как фактора риска развития CIN. При раннем начале половой жизни зона трансформации является наиболее уязвимым местом для вируса папилломы человека.

Анализ зависимости нарушения менструального цикла не выявил корреляционной связи ни с одним из исследуемых показателей (таблица 3.19).

Таблица 3.19 – Анализ зависимости нарушения менструальной функции и исследуемых параметров у группы пациенток с CIN II

Параметры	Число наблюдений	Нарушение менструальной функции	
		Коэффициент корреляции R	Уровень p
Возраст более 30 лет	86	0,5694*	0,0005
Дебют половой жизни раньше 18 лет	86	0,4718*	0,0004
Число половых партнеров $>5$	86	0,4254*	0,0002
Нарушение менструальной функции	86	1,0000	-----
Табакокурение	86	0,4932*	0,0005
Аномальная кольпоскопическая картина	86	0,3477	0,0015

Цитологическое заключение HSIL/CIN II	86	0,3483*	0,0003
Вирусная нагрузка ВПЧ (>5lg, 3–5lg)	86	0,4583*	0,0003
IL-18	86	0,3862*	0,0003
IFN- $\gamma$	86	0,3492*	0,0002
TNF- $\alpha$	86	0,2232*	0,0003
Заключение гистологии, соответствующее HSIL/CIN II	86	0,4422*	0,0004

Примечание: \* – достоверно значимая корреляционная зависимость ( $p < 0,05$ )

Структура ВПЧ высокого канцерогенного риска, в частности типы 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58,59 при цервикальной интраэпителиальной неоплазии умеренной степени тяжести не претерпевала существенных изменений в сравнении с цервикальной интраэпителиальной неоплазии I степени. Так, у пациенток с CIN II в сравнении с CIN I так же часто определялся 16 тип, в 43,02%, и в 40,70% - ВПЧ 51 типа. ВПЧ 31 типа у женщин с CIN II встречался реже (1,16%) в сравнении с CIN I. Отмечены высокие показатели инфицированности ВПЧ 18 и 56 типов (38,37% и 31,40%), соответственно. Выявлен один случай выявления ВПЧ 52 типа, что составило 1,2%. Сочетание двух и более генотипов ВПЧ определялось у 79,4% пациенток с CIN II, это позволяет сделать заключение о том, что в формировании ВПЧ-ассоциированной цервикальной неоплазии II степени участвует сочетание нескольких типов ВПЧ ВКР (рисунок 3.2).

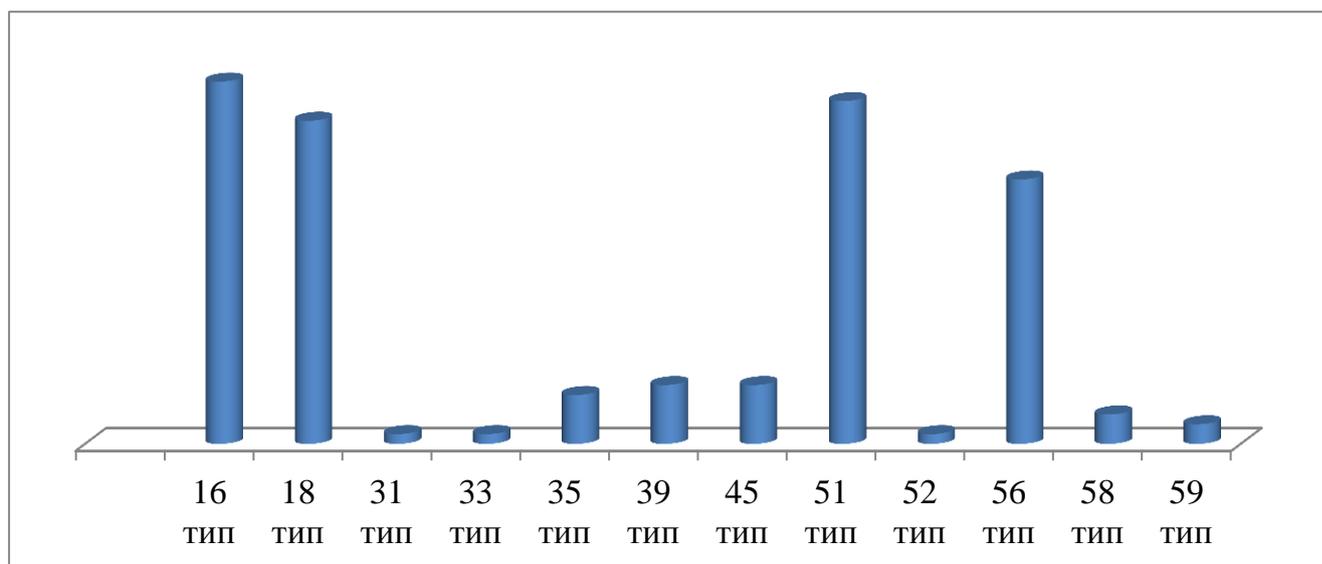


Рисунок 3.2 – Распределение типов ВПЧ ВКР у пациенток в группе с CIN II

Вероятность прогрессирующего течения заболевания обусловлена не только типами ВПЧ ВКР, но и количественным показателем вирусной нагрузки, а также состоянием иммунной реактивности организма (таблица 3.20).

Таблица 3.20 – Вирусная нагрузка lg ВПЧ на  $10^5$  копии у женщин с CIN II

Группа	Вирусная нагрузка $M \pm m$
CIN II группа	$4,63 \pm 0,07$

У исследуемых пациенток типы ВПЧ (16, 18, 31, 51, 53, 56,) имели исходно клинически значимую концентрацию вируса (в среднем  $4,63 \pm 0,10$  lg ВПЧ на 100 тыс клеток).

На основании полученных результатов корреляционного анализа установлены следующие прямые сильные связи: клинически значимая вирусная нагрузка  $>5 \text{lg}$ ,  $3-5 \text{lg}$  с возрастом более 30 лет ( $R = 0,7814$ ,  $p = 0,0003$ ), клинически значимая вирусная нагрузка  $>5 \text{lg}$ ,  $3-5 \text{lg}$  и дебютом половой жизни ранее 18 лет ( $R = 0,7252$ ,  $p = 0,0004$ ), клинически значимая вирусная нагрузка  $>5 \text{lg}$ ,  $3-5 \text{lg}$  и наличием половых партнеров более 5 ( $R = 0,7148$ ,  $p = 0,0002$ ), клинически значимая вирусная нагрузка  $>5 \text{lg}$ ,  $3-5 \text{lg}$  и уровнем IL-18 ( $R = 0,7276$ ,  $p = 0,0004$ ) и IFN-  $\gamma$  ( $R = 0,7344$ ,  $p = 0,0003$ ), клинически значимая вирусная нагрузка  $>5 \text{lg}$ ,  $3-$

5lg и гистологическим заключением соответствующее HSIL/CIN II ( $R = 0,7834$ ,  $p = 0,0002$ ) (таблица 3.21).

Таблица 3.21 – Анализ зависимости клинически значимой вирусной нагрузки и исследуемых параметров у группы пациенток с CIN II

Параметры	Число наблюдений	Клинически значимая вирусная нагрузка ВПЧ (3–5lg, >5lg)	
		Коэффициент корреляции R	Уровень p
Возраст более 30 лет	86	<b>0,7814*</b>	0,0003
Дебют половой жизни раньше 18 лет	86	<b>0,7252*</b>	0,0004
Число половых партнеров >5	86	<b>0,7148*</b>	0,0002
Нарушение менструальной функции	86	0,4583*	0,0003
Табакокурение	86	0,4859*	0,0002
Аномальная кольпоскопическая картина	86	0,4552*	0,0001
Цитологическое заключение HSIL/CIN II	86	0,4628*	0,0004
Вирусная нагрузка ВПЧ (>5lg, 3–5lg)	86	1,0000	-----
IL-18	86	<b>0,7276*</b>	0,0004
IFN- $\gamma$	86	<b>0,7344*</b>	0,0003
TNF- $\alpha$	86	0,3645*	0,0005
Заключение гистологии, соответствующее HSIL/CIN II	86	<b>0,7834*</b>	0,0002

Примечание: \* – достоверно значимая корреляционная зависимость ( $p < 0,05$ )

На основании полученных результатов корреляционного анализа установлены следующие прямые сильные связи: клинически значимая вирусная нагрузка >5lg, 3–5lg с возрастом более 30 лет ( $R = 0,7814$ ,  $p = 0,0003$ ), клинически значимая вирусная нагрузка >5lg, 3–5lg и дебютом половой жизни ранее 18 лет ( $R = 0,7252$ ,  $p = 0,0004$ ), клинически значимая вирусная нагрузка >5lg, 3–5lg и наличием половых партнеров более 5 ( $R = 0,7148$ ,  $p = 0,0002$ ), клинически значимая вирусная нагрузка >5lg, 3–5lg и уровнем IL-18 ( $R = 0,7276$ ,  $p = 0,0004$ ) и

IFN-  $\gamma$  ( $R = 0,7344$ ,  $p = 0,0003$ ), клинически значимая вирусная нагрузка  $>51g$ , 3–51g и гистологическим заключением соответствующее HSIL/CIN II ( $R = 0,7834$ ,  $p = 0,0002$ ).

Сравнительный анализ количественных соотношений компонентов нормальной и условно-патогенной микрофлоры влагалищного содержимого с помощью метода ПЦР в режиме реального времени с использованием набора реагентов ФЕМОФЛОР® не выявил у пациенток группы с CIN II анаэробных микроорганизмов, микоплазм и дрожжеподобных грибов и облигатных патогенов, участвующих в нарушении процессов вагинальной флоры. «Нормоценоз» влагалища по данным «Фемофлор» выявлен в 100% случаев.

При проведении расширенной кольпоскопии все пациентки с CIN II имели аномальную кольпоскопическую картину, диагностировались выраженные изменения и сочетание одновременно сразу несколько кольпоскопических признаков. (таблица 3.22).

Таблица 3.22 – Кольпоскопические результаты у группы пациенток с CIN II

Аномальная кольпоскопическая картина I типа	
Мозаика нежная	21 (24,4 %)
Пунктация нежная	12 (14 %)
Ацетобелый эпителий тонкий	14 (16,3 %)
Аномальная кольпоскопическая картина II типа	
Ацетобелый эпителий плотный	29 (33,7%)
Мозаика грубая	10 (11,6%)

Так, участки грубой мозаики наблюдались у 10 женщин (11,6%), плотного ацетобелого эпителия - у 29 (33,7%), слабовыраженные кольпоскопические изменения в виде тонкого АБЭ, нежной мозаики и пунктации отмечены в 54,7% случаев ( $n=47$ ).

Проведен анализ зависимости результатов кольпоскопического исследования с исследуемыми показателями в группе пациенток с CIN II, который не выявил корреляционных связей, но дал нам основание для проведения прицельной биопсии (таблица 3.23).

Таблица 3.23 – Анализ зависимости аномальной кольпоскопической картины и исследуемых параметров у группы пациенток с CIN II

Параметры	Число наблюдений	Аномальная кольпоскопическая картина	
		Коэффициент корреляции R	Уровень p
Возраст более 30 лет	86	0,3424*	0,0001
Дебют половой жизни раньше 18 лет	86	0,3729*	0,0003
Число половых партнеров >5	86	0,4832*	0,0003
Нарушение менструальной функции	86	0,3477	0,0015
Табакокурение	86	0,3920*	0,0003
Аномальная кольпоскопическая картина	86	1,0000	-----
Цитологическое заключение HSIL/CIN II	86	0,5344*	0,0003
Вирусная нагрузка ВПЧ (>5lg, 3–5lg)	86	0,4552*	0,0001
IL-18	86	0,5678*	0,0003
IFN- $\gamma$	86	0,3445*	0,0004
TNF- $\alpha$	86	0,5346*	0,0004
Заключение гистологии, соответствующее HSIL/CIN II	86	0,3422*	0,0003

Примечание: \* – достоверно значимая корреляционная зависимость ( $p < 0,05$ )

По результатам жидкостной цитологии пациентки группы с CIN II имели ложноотрицательное заключение LSIL в 21% (n=18) случаев. Это требует гистологического подтверждения для исключения тяжелого поражения (таблица 3.24).

Таблица 3.24 – Цитологические результаты у группы пациенток с CIN II

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

Заключение HSIL было у 79 % женщин (n = 68), это подтверждает факт, что данный скрининговый метод диагностики недостаточно специфичен, позволяет выявить лишь часть атипических поражений шейки матки и требует подтверждения гистологическим заключением (табл. 5). Поэтому, для повышения качества диагностики мы поставили задачу изучить уровни цитокинов (IL-18 и IFN- $\gamma$ , TNF-

α) цервикальной слизи у женщин с CIN II, ассоциированные папилломавирусной инфекцией. Забор цервикальной слизи проводился после клинико-лабораторного исследования в первую фазу менструального цикла.

Изменения цитокинового профиля при межгрупповом сравнительном анализе имели свои особенности. У пациенток с CIN II наблюдались изменения иммунологических показателей цервикальной слизи. Учитывая факт активирующего влияния IL-18 на синтез IFN- $\gamma$  и противовирусный иммунный ответ, тенденция к однонаправленному характеру изменений этих цитокинов, однако, не прослеживалась. При анализе параметров значений IFN- $\gamma$  ( $166,34 \pm 1,95$  нг/мл), IL - 18 ( $5,75 \pm 0,11$  нг/мл) показатели имели достоверное различие с группой контроля ( $p=0,0001$ ) (таблица 3.25).

Таблица 3.25 – Показатели IFN- $\gamma$ , IL – 18, TNF- $\alpha$  в цервикальной слизи у пациенток группы CIN II

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

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

Несмотря на то, что IFN- $\gamma$  обладает прямым антивирусным и иммуностимулирующим действием, при определенных обстоятельствах он может быть иммуносупрессором и фактором, способствующим персистенции [36].

Рядом авторов отмечена активация экспрессии генов-IFN ВПЧ, это приводило к существенному увеличению секреции эндогенного  $\gamma$ - интерферона в цервикальной слизи у пациенток, инфицированных вирусом папилломы человека. Наибольшую активацию системы IFN вызывали типы вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска [79].

Так, у пациенток с CIN II IFN -  $\gamma$  превышал значение контрольной группы в 2 раза, а средний показатель IL – 18 имел значительное снижение до  $5,75 \pm 0,11$ , а у пациенток в группе контроля находился на уровне  $8,12 \pm 0,07$ .

Таблица 3.26 – Анализ зависимости исследуемых параметров с IL – 18, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  у группы пациенток с CIN II

Параметры	Число Наблюдений	IL-18		IFN- $\gamma$		TNF- $\alpha$	
		Коэффициент корреляции R	Уровень p	Коэффициент корреляции R	Уровень p	Коэффициент корреляции R	Уровень p
Возраст более 30 лет	86	0,5773*	0,0002	<b>0,7365*</b>	0,0004	0,4835*	0,0005
Дебют половой жизни раньше 18 лет	86	0,5384*	0,0002	0,5321*	0,0001	0,5535*	0,0005
Число половых партнеров >5	86	0,6312*	0,0001	0,6427*	0,0004	0,4471*	0,0003
Нарушение менструальной функции	86	0,3862*	0,0003	0,3492*	0,0002	0,2232*	0,0003
Табакокурение	86	0,4348*	0,0002	<b>0,7623*</b>	0,0003	<b>0,7425*</b>	0,0005
Аномальная кольпоскопическая картина	86	0,5678*	0,0003	0,3445*	0,0004	0,5346*	0,0004
Цитологическое заключение HSIL/ CIN II	86	0,5434*	0,0003	0,5377*	0,0005	0,5867*	0,0003
Вирусная нагрузка ВПЧ (>5lg, 3–5lg)	86	<b>0,7276*</b>	0,0004	<b>0,7344*</b>	0,0003	0,3645*	0,0005
IL-18	86	1,0000	-----	0,5973*	0,0001	0,4575*	0,0001
IFN- $\gamma$	86	0,5973*	0,0001	1,0000	-----	0,4465*	0,0003
TNF- $\alpha$	86	0,4575*	0,0001	0,4465*	0,0003	1,0000	-----
Заключение гистологии, соответствующее HSIL/CIN II	86	<b>0,7196*</b>	0,0005	<b>0,7843*</b>	0,0003	<b>0,7957*</b>	0,0005

Примечание: \* – достоверно значимая корреляционная зависимость ( $p < 0,05$ )

При статистической обработке данных отмечены следующие корреляционные сильные прямые связи (таблица 3.26) 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- $\gamma$  и возрастом старше 30 лет ( $R = 0,7365$ ,  $p =$

0,0004); уровнем IFN- $\gamma$  и табакокурением ( $R = 0,7623$ ,  $p = 0,0003$ ); уровнем IFN-гамма и клинически значимой вирусной нагрузкой ( $R = 0,7344$ ,  $p = 0,0003$ ); уровнем IFN- $\gamma$  и гистологическим заключением, соответствующим HSIL/CIN II ( $R = 0,7843$ ,  $p = 0,0003$ ); уровнем TNF- $\alpha$  и возрастом более 30 лет ( $R = 0,7425$ ,  $p = 0,0005$ ); уровнем TNF- $\alpha$  и гистологическим заключением, соответствующим HSIL/CIN II ( $R = 0,7957$ ,  $p = 0,0005$ ).

Полученные изменения показателей цитокинового ряда (IL – 18, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) 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<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в цервикальной слизи у пациенток с CIN II, подтверждает наличие выраженной местной иммуносупрессии у пациенток с цервикальной интраэпителиальной неоплазией [23].

Уровень провоспалительного цитокина – TNF- $\alpha$  – 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- $\alpha$  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 ряде проведенных ранее исследований [98, 117] показано, что TNF- $\alpha$  ингибирует пролиферацию здоровых эпителиальных клеток шейки матки, а в случае инфицирования эпителия ВПЧ 16 и 18 типами, тот же TNF- $\alpha$  уже стимулирует пролиферацию пораженных клеток.

Это связано с тем, что по мере прогрессирования патологического интраэпителиального поражения формируется дисбаланс цитокинового ответа ввиду более длительной персистенции вируса и влияния на ВПЧ на иммунную систему.

Таким образом, функциональная активность исследуемого провоспалительного цитокина во многом зависит не только от исходных возможностей и работы отдельных факторов местной иммунной защиты, но и от длительности персистенции ВПЧ и от возраста пациентки.

### **3.4 Разработка и применение дополнительных иммунологических параметров оценки степени поражения эпителия шейки матки, ассоциированного вирусом папилломы человека**

Профилактика и прогнозирование развития интраэпителиальной неоплазии важнейшее направление современной гинекологии, поскольку позволяет снизить частоту рака шейки матки, поэтому следующим этапом нашего исследования и поиска новых прогностически значимых диагностических маркеров цервикальных интраэпителиальных неоплазий, ассоциированных папилломавирусной инфекцией, явилась разработка и последующее внедрение в практическую деятельность иммунологических параметров оценки тяжести поражения эпителия шейки матки.

Согласно проведенным корреляционному и многофакторному анализам наиболее значимыми показателями при сравнении групп CIN I и CIN II, равно как и при сравнении групп больных с группой контроля, являются «IFN- $\gamma$ » и «IL-18», поэтому ROC-анализ проводили по этим переменным.

На рисунках 3.3-3.5 изображены кривые распределения вышеперечисленных показателей в зависимости от группы.

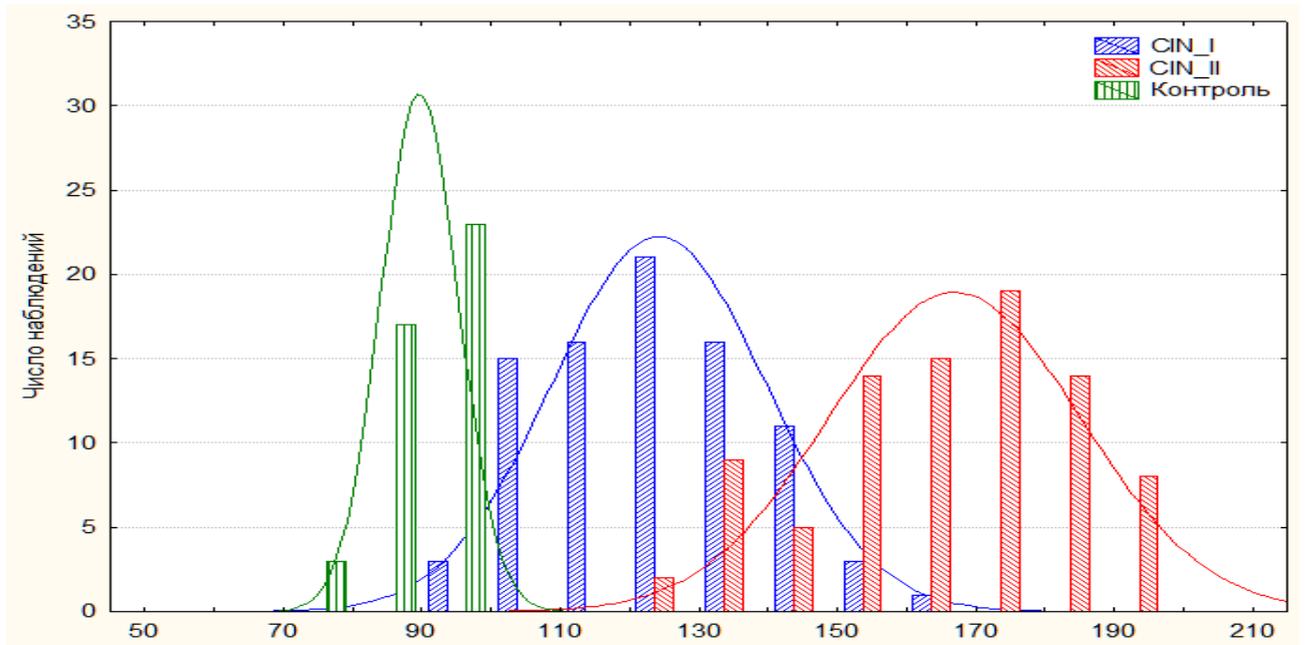


Рисунок 3.3 – Законы распределения показателя «IFN-γ» в группах пациенток с CIN I и CIN II и группе контроля

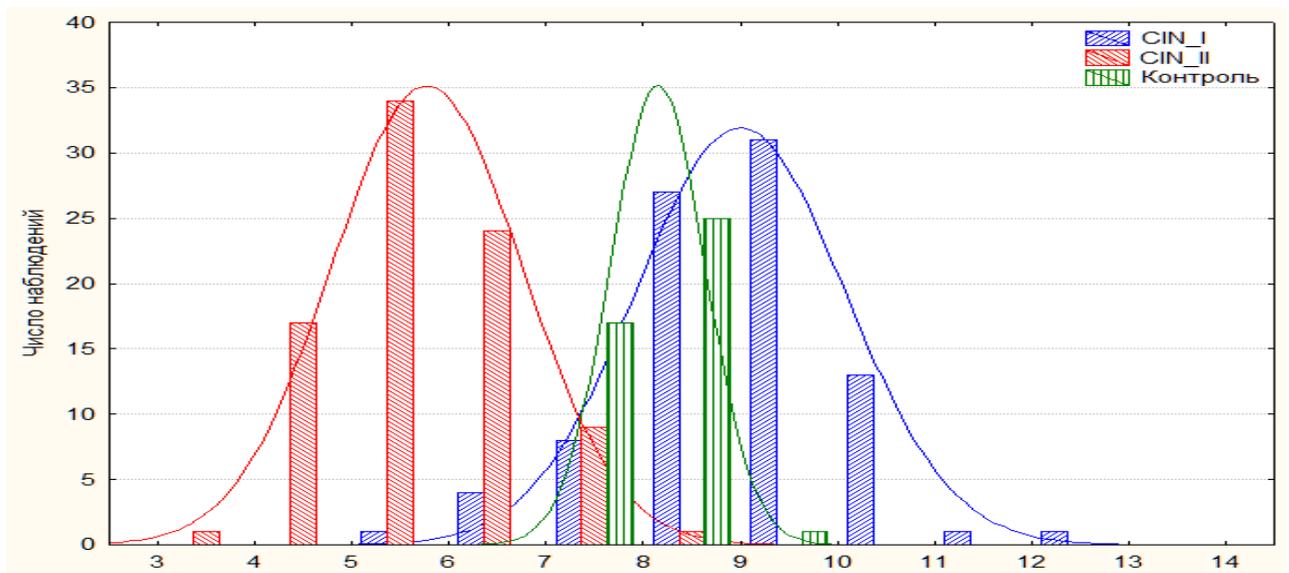


Рисунок 3.4 – Законы распределения показателя «IL-18» в группах пациенток с CIN I и CIN II и группе контроля

Как видно из представленных данных, кривые распределения пересекаются на некоторой площади. По показателю IFN-γ наименьшие значения наблюдаются у женщин из группы контроля, выше – у пациенток с CIN I и наибольшие значения – у пациенток с CIN II. Для параметра «IL-18» значения распределяются

иным образом. Наименьшие значения отмечены у женщин с CIN II, наибольшие – с CIN I, значения IL-18 группы контроля располагаются посередине.

На основании проведенного ROC (Receiver Operator Characteristic – операционная характеристика приёмника)-анализа определены пороговые значения параметров «IFN- $\gamma$ » и «IL-18», между группой контроля и CIN I и между группами CIN I и CIN II (для параметра «IFN- $\gamma$ »), а также между группой контроля и группой CIN I и группой CIN II (для параметра «IL-18»).

На рисунках 3.5-3.7 представлены ROC-кривые для показателя «IFN- $\gamma$ » (для женщин из групп с CIN I и CIN II, для женщин из группы контроля и группы с CIN I и для женщин группы контроля и группой с CIN II, соответственно).

На рисунках 3.8-3.10 – ROC-кривые для показателя «IL-18» (для женщин с из групп с CIN I и CIN II, для женщин группы контроля и группы с CIN I и женщин группы с CIN II, соответственно).

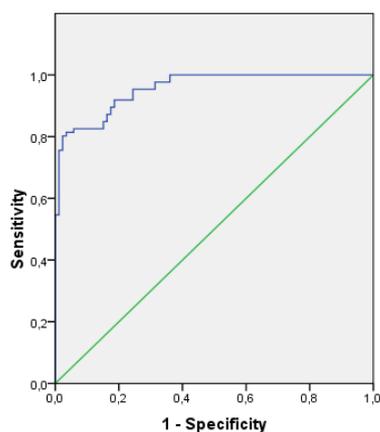


Рисунок 3.5 – ROC-кривая для параметра IFN- $\gamma$ » в группах с CIN I и CIN II

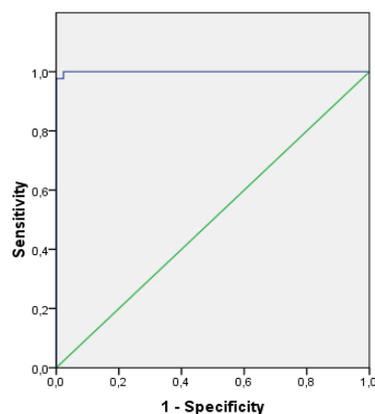


Рисунок 3.6 – ROC-кривая для параметра «IFN - $\gamma$ » в группе с CIN I и группе контроля

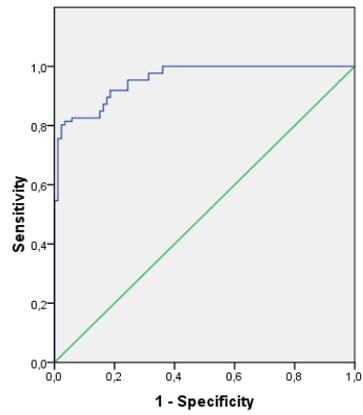


Рисунок 3.7 – ROC-кривая для параметра «IFN - $\gamma$ » в группе с CIN II и группе контроля

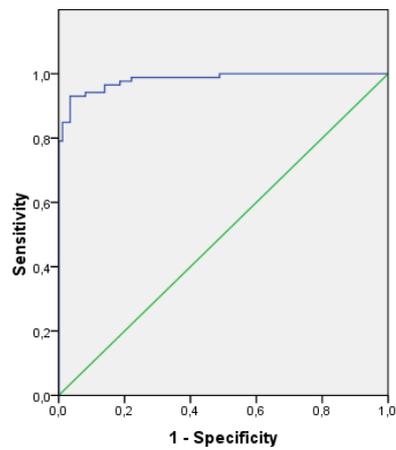


Рисунок 3.8 – ROC-кривая для параметра «IL-18» в группах с CIN I и CIN II

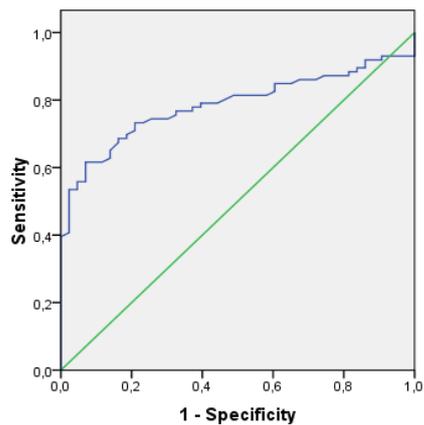


Рисунок 3.9 – ROC-кривая для параметра «IL-18» в группе с CIN I и группе контроля

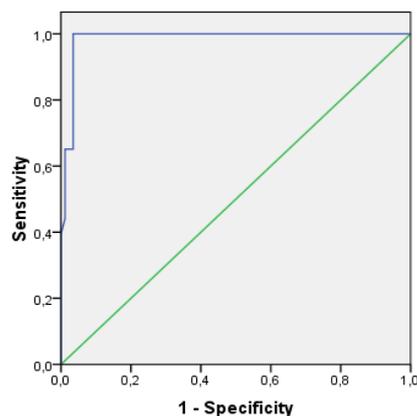


Рисунок 3.10 – ROC-кривая для параметра «IL-18» в группе с CIN II и группе контроля

Как видно из представленных данных, полученные ROC-кривые через левый верхний угол не проходят и идеальную форму не имеют, однако проходят достаточно близко в большинстве случаев. Это способствует построению качественного классификатора по исследуемым параметрам с высокой специфичностью и чувствительностью.

Исходя из данных расчетов исследуемых иммунологических показателей проведенного исследования, которые отражены в таблице 3.27 для переменной «IFN- $\gamma$ » площадь под кривой равна 0,999, что высокозначимо отличается от 0,5 ( $p = 0,000$ ) и свидетельствует о высокоточной классификации. По показателю «IL-18» площадь под кривой меньше и равна 0,786, что также существенно имеет отличие от 0,5 ( $p = 0,000$ ) и способствует построению точного классификатора.

Таблица 3.27 – Площади под ROC-кривыми для показателей «IFN- $\gamma$ » и «IL-18» для женщин с CIN I и группы контроля

Показатель	Площадь	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
IFN- $\gamma$	0,999	0,001	0,000	0,000	1,000
IL-18	0,786	0,039	0,000	0,708	0,863

a. Непараметрические тесты

b. Нулевая гипотеза: истинная площадь под кривой = 0.5

Согласно данным расчетов иммунологических показателей проведенного исследования, что отражено в таблице 3.28 для переменных «IFN- $\gamma$ » и «IL-18» площадь

под кривой равна 0,956 и 0,982 соответственно, что достоверно значимо отличается от 0,5 ( $p = 0,000$ ) и свидетельствует о высокоточной классификации.

Таблица 3.28 – Площади под ROC-кривыми для показателей IFN- $\gamma$  и «IL-18» для женщин с CIN I и CIN II

Показатель	Площадь	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
IFN- $\gamma$	0,956	0,013	0,000	0,930	0,981
IL-18	0,982	0,008	0,000	0,966	0,997

a. Непараметрические тесты

b. Нулевая гипотеза: истинная площадь под кривой = 0.5

Согласно данным расчетов иммунологических показателей проведенного исследования, что отражено в таблице 3.29 для переменных «IFN- $\gamma$ » и «IL-18» площадь под кривой равна 1,000 и 0,985 соответственно, что достоверно значимо отличается от 0,5 ( $p = 0,000$ ) и свидетельствует о высокоточной классификации.

Координаты кривых приведены в приложениях 1-6.

Таблица 3.29 – Площади под ROC-кривыми для показателей «IFN- $\gamma$ » и «IL-18» для женщин с CIN II и контрольной группы

Показатель	Площадь	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
IFN- $\gamma$	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000
IL-18	0,985	0,009	0,000	0,000	1,000

a. Непараметрические тесты

b. Нулевая гипотеза: истинная площадь под кривой = 0.5

Для определения порогового значения исследуемых показателей IL-18, IFN $\gamma$  сначала проверяются условия максимальной чувствительности и специфичности теста ( $\max(\text{Sensitivity} + \text{Specificity})$ ) и баланса чувствительности и специфичности ( $\min|\text{Sensitivity} - \text{Specificity}|$ ). Затем для значений анализируемых параметров, соответствующих выше указанным требованиям, выбирается значение с максимальным уровнем чувствительности и/или специфичности.

Анализируя данным расчетов иммунологических показателей проведенного исследования, что отражено в приложении 1, было выделено 3 значения

показателя «IFN- $\gamma$ »: 97,930 и 99,325 (соответствующие требованию максимальной чувствительности и специфичности теста ( $\max (\text{Sensitivity}+\text{Specificity})=1,977$ ) с чувствительностью 100,0% и специфичностью 97,7% и с чувствительностью 97,7% и специфичностью 100,0% соответственно и 99,075 (соответствующее условию баланса чувствительности и специфичности ( $\min|\text{Sensitivity}-\text{Specificity}|=0,000$ ) с чувствительностью 97,7% и специфичностью 97,7%. Пороговым значением параметра «IFN- $\gamma$ » было выбрано значение 99,325 с максимальным уровнем специфичности 100,0% и чувствительностью 97,7%. Таким образом, можно выбрать любое значение из таблицы, с учетом необходимого уровня чувствительности и специфичности).

Согласно расчетам иммунологических показателей проведенного исследования, что отражено в таблице приложения 2 для показателя «IL-18» значение 8,760 соответствует требованию максимальной чувствительности и специфичности теста ( $\max (\text{Sensitivity}+\text{Specificity})=1,546$ ) с чувствительностью 61,6% и специфичностью 93,0%, значение 8,445 – условию баланса чувствительности и специфичности ( $\min|\text{Sensitivity}-\text{Specificity}|=0,000$ ) с чувствительностью 74,4% и специфичностью 74,4%. В данном случае, пороговым значением выбрали значение 8,445.

Согласно результатам ROC-анализ между группой женщин с CIN I и контрольной группой были получены следующие пороговые значения переменных-предикторов что говорит о зависимости данных показателей со степенью цервикальной интраэпителиальной неоплазии:

1. «IFN- $\gamma$ » – 99,325 (чувствительность 97,7%, специфичность 100,0%), выше которого располагаются только пациентки с CIN I;
2. «IL-18» – 8,445 (чувствительность 74,4%, специфичность 74,4%), выше которого располагаются пациентки с CIN I.

Анализируя данные таблицы приложения 3, было выделено 3 значения показателя «IFN- $\gamma$ »: 151,625 и 152,760 (соответствующие требованию максимальной чувствительности и специфичности теста ( $\max (\text{Sensitivity}+\text{Specificity})=1,779$ ) с чувствительностью 81,4% и специфичностью

96,5% и с чувствительностью 80,2% и специфичностью 97,7% соответственно и 141,470 (соответствующее условию баланса чувствительности и специфичности ( $\min|Sensitivity-Specificity|=0,000$ ) с чувствительностью 84,9% и специфичностью 84,9%. Пороговым значением параметра «IFN- $\gamma$ » выбрали значение 152,760 с максимальным уровнем специфичности 97,7% и чувствительностью 80,2%.

Согласно данным расчетов иммунологических показателей проведенного исследования, что отражено в таблице приложения 4 «Координаты ROC-кривой для классификации на основании переменной «IL-18» между больными с CIN I и CIN II» для показателя «IL-18» значение 7,340 соответствует требованию максимальной чувствительности и специфичности теста ( $\max(Sensitivity+Specificity)=1,895$ ) с чувствительностью 93,0% и специфичностью 96,5%, значение 7,160 – условию баланса чувствительности и специфичности ( $\min|Sensitivity-Specificity|=0,011$ ) с чувствительностью 93,0% и специфичностью 91,9%. В данном случае, пороговым значением выбрали значение 7,340.

В ходе ROC-анализа между группами женщин с CIN I и CIN II были получены следующие пороговые значения переменных предикторов:

1. «IFN- $\gamma$ » – 152,760 (чувствительность 80,2%, специфичность 97,7%), выше которого располагаются только пациентки с CIN II;
2. «IL-18» – 7,340 (чувствительность 93,0%, специфичность 96,5%), ниже которого располагаются пациентки с CIN II.

В соответствии с расчетами иммунологических показателей проведенного исследования, что отражено в таблице приложения 5 «Координаты ROC-кривой для классификации на основании переменной «IFN- $\gamma$ » между пациентами с CIN II и группой контроля» для показателя «IFN- $\gamma$ » пороговое значение 114,175 соответствует как требованию максимальной чувствительности и специфичности теста ( $\max(Sensitivity+Specificity)=2,000$ ), так и условию баланса чувствительности и специфичности ( $\min|Sensitivity-Specificity|=0,000$ ) с чувствительностью 100,0% и специфичностью 100,0%.

По данным расчетов иммунологических показателей проведенного исследования, что отражено в таблице приложения 6 «Координаты ROC-кривой

для классификации на основании переменной «IL-18» между больными с CIN II и группой контроля», было выделено 3 значения показателя «IL-18»: 7,225 (соответствующее требованию максимальной чувствительности и специфичности теста ( $\max (\text{Sensitivity}+\text{Specificity})=1,965$ ) с чувствительностью 100,0% и специфичностью 96,5% и 7,300 и 7,375 (соответствующие условию баланса чувствительности и специфичности ( $\min|\text{Sensitivity}-\text{Specificity}|=0,012$ ) с чувствительностью 97,7% и специфичностью 96,5% и с чувствительностью 95,3% и специфичностью 96,5% соответственно. Пороговым значением параметра «IL-18» выбрали значение 7,225 с максимальным уровнем чувствительности 100,0% и специфичностью 96,5%.

Согласно результатам проведенного ROC-анализа между группой женщин, с CIN II и группой контроля, были получены следующие пороговые значения переменных-предикторов:

1. «IFN- $\gamma$ » – 114,175 (чувствительность 100,0%, специфичность 100,0%), выше которого располагаются только пациентки с CIN II;
2. «IL-18» – 7,225 (чувствительность 100,0%, специфичность 96,5%), ниже которого располагаются пациентки с CIN II.

Таким образом проведенный ROC-анализ выявил следующие пороговые значения:

1. «IFN- $\gamma$ » – в интервале от 99,325 до 114,175 располагаются пациентки с CIN I, выше 114,175 располагаются только пациентки с CIN II, ниже 99,325 – контрольная группа;
2. «IL-18» – в интервале от 7,225 до 8,445 располагаются женщины контрольной группы, пациентки с CIN I – выше 8,445, CIN II – 7,225;
3. Пороговое значение параметра «IL-18» между группами пациенток с CIN I и CIN II – 7,340.

В таблице 3.30 отражены пороговые значения для переменных предикторов по исследовательским группам.

Таблица 3.30 – Пороговые значения для переменных предикторов

Патология шейки матки	IL – 18, пг/мл	IFN- $\gamma$ , пг/мл
Норма	7,225-8,445	<99,325
CIN I	>8,445	99,325-114,75
CIN II	<7,225	>114,75

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- $\gamma$ ,  $x_2$  – IL-18.

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.

Таким образом, разработанные дополнительные критерии диагностики цервикальных интраэпителиальных поражений шейки матки, ассоциированных с папилломавирусом, позволяют путем подстановки в указанную формулу значений показателей IFN- $\gamma$  и IL-18 получить критерий, позволяющий отнести пациентку к группе здоровых или имеющих CIN I и CIN II. Этот критерий оценки дает возможность прогнозировать нарушения регуляции иммунного ответа и высокого риска прогрессирования неопластического процесса, следовательно этим женщинам требуется комплексное лечение с проведением иммуно- и противовирусной терапии, в частности, с применением препарата «Аллоферон».

## ГЛАВА 4

### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАРИАНТОВ ТЕРАПИИ ПАЦИЕНТОК С ВПЧ-АССОЦИИРОВАННЫМИ CIN I-II

#### 4.1 Сравнительный анализ и оценка эффективности вариантов терапии пациенток группы с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями I степени, ассоциированными папилломавирусом

На следующем этапе исследования пациентки с CIN I внутри группы исследования с помощью генератора случайных чисел была разделена на 2 равные по численности подгруппы:

Ia подгруппа – 43 ВПЧ-положительные пациентки с гистологически верифицированным заключением CIN I, наблюдательная тактика без применения медикаментозной терапии и абляционного/эксцизионного лечения в течение периода наблюдения (18 месяцев).

Ib подгруппа – 43 ВПЧ-положительные пациентки с гистологически верифицированным заключением CIN I, которые получали терапию противовирусным иммуномодулирующим препаратом «Аллоферон» по схеме согласно инструкции после первичного клинико-лабораторного исследования в первую фазу менструального цикла.

Все пациентки обеих подгрупп находились под строгим наблюдением. Им проводилось клиническое, цитологическое обследование, а также расширенная кольпоскопия и ВПЧ-тестирование через 6, 12, 18 месяцев. Показатели  $\gamma$ -интерферона, интерлейкина-18, фактора некроза опухоли- $\alpha$  в цервикальной слизи исследовали через 12 месяцев.

Критериями излеченности считались регресс цервикальной интраэпителиальной неоплазии по данным цитологического и кольпоскопического исследования, а также снижение вирусной нагрузки ниже 3 Ig или отрицательные показатели выявления ВПЧ.

Изменения показателей вирусной нагрузки в подгруппах женщин с CIN I отражено в таблице 4.1

Таблица 4.1 – Динамика изменения вирусной нагрузки ВПЧ у женщин с CIN I

Подгруппа		CIN I подгруппа Ia			CIN I подгруппа Ib		
Временной промежуток	При Поступлении	6 месяцев	12 месяцев	18 месяцев	6 месяцев	12 месяцев	18 месяцев
		> 5 lg	80%	71 %	68 %	66%	55 %
3–5 lg	12%	11 %	12%	12%	11 %	13 %	4%
< 3 lg	8%	12 %	13 %	15%	19 %	25%	28%
Не выявлен	-	6 %	7 %	7%	15 %	21 %	36%

Для определения значимости типов ВПЧ в развитии дисплазии легкой степени был проведен анализ их встречаемости (таблица 4.2).

Таблица 4.2 – Анализ распределения типов ВПЧ у пациенток в подгруппах с CIN I

Типы		CIN I подгруппа Ia (n=43)		CIN I подгруппа Ib (n=43)	
		при поступлении	через 12 месяцев	при поступлении	через 12 месяцев
10 тип	abc	0	1	0	0
	%	0,00%	2,33%	0,00%	0,00%
16 тип	abc	15	16	18	14
	%	34,88%	37,21%	41,86%	32,56%
18 тип	abc	13	13	10	8
	%	30,23%	30,23%	23,26%	18,60%
31 тип	abc	13	12	13	7
	%	30,23%	27,91%	30,23%	16,28%
33 тип	abc	7	8	4	2
	%	16,28%	18,60%	9,30%	4,65%
35 тип	abc	3	3	3	0
	%	6,98%	6,98%	6,98%	0,00%
39 тип	abc	5	4	4	2
	%	11,63%	9,30%	9,30%	4,65%
45 тип	abc	4	4	4	3
	%	9,30%	9,30%	9,30%	6,98%
51 тип	abc	10	7	11	8
	%	23,26%	16,28%	25,58%	18,60%
52 тип	abc	8	9	8	6
	%	18,60%	20,93%	18,60%	13,95%

56 тип	abc	5	5	5	5
	%	11,63%	11,63%	11,63%	11,63%
58 тип	abc	2	1	3	2
	%	4,65%	2,33%	6,98%	4,65%
59 тип	abc	5	3	4	2
	%	11,63%	6,98%	9,30%	4,65%
Отсут	abc	0	3	0	9
	%	0,00%	6,98%	0,00%	20,93%

В подгруппе Ia через 12 месяцев отмечается появление новых типов ВПЧ ВКР: 10, 16, 33 и 52, а элиминация вируса зафиксирована лишь у 7%. В то же время в подгруппе Ib наблюдается динамика исчезновения типов вируса папилломы челоювка высокого канцерогенного риска у некоторых пациенток, а элиминация вируса отмечена в 20,93%.

Для удобства интерпретации данных было принято понятие эффективность, которое включало в себя суммарный показатель отсутствия вирусной нагрузки и снижение ниже клинически значимой концентрации.

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. У пациенток подгруппы Ia этот показатель составил не более 20% через 12 месяцев. Средний показатель вирусной нагрузки в подгруппе Ia оставался в пределах  $3,47 \pm 0,17 \lg$  ВПЧ  $10^5$  копий (таблица 4.3).

Таблица 4.3 – Показатели вирусной нагрузки ВПЧ ( $\lg$  копий ДНК ВПЧ на  $10^5$ ) у пациенток с CIN I

Параметры	CIN I подгруппа Ia (n = 43)	CIN I подгруппа Ib (n = 43)
	M±m	M±m
До лечения	4,47±0,10	4,48±0,10
Через 6 месяцев	3,65±0,12	3,12±0,17
Через 12 месяцев	3,25±0,21	2,31±0,26
Через 18 месяцев	3,47±0,17	2,24±0,08

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%). В подгруппе Ia через 18 месяцев эффективность отмечалась в 22% за счет самоэлиминации вируса у 5 ти пациенток 24-27 лет (рисунок 4.1). Однако в большей части пациенток, находящихся под динамически наблюдением прослеживается повышение вирусной нагрузки, что создает угрозу для дальнейшей персистенции ВПЧ ВКР и требует необходимость проведения иммунопротивовирусной терапии.

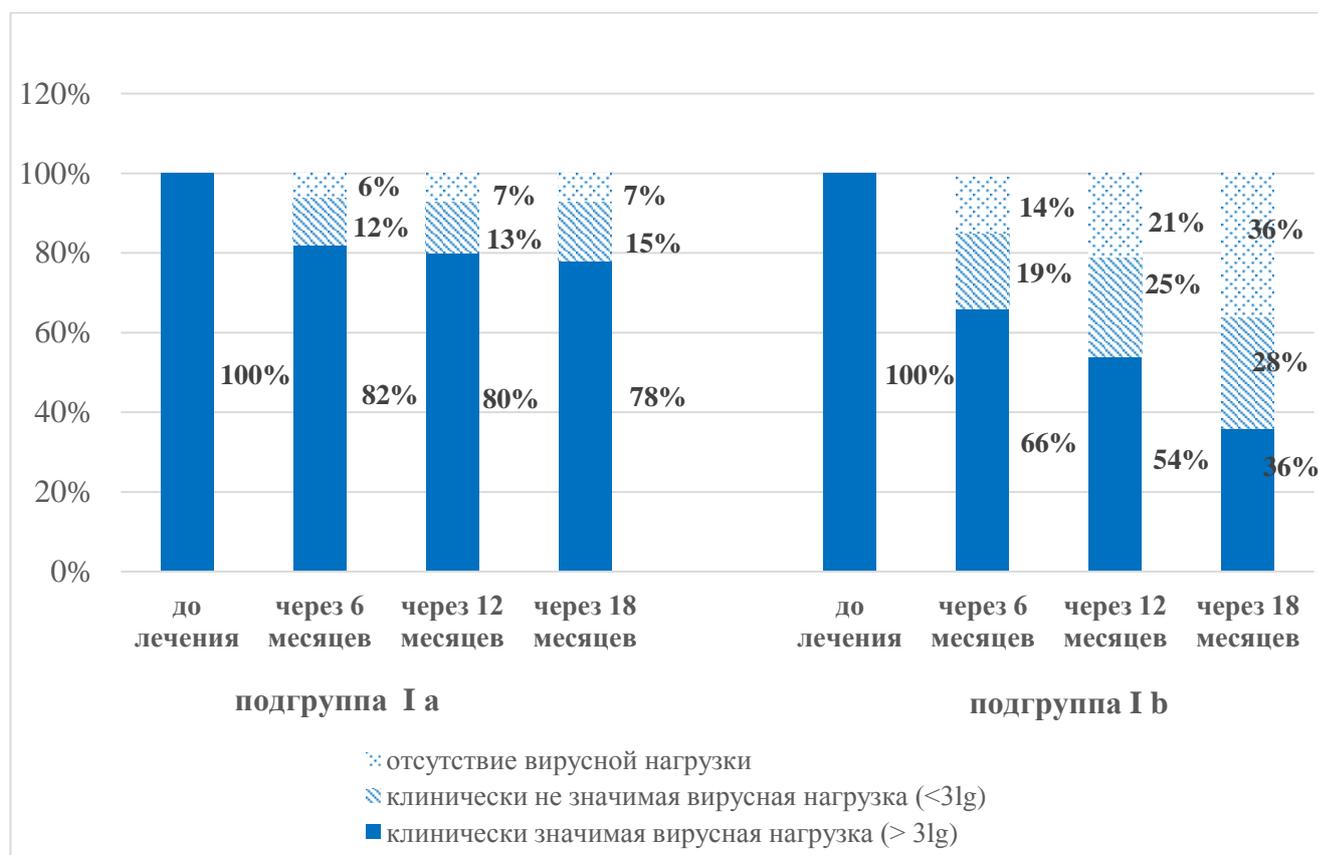


Рисунок 4.1 – Оценка эффективности терапии в подгруппах исследования Ia и Ib

При оценке результатов жидкостной цитологии 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 (20,93%) наблюдалась цитограмма реактивных изменений без признаков LSIL, у 15 (34,8%) женщин сохранялась слабая дисплазия шейки матки. Вероятно, восстановление нормальных клеточных и тканевых процессов в шейке матки обусловлено активацией иммунного ответа

вследствие применения препарата «Аллоферон» и последующей элиминацией вирус-этиотропного агента.

Ухудшения результатов цитологического исследования у пациенток Ib подгруппы не выявлено, в отличие от подгруппы Ia. Так, в 11,6% случаев у женщин с динамическим наблюдением выявилось изменение, соответствующее HSIL/CIN II через 6 месяцев, и у 9,3% - HSIL/CIN II через 12 месяцев. Через 6 месяцев в 20,9% в подгруппе Ia результаты соответствовали NILM, в 2,3% (n=1) - цитограмма реактивных изменений без атипии. У остальных женщин сохранялась легкая дисплазия по мазкам, приготовленным методом жидкостной цитологии взятых через 6 и 12 месяцев, в 65,1% и 62,8%, соответственно. Цитологическое исследование мазков через 18 месяцев отмечает у пациенток подгруппы Ib заключение NILM в 90,7% (n=39). У женщин подгруппы Ia результаты NILM наблюдались у 7 пациенток, что составило 16,3% (таблица 4.4).

Таблица 4.4 – Результаты цитологического исследования пациенток с CIN I

	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 (42,4%)	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.

Для оценки изменения процессов эпителизации выполнялась расширенная

кольпоскопия с применением 3%-ной уксусной кислотой и раствором Люголя в динамике через 6, 12 и 18 месяцев (таблица 4.5).

Таблица 4.5 – Кольпоскопическая картина в динамике в подгруппах Ia и Ib с CIN I

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 нежной 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.

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

Проводя статистическую обработку данных с применением критерия Уилкоксона–Манна–Уитни, отмечено, 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) (табл.9).

Оценка изменений локального иммунитета (IL-18, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) производилась через 10 дней и через 12 месяцев.

Учитывая особенности цитокинового взаимодействия, а также период полувыведения иммуномодулирующего препарата (6-8 часов) и сохранение противовирусной активности на протяжении недели после однократного введения препарата под кожу целесообразным было признано взятие параметров на 10 день и через 12 месяцев с целью отслеживания отдаленных результатов.

Отличительными особенностями цитокинового профиля после лечения при CIN I у подгрупп Ib через 10 дней после применения аллоферона стало заметное повышение IL – 18 с  $8,97\pm 0,12$  до  $12,61\pm 0,35$  пг/мл. Через 12 месяцев наблюдения в подгруппе Ib IL-18 несколько снизился, но все же остался выше исходного показателя. В подгруппе пациенток с CIN I – Ia, находящихся под динамическим наблюдением, IL - 18 не менялся как при исследовании через 10 дней и через 12 месяцев и соответствовал исходному показателю, что свидетельствует о нарушении работы клеточных механизмов и приводит к длительной персистенции ВПЧ-инфекции (таблица 4.6).

Таблица 4.6 – Определение уровней IFN- $\gamma$ , IL-18, TNF- $\alpha$  в динамике при CIN I

Исследуемый параметр		IFN- $\gamma$ , (пг/мл)	IL – 18, (пг/мл)	TNF- $\alpha$ , (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	2,79 $\pm$ 0,06
	CIN I подгруппа Ib	159,65 $\pm$ 4,83	12,61 $\pm$ 0,35	2,72 $\pm$ 0,08
Через 12 месяцев	CIN I подгруппа Ia	115,68 $\pm$ 1,80	9,10 $\pm$ 0,10	2,80 $\pm$ 0,06
	CIN I подгруппа Ib	127,23 $\pm$ 3,96	11,58 $\pm$ 0,21	2,73 $\pm$ 0,08
Уровень достоверности	p1	0,010*	0,023*	0,069
	p2	0,002	0,015*	0,902
	p3	0,030*	0,001	0,129
	p4	0,002*	0,002*	0,284

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- $\gamma$  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- $\gamma$  к 12-му месяцу связано с подавлением репликации ВПЧ и устранением местного воспалительного процесса в шеечном эпителии.

Ряд авторов [112, 124] отметили значительное повышение продукции IFN- $\gamma$  при отсутствии и/или при типах ВПЧ низкого онкогенного риска. При дисплазии по данным цитологических мазков, наоборот, продукция IFN- $\gamma$  была значительно снижена. Ввиду чего было сделано предположение о низком уровне IFN- $\gamma$  как о возможном предикторе прогрессии неоплазии шейки матки, ассоциированных папилломавирусом. Учитывая активирующее влияние IL-18 на синтез IFN- $\gamma$  и противовирусный иммунный ответ, повышение его уровня через 10 дней после воздействия препарата «Аллоферон» может являться положительным моментом терапии. Через 12 месяцев IFN- $\gamma$  приближается к своим исходным значениям. Возможно, снижение уровня провоспалительного IL-18 к 12-му месяцу после лечения у пациенток с хорошим эффектом ассоциировано с подавлением репликации ВПЧ. Торможение процесса апоптоза может происходить вследствие постоянного хронического воздействия на рецепторы цитокинов.

Уровень TNF $\alpha$  в цервикальном секрете исходно составил  $2,78\pm 0,06$  пг/мл и  $2,73\pm 0,08$  пг/мл в исследуемых группах, соответственно. Следует отметить, что его показатели не стремились к увеличению или снижению, а оставались примерно в тех же исходных параметрах.

В ряде проведенных исследований показано, что TNF $\alpha$  ингибирует пролиферацию здоровых эпителиальных клеток шейки матки, а в случае инфицирования эпителия ВПЧ 16 и 18 типами, тот же TNF $\alpha$  уже стимулирует пролиферацию пораженных клеток [98]. Недостаточная выработка TNF $\alpha$  поддерживает длительную персистенцию вируса и обуславливает опухолевую трансформацию эпителиальных клеток.

Белок Е6 ВПЧ, наряду с другими белками Е-группы отвечает за репликацию вируса и трансформацию клетки-хозяина. При этом он является протоонкогеном. По данным литературы [40] применение «Аллоферона» в составе комплексной терапии рака шейки матки привело к снижению ткани опухоли концентрации белка Е6 в 8 раз. В группе больных, которым проводилась только стандартная цитостатическая терапия концентрация белка Е6 в опухоли снизилась всего в 2,5 раза.

Возможно именно способность препарата «Аллоферон» снижать концентрацию белка Е6 и блокировать его действие за счет опосредованного воздействия IFN- $\gamma$  в результате цитокинового всплеска объясняет отсутствие прогрессирования CIN, высокий процент нормализации слизистой шейки матки при неполной элиминации ВПЧ в группе Ib.

#### **4.2 Сравнительный анализ и оценка эффективности вариантов терапии пациенток группы с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями II степени, ассоциированными папилломавирусом**

Как и в I группе, с помощью генератора случайных чисел пациентки с умеренной интраэпителиальной дисплазией были разделены на равные по численности 2 подгруппы:

Па подгруппа включала 43 ВПЧ-положительные женщины с гистологически верифицированным заключением CIN II и зоной трансформацией I-II типа, которым была проведена ЛЕЕР-эксцизия шейки матки с дальнейшим динамическим наблюдением в течение 6, 12 и 18 месяцев.

Пб подгруппа была представлена 43 ВПЧ-положительными женщинами с гистологически верифицированным заключением CIN II и зоной трансформацией I-II типа, которым наряду с ЛЕЕР-эксцизией шейки матки была проведена терапия препаратом «Аллоферон» согласно инструкции подкожно 1 мг в течение 6 инъекций через день. ЛЕЕР-эксцизия производили, как правило, сразу после менструации на 5-8 день менструального цикла уже на фоне применения иммуномодулирующей терапии (между 2-3 инъекцией): при зоне трансформацией I типа глубиной иссечения не менее 7 мм, а при зоне трансформации II типа глубина иссечения увеличивалась до 10 мм.

Оценку эффективности лечения HSIL (CIN II) проводили через 6, 12 и 18 месяцев после эксцизии на основании результатов жидкостной цитологии, ВПЧ-теста и кольпоскопической картины. После проведенного лечения все пациентки с CIN II так же находились под строгим наблюдением. Оценку изменений показателей локального иммунитета (IL -18, IFN –  $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) через 10 дней и 12 месяцев. Количественное изменение вирусной нагрузки ВПЧ ВКР в подгруппах пациенток Па и Пб с CIN II приведено в таблице 4.7.

Таблица 4.7 – Динамика изменения вирусной нагрузки ВПЧ у женщин с CIN II

Подгруппа		CIN II подгруппа Па			CIN II подгруппа Пб		
Временной промежуток	При поступлении	6 месяцев	12 месяцев	18 месяцев	6 месяцев	12 месяцев	18 месяцев
		> 5 lg	87%	8 %	17 %	5%	4 %
3–5 lg	12%	5 %	14 %	3%	4 %	3%	4%
< 3 lg	1%	32 %	11%	18%	12 %	7 %	7%
Не выявлен	-	55 %	58 %	74%	80 %	88 %	88%

Аналогичным образом для определения значимости типов ВПЧ в развитии дисплазии средней степени был проведен анализ их встречаемости.

При проведении ПЦР диагностики после лечения в группе CIN II у 6 (6,98%) женщин были выявлены новые высококанцерогенные типы вируса папилломы человека. Все 6 (13,95%) из них были выявлены в подгруппе IIa: у 2 пациенток – тип 51, у одной – 35 и 58, у одной – тип 31, у одной – 45, еще у одной – 56). В то же время, у двоих из этих пациенток наблюдалось исчезновение выявленного до лечения типа 45 (таблица 4.8).

Таблица 4.8 – Анализ распределения типов ВПЧ в подгруппах с CIN II

		CIN II подгруппа IIa (n=43)		CIN II подгруппа IIb (n=43)	
		при поступлении	через 12 месяцев	при поступлении	через 12 месяцев
10 тип	абс	0	0	0	0
	%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
16 тип	абс	17	17	16	15
	%	39,53%	39,53%	37,21%	34,88%
18 тип	абс	17	17	17	15
	%	39,53%	39,53%	39,53%	34,88%
31 тип	абс	0	1	0	1
	%	0,00%	2,33%	0,00%	2,33%
33 тип	абс	0	0	0	0
	%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
35 тип	абс	1	2	1	0
	%	2,33%	4,65%	2,33%	0,00%
39 тип	абс	3	4	2	1
	%	6,98%	9,30%	4,65%	2,33%
45 тип	абс	3	3	2	1
	%	6,98%	6,98%	4,65%	2,33%
51 тип	абс	18	20	17	11
	%	41,86%	46,51%	39,53%	25,58%
52 тип	абс	0	0	0	0
	%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
56 тип	абс	13	13	11	7
	%	30,23%	30,23%	25,58%	16,28%
58 тип	абс	1	2	2	0
	%	2,33%	4,65%	4,65%	0,00%
59 тип	абс	0	0	0	0
	%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
Отсут	абс	0	25	0	38
	%	0,00%	58,13%	0,00%	88,37%

Также исчезновение типов вируса папилломы человека через 12 месяцев было отмечено у 25 женщин (58%) в подгруппе IIa и у 38 женщин (88%) в подгруппе IIb.

В подгруппе IIa 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 IIb ВПЧ ВКР не был выявлен у 34 (80%) обследованных, вирусная нагрузка ниже клинически значимой обнаружена у 5 (12%) женщин (суммарный показатель 92%). (рисунок 4.2).

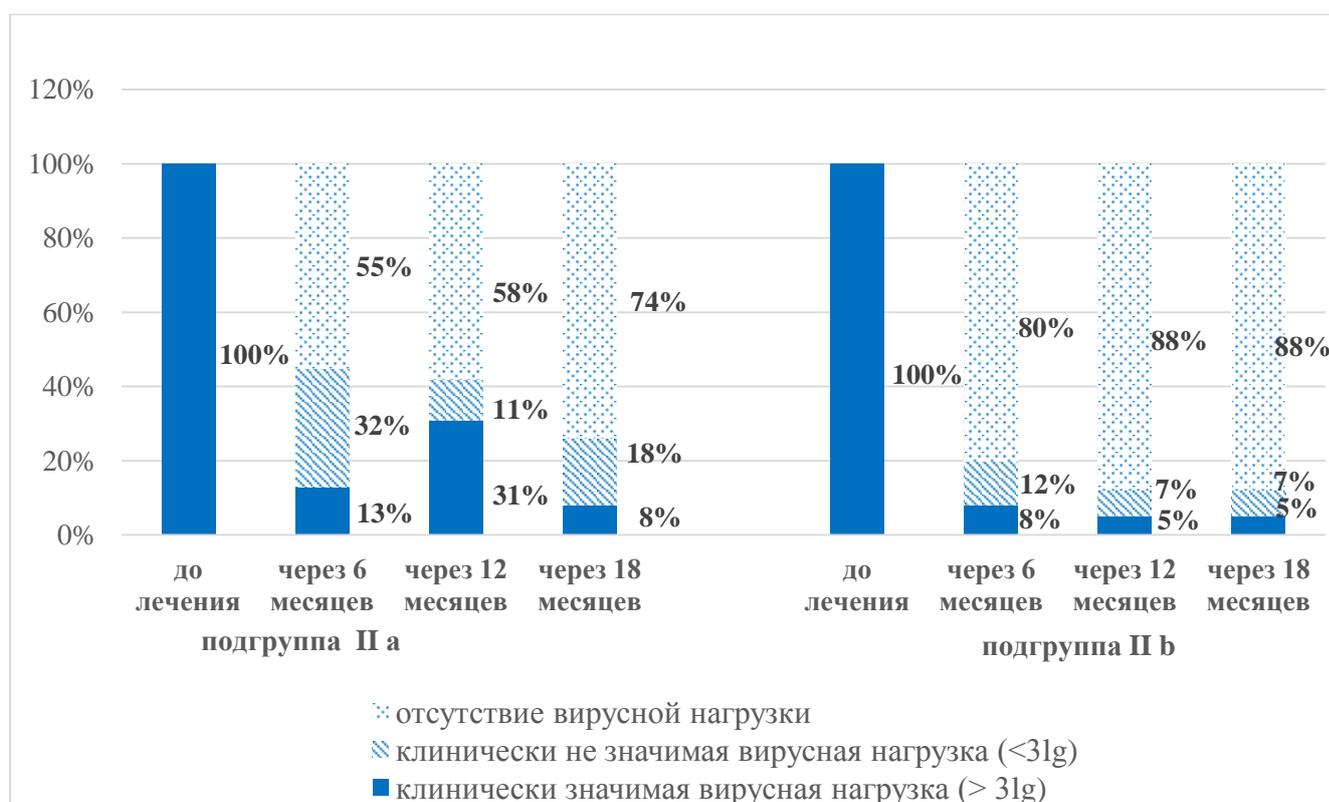


Рисунок 4.2 – Оценка эффективности терапии в подгруппах исследования IIa и IIb

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.

Анализируя вирусную нагрузку, в обеих подгруппах – Па и Пб через 6 месяцев после лечения она снижается. Так, у женщин с CIN II в подгруппе Пб, получавшие «Аллоферон» совместно с эксцизией, вирусная нагрузка снижается через 6 месяцев наблюдения до  $2,12 \pm 0,12$  в 69,7% (n=30). Средний показатель в подгруппе пациенток Па с эксцизией без «Аллоферона» через 6 месяцев после лечения снизился до  $2,54 \pm 0,10$ . Вирусная нагрузка без использования противовирусного иммуномодулирующего препарата по сравнению с группой женщин, получавших «Аллоферон» была достоверно выше (p= 0,003).

Через 12 месяцев в подгруппе Пб у 74,4 % (n=32) зафиксировано снижение вирусной нагрузки ниже  $3 \lg$  ВПЧ на 100 тыс. клеток. Результаты приведены в таблице 4.9.

Таблица 4.9 – Показатели вирусной нагрузки ВПЧ ( $\lg$  копий ДНК ВПЧ на  $10^5$ ) у пациенток с CIN II

Параметры	CIN II подгруппа Па (n = 43)	CIN II подгруппа Пб (n = 43)
	M±m	M±m
До лечения	$4,57 \pm 0,10$	$4,57 \pm 0,11$
Через 6 месяцев	$2,54 \pm 0,10$	$2,12 \pm 0,12$
Через 12 месяцев	$2,85 \pm 0,11$	$2,10 \pm 0,14$
Через 18 месяцев	$2,42 \pm 0,07$	$2,05 \pm 0,12$

Однако, в группе, где использовалась только эксцизия через 12 месяцев регистрируется вновь подъем показателей вирусной нагрузки у 9 (20,9%) женщин, что не наблюдается в подгруппе Пб, получавших дополнительно иммунопротивовирусную терапию. При использовании хирургического воздействия без противовирусной и иммуномодулирующей терапии вирусная нагрузка выросла с  $2,54 \pm 0,10$  до  $2,85 \pm 0,11$ .

Представляется очевидным, что лишь локальное хирургическое воздействие на измененные очаги папилломавирусной инфекцией оказывает воздействие на эпителий, где произошла клиническая манифестация ВПЧ. Резервуар вируса папилломы человека остается недиагностированным или в форме субклинических проявлений, являющиеся фундаментом для прогрессирования неопластического процесса и способствующим торможению процесса регенерации.

Через 6 месяцев цитологический скрининг в обеих подгруппах имел положительную динамику (таблица 4.10).

Таблица 4.10 – Результаты цитологического исследования пациенток с CIN II

	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
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 «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.

У пациенток в подгруппе Па у 38 (88,3 %) пациенток и в подгруппе Пб у 41 (95,34%) наблюдалась картина NILM. Но, спустя 12 месяцев у 8 (18,6%) пациенток в подгруппе Па 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 Пб, где пациентки принимали Аллоферон, через 12 месяцев у 40 (93,02 %) женщин цитологическая картина соответствовала NILM. Заключение LSIL/HSIL у женщин подгруппы Пб не было выявлено ни через 6 месяцев, ни через 12 месяцев, что обусловлено своевременно начатым и эффективным лечением.

А сохранение CIN II через 12 месяцев у пациентки в подгруппе Па 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 П, у которой через 12 месяцев сохранялась картина, цитологически соответствующая заключению HSIL, проводилась реэксцизия ввиду риска прогрессии заболевания.

Нормальное цитологическое заключение через 18 месяцев была выявлено у 41 (95,34 %) пациенток подгруппы Пб и у 40 (93%) подгруппы Па. Заключения 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.

Несмотря на высокие показатели излеченности в обеих подгруппах через 18 месяцев, применение сочетанного лечения в подгруппе Пб способствовало избежанию реэксцизии, что нельзя отметить в группе Па.

Проводя анализ динамики изменения кольпоскопических картин у пациенток с CIN II положительная динамика отмечена и в подгруппе Па и в подгруппе Пб. 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) (таблица 4.11).

Таблица 4.11 – Кольпоскопическая картина в динамике в подгруппах Па и Пб с CIN II

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
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 пунктуация	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 пунктуации	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.

В подгруппе Па нормальная кольпоскопическая картина отмечена у 35 человек (81,3 %) и в подгруппе Пб у 40 (91,1%) через 6 месяцев. Аномальная кольпоскопическая картина I степени определена в подгруппе только с проведенной эксцизией у 6 пациенток (14 %), а в подгруппе с комплексным лечением (эксцизия + Аллоферон) – у 3 пациенток (7 %).

Через 12 месяцев по дизайну исследования нормальная кольпоскопическая картина в подгруппе Па наблюдалась у 33 (76%) пациенток, а в подгруппе Пб - у 41 (95,34%). Нормальная кольпоскопическая картина к 18 месяцам достигнута в подгруппах Па и Пб у 40 (91,1 %) и 42 (97,7%), соответственно.

Учитывая агрессию вируса папиломмы человека на проводимую терапию и его возможную реактивацию после проведенной эксцизии, объясняется факт единичных слабовыраженных изменений легкой степени в виде аномальной кольпоскопической картины I степени.

Полученные результаты свидетельствуют о возможном рецидивировании поражения цервикального эпителия ВПЧ. Таким образом, на фоне применения противовирусного препарата вирус подвергается воздействию иммунной системы, что позволяет защитить здоровые клетки от воздействия вируса, возможно, сохранившегося в криптах. Также на фоне ВПЧ стволовые клетки под цилиндрическим эпителием эктопии и крипт подвергаются плоскоклеточной метаплазии с чрезмерной несанкционированной пролиферативной активностью и с возможным повторным формированием CIN.

При проведении комбинированного лечения: противовирусная и иммуномодулирующая терапия в сочетании с хирургическими методами способствует возможной элиминации вируса, полноценной и скорейшей эпителизации шейки матки, что вероятно снижает частоту рецидивов неопластических процессов и повышает эффективность терапии. Это происходит благодаря повышению синтеза интерферона, активации гуморального и Т-клеточного иммунитета и тем самым усилением устойчивости клеток эпителия шейки матки на фоне применения препарата «Аллоферон».

У женщин с CIN II при использовании эксцизии в подгруппе Па и женщин, получавших дополнительно иммуномодулирующую терапию подгруппы Пб, прослеживалась достоверная разница в показателях цитокинового ряда. Интерпретация результатов представлена в таблице 4.12.

Таблица 4.12 – Определение уровней IFN- $\gamma$ , IL-18, TNF- $\alpha$  в динамике при CIN II

Исследуемый параметр		IFN- $\gamma$ , (пг/мл)	IL – 18, (пг/мл)	TNF- $\alpha$ , (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 «IIb» 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 IIb является положительным эффектом терапии. Снижение уровня IL-18 к 12-му месяцу после лечения у пациенток, как показали наши исследования, ассоциировано с подавлением репликации ВПЧ.

Исходя из результатов сравнительного анализа проведенного исследования, а именно изменения уровней провоспалительных цитокинов на фоне применения иммунопротивовирусной терапии благодаря повышенному синтезу антител, что приводит к усиленной продукции НК-клеток и Т-лимфоцитов, определены оптимальные схемы ведения ВПЧ-положительных пациенток с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями шейки матки легкой и умеренной степени тяжести.

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 [103]. В то время как

у пациенток без противовирусного лечения клетки с ВПЧ были «защищены» от лимфоцитов за счет блокирования активности НК-клеток. 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.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Интраэпителиальные поражения шейки матки составляют важное звено в структуре гинекологической заболеваемости и являются возможной ступенью для перехода в РШМ для женщин репродуктивного возраста. В последнее десятилетие выросла роль генитальных вирусных инфекций, ассоциированных с развитием патологических процессов шейки матки [13].

Папилломавирусная инфекция – одна из распространенных инфекций в современном мире. Заболевания шейки матки, ассоциированные с папилломавирусной инфекцией, представляют особый интерес для углубленного патогенетического изучения ввиду доказанной роли вируса папилломы человека в формировании рака шейки матки. К группе риска инфицирования ВПЧ можно отнести женское население репродуктивного возраста, живущие половой жизнью. Фактически, спустя 2 года от начала половой жизни около 82% женщин считаются инфицированными ВПЧ [19].

Кофакторами инфицирования ВПЧ, следует считать раннее начало половой жизни, количество половых партнеров, частая их смена, пренебрежение средствами барьерной контрацепции. Вышеперечисленное сузило возрастную группу населения, наиболее подверженную риску. Пик инфицирования ВПЧ приходится на молодой возраст - сексуально активная часть населения (подростки и молодые женщины) в возрасте 19-27 лет. На фоне изменений в иммунной системе при инфицировании высокоонкогенными типами вируса происходит диссеминация вируса в наиболее уязвимом месте – в зоне трансформации, нарушается процесс метаплазии и клеточной дифференцировки, проявляющийся койлоцитозом, гиперкератозом и дискератозом. После проведенного лечения в 20-30% случаев [1, 69] наблюдаются рецидивы цервикальных интраэпителиальных неоплазий с выраженным клиническим проявлением вирусного поражения. В связи с этим важным фактором профилактики канцерогенеза, является своевременная диагностика и комплексная адекватная терапия заболеваний шейки матки, обусловленных наличием ПВИ.

Объектом исследования явились женщины, обратившиеся в амбулаторно-поликлиническое учреждение в 2018-2020гг. с выявленной исследуемой патологией шейки матки, явились объектом исследования. Совместно с кафедрой акушерства и гинекологии Пензенского института усовершенствования врачей – филиала ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России было изучено влияние вируса папилломы человека в развитии цервикальной интраэпителиальной неоплазии шейки матки у женщин репродуктивного возраста.

В проспективном рандомизированном открытом контролируемом исследовании участвовало 215 женщин:

I группу исследования составили 86 пациенток с гистологически верифицированным заключением цервикальной интраэпителиальной неоплазией легкой степени тяжести, вызванной вирусом ВПЧ.

II группу исследования – 86 пациенток с гистологически верифицированным заключением цервикальной интраэпителиальной неоплазией средней степени тяжести, вызванной вирусом ВПЧ.

Группу контроля составили 43 условно здоровых женщины, вирус-негативные по ВПЧ, без патологических изменений на шейке матки, с нормальной кольпоскопической, цитологической картиной.

Во всех группах женщины были обследованы с помощью жидкостной цитологии, ВПЧ - тестирования, расширенной кольпоскопии, гистологического исследования биопсийного материала с шейки матки.

Согласно задачам исследования изучены уровни интерлейкина-18,  $\gamma$ -интерферона, фактора некроза опухоли- $\alpha$  в цервикальной слизи, исследована их диагностическая и прогностическая роль при развитии и течении цервикальных интраэпителиальных неоплазий легкой и умеренной степени тяжести, ассоциированных с ВПЧ.

Далее проведено обследование группы контроля на иммунологические маркеры в цервикальной слизи методом ИФА и получены следующие данные: IL-18 =  $89,44 \pm 0,85$  пг/мл; IFN- $\gamma$  =  $8,12 \pm 0,07$  пг/мл; TNF $\alpha$  =  $2,66 \pm 0,05$  пг/мл. Учитывая

отсутствие литературных данных о референсных значениях этих показателей мы представили вариант нормы.

Проведенные нами исследования показали, что интраэпителиальные неоплазии I степени у обследованных женщин в 76% случаев наблюдались в возрасте 18-30 лет, средний возраст составил  $35,01 \pm 0,7$  лет. Пациенток старше 35 лет в данной группе исследования не было. В 56,3% случаев обследованные отмечали ранний дебют половых отношений (до 18 лет). Наши данные согласуются с результатами исследований Markowitz L. E, Hariri S, Lin C, Dunne EF, Steinau M, McQuillan G et al. (2018) которые показали, что наиболее часто инфицирование HPV происходит в возрастной группе 16-25 лет. Никотиновая зависимость в группе пациенток с CIN I путем анкетирования выявлена у 32 пациенток. Не вызывает сомнений, что эти факторы являются предрасполагающими в инфицировании вирусом папилломы человека и, соответственно, патологий шейки матки, ассоциированных с их проявлением, в виде клинических форм CIN, что подтверждается результатами исследований Краснопольского В.И., Зароченцевой Н.В., Ашрафян Л.А. и другими (2020г.).

При проведении качественного и количественного определения ВПЧ было диагностировано различные типы вируса с клинически значимой вирусной нагрузкой ( $4,69 \pm 0,07$ ). Чаще обнаруживались типы 16 (38,37%), 18 (26,74%), 31 (30,23%), 51 (24,42%). Аналогичные данные были получены Мкртчян Л.С. и соавторами (2018 г.), в исследовании которых у женщин с CIN I-II превалировал 16 (52%) тип ВПЧ ВКР. Сочетание двух и более типов ВПЧ определялось у 57,8% женщин с CIN I.

При оценке состава микрофлоры урогенитального тракта у всех женщин группы с CIN I (100%) инфекций передающие половым путем и других микроорганизмов, значимых для развития дисбиотических процессов различной степени тяжести выявлено не было. По результату исследования заключение соответствовало «нормоценозу», что являлось одним из критериев включения в исследование.

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 (45,3%), аномальная кольскопическая картина II степени в виде плотного ацеботелого эпителия наблюдалась – у 1 пациентки (1,2%).

Показатель IFN- $\gamma$  в группе с CIN I ВПЧ-положительных пациенток составил  $123,85 \pm 1,66$  пг/мл, а IL-18 -  $8,97 \pm 0,12$  пг/мл, что в обоих случаях достоверно отличалось от группы контроля ( $p=0,0001$ ). Показатель TNF $\alpha$  статистически не отличался от группы контроля и составил  $2,76 \pm 0,05$  пг/мл.

Проведенный анализ установил сильные прямые корреляционные связи между уровнем IL-18 и клинически значимой вирусной нагрузкой  $>5lg$ , 3–5lg ( $R = 0,7476$ ,  $p = 0,0001$ ); уровнем IL-18 и возрастом пациентки более 30 лет ( $R = 0,7235$ ,  $p = 0,0002$ ); уровнем IL-18 и уровнем IFN- $\gamma$  ( $R = 0,7982$ ,  $p = 0,0001$ ); уровнем IFN- $\gamma$  и клинически значимой вирусной нагрузкой  $>5lg$ , 3–5lg ( $R = 0,7164$ ,  $p = 0,0002$ ); уровнем IFN- $\gamma$  и возрастом пациентки более 30 лет ( $R = 0,7623$ ,  $p = 0,0003$ ).

Выявленный дисбаланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в пользу последних является важным фактором, поддерживающим персистенцию ВПЧ в эпителии шейки матки при цервикальной интраэпителиальной неоплазии I степени. Повышение цитокина (IL-18) свидетельствуют о сдвиге в пользу клеточного иммунитета, стимуляции IFN $\gamma$  и Fas-ligand опосредованного апоптоза, что, вероятно, способствует элиминации ВПЧ.

Среди пациенток в группе с CIN II степени преобладала старшая репродуктивная ( $>30$  лет) группа  $n=55$  (63,95%), средний возраст составил  $36,90 \pm 0,48$  лет. Социально-anamнестический анамнез выявил, что дебют половой жизни ранее 18 лет имели 54% опрошенных, а половых партнеров более 5 отметили 34% женщин. Средний возраст первого полового акта в данной группе с CIN II составил  $16,7 \pm 1,3$  лет. Табакокурение отмечено у 48 пациенток (55%), которые курили по  $\frac{1}{2}$  пачки в день.

Сочетание двух и более типов ВПЧ определялось у 79,4% пациенток с CIN II. Отмечены высокие показатели инфицированности ВПЧ 18 и 56 типов (38,37%

и 31,40%), соответственно. Это позволяет сделать заключение о том, что в формировании ВПЧ – ассоциированной цервикальной неоплазии II степени может участвовать несколько типов ВПЧ ВКР. Вирусная нагрузка составила в среднем  $4,63 \pm 0,10$  lg ВПЧ на 100 тыс клеток).

Сравнительный анализ количественных соотношений компонентов нормальной и условно-патогенной микрофлоры влагалищного содержимого с помощью метода ПЦР в режиме реального времени с использованием набора реагентов ФЕМОФЛОР® не выявил у пациенток группы с CIN II анаэробных микроорганизмов, микоплазм и дрожжеподобных грибов и облигатных патогенов, участвующих в нарушение процессов вагинальной флоры. «Нормоценоз» влагалища по данным микроскопии выявлен в 100% случаев.

При проведении кольпоскопического исследования у пациенток группы CIN II на шейке матки определялся атипичский эпителий: слабовыраженное поражение визуализировано у 47 (54,6%) пациенток, выраженное поражение – 39 (45,4%).

При анализе параметров значений IFN- $\gamma$  ( $166,34 \pm 1,95$  пг/мл), IL - 18 ( $5,75 \pm 0,11$  пг/мл) показатели достоверно отличались от группы контроля ( $p=0,0001$ ). Уровень провоспалительного цитокина – TNF- $\alpha$  – в цервикальном секрете составил  $2,68 \pm 0,04$  пг/мл и почти не отличался от показателя группы контроля ( $2,66 \pm 0,05$  пг/мл).

При статистической обработке данных отмечены следующие корреляционные сильные прямые связи между уровнем IL-18 и клинически значимой вирусной нагрузкой ( $R = 0,7276$ ,  $p = 0,0004$ ); уровнем IL-18 и гистологическим исследованием, соответствующим HSIL/CIN II ( $R = 0,7196$ ,  $p = 0,0005$ ); уровнем IFN- $\gamma$  и возрастом пациентки более 30 лет ( $R = 0,7365$ ,  $p = 0,0004$ ); уровнем IFN- $\gamma$  и табакокурением ( $R = 0,7623$ ,  $p = 0,0003$ ); уровнем IFN- $\gamma$  и клинически значимой вирусной нагрузкой  $>5$ lg, 3–5lg ( $R = 0,7344$ ,  $p = 0,0003$ ); уровнем IFN- $\gamma$  и гистологическим заключением ( $R = 0,7843$ ,  $p = 0,0003$ ); уровнем TNF- $\alpha$  и возрастом пациентки более 30 лет ( $R = 0,7425$ ,  $p = 0,0005$ ); уровнем TNF- $\alpha$  и гистологическим заключением, соответствующим HSIL/CIN II ( $R = 0,7957$ ,  $p =$

0,0005).

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

В ходе ROC-анализа между группами женщин с CIN I и CIN II были получены пороговые значения переменных предикторов для показателя IFN- $\gamma$ : 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.

Таким образом, разработанные дополнительные критерии диагностики цервикальных интраэпителиальных поражений шейки матки, ассоциированных папилломавирусом, позволяют путем подстановки в указанную формулу значений показателей IFN- $\gamma$  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 «Аллоферон» (гистидин- глицил-валил-серил-глицил-гистидил-глицил-глутаминил-гистидил-глицил-валил-гистидил-глицин) ввиду нарушения регуляции иммунного ответа и риска прогрессирования неопластического процесса.

Далее с помощью генератора случайных чисел пациентки с CIN I были разделены на равные по численности подгруппы: 43 ВПЧ-позитивные пациентки с CIN I, которым применялась наблюдательная тактика без применения медикаментозной терапии и абляционного/эксцизионного лечения и 43 ВПЧ-позитивные женщины с CIN I получали терапию препаратом «Аллоферон» согласно инструкции по схеме (подкожно 1 мг через день 6 инъекций) после первичного клинико-лабораторного исследования в первую фазу менструального цикла.

Клиническая эффективность лечения оценивалась на основании данных цитологических заключений, кольпоскопии, результатов тестирования на ВПЧ ВКР – методом ПЦР диагностики. Оценка эффективности выбранной терапии

проводились 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.

Одним из самых важных критериев была оценка наличия или отсутствия ВПЧ и/или снижение вирусной нагрузки ниже значимых величин. Контроль излеченности и оценка эффективности выбранной терапии проводились через 6, 12 и 18 месяцев.

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

При оценке результатов цитологического исследования с шейки матки через 6 месяцев улучшение результатов цитологических результатов отмечено у 19 (44,2%) пациенток применявших Аллоферон, соответствующие картине NILM. У 15 (34,8%) женщин сохранялась слабая дисплазия шейки матки. Вероятно, восстановление нормальных клеточных и тканевых процессов в шейке матки обусловлено активацией иммунного ответа вследствие применения препарата «Аллоферон» и последующей элиминацией вирус-этиотропного агента.

У 5 (11,6%) женщин подгруппы динамического наблюдения выявилось изменение, соответствующее HSIL/CIN II через 6 месяцев, и у 4 (9,3%) - HSIL/CIN II через 12 месяцев. Через 12 месяцев в 20,9% результаты соответствовали NILM, в 2,33% ( $n=1$ ) – реактивные изменения. У остальных женщин сохранялась легкая дисплазия по мазкам, приготовленным методом жидкостной онкоцитологии взятых через 6 и 12 месяцев, в 65,1% и 62,8%, соответственно. Цитологическое исследование мазков через 18 месяцев отмечает у пациенток, получавшие Аллоферон заключение NILM в 90,7% ( $n=39$ ). У

женщин, находящихся под динамическим наблюдением без терапии, результаты NLM наблюдались у 7 пациенток, что составило 16,3%.

По результатам расширенной кольпоскопии через 12 месяцев в подгруппе женщин без применения иммунопротивовирусной терапии 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 аномальная кольпоскопическая картина обнаружена у 24 (55,8%) пациенток.

В подгруппе пациенток после использования Аллоферона 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 месяцам отмечены у 5 пациенток (11,6%).

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).

Установлено, что значения исследуемых иммунологических маркеров цервикальной слизи достоверно отличались от группы контроля до и после терапии. Взятие параметров на 10 дней после применения иммунопротивовирусной терапии было связано с особенностями цитокинового взаимодействия и периодом полувыведения иммуномодулирующего препарата, а через 12 месяцев - с целью отслеживания отдаленных результатов.

В подгруппе пациенток, применявших Аллоферон показатели IFN- $\gamma$  исходно составили –  $123,85 \pm 2,60$  пг/мл, через 10 дней -  $159,65 \pm 4,83$  пг/мл, а через 12 месяцев  $127,23 \pm 3,96$  пг/мл, а среди пациенток в подгруппе с наблюдательной тактикой значения через 10 дней были  $116,46 \pm 1,66$  пг/мл и через 12 месяцев  $115,68 \pm 1,80$  пг/мл. Значения IL-18 исходно в группе I были равны  $8,97 \pm 0,12$  пг/мл, в подгруппе с применением Аллоферона через 10 дней  $12,61 \pm 0,35$  пг/мл и

11,58±0,21 пг/мл – через 12 месяцев. Значения IL-18 в подгруппе динамического наблюдения через 10 дней – 9,12±0,10 пг/мл и через 12 месяцев – 9,10±0,10 пг/мл. Показатели достоверно отличались друг от друга ( $p < 0,05$ ). TNF- $\alpha$  до лечения в группе был 2,76±0,05 пг/мл и не имел достоверной разницы в обеих подгруппах.

Таким образом, максимальный уровень IL-18 был достигнут в группе, где использовали препарат «Аллоферон» спустя 10 дней после лечения. В группе женщин с динамическим наблюдением IL-18 не имел тенденции к значимому изменению и оставался в равных значениях с его фоновым показателем.

Оценивая содержание IFN- $\gamma$  в цервикальной слизи у женщин с патологией шейки матки, ассоциированной папилломавирусной инфекцией, учитывалась способность IL-18 индуцировать его продукцию. Проводя параллельную взаимосвязь по принципу прямого воздействия, в действительности, его концентрация была достоверно выше в подгруппе с Аллофероном, чем в подгруппе сравнения женщин, не получавших противовирусную терапию. Однако спустя 12 месяцев наблюдения концентрация IFN- $\gamma$  снижается ниже фоновых показателей (с 159,65±4,83 пг/мл до 127,23±3,96 пг/мл), что, вероятно, связано с подавлением репликации ВПЧ и устранением местного воспалительного процесса в шеечном эпителии.

Полученные результаты цитокинового исследования у женщин в группе динамического наблюдения свидетельствуют о нарушении работы клеточных механизмов, что является отражением персистирующего течения папилломавирусной инфекции.

Далее с помощью генератора случайных чисел пациентки с умеренной интраэпителиальной дисплазией были разделены на равные по численности 2 подгруппы: 43 ВПЧ-положительные женщины с гистологически верифицированным заключением CIN II и зоной трансформацией I-II типа, у которых использовалось только хирургическое воздействие (LEEP-экзизиция) на патологический очаг шейки матки с дальнейшим динамическим наблюдением в течение 6, 12 и 18 месяцев и 43 ВПЧ-положительные женщины с гистологически верифицированным заключением CIN II и зоной трансформацией I-II типа, которые наряду с

хирургическим этапом лечения (LEEP-экзцизия) получали терапию противовирусным препаратом «Аллоферон». Терапевтический этап терапии включал в себя назначение: «Аллоферона» подкожно 1 мг в течение 6 дней через день. LEEP-экзцизия производили, как правило, сразу после менструации на 5-8 день менструального цикла уже на фоне применения иммуномодулирующей терапии (между 2-3 инъекцией) при зоне трансформацией 1 типа глубиной иссечения не менее 7 мм, а при зоне трансформации 2 типа глубина иссечения увеличивалась до 10 мм.

При сравнительном исследовании пациенток с CIN II для оценки эффективности лечения, пациенткам обеих групп было проведено повторное контрольное обследование на количественное определение ВПЧ.

В подгруппе с LEEP-экзцизией 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 комплексной терапии (LEEP-экзцизия+ Аллоферон) 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 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.

При сравнительном анализе пациенток с CIN II в подгруппе только лишь с LEEP-экзцизией у 38 (88,3 %) пациенток и в подгруппе LEEP-экзцизии+ Аллоферон у 41 (95,34%) наблюдалась картина NILM. Но, спустя 12 месяцев у 8 (18,6%) пациенток в подгруппе 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, где пациентки принимали Аллоферон, через 12 месяцев у 40 (93,02 %) женщин цитологическая картина соответствовала NILM. Заключение LSIL/HSIL у женщин подгруппы сочетанного лечения LEEP-эксцизия+ Аллоферон не было выявлено ни через 6 месяцев, ни через 12 месяцев, что обусловлено своевременно начатым и эффективным лечением.

А сохранение CIN II через 12 месяцев у пациентки в подгруппе только лишь хирургического лечения 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 прогрессии заболевания.

Нормальное цитологическое заключение через 18 месяцев была выявлено у 41 (95,34 %) пациенток подгруппы получавших Аллоферон и у 40 (93%) подгруппы без применения иммунопротивовирусной терапии. Заключения цитологии LSIL у пациенток с LEEP-эксцизией + Аллоферон - не выявлены. У 2 (4,6 %) пациенток через 18 месяцев результат цитограммы показал наличие реактивных изменений без признаков атипии.

Несмотря на высокие показатели излеченности в обеих подгруппах через 18 месяцев, применение сочетанного лечения способствовало избежанию реэксцизии.

По результатам расширенного кольпоскопического исследования у пациенток, входящих в подгруппу, после эксцизии и лечения

иммуномодулятором с противовирусной активностью достоверно отмечалась положительная кольпоскопическая картина в виде отсутствия ацетобелого эпителия, пунктуации, мозаики. Так, нормальная кольпоскопическая картина к 18 месяцам достигнута в подгруппах с применением Аллоферона и без в 91,1 % и 97,7%, соответственно.

У женщин с CIN II при использовании эксцизии в подгруппе Па и женщин, получавших дополнительно иммуномодулирующую терапию подгруппы Пб, прослеживалась достоверная разница в показателях цитокинового ряда ( $p < 0,005$ ). Через 10 дней в подгруппе женщин с комплексным методом терапии наблюдается повышение IL-18 с  $5,77 \pm 0,15$  до  $10,43 \pm 0,34$  нг/мл, в то время как в подгруппе пациенток без иммунопротивовирусной терапии средний показатель IL-18 составил  $5,65 \pm 0,15$  нг/мл, чем не отличался от исходного значения  $5,78 \pm 0,12$  нг/мл.

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 является положительным эффектом терапии. Снижение уровня IL-18 к 12-му месяцу после лечения у пациенток, как показали наши исследования, ассоциировано с подавлением репликации ВПЧ.

Полученные результаты позволяют считать, что применение комплексных методов лечения с использованием иммуномодулирующих препаратов с противовирусной активностью улучшает исходы хирургических методов лечения, способствует элиминации ВПЧ, препятствует возникновению рецидивов цервикальных интраэпителиальных неоплазий шейки матки, ассоциированных с ВПЧ.

На фоне применения противовирусного препарата вирус подвергается воздействию иммунной системы, что позволяет защитить здоровые клетки от воздействия вируса, возможно, сохранившегося в криптах. Также на фоне ВПЧ стволовые клетки под цилиндрическим эпителием эктопии и крипт также

подвергаются плоскоклеточной метаплазии с чрезмерной несанкционированной пролиферативной активностью и с возможным повторным формированием CIN.

Наибольший эффект был достигнут в группе с противовирусным лечением, которое способствовало к медикаментозной активации NK-клеток, опосредованно запуску цитокиновых реакций, что привело к прямому лизису зараженных клеток. В то время как у пациенток без противовирусного лечения клетки с ВПЧ были «защищены» от лимфоцитов за счет блокирования активности NK-клеток. 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.

## 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 lg).

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

3. Иммунологические параметры цервикальной слизи (IL-18 и IFN- $\gamma$ ) являются одними из прогностически значимых критериев: при CIN I отмечается повышение IFN- $\gamma$  в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ), уровня IL-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- $\alpha$ , ввиду отсутствия цитопатических свойств у ВПЧ.

4. Доверительные интервалы показателей IFN- $\gamma$ : 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 рецидивирование 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- $\gamma$ , IL – 18, TNF- $\alpha$  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- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  с целью выбора лечебной тактики и оценки эффективности лечения. При повышении IFN-  $\gamma$  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.

## **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.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АБЭ – ацето-белый эпителий

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ВПЧ – вирус папилломы человека

ВПЧ ВКР - вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска

МПЭ – многослойный плоский эпителий

ПВИ – папилломавирусная инфекция

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РШМ – рак шейки матки

ЦИН – цервикальная интраэпителиальная неоплазия

ЦЭ – цилиндрический эпителий

ШМ – шейка матки

ASCCP – American Society for Colposcopy and Cervical Pathology (Американское общество кольпоскопии и патологии шейки матки)

ASCUS – atypical squamous cells - of undetermined significance (Атипичные плоские клетки неясного значения)

CIN – Cervical Intraepithelial Neoplasia (цервикальная интраэпителиальная неоплазия)

CIS – carcinoma in situ (преинвазивный рак)

IFN- $\gamma$  (Interferon gamma) – интерферон гамма

IL – интерлейкин

FIGO – International Federation of Gynecology and Obstetrics (Международная федерация гинекологов и акушеров)

HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesions) – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение высокой степени

LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesions) – плоскоклеточное внутриэпителиальное интраэпителиальное поражение низкой степени

TBS (Terminological Betesda system) – цитологическая классификация состояния эпителия шейки матки

TNF- $\alpha$  (Tumor necrosis factor) – фактор некроза опухоли альфа

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ**

1. Абакарова, П.Р. ВПЧ-ассоциированные заболевания шейки матки. Возможности комплексной терапии / П. Р. Абакарова, В. Н. Прилепская // Гинекология. – 2017. – Vol. 19 (5). – P. 4–5.
2. Абакарова, П. Р. Локальная цитокиноterapia в комплексном лечении ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки / В. Н. Прилепская, Е. А. Межевитинова, А. Е. Донников // Гинекология. – 2019. – Vol. 21 (1). – P. 28–32.
3. Абрамовских, О. С. Папилломавирусная инфекция урогенитального тракта: эпидемиологические аспекты (обзор) / О. С. Абрамовских, В. Ф. Долгушина, Л. Ф. Телешева [и др.] // Гинекология. – 2016. – Vol. 18 (2). – P. 34–39. – URL: <https://gynecology.orscience.ru/20795831/article/view/28527>
4. Аляутдина, О.С. Оптимизация диагностики рака шейки матки / О. С. Аляутдина, О. В. Сеницына // Российский медицинский журнал. – 2015. – № 21 (6). – С. 25.
5. Аляутдина, О. С. Значение теста на онкобелок p16INK4a в алгоритме диагностики рака шейки матки / О. С. Аляутдина, О. В. Сеницына // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 11. – С. 58–60.
6. Анохова, Л. И. Инновационный подход к терапии пациенток с вирусом папилломы человека высокого риска, применяющих аллокин-альфа / Л. И. Анохова, Т. Е. Белокриницкая, Е. П. Белозерцева, Т. М. Маслова // Медицинский совет. – 2021. – № 13. – С. 199–205. – doi:10.21518/2079-701X-2021-13-199-205
7. Апгар, Б. С. Клиническая кольпоскопия: практическое руководство / Б. С. Апгар, Г. Л. Броцман, М. Шпицер ; перевод с англ. под редакцией В. Н. Прилепской, Т. Н. Бебневой. – Москва : Практическая медицина, 2014. – 384 с.
8. Атгоева, Д. И. Сопоставление результатов клинических и морфологических методов исследований при ВПЧ-ассоциированных

заболеваниях шейки матки (ретроспективное исследование) / Д. И. Аттоева, А. В. Асатурова, Н. М. Назарова [и др.] // Гинекология. – 2021. – № 23 (1). – С. 78–82.

9. Ашрафян, Л. А. Опухоли репродуктивных органов (этиология и патогенез) / Л. А. Ашрафян, В. И. Киселев. – Москва: Димитрейд График Групп, 2007. – 216 с.

10. Байрамова, Г. Р. Плоскоклеточные интраэпителиальные поражения шейки матки: возможности ранней диагностики и тактики ведения пациенток / Г. Р. Байрамова, И. И. Баранов, Л. С. Ежова, Д. Ю. Трофимов, Т. В. Припутневич, А. С. Амирханян, А. М. Старинская // Доктор.Ру. – 2019. – Vol. 11. – P. 61–67. – doi:10.31550/1727-2378-2019-166-11-61-67

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

12. Бебнева, Т. Н. Некоторые аспекты папилломавирусной инфекции / Т. Н. Бебнева // Гинекология. – 2007. – № 9 (1). – С. 19–22.

13. Белокриницкая, Т. Е. Ассоциации генитальных инфекций и вируса папилломы человека как конфаундинг-факторы цервикальной интраэпителиальной неоплазии / Т. Е. Белокриницкая, Н. И. Фролова, О. В. Туранова, В. А. Плетнёва, К. Н. Шемякина, Т. В. Пальцева, Л. Ю. Низелькаева // Доктор. Ру. – 2015. – № 2 (12). – С. 14–17.

14. Боровиков, И. О. Коррекция нарушений цитобиохимических процессов в слизистой шейки матки при цервикальной интраэпителиальной неоплазии / И. О. Боровиков, Е. Э. Герасименко, Х. И. Горринг // Русский Медицинский журнал. Мать и дитя. – 2018. – Т. 1, № 2. – С. 108–111.

15. Боровиков, И. О. Опыт применения иммуномодулирующего препарата в терапии папилломавирусной инфекции гениталий у женщин / И. О. Боровиков, И. И. Куценко, Х. И. Горринг // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 3. – С. 122–128.

16. Боровкова, Е. И. Влияние препаратов для локального применения, содержащих глюкокортикоиды, на показатели местного иммунитета и активность

вируса папилломы человека / Е. И. Боровкова, А.С. Федотова // В помощь практикующему врачу. Гинекология. – 2017. – №19. – С. 66-80.

17. Ванденбуш, К. Дж. Цитологическое исследование цервикальных мазков. Атлас / К. Дж. Ванденбуш, С. З. Али, Д. Л. Розенталь, Р. Ванг. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 206 с.

18. Венедиктова, М. Г. Онкогинекология в практике гинеколога / М. Г. Венедиктова, Ю. Э. Доброхотова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 288 с.

19. Венедиктова, М. Г. Современный взгляд на комплексную терапию дисплазии шейки матки в условиях инфицирования вирусом папилломы человека / М. Г. Венедиктова, А. Н. Саранцев, К. В. Морозова, К. Ф. Оруджова // Русский медицинский журнал. Мать и дитя. – 2019. – Т. 2, №3. – С. 237–242. DOI: 10.32364/2618-8430-2019-2-3-237-242.

20. Викулов, Г. Х. ВПЧ- и герпесвирусные инфекции: эпидемиологические, патогенетические и клинико-иммунологические аспекты, принципы диагностики и терапии / Г. Х. Викулов, С. Л. Вознесенский, Д. И. Фролкин // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2020. – № 14 (1). – С. 102–11. [Vikulov G. Kh., Voznesenskiy S. L., Frolkin D. I. HPV- and herpes virus infections: epidemiological, pathogenetic and clinical immunological aspects, principles of diagnosis and therapy // Obstetrics, Gynecology and Reproduction. – 2020. – Vol. 14 (1). – P. 102–11. (in Russian)]. – doi:10.17749/2313-7347.2020.14.1.102-111

21. Виноградова, О. П. Региональные особенности распространенности и спектра генотипов вируса папилломы человека высокого риска у женщин Республики Мордовия / О. П. Виноградова, О. В. Епифанова, Н. А. Андреева // Научные исследования стран ШОС: синергия и интеграция : материалы международной конференции. Ч. 2 (11–12 февраля 2019 г.). – Пекин, КНР, 2019. – С. 203–206.

22. Гизингер, О. А. Вирус папилломы человека: патогенез и коррекция иммунных нарушений / О. А. Гизингер, В. Е. Радзинский // Доктор.Ру. – 2021. – Т. 20, № 6. – С. 80–86. – doi:10.31550/1727-2378-2021-20-6-80-86

23. Говорун, В. М. Папилломавирусная инфекция: пособие для врачей / В. М. Говорун, М. М. Шкарупета, Н. И. Портнова, М. В. Байцур. – Москва. – 2009. – 55 с.
24. Дамиров, М. М. Кольпоскопия / М. М. Дамиров. – Москва : Бином, 2016. – 256 с.
25. Димитриади, Т. А. Прогностическое значение маркеров Ki-67 и P16/INK4a в гистологической диагностике степени дисплазии шейки матки / Т. А. Димитриади, Д. В. Бурцев, Е. А. Дженкова [и др.] // Research'n Practical Medicine Journal. – 2020. Vol. 7 (1). – P. 8–15. – URL: <https://doi.org/doi:10.17709/2409-2231-2020-7-1-1>
26. Довлетханова, Э. Р. Папилломавирусная инфекция. Теоретические и практические аспекты / Э. Р. Довлетханова, В. Н. Прилепская. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 88 с.
27. Ельчанинова, Т. И. Цитологическая диагностика фоновых и предопухолевых процессов эпителия шейки матки у женщин репродуктивного возраста / Т. И. Ельчанинова // Семейная медицина. – 2015. – № 6 (62). – С. 150.
28. ЖенПРОсвет : Всероссийский просветительский проект от профессоров для женщин и врачей / Онкопатруль: новые социальные инициативы / С. И. Роговская, В. Е. Радзинский, С. А. Узденова [и др.] // Женское здоровье и репродукция. – 2019. – № 11-12 (42-43). – С. 40–47.
29. Заболевания шейки матки и генитальные инфекции / под редакцией В. Н. Прилепской. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 384 с.
30. Зайнетдинова, Л. Ф. Состояние системного иммунитета у женщин с наружным генитальным эндометриозом и ВПЧ / Л. Ф. Зайнетдинова, А. В. Коряушкина, Л. Ф. Телешева // Российский иммунологический журнал. – 2019. – № 22 (2-1). – С. 251–253.
31. Заридзе, Д. В. Рак шейки матки и другие ВПЧ ассоциированные опухоли в России / Д. Г. Заридзе, Д. М. Максимович, И. С. Стилиди // Вопросы онкологии. – 2020. – №4 (66). – С. 325 – 335.

32. Зароченцева, Н. В. Папилломавирусная инфекция и ВПЧ-ассоциированные заболевания // Н. В. Зароченцева, Ю. М. Белая, М. Ю. Щербакова, Е. Н. Выжлова, В. В. Малиновская // Лечащий врач. – 2017. – №4. – С. 56.
33. Зенкевич, А. А. Молекулярно-генетические механизмы ВПЧ-индуцированного канцерогенеза / А. А. Зенкевич, Е. А. Шмальц // Научный форум. – Сибирь, 2020. – № 6 (2). – Р. 48–51.
34. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность) / под редакцией А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой. – Москва : МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. – 250 с.
35. Каприн, А. Д. Скрининг рака шейки матки – нерешенные проблемы / А. Д. Каприн, Е. Г. Новикова, О. И. Трушина, О. П. Грецова // Исследования и практика в медицине. – 2015. – Т. 2, № 1. – С. 36–41.
36. Караулов, А. В. Принципы иммунопрофилактики и иммунотерапии рецидивирующих респираторных заболеваний / А. В. Караулов, С. И. Сокуренок, Г. В. Бармотин // Иммунопатология. – 2000. – С.42–48.
37. Каюкова, Е. В. Возможности онкомаркеров в выявлении рака шейки матки / Е. В. Каюкова, Т. В. Каюкова // Забайкальский медицинский журнал. – 2015. – № 1. – С. 38–44.
38. Кириллина, М. П. Вирус папилломы человека как фактор развития рака шейки матки / М. П. Кириллина, И. В. Кононова, С. И. Софронова, П. М. Иванов // Якутский медицинский журнал. – 2020. – № 4 (72). – С. 82–86. – doi:10.25789/УМЖ.2020.72.20
39. Кисина, В. И. Ведение больных инфекциями, передаваемыми половым путем. Руководство для врачей / В. И. Кисина, К. И. Забиров, А. Е. Гуцин. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 272 с.
40. Ковчур, П. И. Способ комплексной терапии преинвазивного и инвазивного рака шейки матки / П. И. Ковчур, Г. П. Беккер, С. И. Ким // Патент № 2013 141 056 А RU, №2013141056/15, 06.09.2013, опубл. 20.03.2015

41. Комплексная борьба с раком шейки матки. Краткое практическое руководство / Всемирная организация здравоохранения. – 2010. – 278 с.
42. Кондратьева, Ю. С. Урогенитальные инфекции и заболевания мочеполовой системы / Ю. С. Кондратьева, А. И. Неймарк. – Москва : Е-нот, 2017. – 216 с.
43. Коновалова, Н. В. Роль уровня интерферонов а и У в крови больных увеитами вирусной этиологии под влиянием лечения препаратом аллокин-альфа / Н. В. Коновалова, Н. И. Храменко, Л. Н. Величко, Л. А. Юрченко // Точка зрения. Восток – Запад. – 2018. – № 4. – С. 26–29. – doi:10.25276/2410-1257-2018-4-26-29
44. Кононова, И. Н. Значение противовирусной иммуномодулирующей терапии в улучшении исходов лечения ВПЧ-ассоциированной патологии шейки матки / И. Н. Кононова, Т. А. Обоскалова, О. А. Гизингер // Акушерство и гинекология. – 2015. – № 8. – С. 119–123.
45. Кореева, В. Н. Применение локальной цитокинотерапии в акушерско-гинекологической практике / В. Н. Кореева, Ю. Э. Доброхотова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2013. – № 5. – С. 99–104. = [Koreeva V. N., Dobrokhotova Yu. E. Primenenie lokal'noi tsitokinoterapii v akushersko-ginekologicheskoi praktike // Ros. vestn. akushera-ginekologa. – 2013. – Vol. 5. – P. 99–104].
46. Короленкова, Л. И. Зона трансформации шейки матки как объект канцерогенного действия вирусов папилломы человека при возникновении CIN и инвазивного рака – отражение в клинике / Л. И. Короленкова, В. Д. Ермилова // Архив патологии. – 2011. – Т. 73, № 6. – С. 33–37.
47. Короленкова, Л. И. Инвазивный рак шейки матки – упущенные возможности диагностики CIN / Л. И. Короленкова // Онкогинекология. – 2012. – № 2. – С. 19–23.
48. Короленкова, Л. И. Роль ВПЧ-тестирования методом гибридного захвата (Hybrid Capture 2) в оценке эффективности органосохраняющего лечения тяжелых интраэпителиальных неоплазий, преинвазивного и микроинвазивного рака шейки матки / Л. И. Короленкова // Вопросы онкологии. – 2011. – Т. 57, № 3. – С. 322–326.

49. Короленкова, Л. И. Цервикальные интраэпителиальные неоплазии и ранние формы рака шейки матки: клинико-морфологическая концепция цервикального канцерогенеза / Л. И. Короленкова. – Москва, 2017. – 300 с.

50. Краснопольский, В. И. Облигатные формы предрака и инвазивный рак шейки матки. Руководство для врачей / В. И. Краснопольский. – Москва : Специальное издательство медицинских книг, 2017. – 160 с.

51. Леванова, Н. Д. Венерические заболевания / Н. Д. Леванова. – Москва : Научная книга, 2017. – 258 с.

52. Мазитова, М. И. Этапы развития цитологического скрининга рака шейки матки / М. И. Мазитова, М. С. Бикинцев // Русский медицинский журнал. Мать и дитя. – 2019. – Т. 2, № 4. – С. 322–326.

53. Манухин, И. Б. «Подводные камни» цервикального скрининга / И. Б. Манухин, С. В. Фириченко, С. И. Роговская и др. // Доктор.ру. – 2018. – № 2 (146). – С. 26–34.

54. Марковский А. В. Роль некоторых толл-подобных рецепторов в патогенезе злокачественных новообразований / А. В. Марковский // Забайкальский медицинский вестник. – 2018. № 3. – Р. 120–126. = [Markovsky, A. V. The role of some Toll-like receptors in the pathogenesis of malignant neoplasms // Transbaikalian Medical Bulletin. 2018. – Vol. 3. – Р. 120–126. (in Russian)].

55. Маянский А.Н. Папилломавирусы человека: Возбудители доброкачественных и злокачественных неоплазий. Вопр диагностики в педиатрии. – 2010. – №2. – С. 5–11.

56. Международная ассоциация по патологии шейки матки и кольпоскопия. – URL: [www.IFCPCinfo.com](http://www.IFCPCinfo.com)

57. Мельникова, Н. В. Цервикальные интраэпителиальные неоплазии: анализ профиля мРНК в практике жидкостной цитологии / Н.В. Мельникова, В.К. Боженко, И.Б. Антонова, Н.А. Бабаева, Н.Ю. Яровая, Н.А. Болотина, М.В. Захаренко, А.Л. Сенчукова, Н.Б. Акопова, Н.В. Александрова, О.В. Бурменская, Л.А. Ашрафян // Акушерство и гинекология. – 2017. – № 4. – С. 95–100.

58. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Клинические рекомендации. Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки. – Москва : Российское общество акушеров-гинекологов (РОАГ), Общероссийская общественная организация «Российское общество специалистов по профилактике и лечению опухолей репродуктивной системы» (РОСОРС), 2020.

59. Минкина, Г.Н. Цитологический скрининг рака шейки матки: от традиционного пап-теста к компьютерным технологиям / Г.Н. Минкина // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2017. – Т. 11. – № 1. – С.56–64.

60. Молочков, В. А. Генитальная папилломавирусная инфекция / В. А. Молочков, В. И. Киселев, Ю. В. Молочкова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 126 с.

61. Нарвская, О. В. Вирус папилломы человека. Эпидемиология, лабораторная диагностика и профилактика папилломавирусной инфекции / О. В. Нарвская // Инфекция и иммунитет. – 2011. – № 1. – С. 15–22.

62. Национальное руководство по гинекологии / под редакцией Г. М. Савельевой, Г. Т. Сухих, В. Н. Серова, В. Е. Радзинского, И. Б. Манухина. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 989 с.

63. Наяйр, Р. Цервикальная цитология по системе Бетесда. Терминология, критерии и пояснения / Р. Наяйр, Д. Уилбур. – Москва : Практическая медицина, 2017. – 304 с.

64. Невежкина, Т. А. Показатели системы интерферонов, матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у женщин с папилломавирусной инфекцией в период прегравидарной подготовки / Т. А. Невежкина, С. В. Кныш, Е. А. Чагина [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2020. – № 23 (3). – С. 263–270.

65. Опухоли тела и шейки матки: морфологическая диагностика и генетика: руководство для врачей / под редакцией Ю. Ю. Андреевой, Г. А. Франка. – Москва : Практическая медицина, 2015. – 304 с.

66. Полонская, Н. Ю. Цитологическое исследование цервикальных мазков. Пап-тест / Н. Ю. Полонская, И. В. Юрасова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 168 с.
67. ПЦР в реальном времени. – Москва : Бином. Лаборатория знаний, 2014. – 224 с.
68. Радзинский, В. Е. Индукторы интерферонов в комплексной терапии заболеваний шейки матки при персистирующей папилломавирусной инфекции / В. Е. Радзинский, И. М. Ордянец, Н. В. Буянова, Е. В. Зыков // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 1. – С. 121–126.
69. Роговская, С. И. ВПЧ-инфекция: комбинированная терапия. Эффективные стратегии комбинированного лечения ВПЧ-ассоциированных генитальных заболеваний: информационный бюллетень / С. И. Роговская, А. В. Ледина, И. Д. Ипастова; под ред. В.Е.Радзинского – М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2017.– 16 с.
70. Роговская, С. И. Ведение пациенток с легкой цервикальной дисплазией. Возможности аргоноплазменной абляции / С. И. Роговская, А. В. Ледина, Т. Н. Бебнева, А. Х. Гайдарова // Доктор.Ру. – 2016. – № 8 (125) ; № 9 (126). – С. 11–15.
71. Роговская, С. И. Организационные вопросы профилактики рака шейки матки в России / С. И. Роговская, И. П. Шабалова, Г. Э. Улумбекова [и др.] // ОРГЗДРАВ: новости, мнения, обучения. Вестник ВШОУЗ. – 2021. – Т. 7, № 4 (26). – С. 16–31. – doi:10.33029/2411-8621-2021-7-4-16-31
72. Руководство по амбулаторно-поликлинической помощи в акушерстве и гинекологии / под ред. В. Н. Серова, Г. Т. Сухих, В. Н. Прилепской, В. Е. Радзинского. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 1136 с.
73. Свитич, О. А. Перспективы использования агонистов рецепторов врожденного иммунитета и дефектных вирусных интерферирующих частиц в качестве адъювантов нового поколения / О. А. Свитич, В. Ф. Лавров, П. И. Кукина [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2018. – № 17 (1). – С. 76–86.

74. Сингер, А. Предраковые заболевания шейки матки, влагалища, вульвы. Диагностика и лечение / А. Сингер, А. Хан / под редакцией С. И. Роговской. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 312 с.
75. Сметник, В. П. Информационный обзор материалов VI Всемирного конгресса по гинекологической эндокринологии (Швейцария, 1998) / В. П. Сметник, Я. З. Зайцева, Г. Е. Чернуха [и др.] // Проблемы репродукции. – 1999. – № 1. – С. 15–18.
76. Современная цитологическая диагностика и тактика ведения пациенток с патологическими состояниями шейки матки : методические рекомендации / под редакцией Э. К. Айламазяна, И. М. Кветного. – Санкт-Петербург : Н-Л, 2014. – 32 с.
77. Соловьев, А. М. Место иммунотерапии в лечении рецидивирующих вирусных инфекций урогенитального тракта / А. М. Соловьев, Ю. Н. Перламутров, И. М. Корсунская // Клиническая дерматология и венерология. – 2020. – № 19 (3). – С. 419–426.
78. Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году / под редакцией А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой. – Москва : МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. – 236 с.
79. Сухих, Г. Т. Система интерферонов при папилломавирусной инфекции / Г. Т. Сухих, Н. С. Логинова, И. А. Аполихина и др. // Акушерство и гинекология. – 2000. – № 3. – С. 28–31.
80. Сухих, Г. Т. Показатели иммунитета у больных с папилломавирусной инфекцией гениталий / Г. Т. Сухих, Н. К. Матвеева, И. А. Аполихина [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2002. – № 2. – С. 20–25.
81. Хаитов, Р. М. Иммунология: Учебник / Р. М. Хаитов, Г. А. Игнатьева, И. Г. Сидорович // Москва: Медицина. – 2000 – 432 с.
82. Цитология жидкостная и традиционная при заболеваниях шейки матки / под редакцией И. П. Шабаловой, К. Т. Касаян. – Тверь : Триада, 2015. – 316 с.

83. Шабалова, И. П. Рак шейки матки в XXI веке: гинеколог, клинический цитолог, специалист по молекулярным исследованиям / И. П. Шабалова, А. В. Ледина, Л. Г. Созаева [и др.] // Новости клинической цитологии России. – 2018. – Т. 22, № 3-4. – С. 31–36.

84. Шейка матки, влагалище, вульва. Физиология, патология, кольпоскопия, эстетическая коррекция: руководство для практикующих врачей / под редакцией С. И. Роговской, Е. В. Липовой. – Москва : Редакция журнала Status Praesens, 2014. – 832 с.

85. Шмакова, Н. А. Цервикальные интраэпителиальные неоплазии высокой степени онкогенного риска и рак шейки матки: актуальность проблемы, поиск перспектив (обзор литературы) / Н. А. Шмакова, Г. Н. Чистякова, И. Н. Кононова // Проблемы репродукции. – 2021. – № 27 (1). – С. 33–38. – doi:10.17116/repro20212701133

86. ACOG Practice Bulletin No. 157 Summary: Cervical Cancer Screening and Prevention // *Obstetrics & Gynecology*. – 2016. – Vol. 127, iss. 1. – P. 185–187.

87. American College of Obstetricians and Gynecologists. Human Papillomavirus Vaccination. Committee Opinion Number 704. – 2017. – June.

88. Anastasiou E. The relationship between hormonal contraception and cervical dysplasia/cancer controlling for human papillomavirus infection: A systematic review / E. Anastasiou, KJ. McCarthy, EL. Gollub [et al.] // *Contraception*. – 2022. – Mar. –107:1-9. – doi: 10.1016/j.contraception.2021.10.018

89. Argüelles, S. Advantages and disadvantages of apoptosis in the aging process / S. Argüelles, A. Guerrero-Castilla, M. Cano [et al.] // *Ann N Y Acad Sci*. – 2019. – Vol. 1443 (1). – P.20–33.

90. Berti, F C. The role of interleukin 10 in human papilloma virus infection and progression to cervical carcinoma / F. C. Berti, A. P. Pereira, G. C. Cebinelli [et al.] // *Cytokine & growth factor reviews*. – 2017. – Apr 1. – Vol. 34. – P. 1–3.

91. Blancas, S. Protein Expression Analysis in Uterine Cervical Cancer for Potential Targets in Treatment / S. Blancas, R. Medina-Berlanga, L. Ortíz-García [et al.]

// Pathol Oncol Res. – 2019. – Apr. – №25 (2). – P. 493-501. – 10.1007/s12253-018-0401-0

92. Bonde, J. H. Clinical Utility of Human Papillomavirus Genotyping in Cervical Cancer Screening: A Systematic Review / J. Bonde, M. T. Sandri, D. S. Gary [et al.] // Journal of lower genital tract disease. – 2019. – Vol. 24. – P. 1–13.

93. Bottari, F. Profile of the BD HPV Onclarity™ assay / F. Bottari, AD. Iacobone // Expert Rev Mol Diagn. – 2019. – Jul. – №19 (7). – P. 565 – 570. – doi: 10.1080/14737159.2019.1622415

94. Bowden, SJ. Genetic variation in cervical preinvasive and invasive disease: a genome-wide association study / SJ. Bowden, B. Bodinier, I. Kalliala [et al.] // Lancet Oncol. – 2021. – Apr. – №22(4). – P. 548-557.

95. Brianti, P. Review of HPV-related diseases and cancers / P. Brianti, E. De Flammineis, SR Mercuri // New Microbiol. – 2017. – Apr. – №40(2). – P. 80-85.

96. Brown, D. R. Human papillomavirus seroprevalence and seroconversion following baseline detection of nine human papillomavirus types in young women / D. R. Brown, X. Castellsagué, D. Ferris [et al.] // Tumour Virus Research. – 2022. – Vol. 13. – P. 200-236.

97. Clure, C. Primary Herpes Simplex Virus Infection Mimicking a Cervical Malignancy in an Immunocompetent Individual. / C. Clure, Rivard C. // Cureus. – 2018. – Jun 6. – №10(6). – P. e2753. – doi: 10.7759/cureus.2753

98. Das, CR. Deregulated TNF-Alpha Levels Along with HPV Genotype 16 Infection Are Associated with Pathogenesis of Cervical Neoplasia in Northeast Indian Patients / CR. Das, D. Tiwari, A. Dongre [et al.] // Viral Immunol. – 2018. – № 31 (4). – P. 282-291.

99. Daud, I. I. Association between toll-like receptor ex-pression and human papillomavirus type 16 persistence / I. I. Daud, M. E. Scott, Y. Ma [et al.] // Int. J. Cancer. – 2011. – Vol. 128 (4). – P. 879–886. – doi:10.1002/ijc.25400

100. Dinarello, CA. Interleukin-18 and IL-18 binding protein / CA. Dinarello, D. Novick, S. Kim [et al.] // Front Immunol. – 2013. – Oct. – Vol. 4. – P.289. – doi: 10.3389/fimmu.2013.00289

101. Dushkin, A. Personalized approach to management of high-grade squamous intraepithelial lesion / A. Dushkin, M. Afanasiev, S. Afanasiev [et al.] // *Photodiagnosis Photodyn Ther.* – 2022. – Sep. – №39. – 103038. – doi: 10.1016/j.pdpdt.2022.103038
102. Egawa, N. The low-risk papillomaviruses / N. Egawa, J. Doorbar // *Virus Research.* – 2017. – № 231. – P. 119–127.
103. Eleftheriadis, T. Malate dehydrogenase-2 inhibitor LW6 promotes metabolic adaptations and reduces proliferation and apoptosis in activated human T-cells / T. Eleftheriadis, G. Pissas, G. Antoniadis [et al.] // *Exp. Ther. Med.* – 2015. – № 10 (5). – P. 1959–1966. – doi:10.3892/etm.2015.2763
104. Ekonomopoulou, M.T. Changes in activities of caspase-8 and caspase-9 in human cervical malignancy / M.T. Ekonomopoulou, E. Babas, E. Mioglou-Kalouptsi [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2011. – Vol. 21(3). – P. 435–438.
105. Galloway, D. A. Human papillomaviruses: shared and distinct pathways for pathogenesis / D. A. Galloway, L. A. Laimins // *Curr. Opin. Virol.* – 2015. – Vol. 14. – P. 87–92.
106. Garlanda, C. The Interleukin-1 Family: Back to the Future / Garlanda C., Dinarello CA., Mantovani A. // *Immunity.* – 2013. – №39(6). – P. 1003-1018.
107. Garzón-Olivares CD, Grillo-Ardila CF, Amaya-Guio J, Vallejo-Ortega MT, Diaz-Cruz LA, Fernández-Motta C, Gomez-Motta ADP, Barrera AT, Trujillo-Sánchez LM, Pérez-Moreno CH, Bonilla-Osma LJ, Fernández-Mercado R, Giraldo-Méndez NA, Caro-Caro JE, Ramírez-Corredor AL, Rodríguez-Hernández DM. Primary HPV-DNA screening in women under 30 years of age: health technology assessment. *Rev Colomb Obstet Ginecol.* 2022 Jun 30;73(2):203-222. English, Spanish. doi: 10.18597/rcog.3866. PMID: 35939411; PMCID: PMC9395198.
108. Gatta, L. B. Diagnostic implications of L1, p16, and Ki-67 proteins and HPV DNA in low-grade cervical intraepithelial neoplasia / L.B. Gatta, A. Berenzi, P. Balzarini [et al.] // *J. Gynecol. Pathol.* – 2011. – Vol. 30 (6). – P. 597– 604.
109. Guo, M. Three-year risk of high-grade CIN for women aged 30 years or older who undergo baseline Pap cytology and HPV co-screening / M. Guo, A. Khanna, J.

Wang [et al.] // *Cancer Cytopathol.* – 2017. – №125 (8). – P. 644 – 651. – doi: 10.1002/ency.21877

110. Gupta, S. HPV: Molecular pathways and targets / S. Gupta, P. Kumar, BC. Das // *Curr Probl Cancer.* – 2018. – №42 (2). – P. 161–174. – doi: 10.1016/j.currprobcancer.2018.03.003

111. Hannaford, P. C. Cancer risk among users of oral contraceptives: cohort data from the royal College of General Practitioner's oral contraceptive study / P. C. Hannaford, S. Selvaraja, A. M. Elliot A. M. et al. // *Br. Med. J.* – 2007. – Vol. 335. N 7621. – P. 651–654.

112. Jorgovanovic, D. Roles of IFN- $\gamma$  in tumor progression and regression: a review / D. Jorgovanovic, M. Song, L. Wang // *Biomark Res.* – 2020. – Sep 29. – №8(49) – doi: 10.1186/s40364-020-00228-x

113. Katki, H. A. Five-year risk of cervical cancer and CIN3 for HPV-positive and HPV-negative high-grade Pap results / H. A. Katki, M. Schiffman, P. E. Castle, B. Fetterman, N. E. Poitras, T. Lorey [et al.] // *J Low Genit Tract: dis.* – 2013. – Vol. 17. – P. 50–55.

114. Kurmyshkina, O. Markers of Angiogenesis, Lymphangiogenesis, and Epithelial-Mesenchymal Transition (Plasticity) in CIN and Early Invasive Carcinoma of the Cervix: Exploring Putative Molecular Mechanisms Involved in Early Tumor Invasion / O. Kurmyshkina, P. Kovchur, L. Schegoleva [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2020. – №21 (18). – P. 6515. – doi: 10.3390/ijms21186515

115. La Vecchia, C. Oral contraceptives, human papillomavirus and cervical cancer / C. La Vecchia, S. Boccia // *Eur. J. Cancer Prev.* - 2014. - Vol. 23, N 2. - P. 110–112.

116. Lin, W. Imbalance of Th1/Th2 and Th17/Treg during the development of uterine cervical cancer / W. Lin, Z. Niu, H. Zhang [et al.] // *International journal of clinical and experimental pathology.* – 2019. – Vol. 12 (9). – P. 3604.

117. Long, D. L. Cytokines profiles in cervical mucosa in patients with cervical high-risk human papillomavirus infection / D. L. Long, H. L. Song, P. P. Qu // *J Infect Dev Ctries.* – 2021. – Vol. 15. – P. 719–725. – doi:10.3855/jidc.12147

118. Magalhães, G. M. Update on human papilloma virus. Part I: epidemiology, pathogenesis, and clinical spectrum / G. M. Magalhães, É. C. Vieira, L. C. Garcia [et al.]. // *An. Bras. Dermatol.* – 2021. – Vol. 96 (1). – P. 1–16. – doi:10.1016/j.abd.2020.11.003
119. Makde, M. M, Sathawane P. Liquid-based cytology: Technical aspects. *Cytojournal*. 2022 Jun 14;19:41. doi: 10.25259/CMAS\_03\_16\_2021. PMID: 35928530; PMCID: PMC9345114.
120. Malevolti, MC. Dose-risk relationships between cigarette smoking and cervical cancer: a systematic review and meta-analysis / MC. Malevolti, A. Lugo, M. Scala [et al.] // *Eur J Cancer Prev.* – 2022. – Nov. – № 297(2). – P. 295–311. – Nov 10. – doi: 10.1097/CEJ.0000000000000773
121. Manini, I. Epidemiology and prevention of Human Papillomavirus / I. Manini, E. Montomoli // *Ann Ig.* – 2018. – P. 28-32.
122. Maura, G. Cervical cancer screening and subsequent procedures in women under the age of 25 years between 2007 and 2013 in France: a nationwide French healthcare database study / G. Maura, C. Chaignot, A. Weill [et al.] // *Eur J Cancer Prev.* – 2018. – Sep. – №27 (5). – P. 479-485.
123. Nelson, T. M. Cigarette smoking is associated with an altered vaginal tract metabolomic profile / T. M. Nelson, J. C. Borgogna, R. D. Michalek [et al.] // *Sci Rep.* – 2018. – Vol. 8 (1). – P. 1–13.
124. Nunes, R. A. L. Innate immunity and HPV: friends or foes / R. A. L. Nunes, M. G. Morale, S. GÁF, L. L. Villa // *Clinics (Sao Paulo)*. – 2018. – Oct 11. – Vol. 73. – P. e549s. – doi: 10.6061/clinics/2018/e549s
125. Origoni, M. Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) in pregnancy: the state of the art / M. Origoni, S. Salvatore, A. Perino [et al.] // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2014. – Vol. 18, № 6. – P. 851–860.
126. Peghini, B. C. Local cytokine profiles of patients with cervical intraepithelial and invasive neoplasia / B. C. Peghini, D. R. Abdalla, A. C. Barcelos [et al.] // *Human immunology.* – 2012. – Sep. – Vol. 73 (9). – P. 920–926.

127. Petrini, CG. Downregulation of IL-2 and IL-23 in Cervical Biopsies of Cervical Intraepithelial Lesions: A Cross-Sectional Study / CG. Petrini, LB. Bastos, G. Duarte [et al.] // *Acta Cytol.* – 2020. – №64 (5). – P. 442 – 451. – doi: 10.1159/000508015

128. Pretorius, R. G. Colposcopically directed biopsy, random cervical biopsy, and endocervical curettage in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia II or worse / R. G. Pretorius, W. H. Zhang, J. L. Belinson [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2004. – Vol. 191 (2). – P. 430–434. – doi:10.1016/j.ajog.2004.02.065

129. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results. *Cancer Cytopathol.* – 2015. – Jun. – Vol. 123 (6). – P. 373–381. – doi:10.1002/cncy.21542

130. Rosenfeld, W.D. Follow up evaluation of cervicovaginal human papillomavirus infection in adolescent / W.D. Rosenfeld, E. Rose, S.H. Vermund [et al.] // *J. Pediatr.* — 1992. — V. 121. — P. 307–311.

131. Roura, E. The Influence of Hormonal Factors on the Risk of Developing Cervical Cancer and Pre-Cancer: Results from the EPIC Cohort / E. Roura, N. Travier, T. Waterboer [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11 (1). – P. 1–17. – doi:10.1371/journal.pone.0147029

132. Schiffman, M. Carcinogenic human papillomavirus infection / M. Schiffman, J. Doorbar, N. Wentzensen [et al.] // *Nat Rev Dis Prim.* – 2016. – Vol. 2.

133. Schindler, R. Genital Cytokines in HIV/Human Papillomavirus Co-Infection: A Systematic Review / R. Schindler, A. Magalhães, E. L. F. Costa [et al.] // *AIDS Research and Human Retroviruses.* – 2022. – №38 (9). – P. 683–691. – doi: 10.1089/AID.2021.013

134. Shrestha, AD. Cervical Cancer Prevalence, Incidence and Mortality in Low and Middle Income Countries: A Systematic Review / AD. Shrestha, D. Neupane, P. Vedsted [et al.] // *Asian Pac J Cancer Prev.* – 2018. – Feb. – №19 (2). – P. 319-324.

135. Sidorkiewicz, I. Plasma Levels and Tissue Expression of Selected Cytokines, Metalloproteinases and Tissue Inhibitors in Patients With Cervical Cancer /

I. Sidorkiewicz, B. Piskór, E. Dąbrowska [et al.] // *Anticancer Res.* 1.– 2019. – Nov. – №39 (11). – P. 6403 – 6412. – doi: 10.21873/anticancerres.13854

136. Thakur, A. Risk factors for cancer cervix among rural women of a hilly state: a case-control study / A. Thakur, B. Gupta, A. Gupta [et al.] // *Indian J Public Health.* – 2015. – Jan. – №59 (1). – P. 45-48.

137. Van Ostade, X. Candidate biomarkers in the cervical vaginal fluid for the (self) diagnosis of cervical precancer / X. Van Ostade, M. Dom, W. Tjalma [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2018. – № 297(2). – P. 295–311. – doi: 10.1007/s00404-017-4587-2

138. Zhang, S. Cervical cancer: Epidemiology, risk factors and screening / S. Zhang, H. Xu, L. Zhang [et al.] // *Chin J Cancer Res.* – 2020. – Dec. – P. 720 – 728.

139. Zhou, C. Papillomavirus immune evasion strategies target the infected cell and the local immune system / C. Zhou, Z.K. Tuong, I.H. Frazer // *Front Oncol.* – 2019. – № 9. – P. 682.

140. Zhumasheva, K. A. Genetic condition of human papillomavirus high carcinogenic risk / G.P. Pogossyan, B.K. Zhumashev, M. Danilenko // *Bulletin of the Karaganda University «Biology, medicine, geography Series»* – 2020. – №1 (97). – P. 29 – 40.

141. Abu-Lubad, M. A. Human papillomavirus as an independent risk factor of invasive cervical and endometrial carcinomas in Jordan / M. A. Abu-Lubad, D. A. Jarajreh, G. F. Helaly [et al.] // *Infect. Public Health.* – 2020. – Vol. 13 (4). – P. 613–628. – URL: <https://dx.doi.org/1016/joiph.2019.08.017>

**ПРИЛОЖЕНИЕ 1**

Координаты ROC-кривой для классификации на основании переменной «IFN- $\gamma$ » между пациентками с CIN I и группой контроля

IFN- $\gamma$	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
71,100	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	100,0%	0,0%
74,650	1,000	0,977	0,023	1,023	0,977	100,0%	2,3%
78,200	1,000	0,953	0,047	1,047	0,953	100,0%	4,7%
80,045	1,000	0,930	0,070	1,070	0,930	100,0%	7,0%
82,035	1,000	0,907	0,093	1,093	0,907	100,0%	9,3%
83,235	1,000	0,884	0,116	1,116	0,884	100,0%	11,6%
84,015	1,000	0,860	0,140	1,140	0,860	100,0%	14,0%
84,950	1,000	0,837	0,163	1,163	0,837	100,0%	16,3%
85,205	1,000	0,814	0,186	1,186	0,814	100,0%	18,6%
85,340	1,000	0,791	0,209	1,209	0,791	100,0%	20,9%
85,565	1,000	0,767	0,233	1,233	0,767	100,0%	23,3%
85,720	1,000	0,744	0,256	1,256	0,744	100,0%	25,6%
86,180	1,000	0,721	0,279	1,279	0,721	100,0%	27,9%
87,495	1,000	0,698	0,302	1,302	0,698	100,0%	30,2%
88,385	1,000	0,674	0,326	1,326	0,674	100,0%	32,6%
88,460	1,000	0,651	0,349	1,349	0,651	100,0%	34,9%
88,560	1,000	0,628	0,372	1,372	0,628	100,0%	37,2%
88,930	1,000	0,605	0,395	1,395	0,605	100,0%	39,5%
89,380	1,000	0,581	0,419	1,419	0,581	100,0%	41,9%
89,800	1,000	0,535	0,465	1,465	0,535	100,0%	46,5%
90,200	1,000	0,512	0,488	1,488	0,512	100,0%	48,8%
90,500	1,000	0,488	0,512	1,512	0,488	100,0%	51,2%
90,720	1,000	0,465	0,535	1,535	0,465	100,0%	53,5%
90,950	1,000	0,442	0,558	1,558	0,442	100,0%	55,8%
91,180	1,000	0,419	0,581	1,581	0,419	100,0%	58,1%
91,675	1,000	0,395	0,605	1,605	0,395	100,0%	60,5%

92,210	1,000	0,349	0,651	1,651	0,349	100,0%	65,1%
92,705	1,000	0,326	0,674	1,674	0,326	100,0%	67,4%
93,155	1,000	0,302	0,698	1,698	0,302	100,0%	69,8%
93,260	1,000	0,279	0,721	1,721	0,279	100,0%	72,1%
93,385	1,000	0,256	0,744	1,744	0,256	100,0%	74,4%
93,630	1,000	0,233	0,767	1,767	0,233	100,0%	76,7%
94,025	1,000	0,209	0,791	1,791	0,209	100,0%	79,1%
94,240	1,000	0,186	0,814	1,814	0,186	100,0%	81,4%
94,360	1,000	0,163	0,837	1,837	0,163	100,0%	83,7%
94,550	1,000	0,140	0,860	1,860	0,140	100,0%	86,0%
94,685	1,000	0,116	0,884	1,884	0,116	100,0%	88,4%
94,945	1,000	0,093	0,907	1,907	0,093	100,0%	90,7%
96,165	1,000	0,070	0,930	1,930	0,070	100,0%	93,0%
97,395	1,000	0,047	0,953	1,953	0,047	100,0%	95,3%
<b>97,930</b>	<b>1,000</b>	<b>0,023</b>	<b>0,977</b>	<b>1,977</b>	<b>0,023</b>	<b>100,0%</b>	<b>97,7%</b>
98,615	0,988	0,023	0,977	1,965	0,011	98,8%	97,7%
<b>99,075</b>	<b>0,977</b>	<b>0,023</b>	<b>0,977</b>	<b>1,954</b>	<b>0,000</b>	<b>97,7%</b>	<b>97,7%</b>
<b>99,325</b>	<b>0,977</b>	<b>0,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,977</b>	<b>0,023</b>	<b>97,7%</b>	<b>100,0%</b>
99,820	0,965	0,000	1,000	1,965	0,035	96,5%	100,0%
100,320	0,953	0,000	1,000	1,953	0,047	95,3%	100,0%
100,700	0,942	0,000	1,000	1,942	0,058	94,2%	100,0%
101,200	0,930	0,000	1,000	1,930	0,070	93,0%	100,0%
101,530	0,919	0,000	1,000	1,919	0,081	91,9%	100,0%
102,755	0,907	0,000	1,000	1,907	0,093	90,7%	100,0%
104,045	0,895	0,000	1,000	1,895	0,105	89,5%	100,0%
104,520	0,884	0,000	1,000	1,884	0,116	88,4%	100,0%
104,925	0,872	0,000	1,000	1,872	0,128	87,2%	100,0%
105,055	0,860	0,000	1,000	1,860	0,140	86,0%	100,0%
105,330	0,849	0,000	1,000	1,849	0,151	84,9%	100,0%
106,140	0,837	0,000	1,000	1,837	0,163	83,7%	100,0%
106,850	0,826	0,000	1,000	1,826	0,174	82,6%	100,0%
107,175	0,814	0,000	1,000	1,814	0,186	81,4%	100,0%
107,615	0,802	0,000	1,000	1,802	0,198	80,2%	100,0%
108,975	0,791	0,000	1,000	1,791	0,209	79,1%	100,0%

110,265	0,779	0,000	1,000	1,779	0,221	77,9%	100,0%
110,440	0,767	0,000	1,000	1,767	0,233	76,7%	100,0%
110,505	0,756	0,000	1,000	1,756	0,244	75,6%	100,0%
110,855	0,744	0,000	1,000	1,744	0,256	74,4%	100,0%
111,650	0,733	0,000	1,000	1,733	0,267	73,3%	100,0%
112,265	0,721	0,000	1,000	1,721	0,279	72,1%	100,0%
112,485	0,709	0,000	1,000	1,709	0,291	70,9%	100,0%
112,670	0,698	0,000	1,000	1,698	0,302	69,8%	100,0%
113,490	0,686	0,000	1,000	1,686	0,314	68,6%	100,0%
114,905	0,674	0,000	1,000	1,674	0,326	67,4%	100,0%
115,920	0,663	0,000	1,000	1,663	0,337	66,3%	100,0%
116,240	0,651	0,000	1,000	1,651	0,349	65,1%	100,0%
116,810	0,640	0,000	1,000	1,640	0,360	64,0%	100,0%
117,400	0,628	0,000	1,000	1,628	0,372	62,8%	100,0%
118,600	0,616	0,000	1,000	1,616	0,384	61,6%	100,0%
120,040	0,605	0,000	1,000	1,605	0,395	60,5%	100,0%
120,420	0,593	0,000	1,000	1,593	0,407	59,3%	100,0%
120,540	0,581	0,000	1,000	1,581	0,419	58,1%	100,0%
120,600	0,570	0,000	1,000	1,570	0,430	57,0%	100,0%
121,165	0,558	0,000	1,000	1,558	0,442	55,8%	100,0%
121,990	0,547	0,000	1,000	1,547	0,453	54,7%	100,0%
122,855	0,535	0,000	1,000	1,535	0,465	53,5%	100,0%
123,820	0,523	0,000	1,000	1,523	0,477	52,3%	100,0%
124,560	0,512	0,000	1,000	1,512	0,488	51,2%	100,0%
125,125	0,500	0,000	1,000	1,500	0,500	50,0%	100,0%
125,425	0,488	0,000	1,000	1,488	0,512	48,8%	100,0%
125,515	0,477	0,000	1,000	1,477	0,523	47,7%	100,0%
125,680	0,465	0,000	1,000	1,465	0,535	46,5%	100,0%
125,870	0,453	0,000	1,000	1,453	0,547	45,3%	100,0%
126,010	0,442	0,000	1,000	1,442	0,558	44,2%	100,0%
126,855	0,430	0,000	1,000	1,430	0,570	43,0%	100,0%
127,595	0,419	0,000	1,000	1,419	0,581	41,9%	100,0%
127,650	0,407	0,000	1,000	1,407	0,593	40,7%	100,0%
127,775	0,395	0,000	1,000	1,395	0,605	39,5%	100,0%

127,875	0,384	0,000	1,000	1,384	0,616	38,4%	100,0%
128,300	0,372	0,000	1,000	1,372	0,628	37,2%	100,0%
129,520	0,360	0,000	1,000	1,360	0,640	36,0%	100,0%
130,445	0,349	0,000	1,000	1,349	0,651	34,9%	100,0%
131,345	0,326	0,000	1,000	1,326	0,674	32,6%	100,0%
132,420	0,314	0,000	1,000	1,314	0,686	31,4%	100,0%
132,820	0,302	0,000	1,000	1,302	0,698	30,2%	100,0%
133,190	0,291	0,000	1,000	1,291	0,709	29,1%	100,0%
133,550	0,279	0,000	1,000	1,279	0,721	27,9%	100,0%
134,035	0,267	0,000	1,000	1,267	0,733	26,7%	100,0%
134,505	0,256	0,000	1,000	1,256	0,744	25,6%	100,0%
134,875	0,244	0,000	1,000	1,244	0,756	24,4%	100,0%
135,290	0,233	0,000	1,000	1,233	0,767	23,3%	100,0%
135,590	0,221	0,000	1,000	1,221	0,779	22,1%	100,0%
136,250	0,209	0,000	1,000	1,209	0,791	20,9%	100,0%
137,310	0,198	0,000	1,000	1,198	0,802	19,8%	100,0%
138,565	0,186	0,000	1,000	1,186	0,814	18,6%	100,0%
139,680	0,174	0,000	1,000	1,174	0,826	17,4%	100,0%
140,470	0,163	0,000	1,000	1,163	0,837	16,3%	100,0%
141,505	0,151	0,000	1,000	1,151	0,849	15,1%	100,0%
142,180	0,140	0,000	1,000	1,140	0,860	14,0%	100,0%
142,695	0,128	0,000	1,000	1,128	0,872	12,8%	100,0%
143,380	0,116	0,000	1,000	1,116	0,884	11,6%	100,0%
144,025	0,105	0,000	1,000	1,105	0,895	10,5%	100,0%
145,125	0,093	0,000	1,000	1,093	0,907	9,3%	100,0%
145,925	0,081	0,000	1,000	1,081	0,919	8,1%	100,0%
146,745	0,070	0,000	1,000	1,070	0,930	7,0%	100,0%
147,950	0,058	0,000	1,000	1,058	0,942	5,8%	100,0%
149,790	0,047	0,000	1,000	1,047	0,953	4,7%	100,0%
151,650	0,035	0,000	1,000	1,035	0,965	3,5%	100,0%
153,060	0,023	0,000	1,000	1,023	0,977	2,3%	100,0%
159,550	0,012	0,000	1,000	1,012	0,988	1,2%	100,0%
166,200	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	0,0%	100,0%

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Координаты ROC-кривой для классификации на основании переменной «IL-18» между пациентками с CIN I и группой контроля

IL-18	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
4,790	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	100,0%	0,0%
6,100	0,988	1,000	0,000	0,988	0,988	98,8%	0,0%
6,610	0,977	1,000	0,000	0,977	0,977	97,7%	0,0%
6,885	0,965	1,000	0,000	0,965	0,965	96,5%	0,0%
6,965	0,953	1,000	0,000	0,953	0,953	95,3%	0,0%
7,045	0,942	1,000	0,000	0,942	0,942	94,2%	0,0%
7,185	0,930	1,000	0,000	0,930	0,930	93,0%	0,0%
7,300	0,930	0,977	0,023	0,953	0,907	93,0%	2,3%
7,375	0,930	0,953	0,047	0,977	0,883	93,0%	4,7%
7,405	0,930	0,930	0,070	1,000	0,860	93,0%	7,0%
7,445	0,930	0,907	0,093	1,023	0,837	93,0%	9,3%
7,490	0,919	0,907	0,093	1,012	0,826	91,9%	9,3%
7,515	0,919	0,884	0,116	1,035	0,803	91,9%	11,6%
7,535	0,919	0,860	0,140	1,059	0,779	91,9%	14,0%
7,545	0,907	0,860	0,140	1,047	0,767	90,7%	14,0%
7,560	0,895	0,860	0,140	1,035	0,755	89,5%	14,0%
7,580	0,895	0,837	0,163	1,058	0,732	89,5%	16,3%
7,595	0,884	0,837	0,163	1,047	0,721	88,4%	16,3%
7,605	0,884	0,814	0,186	1,070	0,698	88,4%	18,6%
7,615	0,872	0,814	0,186	1,058	0,686	87,2%	18,6%
7,630	0,872	0,791	0,209	1,081	0,663	87,2%	20,9%
7,670	0,872	0,767	0,233	1,105	0,639	87,2%	23,3%
7,705	0,872	0,744	0,256	1,128	0,616	87,2%	25,6%
7,720	0,860	0,721	0,279	1,139	0,581	86,0%	27,9%
7,765	0,860	0,698	0,302	1,162	0,558	86,0%	30,2%
7,840	0,860	0,674	0,326	1,186	0,534	86,0%	32,6%

IL-18	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
7,900	0,849	0,651	0,349	1,198	0,500	84,9%	34,9%
7,925	0,849	0,628	0,372	1,221	0,477	84,9%	37,2%
7,990	0,849	0,605	0,395	1,244	0,454	84,9%	39,5%
8,065	0,837	0,605	0,395	1,232	0,442	83,7%	39,5%
8,090	0,826	0,605	0,395	1,221	0,431	82,6%	39,5%
8,105	0,814	0,581	0,419	1,233	0,395	81,4%	41,9%
8,120	0,814	0,558	0,442	1,256	0,372	81,4%	44,2%
8,140	0,814	0,535	0,465	1,279	0,349	81,4%	46,5%
8,155	0,814	0,488	0,512	1,326	0,302	81,4%	51,2%
8,175	0,802	0,465	0,535	1,337	0,267	80,2%	53,5%
8,195	0,791	0,442	0,558	1,349	0,233	79,1%	55,8%
8,220	0,791	0,395	0,605	1,396	0,186	79,1%	60,5%
8,245	0,779	0,395	0,605	1,384	0,174	77,9%	60,5%
8,260	0,779	0,372	0,628	1,407	0,151	77,9%	62,8%
8,285	0,767	0,372	0,628	1,395	0,139	76,7%	62,8%
8,315	0,767	0,349	0,651	1,418	0,116	76,7%	65,1%
8,340	0,767	0,326	0,674	1,441	0,093	76,7%	67,4%
8,375	0,756	0,326	0,674	1,430	0,082	75,6%	67,4%
8,415	0,744	0,302	0,698	1,442	0,046	74,4%	69,8%
8,435	0,744	0,279	0,721	1,465	0,023	74,4%	72,1%
<b>8,445</b>	<b>0,744</b>	<b>0,256</b>	<b>0,744</b>	<b>1,488</b>	<b>0,000</b>	<b>74,4%</b>	<b>74,4%</b>
8,465	0,733	0,233	0,767	1,500	0,034	73,3%	76,7%
8,490	0,733	0,209	0,791	1,524	0,058	73,3%	79,1%
8,520	0,709	0,209	0,791	1,500	0,082	70,9%	79,1%
8,575	0,698	0,186	0,814	1,512	0,116	69,8%	81,4%
8,615	0,686	0,186	0,814	1,500	0,128	68,6%	81,4%
8,625	0,686	0,163	0,837	1,523	0,151	68,6%	83,7%
8,640	0,674	0,163	0,837	1,511	0,163	67,4%	83,7%

IL-18	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
8,660	0,651	0,140	0,860	1,511	0,209	65,1%	86,0%
8,685	0,640	0,140	0,860	1,500	0,220	64,0%	86,0%
8,710	0,628	0,140	0,860	1,488	0,232	62,8%	86,0%
8,725	0,616	0,116	0,884	1,500	0,268	61,6%	88,4%
8,735	0,616	0,093	0,907	1,523	0,291	61,6%	90,7%
<b>8,760</b>	<b>0,616</b>	<b>0,070</b>	<b>0,930</b>	<b>1,546</b>	<b>0,314</b>	<b>61,6%</b>	<b>93,0%</b>
8,790	0,605	0,070	0,930	1,535	0,325	60,5%	93,0%
8,805	0,593	0,070	0,930	1,523	0,337	59,3%	93,0%
8,830	0,581	0,070	0,930	1,511	0,349	58,1%	93,0%
8,875	0,570	0,070	0,930	1,500	0,360	57,0%	93,0%
8,925	0,558	0,070	0,930	1,488	0,372	55,8%	93,0%
8,960	0,558	0,047	0,953	1,511	0,395	55,8%	95,3%
8,975	0,547	0,047	0,953	1,500	0,406	54,7%	95,3%
8,990	0,535	0,047	0,953	1,488	0,418	53,5%	95,3%
9,005	0,535	0,023	0,977	1,512	0,442	53,5%	97,7%
9,030	0,523	0,023	0,977	1,500	0,454	52,3%	97,7%
9,070	0,512	0,023	0,977	1,489	0,465	51,2%	97,7%
9,095	0,500	0,023	0,977	1,477	0,477	50,0%	97,7%
9,115	0,477	0,023	0,977	1,454	0,500	47,7%	97,7%
9,140	0,465	0,023	0,977	1,442	0,512	46,5%	97,7%
9,155	0,442	0,023	0,977	1,419	0,535	44,2%	97,7%
9,165	0,430	0,023	0,977	1,407	0,547	43,0%	97,7%
9,175	0,419	0,023	0,977	1,396	0,558	41,9%	97,7%
9,190	0,407	0,023	0,977	1,384	0,570	40,7%	97,7%
9,210	0,395	0,000	1,000	1,395	0,605	39,5%	100,0%
9,230	0,384	0,000	1,000	1,384	0,616	38,4%	100,0%
9,250	0,372	0,000	1,000	1,372	0,628	37,2%	100,0%
9,275	0,360	0,000	1,000	1,360	0,640	36,0%	100,0%

IL-18	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
9,295	0,349	0,000	1,000	1,349	0,651	34,9%	100,0%
9,305	0,337	0,000	1,000	1,337	0,663	33,7%	100,0%
9,330	0,314	0,000	1,000	1,314	0,686	31,4%	100,0%
9,365	0,302	0,000	1,000	1,302	0,698	30,2%	100,0%
9,400	0,279	0,000	1,000	1,279	0,721	27,9%	100,0%
9,435	0,267	0,000	1,000	1,267	0,733	26,7%	100,0%
9,540	0,256	0,000	1,000	1,256	0,744	25,6%	100,0%
9,690	0,244	0,000	1,000	1,244	0,756	24,4%	100,0%
9,775	0,233	0,000	1,000	1,233	0,767	23,3%	100,0%
9,850	0,221	0,000	1,000	1,221	0,779	22,1%	100,0%
9,910	0,209	0,000	1,000	1,209	0,791	20,9%	100,0%
9,925	0,198	0,000	1,000	1,198	0,802	19,8%	100,0%
9,940	0,186	0,000	1,000	1,186	0,814	18,6%	100,0%
10,000	0,174	0,000	1,000	1,174	0,826	17,4%	100,0%
10,075	0,163	0,000	1,000	1,163	0,837	16,3%	100,0%
10,105	0,128	0,000	1,000	1,128	0,872	12,8%	100,0%
10,115	0,116	0,000	1,000	1,116	0,884	11,6%	100,0%
10,160	0,105	0,000	1,000	1,105	0,895	10,5%	100,0%
10,250	0,093	0,000	1,000	1,093	0,907	9,3%	100,0%
10,350	0,081	0,000	1,000	1,081	0,919	8,1%	100,0%
10,405	0,070	0,000	1,000	1,070	0,930	7,0%	100,0%
10,415	0,047	0,000	1,000	1,047	0,953	4,7%	100,0%
10,560	0,035	0,000	1,000	1,035	0,965	3,5%	100,0%
10,960	0,023	0,000	1,000	1,023	0,977	2,3%	100,0%
11,760	0,012	0,000	1,000	1,012	0,988	1,2%	100,0%
13,300	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	0,0%	100,0%

\*Примечание: Sensitivity – чувствительность, Specificity – специфичность

**ПРИЛОЖЕНИЕ 3**

Координаты ROC-кривой для классификации на основании переменной «IFN- $\gamma$ » между пациентками с CIN I и CIN II

IFN- $\gamma$	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
97,230	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	100,0%	0,0%
98,615	1,000	0,988	0,012	1,012	0,988	100,0%	1,2%
99,250	1,000	0,977	0,023	1,023	0,977	100,0%	2,3%
99,820	1,000	0,965	0,035	1,035	0,965	100,0%	3,5%
100,320	1,000	0,953	0,047	1,047	0,953	100,0%	4,7%
100,700	1,000	0,942	0,058	1,058	0,942	100,0%	5,8%
101,200	1,000	0,930	0,070	1,070	0,930	100,0%	7,0%
101,530	1,000	0,919	0,081	1,081	0,919	100,0%	8,1%
102,755	1,000	0,907	0,093	1,093	0,907	100,0%	9,3%
104,045	1,000	0,895	0,105	1,105	0,895	100,0%	10,5%
104,520	1,000	0,884	0,116	1,116	0,884	100,0%	11,6%
104,925	1,000	0,872	0,128	1,128	0,872	100,0%	12,8%
105,055	1,000	0,860	0,140	1,140	0,860	100,0%	14,0%
105,330	1,000	0,849	0,151	1,151	0,849	100,0%	15,1%
106,140	1,000	0,837	0,163	1,163	0,837	100,0%	16,3%
106,850	1,000	0,826	0,174	1,174	0,826	100,0%	17,4%
107,175	1,000	0,814	0,186	1,186	0,814	100,0%	18,6%
107,615	1,000	0,802	0,198	1,198	0,802	100,0%	19,8%
108,975	1,000	0,791	0,209	1,209	0,791	100,0%	20,9%
110,265	1,000	0,779	0,221	1,221	0,779	100,0%	22,1%
110,440	1,000	0,767	0,233	1,233	0,767	100,0%	23,3%
110,505	1,000	0,756	0,244	1,244	0,756	100,0%	24,4%
110,855	1,000	0,744	0,256	1,256	0,744	100,0%	25,6%
111,650	1,000	0,733	0,267	1,267	0,733	100,0%	26,7%
112,265	1,000	0,721	0,279	1,279	0,721	100,0%	27,9%
112,485	1,000	0,709	0,291	1,291	0,709	100,0%	29,1%
112,670	1,000	0,698	0,302	1,302	0,698	100,0%	30,2%
113,490	1,000	0,686	0,314	1,314	0,686	100,0%	31,4%
114,905	1,000	0,674	0,326	1,326	0,674	100,0%	32,6%
115,920	1,000	0,663	0,337	1,337	0,663	100,0%	33,7%
116,240	1,000	0,651	0,349	1,349	0,651	100,0%	34,9%
116,810	1,000	0,640	0,360	1,360	0,640	100,0%	36,0%
117,400	1,000	0,628	0,372	1,372	0,628	100,0%	37,2%
118,600	1,000	0,616	0,384	1,384	0,616	100,0%	38,4%

IFN- $\gamma$	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
120,040	1,000	0,605	0,395	1,395	0,605	100,0%	39,5%
120,420	1,000	0,593	0,407	1,407	0,593	100,0%	40,7%
120,540	1,000	0,581	0,419	1,419	0,581	100,0%	41,9%
120,600	1,000	0,570	0,430	1,430	0,570	100,0%	43,0%
121,165	1,000	0,558	0,442	1,442	0,558	100,0%	44,2%
121,990	1,000	0,547	0,453	1,453	0,547	100,0%	45,3%
122,855	1,000	0,535	0,465	1,465	0,535	100,0%	46,5%
123,820	1,000	0,523	0,477	1,477	0,523	100,0%	47,7%
124,560	1,000	0,512	0,488	1,488	0,512	100,0%	48,8%
125,125	1,000	0,500	0,500	1,500	0,500	100,0%	50,0%
125,425	1,000	0,488	0,512	1,512	0,488	100,0%	51,2%
125,515	1,000	0,477	0,523	1,523	0,477	100,0%	52,3%
125,680	1,000	0,465	0,535	1,535	0,465	100,0%	53,5%
125,870	1,000	0,453	0,547	1,547	0,453	100,0%	54,7%
126,010	1,000	0,442	0,558	1,558	0,442	100,0%	55,8%
126,855	1,000	0,430	0,570	1,570	0,430	100,0%	57,0%
127,595	1,000	0,419	0,581	1,581	0,419	100,0%	58,1%
127,650	1,000	0,407	0,593	1,593	0,407	100,0%	59,3%
127,775	1,000	0,395	0,605	1,605	0,395	100,0%	60,5%
127,875	1,000	0,384	0,616	1,616	0,384	100,0%	61,6%
128,300	1,000	0,372	0,628	1,628	0,372	100,0%	62,8%
128,950	1,000	0,360	0,640	1,640	0,360	100,0%	64,0%
129,770	0,977	0,360	0,640	1,617	0,337	97,7%	64,0%
130,445	0,977	0,349	0,651	1,628	0,326	97,7%	65,1%
131,345	0,977	0,326	0,674	1,651	0,303	97,7%	67,4%
132,320	0,977	0,314	0,686	1,663	0,291	97,7%	68,6%
132,600	0,953	0,314	0,686	1,639	0,267	95,3%	68,6%
132,820	0,953	0,302	0,698	1,651	0,255	95,3%	69,8%
133,190	0,953	0,291	0,709	1,662	0,244	95,3%	70,9%
133,550	0,953	0,279	0,721	1,674	0,232	95,3%	72,1%
134,035	0,953	0,267	0,733	1,686	0,220	95,3%	73,3%
134,505	0,953	0,256	0,744	1,697	0,209	95,3%	74,4%
134,700	0,953	0,244	0,756	1,709	0,197	95,3%	75,6%
134,850	0,930	0,244	0,756	1,686	0,174	93,0%	75,6%
135,025	0,919	0,244	0,756	1,675	0,163	91,9%	75,6%
135,290	0,919	0,233	0,767	1,686	0,152	91,9%	76,7%
135,590	0,919	0,221	0,779	1,698	0,140	91,9%	77,9%

IFN-γ	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
136,250	0,919	0,209	0,791	1,710	0,128	91,9%	79,1%
137,310	0,919	0,198	0,802	1,721	0,117	91,9%	80,2%
138,135	0,919	0,186	0,814	1,733	0,105	91,9%	81,4%
138,830	0,895	0,186	0,814	1,709	0,081	89,5%	81,4%
139,355	0,895	0,174	0,826	1,721	0,069	89,5%	82,6%
139,775	0,872	0,174	0,826	1,698	0,046	87,2%	82,6%
140,350	0,872	0,163	0,837	1,709	0,035	87,2%	83,7%
140,720	0,849	0,163	0,837	1,686	0,012	84,9%	83,7%
<b>141,470</b>	<b>0,849</b>	<b>0,151</b>	<b>0,849</b>	<b>1,698</b>	<b>0,000</b>	<b>84,9%</b>	<b>84,9%</b>
142,135	0,826	0,151	0,849	1,675	0,023	82,6%	84,9%
142,180	0,826	0,140	0,860	1,686	0,034	82,6%	86,0%
142,695	0,826	0,128	0,872	1,698	0,046	82,6%	87,2%
143,380	0,826	0,116	0,884	1,710	0,058	82,6%	88,4%
144,025	0,826	0,105	0,895	1,721	0,069	82,6%	89,5%
145,125	0,826	0,093	0,907	1,733	0,081	82,6%	90,7%
145,925	0,826	0,081	0,919	1,745	0,093	82,6%	91,9%
146,745	0,826	0,070	0,930	1,756	0,104	82,6%	93,0%
147,600	0,826	0,058	0,942	1,768	0,116	82,6%	94,2%
148,150	0,814	0,058	0,942	1,756	0,128	81,4%	94,2%
149,790	0,814	0,047	0,953	1,767	0,139	81,4%	95,3%
<b>151,625</b>	<b>0,814</b>	<b>0,035</b>	<b>0,965</b>	<b>1,779</b>	<b>0,151</b>	<b>81,4%</b>	<b>96,5%</b>
152,195	0,802	0,035	0,965	1,767	0,163	80,2%	96,5%
<b>152,760</b>	<b>0,802</b>	<b>0,023</b>	<b>0,977</b>	<b>1,779</b>	<b>0,175</b>	<b>80,2%</b>	<b>97,7%</b>
153,435	0,779	0,023	0,977	1,756	0,198	77,9%	97,7%
153,735	0,756	0,023	0,977	1,733	0,221	75,6%	97,7%
154,235	0,756	0,012	0,988	1,744	0,232	75,6%	98,8%
154,585	0,733	0,012	0,988	1,721	0,255	73,3%	98,8%
156,500	0,721	0,012	0,988	1,709	0,267	72,1%	98,8%
158,600	0,698	0,012	0,988	1,686	0,290	69,8%	98,8%
159,350	0,674	0,012	0,988	1,662	0,314	67,4%	98,8%
161,665	0,651	0,012	0,988	1,639	0,337	65,1%	98,8%
163,555	0,628	0,012	0,988	1,616	0,360	62,8%	98,8%
164,040	0,605	0,012	0,988	1,593	0,383	60,5%	98,8%
164,620	0,581	0,012	0,988	1,569	0,407	58,1%	98,8%
164,870	0,570	0,012	0,988	1,558	0,418	57,0%	98,8%
165,050	0,547	0,012	0,988	1,535	0,441	54,7%	98,8%
165,300	0,547	0,000	1,000	1,547	0,453	54,7%	100,0%

IFN- $\gamma$	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
165,550	0,523	0,000	1,000	1,523	0,477	52,3%	100,0%
167,380	0,500	0,000	1,000	1,500	0,500	50,0%	100,0%
169,760	0,477	0,000	1,000	1,477	0,523	47,7%	100,0%
170,530	0,453	0,000	1,000	1,453	0,547	45,3%	100,0%
171,750	0,442	0,000	1,000	1,442	0,558	44,2%	100,0%
173,020	0,419	0,000	1,000	1,419	0,581	41,9%	100,0%
173,420	0,407	0,000	1,000	1,407	0,593	40,7%	100,0%
174,050	0,384	0,000	1,000	1,384	0,616	38,4%	100,0%
174,415	0,360	0,000	1,000	1,360	0,640	36,0%	100,0%
174,565	0,337	0,000	1,000	1,337	0,663	33,7%	100,0%
174,990	0,314	0,000	1,000	1,314	0,686	31,4%	100,0%
175,490	0,302	0,000	1,000	1,302	0,698	30,2%	100,0%
176,630	0,279	0,000	1,000	1,279	0,721	27,9%	100,0%
180,365	0,256	0,000	1,000	1,256	0,744	25,6%	100,0%
183,375	0,233	0,000	1,000	1,233	0,767	23,3%	100,0%
183,940	0,209	0,000	1,000	1,209	0,791	20,9%	100,0%
184,350	0,163	0,000	1,000	1,163	0,837	16,3%	100,0%
184,500	0,116	0,000	1,000	1,116	0,884	11,6%	100,0%
188,850	0,093	0,000	1,000	1,093	0,907	9,3%	100,0%
193,745	0,070	0,000	1,000	1,070	0,930	7,0%	100,0%
194,845	0,058	0,000	1,000	1,058	0,942	5,8%	100,0%
195,940	0,047	0,000	1,000	1,047	0,953	4,7%	100,0%
196,690	0,023	0,000	1,000	1,023	0,977	2,3%	100,0%
197,800	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	0,0%	100,0%

\*Примечание: Sensitivity – чувствительность, Specificity – специфичность

### ПРИЛОЖЕНИЕ 4

Координаты ROC-кривой для классификации на основании переменной «IL-18» между пациентками с CIN I и CIN II

IL-18	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
2,980	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	100,0%	0,0%
4,085	1,000	0,988	0,012	1,012	0,988	100,0%	1,2%
4,235	1,000	0,942	0,058	1,058	0,942	100,0%	5,8%
4,290	1,000	0,919	0,081	1,081	0,919	100,0%	8,1%
4,365	1,000	0,895	0,105	1,105	0,895	100,0%	10,5%
4,540	1,000	0,872	0,128	1,128	0,872	100,0%	12,8%
4,675	1,000	0,849	0,151	1,151	0,849	100,0%	15,1%
4,800	1,000	0,826	0,174	1,174	0,826	100,0%	17,4%
4,925	1,000	0,802	0,198	1,198	0,802	100,0%	19,8%
5,025	1,000	0,791	0,209	1,209	0,791	100,0%	20,9%
5,135	1,000	0,744	0,256	1,256	0,744	100,0%	25,6%
5,180	1,000	0,733	0,267	1,267	0,733	100,0%	26,7%
5,195	1,000	0,709	0,291	1,291	0,709	100,0%	29,1%
5,240	1,000	0,674	0,326	1,326	0,674	100,0%	32,6%
5,290	1,000	0,651	0,349	1,349	0,651	100,0%	34,9%
5,310	1,000	0,628	0,372	1,372	0,628	100,0%	37,2%
5,350	1,000	0,605	0,395	1,395	0,605	100,0%	39,5%
5,390	1,000	0,581	0,419	1,419	0,581	100,0%	41,9%
5,450	1,000	0,558	0,442	1,442	0,558	100,0%	44,2%
5,575	1,000	0,535	0,465	1,465	0,535	100,0%	46,5%
5,675	1,000	0,512	0,488	1,488	0,512	100,0%	48,8%
5,745	1,000	0,488	0,512	1,512	0,488	100,0%	51,2%
5,805	0,988	0,488	0,512	1,500	0,476	98,8%	51,2%
5,835	0,988	0,477	0,523	1,511	0,465	98,8%	52,3%
5,875	0,988	0,453	0,547	1,535	0,441	98,8%	54,7%
5,925	0,988	0,407	0,593	1,581	0,395	98,8%	59,3%

IL-18	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
5,995	0,988	0,395	0,605	1,593	0,383	98,8%	60,5%
6,045	0,988	0,372	0,628	1,616	0,360	98,8%	62,8%
6,075	0,988	0,360	0,640	1,628	0,348	98,8%	64,0%
6,145	0,988	0,314	0,686	1,674	0,302	98,8%	68,6%
6,240	0,988	0,302	0,698	1,686	0,290	98,8%	69,8%
6,295	0,988	0,267	0,733	1,721	0,255	98,8%	73,3%
6,350	0,988	0,244	0,756	1,744	0,232	98,8%	75,6%
6,405	0,988	0,221	0,779	1,767	0,209	98,8%	77,9%
6,555	0,977	0,221	0,779	1,756	0,198	97,7%	77,9%
6,750	0,977	0,209	0,791	1,768	0,186	97,7%	79,1%
6,805	0,977	0,186	0,814	1,791	0,163	97,7%	81,4%
6,855	0,965	0,186	0,814	1,779	0,151	96,5%	81,4%
6,930	0,965	0,140	0,860	1,825	0,105	96,5%	86,0%
6,965	0,953	0,140	0,860	1,813	0,093	95,3%	86,0%
6,985	0,942	0,140	0,860	1,802	0,082	94,2%	86,0%
7,050	0,942	0,116	0,884	1,826	0,058	94,2%	88,4%
7,110	0,942	0,081	0,919	1,861	0,023	94,2%	91,9%
<b>7,160</b>	<b>0,930</b>	<b>0,081</b>	<b>0,919</b>	<b>1,849</b>	<b>0,011</b>	<b>93,0%</b>	<b>91,9%</b>
<b>7,340</b>	<b>0,930</b>	<b>0,035</b>	<b>0,965</b>	<b>1,895</b>	<b>0,035</b>	<b>93,0%</b>	<b>96,5%</b>
7,510	0,919	0,035	0,965	1,884	0,046	91,9%	96,5%
7,545	0,907	0,035	0,965	1,872	0,058	90,7%	96,5%
7,570	0,895	0,035	0,965	1,860	0,070	89,5%	96,5%
7,600	0,884	0,035	0,965	1,849	0,081	88,4%	96,5%
7,660	0,872	0,035	0,965	1,837	0,093	87,2%	96,5%
7,795	0,860	0,035	0,965	1,825	0,105	86,0%	96,5%
7,890	0,849	0,035	0,965	1,814	0,116	84,9%	96,5%
7,975	0,849	0,012	0,988	1,837	0,139	84,9%	98,8%
8,065	0,837	0,012	0,988	1,825	0,151	83,7%	98,8%

IL-18	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
8,090	0,826	0,012	0,988	1,814	0,162	82,6%	98,8%
8,130	0,814	0,012	0,988	1,802	0,174	81,4%	98,8%
8,175	0,802	0,012	0,988	1,790	0,186	80,2%	98,8%
8,195	0,791	0,012	0,988	1,779	0,197	79,1%	98,8%
8,220	0,791	0,000	1,000	1,791	0,209	79,1%	100,0%
8,255	0,779	0,000	1,000	1,779	0,221	77,9%	100,0%
8,310	0,767	0,000	1,000	1,767	0,233	76,7%	100,0%
8,375	0,756	0,000	1,000	1,756	0,244	75,6%	100,0%
8,425	0,744	0,000	1,000	1,744	0,256	74,4%	100,0%
8,475	0,733	0,000	1,000	1,733	0,267	73,3%	100,0%
8,520	0,709	0,000	1,000	1,709	0,291	70,9%	100,0%
8,575	0,698	0,000	1,000	1,698	0,302	69,8%	100,0%
8,620	0,686	0,000	1,000	1,686	0,314	68,6%	100,0%
8,640	0,674	0,000	1,000	1,674	0,326	67,4%	100,0%
8,660	0,651	0,000	1,000	1,651	0,349	65,1%	100,0%
8,685	0,640	0,000	1,000	1,640	0,360	64,0%	100,0%
8,710	0,628	0,000	1,000	1,628	0,372	62,8%	100,0%
8,750	0,616	0,000	1,000	1,616	0,384	61,6%	100,0%
8,790	0,605	0,000	1,000	1,605	0,395	60,5%	100,0%
8,805	0,593	0,000	1,000	1,593	0,407	59,3%	100,0%
8,830	0,581	0,000	1,000	1,581	0,419	58,1%	100,0%
8,875	0,570	0,000	1,000	1,570	0,430	57,0%	100,0%
8,935	0,558	0,000	1,000	1,558	0,442	55,8%	100,0%
8,975	0,547	0,000	1,000	1,547	0,453	54,7%	100,0%
8,995	0,535	0,000	1,000	1,535	0,465	53,5%	100,0%
9,030	0,523	0,000	1,000	1,523	0,477	52,3%	100,0%
9,070	0,512	0,000	1,000	1,512	0,488	51,2%	100,0%
9,095	0,500	0,000	1,000	1,500	0,500	50,0%	100,0%
9,115	0,477	0,000	1,000	1,477	0,523	47,7%	100,0%
9,140	0,465	0,000	1,000	1,465	0,535	46,5%	100,0%

IL-18	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
9,155	0,442	0,000	1,000	1,442	0,558	44,2%	100,0%
9,165	0,430	0,000	1,000	1,430	0,570	43,0%	100,0%
9,175	0,419	0,000	1,000	1,419	0,581	41,9%	100,0%
9,190	0,407	0,000	1,000	1,407	0,593	40,7%	100,0%
9,210	0,395	0,000	1,000	1,395	0,605	39,5%	100,0%
9,230	0,384	0,000	1,000	1,384	0,616	38,4%	100,0%
9,250	0,372	0,000	1,000	1,372	0,628	37,2%	100,0%
9,275	0,360	0,000	1,000	1,360	0,640	36,0%	100,0%
9,295	0,349	0,000	1,000	1,349	0,651	34,9%	100,0%
9,305	0,337	0,000	1,000	1,337	0,663	33,7%	100,0%
9,330	0,314	0,000	1,000	1,314	0,686	31,4%	100,0%
9,365	0,302	0,000	1,000	1,302	0,698	30,2%	100,0%
9,400	0,279	0,000	1,000	1,279	0,721	27,9%	100,0%
9,435	0,267	0,000	1,000	1,267	0,733	26,7%	100,0%
9,540	0,256	0,000	1,000	1,256	0,744	25,6%	100,0%
9,690	0,244	0,000	1,000	1,244	0,756	24,4%	100,0%
9,775	0,233	0,000	1,000	1,233	0,767	23,3%	100,0%
9,850	0,221	0,000	1,000	1,221	0,779	22,1%	100,0%
9,910	0,209	0,000	1,000	1,209	0,791	20,9%	100,0%
9,925	0,198	0,000	1,000	1,198	0,802	19,8%	100,0%
9,940	0,186	0,000	1,000	1,186	0,814	18,6%	100,0%
10,000	0,174	0,000	1,000	1,174	0,826	17,4%	100,0%
10,075	0,163	0,000	1,000	1,163	0,837	16,3%	100,0%
10,105	0,128	0,000	1,000	1,128	0,872	12,8%	100,0%
10,115	0,116	0,000	1,000	1,116	0,884	11,6%	100,0%
10,160	0,105	0,000	1,000	1,105	0,895	10,5%	100,0%
10,250	0,093	0,000	1,000	1,093	0,907	9,3%	100,0%
10,350	0,081	0,000	1,000	1,081	0,919	8,1%	100,0%

IL-18	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
10,405	0,070	0,000	1,000	1,070	0,930	7,0%	100,0%
10,415	0,047	0,000	1,000	1,047	0,953	4,7%	100,0%
10,560	0,035	0,000	1,000	1,035	0,965	3,5%	100,0%
10,960	0,023	0,000	1,000	1,023	0,977	2,3%	100,0%
11,760	0,012	0,000	1,000	1,012	0,988	1,2%	100,0%
13,300	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	0,0%	100,0%

\*Примечание: Sensitivity – чувствительность, Specificity – специфичность

## ПРИЛОЖЕНИЕ 5

Координаты ROC-кривой для классификации на основании переменной «IFN- $\gamma$ » между пациентками с CIN II и группой контроля

IFN- $\gamma$	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
71,100	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	100,0%	0,0%
74,650	1,000	0,977	0,023	1,023	0,977	100,0%	2,3%
78,200	1,000	0,953	0,047	1,047	0,953	100,0%	4,7%
80,045	1,000	0,930	0,070	1,070	0,930	100,0%	7,0%
82,035	1,000	0,907	0,093	1,093	0,907	100,0%	9,3%
83,235	1,000	0,884	0,116	1,116	0,884	100,0%	11,6%
84,015	1,000	0,860	0,140	1,140	0,860	100,0%	14,0%
84,950	1,000	0,837	0,163	1,163	0,837	100,0%	16,3%
85,205	1,000	0,814	0,186	1,186	0,814	100,0%	18,6%
85,340	1,000	0,791	0,209	1,209	0,791	100,0%	20,9%
85,565	1,000	0,767	0,233	1,233	0,767	100,0%	23,3%
85,720	1,000	0,744	0,256	1,256	0,744	100,0%	25,6%
86,180	1,000	0,721	0,279	1,279	0,721	100,0%	27,9%
87,495	1,000	0,698	0,302	1,302	0,698	100,0%	30,2%
88,385	1,000	0,674	0,326	1,326	0,674	100,0%	32,6%
88,460	1,000	0,651	0,349	1,349	0,651	100,0%	34,9%
88,560	1,000	0,628	0,372	1,372	0,628	100,0%	37,2%
88,930	1,000	0,605	0,395	1,395	0,605	100,0%	39,5%
89,380	1,000	0,581	0,419	1,419	0,581	100,0%	41,9%
89,800	1,000	0,535	0,465	1,465	0,535	100,0%	46,5%
90,200	1,000	0,512	0,488	1,488	0,512	100,0%	48,8%
90,500	1,000	0,488	0,512	1,512	0,488	100,0%	51,2%
90,720	1,000	0,465	0,535	1,535	0,465	100,0%	53,5%
90,950	1,000	0,442	0,558	1,558	0,442	100,0%	55,8%
91,180	1,000	0,419	0,581	1,581	0,419	100,0%	58,1%
91,675	1,000	0,395	0,605	1,605	0,395	100,0%	60,5%

IFN- $\gamma$	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
92,210	1,000	0,349	0,651	1,651	0,349	100,0%	65,1%
92,705	1,000	0,326	0,674	1,674	0,326	100,0%	67,4%
93,155	1,000	0,302	0,698	1,698	0,302	100,0%	69,8%
93,260	1,000	0,279	0,721	1,721	0,279	100,0%	72,1%
93,385	1,000	0,256	0,744	1,744	0,256	100,0%	74,4%
93,630	1,000	0,233	0,767	1,767	0,233	100,0%	76,7%
94,025	1,000	0,209	0,791	1,791	0,209	100,0%	79,1%
94,240	1,000	0,186	0,814	1,814	0,186	100,0%	81,4%
94,360	1,000	0,163	0,837	1,837	0,163	100,0%	83,7%
94,550	1,000	0,140	0,860	1,860	0,140	100,0%	86,0%
94,685	1,000	0,116	0,884	1,884	0,116	100,0%	88,4%
94,945	1,000	0,093	0,907	1,907	0,093	100,0%	90,7%
96,165	1,000	0,070	0,930	1,930	0,070	100,0%	93,0%
97,395	1,000	0,047	0,953	1,953	0,047	100,0%	95,3%
98,390	1,000	0,023	0,977	1,977	0,023	100,0%	97,7%
<b>114,175</b>	<b>1,000</b>	<b>0,000</b>	<b>1,000</b>	<b>2,000</b>	<b>0,000</b>	<b>100,0%</b>	<b>100,0%</b>
130,850	0,977	0,000	1,000	1,977	0,023	97,7%	100,0%
133,650	0,953	0,000	1,000	1,953	0,047	95,3%	100,0%
134,850	0,930	0,000	1,000	1,930	0,070	93,0%	100,0%
136,650	0,919	0,000	1,000	1,919	0,081	91,9%	100,0%
138,925	0,895	0,000	1,000	1,895	0,105	89,5%	100,0%
140,025	0,872	0,000	1,000	1,872	0,128	87,2%	100,0%
141,350	0,849	0,000	1,000	1,849	0,151	84,9%	100,0%
144,950	0,826	0,000	1,000	1,826	0,174	82,6%	100,0%
149,985	0,814	0,000	1,000	1,814	0,186	81,4%	100,0%
152,735	0,802	0,000	1,000	1,802	0,198	80,2%	100,0%
153,435	0,779	0,000	1,000	1,779	0,221	77,9%	100,0%
154,070	0,756	0,000	1,000	1,756	0,244	75,6%	100,0%

IFN- $\gamma$	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
154,585	0,733	0,000	1,000	1,733	0,267	73,3%	100,0%
156,500	0,721	0,000	1,000	1,721	0,279	72,1%	100,0%
158,600	0,698	0,000	1,000	1,698	0,302	69,8%	100,0%
159,350	0,674	0,000	1,000	1,674	0,326	67,4%	100,0%
161,665	0,651	0,000	1,000	1,651	0,349	65,1%	100,0%
163,555	0,628	0,000	1,000	1,628	0,372	62,8%	100,0%
164,040	0,605	0,000	1,000	1,605	0,395	60,5%	100,0%
164,620	0,581	0,000	1,000	1,581	0,419	58,1%	100,0%
164,870	0,570	0,000	1,000	1,570	0,430	57,0%	100,0%
165,150	0,547	0,000	1,000	1,547	0,453	54,7%	100,0%
165,550	0,523	0,000	1,000	1,523	0,477	52,3%	100,0%
167,380	0,500	0,000	1,000	1,500	0,500	50,0%	100,0%
169,760	0,477	0,000	1,000	1,477	0,523	47,7%	100,0%
170,530	0,453	0,000	1,000	1,453	0,547	45,3%	100,0%
171,750	0,442	0,000	1,000	1,442	0,558	44,2%	100,0%
173,020	0,419	0,000	1,000	1,419	0,581	41,9%	100,0%
173,420	0,407	0,000	1,000	1,407	0,593	40,7%	100,0%
174,050	0,384	0,000	1,000	1,384	0,616	38,4%	100,0%
174,415	0,360	0,000	1,000	1,360	0,640	36,0%	100,0%
174,565	0,337	0,000	1,000	1,337	0,663	33,7%	100,0%
174,990	0,314	0,000	1,000	1,314	0,686	31,4%	100,0%
175,490	0,302	0,000	1,000	1,302	0,698	30,2%	100,0%
176,630	0,279	0,000	1,000	1,279	0,721	27,9%	100,0%
180,365	0,256	0,000	1,000	1,256	0,744	25,6%	100,0%
183,375	0,233	0,000	1,000	1,233	0,767	23,3%	100,0%
183,940	0,209	0,000	1,000	1,209	0,791	20,9%	100,0%
184,350	0,163	0,000	1,000	1,163	0,837	16,3%	100,0%
184,500	0,116	0,000	1,000	1,116	0,884	11,6%	100,0%

IFN- $\gamma$	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
188,850	0,093	0,000	1,000	1,093	0,907	9,3%	100,0%
193,745	0,070	0,000	1,000	1,070	0,930	7,0%	100,0%
194,845	0,058	0,000	1,000	1,058	0,942	5,8%	100,0%
195,940	0,047	0,000	1,000	1,047	0,953	4,7%	100,0%
196,690	0,023	0,000	1,000	1,023	0,977	2,3%	100,0%
197,800	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	0,0%	100,0%

\*Примечание: Sensitivity – чувствительность, Specificity – специфичность

### ПРИЛОЖЕНИЕ 6

Координаты ROC-кривой для классификации на основании переменной «IL-18» между пациентками с CIN II и группой контроля

IL-18	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
2,980	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	100,0%	0,0%
4,085	1,000	0,988	0,012	1,012	0,988	100,0%	1,2%
4,235	1,000	0,942	0,058	1,058	0,942	100,0%	5,8%
4,290	1,000	0,919	0,081	1,081	0,919	100,0%	8,1%
4,365	1,000	0,895	0,105	1,105	0,895	100,0%	10,5%
4,540	1,000	0,872	0,128	1,128	0,872	100,0%	12,8%
4,675	1,000	0,849	0,151	1,151	0,849	100,0%	15,1%
4,800	1,000	0,826	0,174	1,174	0,826	100,0%	17,4%
4,925	1,000	0,802	0,198	1,198	0,802	100,0%	19,8%
5,025	1,000	0,791	0,209	1,209	0,791	100,0%	20,9%
5,135	1,000	0,744	0,256	1,256	0,744	100,0%	25,6%
5,180	1,000	0,733	0,267	1,267	0,733	100,0%	26,7%
5,195	1,000	0,709	0,291	1,291	0,709	100,0%	29,1%
5,240	1,000	0,674	0,326	1,326	0,674	100,0%	32,6%
5,290	1,000	0,651	0,349	1,349	0,651	100,0%	34,9%
5,310	1,000	0,628	0,372	1,372	0,628	100,0%	37,2%
5,350	1,000	0,605	0,395	1,395	0,605	100,0%	39,5%
5,390	1,000	0,581	0,419	1,419	0,581	100,0%	41,9%
5,450	1,000	0,558	0,442	1,442	0,558	100,0%	44,2%
5,575	1,000	0,535	0,465	1,465	0,535	100,0%	46,5%
5,675	1,000	0,512	0,488	1,488	0,512	100,0%	48,8%
5,760	1,000	0,488	0,512	1,512	0,488	100,0%	51,2%
5,835	1,000	0,477	0,523	1,523	0,477	100,0%	52,3%
5,875	1,000	0,453	0,547	1,547	0,453	100,0%	54,7%
5,925	1,000	0,407	0,593	1,593	0,407	100,0%	59,3%
5,995	1,000	0,395	0,605	1,605	0,395	100,0%	60,5%

IL-18	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
6,045	1,000	0,372	0,628	1,628	0,372	100,0%	62,8%
6,075	1,000	0,360	0,640	1,640	0,360	100,0%	64,0%
6,145	1,000	0,314	0,686	1,686	0,314	100,0%	68,6%
6,240	1,000	0,302	0,698	1,698	0,302	100,0%	69,8%
6,295	1,000	0,267	0,733	1,733	0,267	100,0%	73,3%
6,350	1,000	0,244	0,756	1,756	0,244	100,0%	75,6%
6,550	1,000	0,221	0,779	1,779	0,221	100,0%	77,9%
6,750	1,000	0,209	0,791	1,791	0,209	100,0%	79,1%
6,850	1,000	0,186	0,814	1,814	0,186	100,0%	81,4%
6,950	1,000	0,140	0,860	1,860	0,140	100,0%	86,0%
7,050	1,000	0,116	0,884	1,884	0,116	100,0%	88,4%
7,150	1,000	0,081	0,919	1,919	0,081	100,0%	91,9%
<b>7,225</b>	<b>1,000</b>	<b>0,035</b>	<b>0,965</b>	<b>1,965</b>	<b>0,035</b>	<b>100,0%</b>	<b>96,5%</b>
<b>7,300</b>	<b>0,977</b>	<b>0,035</b>	<b>0,965</b>	<b>1,942</b>	<b>0,012</b>	<b>97,7%</b>	<b>96,5%</b>
<b>7,375</b>	<b>0,953</b>	<b>0,035</b>	<b>0,965</b>	<b>1,918</b>	<b>0,012</b>	<b>95,3%</b>	<b>96,5%</b>
7,405	0,930	0,035	0,965	1,895	0,035	93,0%	96,5%
7,455	0,907	0,035	0,965	1,872	0,058	90,7%	96,5%
7,515	0,884	0,035	0,965	1,849	0,081	88,4%	96,5%
7,550	0,860	0,035	0,965	1,825	0,105	86,0%	96,5%
7,585	0,837	0,035	0,965	1,802	0,128	83,7%	96,5%
7,610	0,814	0,035	0,965	1,779	0,151	81,4%	96,5%
7,630	0,791	0,035	0,965	1,756	0,174	79,1%	96,5%
7,670	0,767	0,035	0,965	1,732	0,198	76,7%	96,5%
7,705	0,744	0,035	0,965	1,709	0,221	74,4%	96,5%
7,720	0,721	0,035	0,965	1,686	0,244	72,1%	96,5%
7,765	0,698	0,035	0,965	1,663	0,267	69,8%	96,5%
7,840	0,674	0,035	0,965	1,639	0,291	67,4%	96,5%
7,890	0,651	0,035	0,965	1,616	0,314	65,1%	96,5%

П-18	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity+ Specificity	Sensitivity- Specificity	Чувствительность	Специфичность
7,910	0,651	0,012	0,988	1,639	0,337	65,1%	98,8%
7,925	0,628	0,012	0,988	1,616	0,360	62,8%	98,8%
8,015	0,605	0,012	0,988	1,593	0,383	60,5%	98,8%
8,105	0,581	0,012	0,988	1,569	0,407	58,1%	98,8%
8,120	0,558	0,012	0,988	1,546	0,430	55,8%	98,8%
8,140	0,535	0,012	0,988	1,523	0,453	53,5%	98,8%
8,155	0,488	0,012	0,988	1,476	0,500	48,8%	98,8%
8,175	0,465	0,012	0,988	1,453	0,523	46,5%	98,8%
8,195	0,442	0,012	0,988	1,430	0,546	44,2%	98,8%
8,225	0,395	0,000	1,000	1,395	0,605	39,5%	100,0%
8,275	0,372	0,000	1,000	1,372	0,628	37,2%	100,0%
8,315	0,349	0,000	1,000	1,349	0,651	34,9%	100,0%
8,365	0,326	0,000	1,000	1,326	0,674	32,6%	100,0%
8,415	0,302	0,000	1,000	1,302	0,698	30,2%	100,0%
8,435	0,279	0,000	1,000	1,279	0,721	27,9%	100,0%
8,445	0,256	0,000	1,000	1,256	0,744	25,6%	100,0%
8,465	0,233	0,000	1,000	1,233	0,767	23,3%	100,0%
8,510	0,209	0,000	1,000	1,209	0,791	20,9%	100,0%
8,580	0,186	0,000	1,000	1,186	0,814	18,6%	100,0%
8,635	0,163	0,000	1,000	1,163	0,837	16,3%	100,0%
8,685	0,140	0,000	1,000	1,140	0,860	14,0%	100,0%
8,725	0,116	0,000	1,000	1,116	0,884	11,6%	100,0%
8,735	0,093	0,000	1,000	1,093	0,907	9,3%	100,0%
8,845	0,070	0,000	1,000	1,070	0,930	7,0%	100,0%
8,975	0,047	0,000	1,000	1,047	0,953	4,7%	100,0%
9,100	0,023	0,000	1,000	1,023	0,977	2,3%	100,0%
10,200	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	0,0%	100,0%

\*Примечание: Sensitivity – чувствительность, Specificity – специфичность