На правах рукописи

Шмакова Надежда Александровна

ОПТИМИЗАЦИЯ ЛЕЧЕНИЯ ЦЕРВИКАЛЬНЫХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ

14.01.01 - Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Екатеринбург – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

Доктор медицинских наук, доцент **Кононова Ирина Николаевна**

Доктор медицинских наук, профессор **Чистякова Гузель Нуховна**

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, доцент **Ледина Антонина Виталиевна**
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», кафедра акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины, доцент кафедры

Доктор медицинских наук, доцент **Виноградова Ольга Павловна**
Пензенский институт усовершенствования врачей - филиал Федерального государственного бюджетного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, кафедра акушерства и гинекологии, профессор кафедры

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

Защита диссертации состоится «___»_____2021 года в 14:00 часов на заседании Диссертационного совета Д 208.072.15 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1, а также на сайте: www.rsmu.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2021 года

Ученый секретарь Диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор **Хашукоева Асият Зульчифовна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Неопластический процесс шейки матки находится не на последнем месте, относительно заболеваемости, а также смертности среди женского населения в мире от злокачественных опухолей (Ледина А.В. и соавт., 2018; Манухин И.Б. и соавт., 2018; WHO/ICO Information Centre on HPV and Cancer., 2020). За последнее десятилетие регистрируется неуклонный рост данной патологии в России – с 15,5 до 25,81 на 100 000 населения, с наибольшим ростом заболеваемости и смертности у женщин репродуктивного возраста (Каприн А. Д. и соавт., 2019).

Общеизвестно, что триггером развития плоскоклеточных интраэпителиальных поражений (SIL) высокой степени (HSIL) с неблагоприятным развитием в сторону онкотрансформации принадлежит вирусу папилломы человека (ВПЧ) (Тихомиров А.Л. и соавт., 2018; Ашрафян Л.А. и соавт., 2019; Минкина Г.Н., 2019; Виноградова О.П. и соавт., 2020; Lei, J. et all., 2019).

Онкогенный эффект ВПЧ наблюдается только при соответствующих условиях, в качестве которых могут выступать как микробиологические, так и иммунологические предикторы (Радзинский В.Е. и соавт., 2018; Тихомиров А.Л. и соавт., 2018).

Изучение результатов молекулярно-биологического исследования в сочетании с иммуногистохимическими маркерами может оказаться значимым в оценке иммунного потенциала пациенток и разработке персонифицированной фармакотерапии в комплексном лечении HSIL.

Степень разработанности темы исследования

По данным литературы отсутствует единое мнение на включение в комплексную терапию HSIL, наряду с оперативным лечением, иммуномодулирующей фармакотерапии.

Известно, что одним из предикторов развития SIL является нарушение цервико-вагинальной микробиоты на фоне доминирования *Lactobacillus iners*, что диктует необходимость более углубленного изучения особенностей видового состава лактобациллярной флоры во взаимосвязи с изменениями рецепторного аппарата иммунной защиты в цервикальном эпителии у пациенток с HSIL (Кононова И.Н., 2020). Однако необходимо углубленное изучение особенностей видового состава лактобациллярной флоры во взаимосвязи с изменениями рецепторного аппарата в цервикальном эпителии у пациенток с HSIL. Изменения локального иммунного статуса при HSIL доказаны рядом научных исследований (Доброхотова Ю.Э. и др. 2019; Виноградова О.П. и соавт., 2020; Bonagura V. et all., 2019), однако реализация иммунного потенциала на местном уровне осуществляется через рецептивность к иммунокомпетентным клеткам, что требует дальнейшего изучения.

Следует учитывать, что существующие методы терапии HSIL не всегда являются достаточно эффективными в плане долгосрочного эффекта (Подзолкова Н.М. и соавт., 2017; Радзинский В.Е. и соавт., 2018). У 33-48% пациенток даже после проведенного лечения происходит рецидивирование предракового и ракового заболевания (Зароченцева Н.В. и

соавт., 2020; Brun J.L. et all., 2019). Решение данного вопроса создает предпосылки разработки прогностического алгоритма для стратификации риска рецидивирования неопластического процесса и оптимизации терапии HSIL.

Необходимость применения системной иммуномодулирующей терапии в комплексном лечении HSIL доказана (Роговская С.И. и соавт., 2018; Радзинский и соавт., 2018) и включена в Клинические рекомендации («Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки», 2020). Однако алгоритм иммуномодуляции на данный момент не разработан, критериев назначения фармакотерапии нет.

Таким образом, для повышения эффективности лечения и профилактики рецидивирования HSIL актуальным является разработка персонифицированного подхода к иммуномодулирующей фармакотерапии в комплексном лечении HSIL на основании прогностически значимых молекулярно-биологических и иммуногистохимических предикторов.

Цель исследования

Повысить эффективность лечения HSIL путем оптимизации иммуномодулирующей фармакотерапии, основанной на прогнозе развития заболевания.

Задачи исследования

1. На основании молекулярно-биологических исследований изучить вагинальный микробиоценоз с оценкой видового состава лактобацилл у пациенток с HSIL, найти параллели с генотипированием ВПЧ, кольпоскопической картиной и оценить их результаты с целью прогноза заболевания.
2. Определить особенности иммуногистохимической реакции с экспрессией рецепторов антител к CD3, CD56, CD20, CD138, M-CSF в цервикобиоптатах при HSIL, найти параллели с изменениями видового состава лактобактерий и морфогистологического исследования пораженного эпителия.
3. На основании иммуногистохимических маркеров разработать модель прогноза прогрессирования ВПЧ-ассоциированных SIL.
4. Разработать алгоритм персонифицированной иммуномодулирующей фармакотерапии в комплексном лечении HSIL и оценить его эффективность.

Научная новизна исследования

В результате проведенного исследования расширены представления об особенностях цервико-вагинальной микробиоты в параллели с видовым составом лактобацилл при SIL. Обоснована целесообразность комплексного молекулярно-биологического обследования в прогнозе развития заболевания.

Получены приоритетные данные по оценке экспрессии рецепторов антител к CD3, CD56, CD20, CD138, M-CSF в цервикобиоптатах пациенток с HSIL. Мультифакторный анализ критериев функциональной активности рецепторов изученных антител при ВПЧ-инфекции

продемонстрировал зависимость степени SIL от состояния рецепторного аппарата иммунной защиты в клетках эпителия и стромы.

Установлены корреляционные связи особенностей экспрессии рецепторов антител к CD3, CD56, CD20, CD138, M-CSF в клетках эпителия и стромы со степенью неопластического поражения, что определяет необходимость анализа данных параметров с целью прогноза, как развития неопластического заболевания, так и оптимизации тактики терапии.

Расширено представление о механизмах рецидивирования ВПЧ-ассоциированных цервикальных интраэпителиальных поражений на основании комплексной оценки молекулярно-биологических и иммуногистохимических индикаторов в сочетании с показателями морфогистологического исследования.

Разработана модель прогноза прогрессирования рецидивирующих цервикальных плоскоклеточных поражений с использованием иммуногистохимических исследований, позволяющая в последующем осуществлять персонифицированный подход к комплексной терапии (приоритетная справка на изобретение: «Способ прогнозирования риска прогрессии рецидивирующих цервикальных интраэпителиальных неоплазий низкой степени онкогенного риска, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией», регистрационный номер: 2020127844 от 20.08.2020г.).

Научно обоснован персонифицированный подход к медикаментозному иммуномодулирующему сопровождению оперативного лечения HSIL на основании прогноза развития заболевания.

Теоретическая и практическая значимость работы

Установлено, что изменения цервико-вагинальной микробиоты в виде анаэробного и аэробного дисбиоза в сочетании с доминированием L.iners в присутствие ВПЧ инфекции является фактором риска прогрессирования SIL и служит необходимым обоснованием для комплексного молекулярно-биологического обследования женщин с уже диагностированным заболеванием с целью прогноза, а также оптимизации тактики терапии.

Расширены представления о механизме прогрессирования ВПЧ-ассоциированных SIL на основании выявленных параллелей между молекулярно-биологическими, морфогистологическими и иммуногистохимическими параметрами.

Установлено, что в неопластически пораженном цервикальном эпителии и строме имеется измененная экспрессия рецепторов к CD56, CD20, CD3, CD138, M-CSF, что и является обоснованием для комплексного анализа иммуногистохимических параметров иммунного локального статуса женщин с уже выявленным SIL для определения дифференцированного подхода к тактике терапии.

Разработана математическая модель прогнозирования прогрессирования ВПЧ-ассоциированных рецидивирующих цервикальных интраэпителиальных неоплазий низкой степени окогенного риска, позволяющая произвести дифференцированный подход, как к лечению, так и к профилактике развития HSIL.

Апробированная технология персонифицированной иммуномодулирующей терапии при комплексном лечении HSIL позволяет оптимизировать лечение, избежать развития постдеструктивных рецидивирующих процессов.

Методология и методы исследования

Методология диссертационной работы заключается в изучении рецепторного иммунного статуса эпителия и стромы эндоцервикса и цервико-вагинального микробиоценоза с использованием современных методов диагностики у пациенток с HSIL.

Диагностическая тактика включала изучение молекулярно-биологических, а также иммуногистохимических параметров. С учетом аспектов доказательной медицины, после архивирования базы данных, были проведены анализ и статистическая обработка полученных результатов.

Положения, выносимые на защиту

1. HSIL развиваются на фоне цервико-вагинального анаэробного и аэробного дисбиоза, коррелирующего с высокоонкогенными типами ВПЧ и доминированием L.iners (r=+0,632 при p=0,00).
2. Возникновение и прогрессирование LSIL до HSIL происходит на фоне клинически значимых изменений рецептивности клеток цервикального эпителия и стромы к иммунокомпетентным клеткам. Прогностически значимым в прогрессировании патологического процесса является уменьшение доли клеток с экспрессией рецепторов к CD56, CD3, CD20, CD138 (в клетках эпителия и стромы) и инфильтрации клеток эпителия M-CSF у женщин с HSIL по сравнению LSIL.
3. Разработанный персонифицированный подход к иммуномодулирующей терапии на основании прогнозирования развития заболевания способствует элиминации ВПЧ в 90 % случаев, способствует снижению постдеструктивных рецидивирующих процессов в 4,0 раза у пациенток с HSIL при длительности наблюдения.

Степень достоверности результатов исследования

Статистический анализ выполнялся с использованием программ (SPSS 23.0, STATISTICA для Windows 10). Данные были представлены методами описательной статистики. Значения количественные представлены средним отклонением (M±SD). Достоверность выявленных различий двух групп подвергалась оценке по критерию Колмогорова-Смирнова. Значимость различий для количественных признаков определялась с помощью непараметрического критерия медиан (Me). Для качественных признаков составлялись четырехпольные таблицы сопряженности, значимость различий частот оценивалось с помощью критерия χ^2 с поправкой Йейтса, для выборок малых размеров (менее 5), применялся двухсторонний точный критерий Фишера (F). Статистически значимыми принимались различия при p≤0,05. При множественных сравнениях групп использовалась поправка Бонферрони. Оценка выявленных связей определялась по коэффициенту корреляции Спирмена с учетом средней (0,7≥ r ≥0,5) и высокой (r ≥0,7) степенями. Для оценки связи между

патологическим воздействием и вероятностью развития заболевания рассчитывался показатель относительного риска (relativerisk, RR). Для разработки математической модели прогноза использовался дискриминантный анализ.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на: VI Конгрессе акушеров-гинекологов УФО с международным участием «Инновации в перинатологии и репродуктивной медицине» (Россия, Екатеринбург, 11-12 октября 2019); IV Научно - образовательном конгрессе «Онкологические проблемы от менархе до менопаузы» (Россия, Москва, 12-14 февраля 2020), XXI Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя - 2020» (Россия, Московская область, г. Красногорск, 28-30 сентября 2020), на XIV Общероссийском научно-практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Россия, Сочи, 5-8 сентября 2020), на VII Конгрессе акушеров-гинекологов УФО «Женское здоровье от рождения до менопаузы» «Дитя и Мама» (Россия, Екатеринбург, 8-10 октября 2020).

Апробация диссертационной работы состоялась на заседании проблемной комиссии и Ученого совета ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» МЗ РФ 16.02.2021, протокол № 1.

Личное участие автора

Автором проанализированы современные источники литературы. Диссертант лично провел работу по молекулярно-биологическому и иммуногистохимическому исследованию тематических больных, оперативному лечению, оценке клинико-лабораторных и инструментальных исследований; статистическому анализу полученных данных и результатов.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертационной работы соответствуют формуле специальности: 14.01.01 – Акушерство и гинекология, конкретно пунктам 3,4 паспорта специальности.

Внедрение результатов работы в практическое здравоохранение

Результаты проведенного диссертационного исследования внедрены в практическую деятельность ФГБУ «Уральский НИИ ОММ» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Екатеринбург), ООО МЦ «АНГИО ЛАЙН» (г. Екатеринбург), женской консультации ГАУЗ г. Березовский (Свердловская область). Материалы научно-исследовательской работы включены в учебный процесс подготовки врачей при постдипломном образовании, аспирантов, а также ординаторов ФГБУ «Уральский НИИ ОММ» МЗ РФ.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации было опубликовано 14 печатных работ, в том числе 9 в научных изданиях, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для публикации основных результатов диссертационных работ на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, 5 в материалах конференций и форумов, 1 патент на изобретение.

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ

Научно-исследовательская работа изложена на 142 страницах печатного текста, состоит из введения, 5 глав, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя литературы. Диссертация иллюстрирована 37 таблицами и 15 рисунками. Библиографический указатель включает 207 источников, из них 103 – отечественных, 104 – зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Диссертационная работа выполнена в ФГБУ «Уральский НИИ ОММ» МЗ РФ (директор – д.м.н. Мальгина Г.Б.) в период с 2017 по 2020гг. Ведение, наблюдение, обследование и лечение пациенток осуществлялось в медицинском центре «АНГИО ЛАЙН» г. Екатеринбурга (главный врач – Эктова М.В.). Морфогистологическое и иммуногистохимическое исследования проводились в ФГБУ «Уральский НИИ ОММ» МЗ РФ.

Выполнено одномоментное проспективное обследование 506 женщин, обратившихся для лечения ВПЧ-ассоциированного плоскоклеточного интраэпителиального поражения (SIL). В результате проведенной выкопировки в соответствии с критериями включения и исключения в дальнейшее проспективное исследование включены 120 женщин: I-ю основную группу составили 60 пациенток с HSIL, во II-ю группу сравнения вошли 60 пациенток с LSIL.

На втором этапе, по результатам оценки клинических характеристик сформированы группы: 1 – 42 пациентки с HSIL, диагностированной впервые, 2 – 18 пациенток с HSIL с рецидивирующим течением, 3 – 41 пациентка с LSIL, диагностированной впервые, 4 – 19 пациенток с LSIL с рецидивирующим течением. В 5-ю (контрольную) группу вошли 45 пациенток, сопоставимых по возрасту, ВПЧ-негативных, визуально и цитологически неизменённой шейкой матки, не имевших в анамнезе лечения по поводу цервикального неопластического процесса, прооперированных по поводу гинекологической патологии, не связанной с отклонениями со стороны шейки матки и онкологическими процессами органов репродуктивной системы. Окончательная верификация диагноза осуществлялась по результатам морфогистологического метода.

Критерии включения в основную группу: пациентки с ВПЧ-ассоциированными цервикальными плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями высокой степени (диагноз по МКБ: N87.1 Умеренная дисплазия шейки матки – CIN II); репродуктивный возраст женщин 26-40лет; письменное информированное согласие пациенток на участие в исследовании; возможность выполнять требования протокола.

Критерии включения в группу сравнения: пациентки с ВПЧ-ассоциированными цервикальными плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями низкой степени (диагноз по МКБ: N87.0 Слабовыраженная дисплазия шейки матки); возраст женщин 26-40лет; письменное информированное согласие пациенток на участие в исследовании; возможность выполнять требования протокола.

Критерии исключения из исследования: плоскоклеточные интраэпителиальные поражения шейки матки высокой степени - CIN III, карцинома in situ (диагноз по МКБ: N87.2 Резко выраженная дисплазия не классифицируемая в других рубриках и N87.9 Дисплазия шейки матки неуточненная); койлоцитоз, кондиломы шейки матки; ВПЧ-вакцинированные; возраст женщин менее 26 и более 40 лет; беременность и послеродовый период менее 1 года; злокачественные опухоли любой локализации; положительный результат теста на ВИЧ-инфекцию, сифилис, гепатит В и С; индекс Кетле (ИМТ) более 30.

Все пациентки обследованы согласно Приказа Минздрава России «Порядок оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» № 572н от 12.11.2012 г. Выполнено стандартное клинико-лабораторное обследование, а также цитологическое, молекулярно-биологическое, микробиологическое, кольпоскопическое, морфогистологическое и иммуногистохимическое исследования. Забор материала проводили согласно Методических указаний 4.2.2039-05 (2006).

Анализ цервико-вагинального микробиоценоза выполняли ***микробиологическим (культуральным) методом*** на аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы с определением чувствительности к антибиотикам и бактериофагам, и оценкой видового состава лактобацилл методом MALDI – TOF масс-спектрометрия, в анализаторе VITEKMS. Забор материала производился зондом-тампоном с помещением в eSwab-контейнер. Идентификацию *Papillomavirus (6,11,16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59), Chlamidia trachomatis, Micoplasma genitalium, Mcoplasma hominis, Ureaplasma urealiticum, Ureaplasma parvum, Neisseria gonorrhoeae* проводили молекулярно-генетическим ***методом (ПЦР***). Изучение вирусной нагрузки ВПЧ проводилось методом «Hybrid Capture», где 1 условная единица соответствовала пороговой клинически значимой концентрации ВПЧ (RLU 100 000 генокопий/мл) (Куевда Д.А. и соавт., 2010).

По результатам расширенной кольпоскопии был выполнен забор материала для ***морфогистологического исследования*** при помощи аргонусиленного радиоволнового аппарата «Фотек ЕА142М» согласно Клинических рекомендаций. ***Иммуногистохимическое исследование*** проводилось с окраской растворами антител, специфичных к одному из исследуемых маркеров (CD3, CD56, CD20, CD138, M-CSF) с помощью тест-систем Bond RTU Primary, США в патоморфологическом отделении ФГБУ «Уральский НИИ ОММ» Минздрава России. Оценка полученных результатов осуществлялась по степени флюоресценции и количеству образованных комплексов «антиген-антитело» в процентном эквиваленте. Подсчет количества позитивных клеток выполнен с использованием микроскопа Axio Zeiss ZEN Blue (Германия) при увеличении ×400 не менее, чем в 10 полях зрения.

Оперативное лечение пациенткам проводилось в объеме ЭХВЧ-эксцизии и ЭХВЧ-конизации (согласно Клиническим рекомендациям). На третьем этапе (постоперативном)

когорта больных с высоким риском рецидивирования HSIL на основании иммуногистохимического исследования и прогноза развития заболевания была разделена на две группы, каждая из которых состояла из 30 женщин: группа А (n=30) - получала терапию, включавшую Инозин пранобекс перорально из расчета 50мк/кг массы тела, с максимальной суточной дозировкой 3000мг, разделенной на 3 приема курсом 28 дней; группа Б (n=30) - получала комплексную терапию, включавшую Инозин пранобекс перорально из расчета 50мк/кг массы тела с максимальной суточной дозировкой 3000мг, разделенной на 3 приема курсом 28 дней + Азоксимера бромид интравагинально 10 свечей на курс: в дозировке 12 мг по 1 суппозиторию ежедневно №3, затем по 1 суппозиторию через день №7. Рандомизация проводилась методом конвертов.

Оценка эффективности терапии осуществлялась с помощью лабораторных (цитологическое, молекулярно-биологическое) и инструментальных (кольпоскопия) данных через 3 месяца, 6 месяцев и 1 год.

Результаты исследования и их обсуждение

Возраст пациенток варьировал от 26 до 40 лет. Женщины I, II групп и группы контроля были сопоставимы по возрасту (в I группе – 30,3±0,97 лет, во II – 28,7±0,87 лет, в группе контроля – 29,3±1,16лет).

При изучении особенностей гинекологического анамнеза у обследованных пациенток выявлено доминирование хронического цервицита с высоким относительным риском (RR=5,22, χ^2=9,26 при p=0,001), что объяснялось активацией патогенной и ростом условно-патогенной микрофлоры на фоне папилломавирусной инфекции и сопровождающей ее иммуносупрессии (Караулов А.В. и соавт., 2013; Bird, Y. Et all., 2017).

Из 506 обследованных пациенток у 7,3% (37 человек) в анамнезе продемонстрировано рецидивирующее течение заболевания: в 3,5% случаев (18 женщин) с HSIL и 3,8% с LSIL (19 женщин) с продолжительностью межрецидивного периода от 1 до 2 лет. Проводимое ранее лечение данных женщин осуществлялось согласно Клиническим рекомендациям («Доброкачественные и предраковые заболевания шейки матки с позиции профилактики рака», 2017) с последующим контролем излеченности.

Сравнительный анализ генотипирования ВПЧ не выявил статистически значимых различий между группами, при доминировании 16 и 33 генотипов (p=0,893, p=0,476), что согласуется с результатами ряда исследований (Манухин И.Б., Минкина Г.Н. и др., 2018) [Рисунок 1].

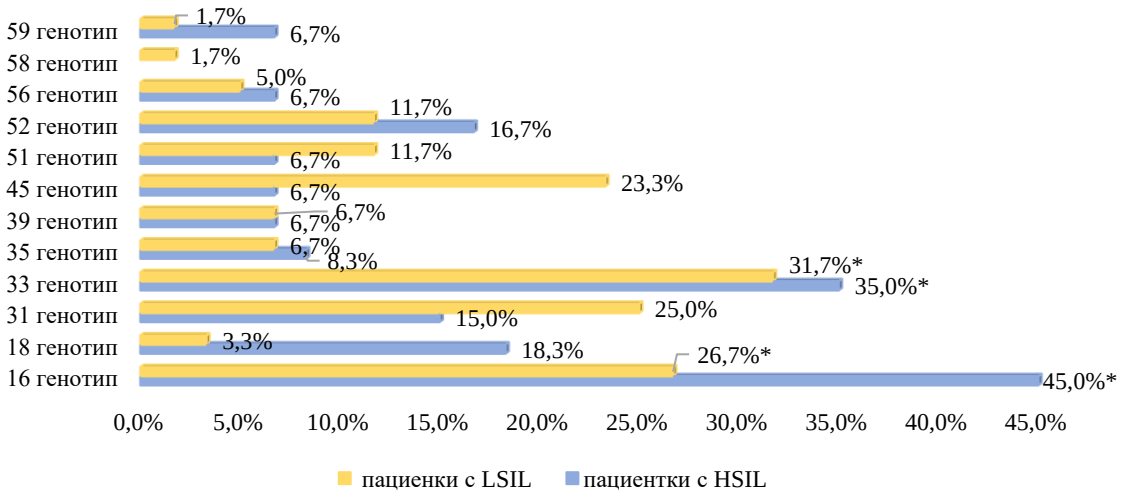


Рисунок 1 - Частота выявления различных генотипов ВПЧ у обследованных пациенток

У пациенток с SIL значительно чаще регистрировались 18 генотип при HSIL (11 женщин, 18,3%) по сравнению с LSIL (2 женщины, 10,5%) [p=0,019], определял его предикторную роль и высокий риск развития HSIL при его обнаружении, что подтверждалось расчетом относительного риска RR (для рецидивирования HSIL RR=2,11, χ^2=7,117 при p=0,007, для рецидивирования LSIL RR=10,5 χ^2=13,688 при 0,000), что совпадало с результатами ряда исследований (Ледина А.В, 2018) и характеризовало региональные особенности.

Установлено, что показатель вирусной нагрузки составил в среднем 1,5±0,6 у.е. Hybrid Capture для HSIL и 1,2±0,58 у.е. Hybrid Capture для LSIL (Таблица 1), со статистически более высокой нагрузкой у пациенток с HSIL, независимо от наличия рецидивирования неоплазии.

Таблица 1 - Вирусная нагрузка у обследованных пациенток

Показатель	I пациентки с HSIL (n=60)		II пациентки с LSIL (n=60)		Уровень статистической значимости (p)
	1группа (n=42)	2 группа (n=18)	3 группа (n=41)	4 группа (n=19)	
	M±SD (95%ДИ)	M±SD (95%ДИ)	M±SD (95%ДИ)	M±SD (95%ДИ)	
Вирусная нагрузка (у.е. Hybrid Capture)	***1,6±0,64 (1,41-1,79)***	***1,34±0,5 (1,07-1,57)***	***1,22±0,6 (1,04-1,4)***	***1,1±0,6 (0,84-1,36)***	***p_{I-II}= 0,001*** ***p_{1-2}– NS**** ***p_{1-3}= 0,006**** ***p_{2-4}= 0,06**** ***p_{3-4}– NS****

Примечание: NS – Nostatistical, p>0,05 – статистически значимых различий между группами не выявлено. Критерий хи-квадрат.
*- поскольку групп было более 2-х и соответственно они сравнивались друг с другом попарно, поэтому применялась поправка Бонферрони, то есть критический уровень значимости в каждом попарном сравнении брался равным 0,05/4 = 0,0125.

Пациентки с HSIL достоверно чаще имели выраженные нарушения цервико-вагинального микробиоценоза с доминированием *Gardnerella vaginalis* в сочетании с *L.iners*.

Для рецидивирующих HSIL характерен в большей степени скудный рост условно-патогенных микроорганизмов (УПМ), в сочетании с *L.iners*. Проведенный корреляционный анализ продемонстрировал высокую положительную корреляционную связь между *L.iners* и *Gardnerella v.* (r=+0,786 при p=0,001) у пациенток с HSIL при первично выявленном заболевании. Аэробная микрофлора была представлена у обследованных пациенток следующим спектром УПМ – *Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Streptococcus agalactiae, Klebsiella pneumoniae, Streptococcus epidermidis, Candida albicans,* анаэробная флора – *Gardnerella vaginalis.*

Характеристика условно-патогенных бактерий по частоте их встречаемости демонстрировала доминирование *Enterococcus faecalis* как при HSIL (56,7%), так и при LSIL (40,0%), со статистически значимыми различиями относительно группы контроля (χ^2=28,9 при p=0,00, χ^2=15,6 при p=0,00 соответственно), в количестве 4,9±0,16 lg КОЕ/образец и 4,7±0,15 lg КОЕ/образец соответственно. На втором месте по частоте встречаемости определялась *Escherichia coli* (4,9±0,16 lg КОЕ/образец) для пациенток с HSIL, достоверно чаще при впервые выявленном заболевании (26,2%) χ^2=11,2 при p=0,00), составляя 11,1% при рецидивирующем его течения (p>0,05). Полученные результаты могут означать особенности современного этапа, связанного с ростом патогенности *Enterococcus faecalis* и *E.coli*, являясь прогностически неблагоприятным для рецидивирования HSIL (Рисунок 2).

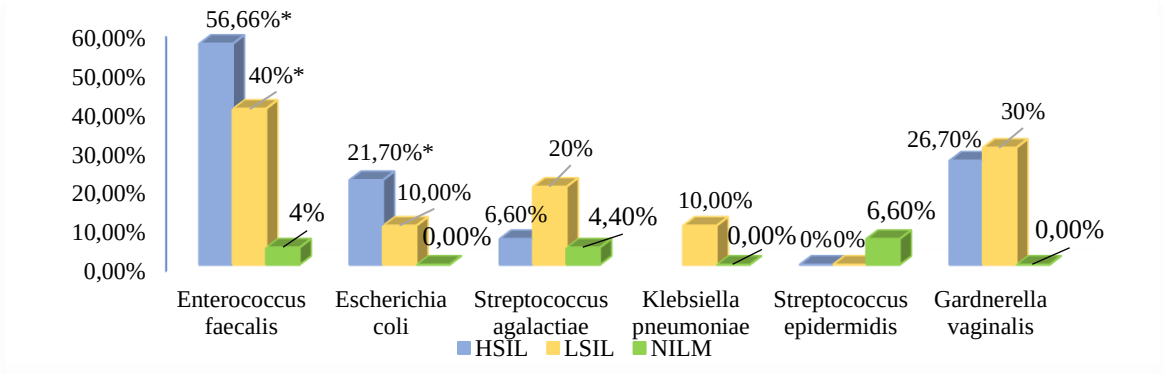


Рисунок 2 - Частота встречаемости условно-патогенных представителей цервико-вагинального микробиоценоза у обследованных пациенток

У женщин с HSIL бета-гемолитический стрептококк (2±0 lg КОЕ/образец) встречался в низком проценте случаев (22,2%) только во второй группе. Параллельный рост *Enterococcus faecalis* и *Escherichia coli* отмечался практически у каждой третьей пациентки при впервые диагностированной SIL, независимо от степени: в 39,3% – при HSIL и 38,5% – при LSIL, что также свидетельствовало о прогностически неблагоприятном факторе. Другие представители условно-патогенных микроорганизмов микробиоты значимых различий между группами не продемонстрировали.

Обсемененность лактобациллами составила у пациенток с HSIL – 2,9±0,08 lg КОЕ/образец, с LSIL – 3,1±0,17 lg КОЕ/образец и с NILM – 6,3±0,09 lg КОЕ/образец, имея достоверные различий между собой ($p_{1-5,\ 2-5}$=0,00). Видовой состав лактобацилл был представлен *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus crispatus, Lactobacillus gasseri, Lactobacillus jensenii, Lactobacillus iners*. У всех пациенток с плоскоклеточными

интраэпителиальными поражениями, независимо от степени и наличия рецидива процесса, факультативный анаэроб *Lactobacillus iners* регистрировался у 19 (31,7%) – при HSIL и у 22 (36,7%) – с LSL (χ^2=15,3 при p=0,00, χ^2=18,7 при p=0,00 соответственно), при этом их количество составило 6,1±0,09 lg КОЕ/образец и 5,1±0,24 lg КОЕ/образец соответственно. Пероксидпродуцирующие лактобациллы также присутствовали у данного контингента больных, однако достоверно реже (10% – при HSIL и 16,7% – при LSIL, $p_{I-5,\ II-5}$=0,00) и степень выраженности их колонизации была заметно ниже (10^2-10^3 КОЕ/образец) относительно ≥10^6 КОЕ/образец в группе контроля. Присутствие *Lactobacillus crispatus* отмечалось только при впервые диагностированных HSIL (6,7%) и LSIL (5%), в количестве 2,3±0,33 lg КОЕ/образец и 2,5±0,5 lg КОЕ/образец соответственно. Присутствие *Lactobacillus gasseri* наблюдалось при плоскоклеточных интраэпителиальных поражениях низкой степени (2,3±0,21 lg КОЕ/образец) у 4(9,8%) пациенток при впервые диагностированном заболевании и у 3(15,7%) при его рецидивирующем течении, в то время как при аналогичной длительности HSIL (3±0 lg КОЕ/образец) у 2(11,1%). Полученные данные были статистически значимыми относительно группы контроля (p=0,001) [Рисунок 3].

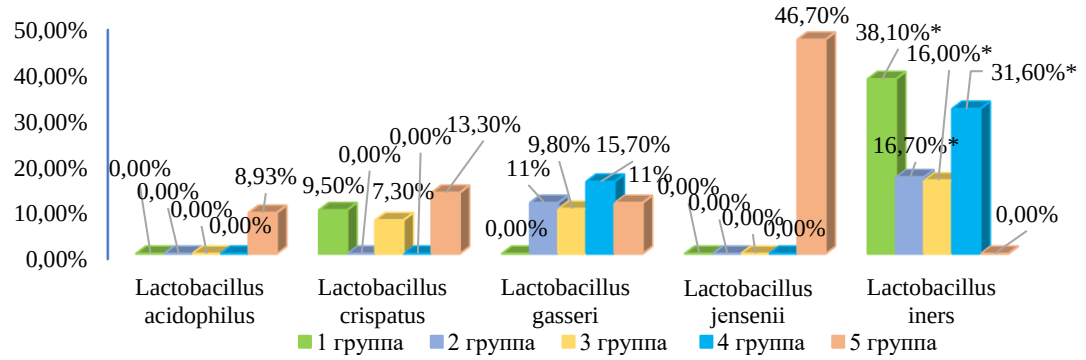


Рисунок 3 - Оценка видового состава лактобактерий у обследованных пациенток

Анализ результатов иммуногистохимической реакции относительно числа клеток с экспрессией рецепторов CD3, CD56, CD20, CD138 и инфильтрации тканей M-CSF в цервикальном эпителии продемонстрировал ряд особенностей у пациенток с HSIL. При анализе экспрессии рецепторов CD56, ответственных за продукцию противовоспалительных цитокинов в цервикальном эпителии у пациенток с HSIL выявлена значительно более низкая его экспрессия по сравнению с аналогичным показателем у пациенток 3 и 5 групп (p=0,002), с незначительными различиями с данным показателем у пациенток 4 группы (p=0,893) [Рисунок 4]. Снижение активности CD56 у пациенток с HSIL и рецидивирующим течением LSIL могло свидетельствовать о развитии иммунодефицитного состояния и являться маркером рецидивирования процесса неоплазии.

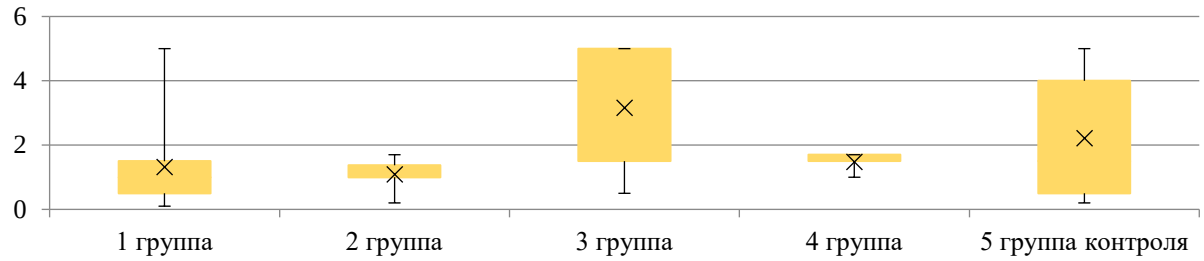


Рисунок 4 - Сравнительный анализ доли клеток с рецепторами CD56 в цервикальном эпителии у обследованных пациенток, %

Результаты исследования В-клеточного звена адаптивного иммунитета продемонстрировали значительно более низкий показатель доли клеток с рецептором CD20 у всех пациенток с HSIL и LSIL в сравнении с аналогичным показателем группы контроля (p=0,001; p=0,002 соответственно), в большей степени при рецидивирующем течении HSIL (p=0,000), за исключением впервые выявленного LSIL, где отмечалось достоверное его повышение и показатель статистически значимо не отличался от аналогичного в группе контроля (p=0,794). Увеличение уровня данного маркера свидетельствовало о значительной активации В-клеточного звена иммунитета при развитии неоплазии, в большей степени при впервые диагностированных LSIL, что может характеризоваться как адекватный иммунный ответ. Анализ уровня экспрессии рецепторов CD138 в клетках эпителия продемонстрировал достоверное снижение у пациенток с SIL относительно группы сравнения (p=0,001).

В клетках стромы ситуация сложилась аналогичная эпителиальному пласту и показала снижение уровня активности данного маркера у всех женщин с HSIL и с рецидивом LSIL. Увеличение доли клеток с рецепторами CD138 отмечалось при первично диагностированном плоскоклеточном интраэпителиальном поражении низкой степени (Рисунок 5). Поскольку В-клетки памяти, являясь циркулирующими подгруппами лимфоцитов, дают начало плазматическим клеткам, данный показатель может быть маркером эффективности продолжительных антительных реакций на местном уровне.

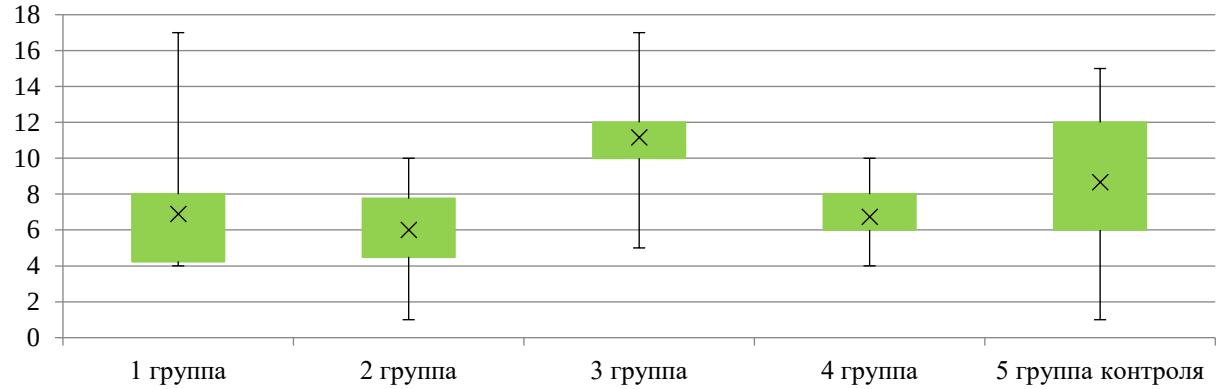


Рисунок 5 - Сравнительный анализ доли клеток с рецепторами CD138 в клетках стромы у обследованных пациенток, %

Результаты определения доли клеток с рецепторами CD3 (Т-клеточный иммунный ответ) продемонстрировали значительно более низкий ее уровень у всех пациенток с SIL, по

сравнению с группой контроля. Показатели изменились в сторону повышения у женщин с впервые диагностированной LSIL (Рисунок 6).

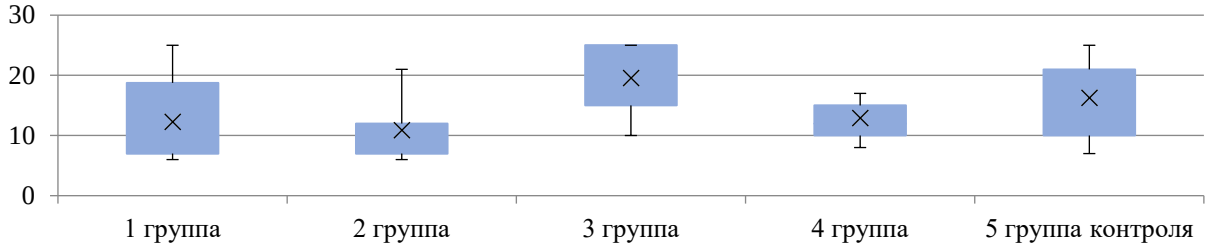


Рисунок 6 - Сравнительный анализ экспрессии доли клеток с рецепторами CD3 в цервикальном эпителии у обследованных пациенток, %

Учитывая, что через антигенпрезентирующие клетки, происходит оптимизация работы клеточного звена адаптивного иммунитета, оценена его активность. Анализ инфильтрации тканей цервикального эпителия M-CSF достоверно продемонстрировал наименьшую их активность у всех пациенток с HSIL и рецидивирующим течением LSIL. При изучении M-CSF в клетках стромы выявленные статистически значимые различия были аналогичными эпителиальному пласту (Рисунок 7, 7а).

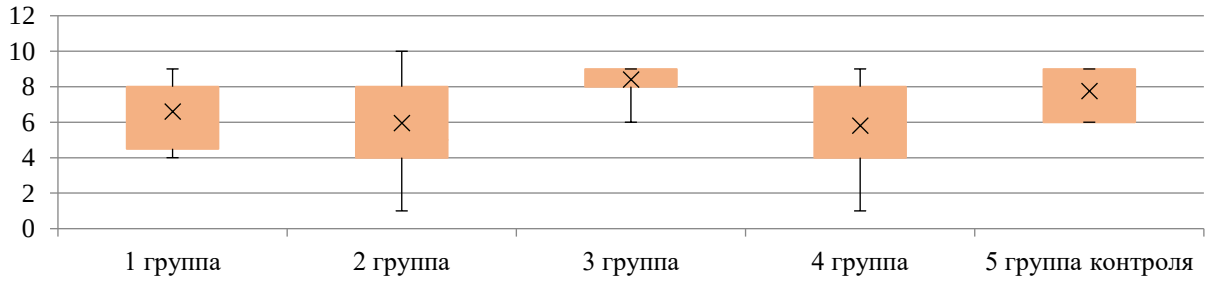


Рисунок 7 - Сравнительный анализ экспрессии M-CSF в клетках эпителия, у обследованных пациенток, балл

Выявленные изменения в сторону снижения активности данного показателя характеризовали снижение работы клеточного звена врожденного иммунитета, что могло свидетельствовать об иммунодефицитном состоянии и являться маркером неблагоприятного исхода.

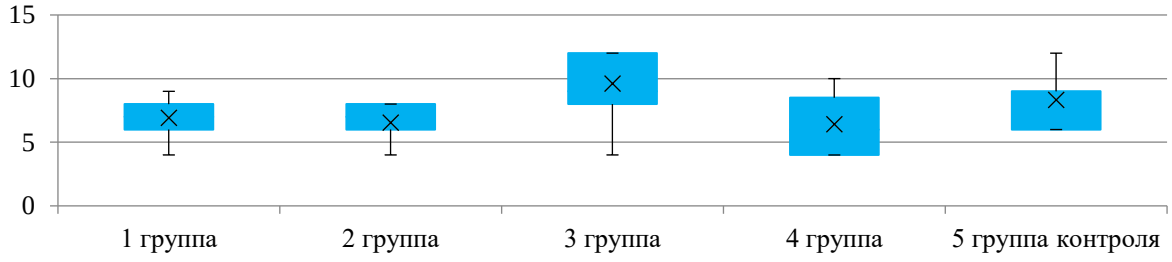


Рисунок 7а - Сравнительный анализ экспрессии M-CSF в клетках стромы у обследованных пациенток, балл

Таким образом, было выявлено, что для **впервые диагностированных LSIL характерно** преобладание обильного роста условно-патогенных микроорганизмов (в зависимости от конкретного представителя) в сочетании с присутствием *L. iners* в 39% случаев, наличие *Gardnerella vaginalis* с превышением предельно допустимого титра ($\geq 10^4$ КОЕ/образец) в 43,9% случаев. Особенностями иммуногистохимической реакции явилось повышение доли клеток экспрессирующих рецепторы CD56, CD3, CD20, CD138 (в клетках стромы), M-CSF (в клетках эпителия и стромы), что свидетельствовало об активации макрофагально-фагоцитарного звена иммунитета на фоне роста условно-патогенных микроорганизмов.

У пациенток с рецидивирующими LSIL отмечалось преобладание обильного роста условно-патогенных микроорганизмов (в зависимости от конкретного представителя) в сочетании с присутствием *L. iners* в 31,6% при рецидивирующем течении, превалирование самостоятельного скудного роста УПМ. Особенностями иммуногистохимической реакции являлась недостаточная экспрессия CD56, CD3, CD20, CD138 (в клетках эпителия и стромы), M-CSF (в клетках эпителия и стромы), что свидетельствовало об иммунодефицитном состоянии на фоне снижения рецептивности к иммунокомпетентным клеткам.

Развитие **впервые диагностированных HSIL** сопровождалось обильным ростом условно-патогенных микроорганизмов (в зависимости от конкретного представителя) практически в половине случаев (47,8%). При обильном росте УПМ в сочетании с *L.iners* выявлялась *Gardnerella vaginalis* в концентрации $\geq 10^4$ КОЕ/образец. Особенностями иммуногистохимической реакции являлось уменьшение доли клеток с экспрессией рецепторов CD56, CD3, CD20, CD138 (в клетках эпителия и стромы) и инфильтрации клеток эпителия M-CSF, что свидетельствовало об иммунодефицитном состоянии со снижением рецептивности к иммунокомпетентным клеткам и на этом фоне обильным ростом условно-патогенной флоры в сочетании с *L.iners.*

При **рецидивирующих HSIL** отмечался рост условно патогенных микроорганизмов в отсутствие любых видов лактобактерий, при этом пороговые значения УПМ не превышали предельно допустимый титр (КОЕ/образец) для выделенного представителя. Особенностями иммуногистохимической реакции являлось уменьшение доли клеток с экспрессией рецепторов CD56, CD3, CD20, CD138 (в клетках эпителия и стромы) и инфильтрации клеток эпителия M-CSF, более значительное снижение маркера CD56 относительно впервые диагностированной патологии, что свидетельствовало о более глубоком поражении рецептивности эпителия к иммунокомпетентным клеткам.

У пациенток с HSIL имелась положительная средняя коррелятивная связь с цервико-вагинальным дисбиоценозом представленным, в основном, анаэробной микрофлорой, в частности, *Lactobacillus iners* ($r=+0,632$ при $p=0,00$) и положительная средняя коррелятивная связь с хроническими воспалительными заболеваниями шейки матки ($r=+0,667$ при $p=0,00$).

Присутствие анаэробной микрофлоры, в виде *Lactobacillus iners,* при HSIL, имело отрицательную среднюю коррелятивную связь с долей клеток экспрессирующих рецепторы CD56 ($r=-0,634$ при $p=0,00$), CD3 ($r=-0,584$ при $p=0,00$), CD20 ($r=-0,552$ при $p=0,00$), CD138 (в

клетках эпителия и стромы) (r=-0,586 при p=0,00) и инфильтрации клеток эпителия M-CSF (r=-0,614 при p=0,00).

С помощью, выявленных показателей была разработана математическая модель, позволяющая прогнозировать прогрессирование данного патологического процесса у женщин с LSIL и переход в высокую степень онкогенного риска (HSIL). Наиболее значимыми показателями явились уровни экспрессии колониестимулирующего фактора макрофагов (M-CSF), плазматических клеток (CD138) в строме, а также Т-лимфоцитов (CD3) и натуральных киллеров (CD56) в цервикальном эпителии с последующим вычислением прогностического индекса (PI) по формуле:

PI = 0,095 × X1+0,053× X2+0,782× X3 – 0,387 × X4 – 5,789, где

X1 – количество CD3 клеток, %; X2 – количество CD138 клеток в строме, %;

X3 – количество CD56 клеток, %; X4 – количество M-CSF клеток в строме, баллы; 5,789– Const. Количество шагов-4

Число переменных в модели: 4

Последняя введенная переменная: Макрофаги (M-CSF) строма F (1,37) = 4,654747 p<, 0375, Лямбда Уилкса: ок. 4975786 F (4,37) = 9,340028 p <, 0000

При PI более 0 делали заключение о высоком риске перехода рецидивирующей интраэпителиальной неоплазии низкой степени онкогенного риска в высокую. При PI менее 0 прогнозировали низкий риск перехода в HSIL (Таблица 2).

Таблица 2 - Наиболее значимые иммуногистохимические параметры биоптатов шейки матки у обследованных пациенток

Показатель	Wilks'	Partial	F-remove	p-level	Toler.	1-Toler.
CD138 строма	0,612058	0,812960	8,51268	0,005966	0,968513	0,031487
CD3	0,641591	0,775539	10,70877	0,002314	0,928100	0,071900
CD56	0,574893	0,865516	5,74909	0,021658	0,930582	0,069418
Мф строма	0,560176	0,888254	4,65475	0,037531	0,958383	0,041617

На основании выявленных корреляционных связей между изменениями параметров рецептивности неоплазированного эндоцервикса к иммунокомпетентным клеткам в группе пациенток с рецидивирующим характером LSIL и группе женщин с рецидивирующим HSIL позволяет экстраполировать полученный прогностический метод на пациенток I группы для оптимизации терапии (p=0,001для M-CSF, p=0,002 для CD138, p=0,001 для CD3, p=0,001 для CD56).

Чувствительность и специфичность классифицирующей модели была оценена при помощи ROC-анализа (Receiver Operator Characteristic – операционная характеристика приемника, с англ.). Чувствительность метода составила 75%, специфичность 92,3%. По результатам построения ROC-кривой показатель AUC (Area under ROC curve – площадь под ROC-кривой, с англ.) составил 0,827±0,013 с 95%CI: [0,572÷0,789], p=0,014, что соответствовало высокому качеству метода для прогнозирования развития HSIL. Эффективность составила 83,7% (Рисунок 8).

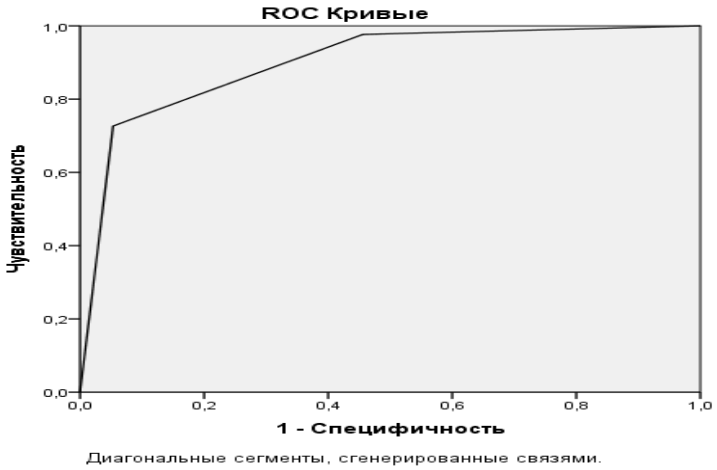


Рисунок 8 - ROC-кривая модели прогнозирования HSIL

Для выполнения третьего этапа, согласно одной из задач исследования, были взяты две группы (1-я и 2-я), включающие пациенток с HSIL. Согласно результатам иммуногистохимического исследования данные женщины имели идентичные изменения по показателям локального иммунного микроокружения. Это позволило разделить всю когорту больных с HSIL (n=60) на равные по количеству пациенток группы с целью оценки эффективности комбинированной терапии данной патологии. Рандомизация проводилась методом конвертов.

Было выделено две группы, в каждую из которых вошли по 30 пациенток: группа А (n=30) – получала оперативное лечение в объеме ЭХВЧ-эксцизии или ЭХВЧ-конизации и терапию, включавшую Инозин пранобекс (согласно Клиническим рекомендациям «Доброкачественные и предраковые заболевания шейки матки с позиции профилактики рака», 2017); группа Б (n=30) – получала оперативное лечение в объеме ЭХВЧ-эксцизии или ЭХВЧ-конизации и терапию, включавшую Инозин пранобекс (согласно Клиническим рекомендациям «Доброкачественные и предраковые заболевания шейки матки с позиции профилактики рака», 2017) и Азоксимера бромид. Оперативное лечение было выполнено при помощи аргонусиленного радиоволнового аппарата «Фотек ЕА142М» в режиме «Смесь». Окончательный гемостаз осуществлялся методом аргоно-плазменной коагуляции в режиме «Спрей». Применяемые мощности соответствовали рекомендациям к применению данного оборудования. Объем оперативного лечения зависел от типа зоны трансформации. ЭХВЧ–эксцизия была выполнена при ЗТ 1 типа 42 пациенткам (70%) и ЭХВЧ–конизация – при ЗТ 2 и 3 типа 18 пациенткам (30%) в сочетании с выскабливанием цервикального канала, независимо от объема оперативного лечения. Материал помещался в 2-е емкости с 10% формалином: 1-а для соскоба из цервикального канала, 2-я для биоптата шейки матки.

После получения результатов морфогистологического исследования и подтверждения диагноза HSIL с описанием краев резекции, которые были негативные во всех случаях, пациенткам была назначена иммуномодулирующая терапия. Когорта больных из группы А получала - Инозин пранобекс в течение 28 дней. Женщины из группы Б – сначала провели аналогичный курс Инозин пранобекса, а после его окончания – Азоксимера бромид 12 мг интравагинально – 10 свечей (Рисунок 9).

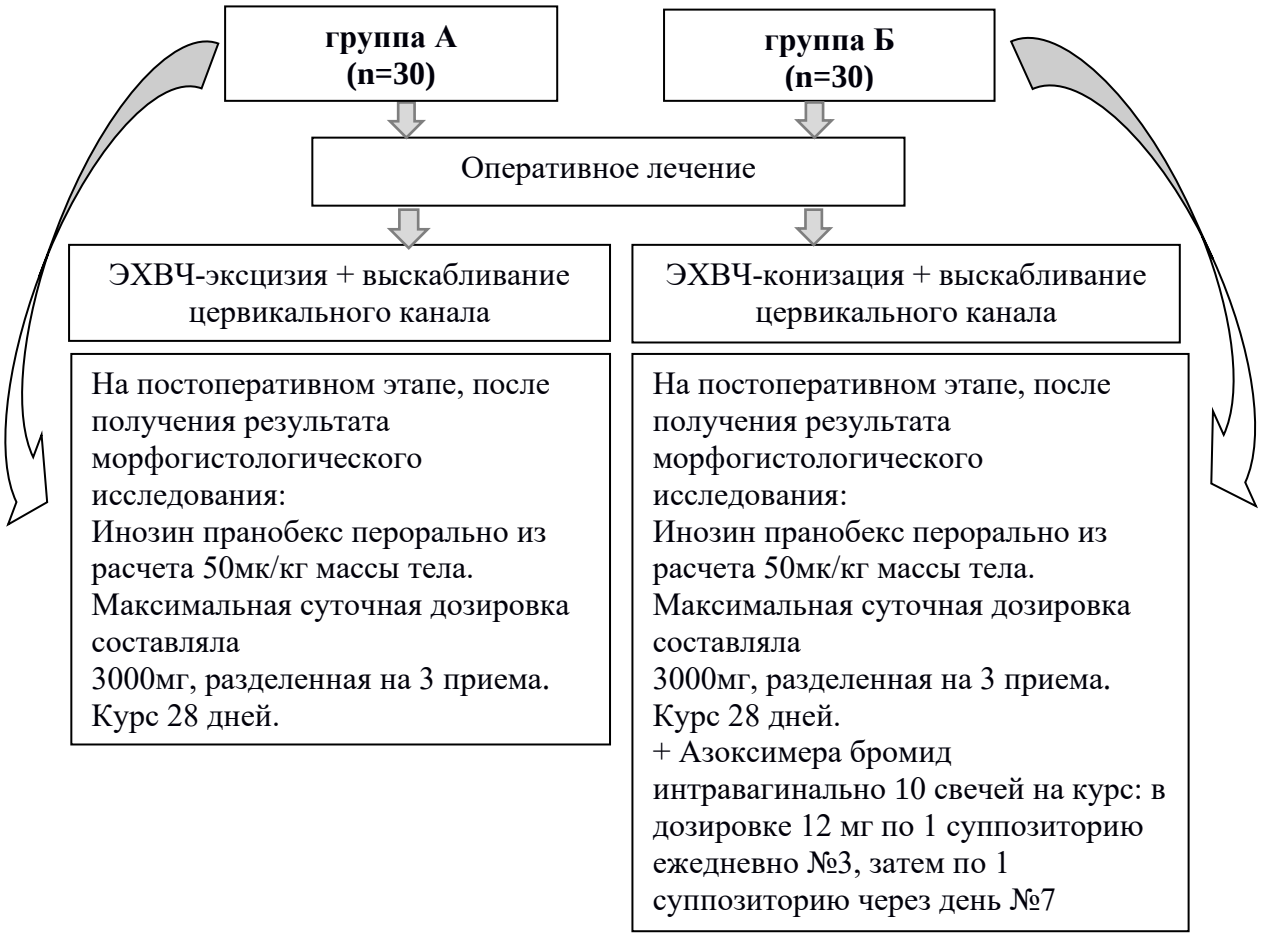


Рисунок 9 - Алгоритм лечения пациенток с HSIL

Критериями оценки эффективности комплексного лечения были ПЦР-диагностика элиминации ВПЧ, нормализация результатов цитологического исследования и кольпоскопической картины, отсутствие рецидивирования цервикального плоскоклеточного интраэпителиального поражения в течение 1 года диспансерного наблюдения. На период лечения и до окончания последнего этапа диспансерного наблюдения всем пациенткам было рекомендовано использование барьерного метода контрацепции.

Контрольные осмотры после оперативного лечения осуществлялись через 3 месяца, 6 месяцев и 1 год. При визите через 3 и 12 месяцев проводились гинекологический осмотр, цитологическое исследование жидкостным методом, по молекулярно-биологическому анализу методом ПЦР-диагностики определялось наличие ДНК ВПЧ и вирусная нагрузка, кольпоскопическое исследование.

Когорта больных группы А, продемонстрировала полное клинико-лабораторное выздоровление через 3 месяца. Через 1 год у 4-х (13,3%) пациенток данной группы регистрировался рецидив LSIL. Признаки воспалительного процесса шейки матки диагностированы у 7 (23,3%) женщин группы А, что являлось статистически значимым относительно показателей группы Б ($p=0,001$). Сочетание SIL с цервицитом отмечалось в 13,3% случаев. При динамическом наблюдении у пациенток группы Б не зарегистрировано ни одного случая рецидива неопластического процесса через 3 месяца. Через 12 месяцев

отмечался рецидив плоскоклеточного интраэпителиального поражения в виде низкой степени в сочетании с цервицитом у 1(3,3%) женщины (p=0,001).

По результатам молекулярно-биологического исследования элиминация ВПЧ была диагностирована через 3 месяца более чем у половины пациенток. Однако у женщин из группы Б ВПЧ выявлен у 3-х пациенток (10%) через 3 месяца, без изменения данных через год. У 6(20%) пациенток группы А ВПЧ продолжал обнаруживаться, демонстрируя идентичные показатели через 3 и 12 месяцев. Таким образом, эффективность терапии продемонстрировала отсутствие вируса папилломы человека у когорты больных, получавших дополнительно терапию Азоксимера бромидом в 90% случаев, в то время как при традиционной процент элиминации составил 80% (p=0,002). Через год в когорте больных группы А у 4(13,3%) пациенток с зоной трансформации 2 типа появились участки с признаками атипии 1 степени тяжести. Полученные результаты свидетельствовали о снижении рецидивирования HSIL в 4 раза.

Анализ уровня вирусной нагрузки, показал, что ее показатели составили в среднем через 3 месяца 0,6±0,17 у.е. Hybrid Capture в группе А и 0,12±0,16 у.е. Hybrid Capture в группе Б. Через год статистически значимые изменения в данных зафиксированы не были и составили 0,5±0,14 у.е. Hybrid Capture у пациенток с традиционной терапией и 0,01±0,04 у.е. Hybrid Capture при применении в составе комплексной терапии Азоксимера бромида.

Таким образом, первичным звеном в патогенезе развития HSIL является изменение рецептивности эпителия к иммунокомпетентным клеткам, с размножением на этом фоне условно-патогенной флоры с доминированием L.iners, которая в свою очередь создает предпосылки для усугубления иммунодефицитного состояния, что диктует необходимость оптимизации терапии. Изменения на клеточном уровне влекут за собой необходимость применения, наряду с оперативным лечением, иммуномодулирующей терапии и препаратов, оказывающих локальное антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие для снижения постоперативных рецидивирующих процессов.

На основании проведенного исследования разработан алгоритм ведения пациенток с HSIL и рецидивирующим LSIL (Рисунок 10).



Рисунок 10 - Алгоритм ведения пациенток с рецидивирующими LSIL для профилактики развития HSIL

Перспективы дальнейшей разработки темы

Выполненное исследование дает основание для дальнейшего изучения локального иммунного микроокружения, его генетической детерминации при HSIL для оптимизации методов прогнозирования, комплексной терапии и превенции прогрессирования в более тяжелую форму и онкотрансформацию.

Выводы

1. Развитие HSIL сопровождается цервико-вагинальным дисбиоценозом, выраженность которого коррелирует непосредственно с тяжестью неоплазии (r=+0,632 при p=0,00) и ее рецидивированием по данным анамнеза. Дисбиоценоз обусловлен анаэробной микрофлорой, а именно, *Gardnerella vaginalis* и *Ureaplasma urealyticum*, коррелирующей с *Lactobacillus iners* (10^4-10^6 КОЕ/образец) и высокоонкогенными типами ВПЧ. Аэробная флора в основном представлена *Enterococcus faecalis* (56,7%) и *Escherichia coli* (26,2%) с параллельным ростом у каждой 3-й пациентки.
2. Для пациенток с HSIL характерны особенности иммуногистохимической реакции с экспрессией рецепторов антител к CD3, CD56, CD20, CD138, M-CSF в цервикобиоптатах. Особенностями иммуногистохимической реакции является уменьшение доли клеток с экспрессией рецепторов CD56, CD3, CD20, CD138 (в клетках эпителия и стромы) и инфильтрации клеток эпителия M-CSF, что может способствовать развитию дефицитного состояния клеточного и гуморального звеньев адаптивного иммунитета. При рецидивирующем течении HSIL регистрируется более значительное снижение маркера CD56. Для пациенток с впервые диагностированными LSIL характерно увеличение доли клеток с экспрессией рецепторов CD56, CD3, CD20, CD138 (в клетках эпителия и стромы) и инфильтрации клеток эпителия M-CSF, что может свидетельствовать об адекватном иммунном ответе. При рецидивирующем течении LSIL отмечается уменьшение доли клеток с

экспрессией рецепторов CD56, CD3, CD20, CD138 (в клетках эпителия и стромы) и инфильтрации клеток эпителия M-CSF.

3. Корреляционные зависимости между экспрессией рецепторов к иммунокомпетентным клеткам, цервико-вагинальным дисбиоценозом и морфогистологическими изменениями цервикального эпителия свидетельствуют о детерминирующем влиянии рецепторного аппарата иммунокомпетентных клеток на формирование микробиоценоза с изменением видового состава лактобактерий, с развитием при внедрении вируса папилломы человека HSIL.

4. Сформированная на основании интегральной оценки иммунологических предикторов математическая модель прогнозирования развития HSIL дает возможность определить группу риска по прогнозу развития (неблагоприятному и благоприятному) с целью оптимизации тактики лечения.

5. Разработанный, на основании прогноза, алгоритм персонифицированной иммуномодуляции в комплексной терапии HSIL, способствует выздоровлению в 96,7% случаев, элиминации вируса папилломы человека у 90% пациенток, снижению рецидива цервикальных интраэпителиальных поражений в 4 раза.

Практические рекомендации

1. При обследовании женщин с HSIL необходимо включать оценку цервико-вагинального микробиоценоза.

2. При выявлении воспалительного процесса шейки матки целесообразно проведение углубленного микробиологического исследования с количественным и качественным определением спектра условно-патогенной флоры, генотипирования ВПЧ и оценкой видового состава лактобацилл для проведения персонифицированного лечения и прогноза развития цервикального поражения.

3. При постановке диагноза «ВПЧ-ассоциированное плоскоклеточное интраэпителиальное поражение» с целью анализа прогноза развития данного заболевания и прогрессирования SIL целесообразно проведение иммуногистохимического анализа биоптатов патологически измененных тканей шейки матки с определением доли клеток экспрессирующих рецепторы к CD3, CD20, CD56, CD138 и M-CSF.

4. При неблагоприятном прогнозе необходимо провести персонифицированную иммунокоррекцию препаратами, оказывающими локальное антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие в постоперационном периоде, после подтверждения диагноза по результатам морфогистологического исследования.

5. Алгоритм персонифицированной иммуномодуляции в комплексной терапии HSIL целесообразно внедрить в работу амбулаторно-поликлинического звена врача акушера-гинеколога.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Кононова, И.Н. Оценка дискордантных результатов цитологического исследования цервикального эпителия, обработанного традиционным методом и методом жидкостной

онкоцитологии / И.Н. Кононова, Н.В. Башмакова, Э.И. Вайнберг, Л.Н. Ребрикова, Г.А. Борисевич, В.В. Мартемьянова, Ю.Н. Кузнецова, Н.А. Шмакова, Я.Б. Бейкин // **Акушерство и гинекология**. – 2020. – S1. – С. 86-92.

2. Кононова, И.Н. Эпидемиология папилломавирусной инфекции и сопряженных с ней онкозаболеваний репродуктивных органов в Свердловской области. / И.Н. Кононова, Н.В. Башмакова, С.А. Берзин, Г.А. Борисевич, В.В. Мартемьянова, Ю.Н. Кузнецова, Н.А. Шмакова //**Акушерство и гинекология**. – 2020. – № S1. – С. 74-80.

3. Шмакова, Н.А. Особенности цервико-вагинального микробиоценоза с определением видового состава лактобактерий у пациенток с цервикальными интраэпительными неоплазиями / Н.А. Шмакова, Г.Н. Чистякова, И.Н. Кононова, И.И. Ремизова // **Лечение и профилактика.** – 2020. – Т. 10, № 3. – С. 30-35.

4. Шмакова, Н.А. Иммуногистохимические особенности цервикального эпителия при ВПЧ-ассоциированных цервикальных интраэпителиальных неоплазиях высокой степени онкогенного риска / Н.А. Шмакова, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова, А.А. Гришкина // **Российский вестник акушера-гинеколога**. – 2020. – Т. 20, № 6. – С. 27-31.

5. Шмакова, Н.А. Микробиоценоз урогенитального тракта женщин с ВПЧ-ассоциированными плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки / Н.А. Шмакова, Г.Н. Чистякова, И.В. Лаврентьева, И.Н. Кононова, И.И. Ремизова // **Вестник уральской медицинской академической науки**. – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 221-232.

6. Шмакова, Н.А. Особенности локального иммунного микроокружения при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях, ассоциированных с вирусом папилломы человека / Н.А. Шмакова, И.Н. Кононова, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова // **Вестник СурГУ.** – 2020. – № 4 (46). – С. 68-73.

7. Шмакова, Н.А. Особенности генотипирования папилломавирусной инфекции у пациенток с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями / Н.А. Шмакова, Г.Н. Чистякова, И.Н. Кононова, И.И. Ремизова // **Ульяновский медико-биологический вестник.** – 2020. – № 3. – С. 104-111.

8. Кононова, И.Н. Значение локальной иммунокоррекции для оптимизации терапии цервикальных интраэпителиальных неоплазий высокой степени онкогенного риска / И.Н. Кононова, Ю.Э. Доброхотова, Н.А. Шмакова, Е.Н. Карева, Г.Н. Чистякова // **Гинекология**. – 2020. – Т. 2, № 6. – С. 80-83.

9. 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, И.И. Ремизова, А.А. Гришкина // **Проблемы репродукции**. – 2021. – Т. 27, № 1. – С. 33-38.

10. Патент на изобретение «Способ прогнозирования риска прогрессии рецидивирующих цервикальных интраэпителиальных неоплазий низкой степени онкогенного риска, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией», приоритетная справка на изобретение, регистрационный номер: 2020127844 от 20.08.2020г.

11. Шмакова, Н.А. Этиопатогенетические аспекты профилактики диспластических процессов шейки матки и канцерогенеза (тезисы) / Н.А. Шмакова // Инновации в перинатологии и

репродуктивной медицине: сб. по материалам VI Конгресса акушеров-гинекологов УФО с международным участием. - Екатеринбург, 11-12 октября 2019. – С. 93-94.
12. Кононова, И.Н. Предикторы реализации онкогенного потенциала ВПЧ при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях (тезисы) / И.Н. Кононова, Н.А. Шмакова // Онкологические проблемы от менархе до менопаузы: сб. по материалам научно-образовательного конгресса. - Москва, 12-14 февраля 2020. - С. 272 - 273.
13. Шмакова, Н.А. Патогенетически обоснованный подход к иммуномодуляции (тезисы) / Н.А. Шмакова // Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии: сб. XIV Общероссийский научно-практический семинар. - Сочи, 5-8 сентября 2020. – С. 46-47.
14. Шмакова, Н.А. Особенности лактофлоры при ВПЧ - ассоциированных цервикальных интраэпителиальных неополазиях высокой степени онкогенного риска (тезисы) / Н.А. Шмакова, Г.Н. Чистякова, И.Н. Кононова // Мать и Дитя - 2020: сб. по материалам XXI Всероссийского научно-образовательного форума. - Московская область, г. Красногорск, 28-30 сентября 2020. – С. 80.
15. Шмакова, Н.А. Иммуногистохимические параметры цервикального эпителия у женщин с ВПЧ-ассоциированными плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями высокой степени (тезисы) / Н.А. Шмакова, Г.Н. Чистякова, И.Н. Кононова // Женское здоровье от рождения до менопаузы: сб. по материалам VII Конгресса акушеров-гинекологов УФО. - Екатеринбург, 8-10 октября 2020. – С. 87-89.