

На правах рукописи



Гилядова Аида Владимировна

Исследование эффективности применения фототераностики при интраэпителиальных плоскоклеточных поражениях тяжелой степени и преинвазивном раке шейки матки

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет)

Научный руководитель:

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор

Решетов Игорь Владимирович

Официальные оппоненты:

Антонова Ирина Борисовна – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория профилактики ранней диагностики и комбинированного лечения онкологических заболеваний, заведующая лабораторией

Дуванский Владимир Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», Медицинский институт, факультет непрерывного медицинского образования, кафедра эндоскопии, эндоскопической и лазерной хирургии, заведующий кафедрой

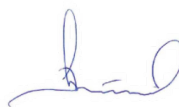
Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

Защита состоится «27» апреля 2023 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.15 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, улица Трубецкая, дом 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, дом 37/1) и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «__»_____2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинский наук



Ветшев Федор Петрович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Среди гинекологических заболеваний у женщин репродуктивного возраста патология шейки матки (ШМ) составляет от 10 до 15%, при этом на долю воспалительных заболеваний в их структуре приходится более 60% [Аполихина И.А. и др., 2016; Прилепская В.Н. и др., 2015; Роговская С.И. и др., 2016]. В связи с тем, что РШМ занимает лидирующее место среди злокачественных опухолей у женщин в возрасте от 15 до 39 лет, существует необходимость адекватного своевременного лечения предраковых заболеваний ШМ и раннего инвазивного РШМ с сохранением репродуктивных возможностей пациенток [Global Cancer Observatory., 2019].

В подавляющем большинстве случаев в качестве ведущего этиологического фактора развития плоскоклеточных интраэпителиальных поражений ШМ и плоскоклеточного РШМ выступает вирус папилломы человека (ВПЧ) [Гилядова А.В. и др., 2022; Lyu Z. et al., 2017; Chabeda A. et al., 2018]. Папилломавирусная инфекция является наиболее распространенным инфекционным заболеванием, передаваемым половым путем, у взрослого населения [Андосова Л.Д. и др., 2019; Arbyn M. et al., 2020; Brand T.M. et al., 2017; Hategeka C. et al., 2020]. По оценкам специалистов, вероятность заражения ВПЧ в течение жизни у пациентов любого пола к 45 годам составляет более 80% [Сафарова Р.И. и др., 2019; Basu P. et al., 2013; Chesson H.W. et al., 2014]. Наиболее высокие показатели заболеваемости зарегистрированы у людей молодого возраста сразу после начала половой активности [Arrossi S. et al., 2016; Dorsainvil M., 2017]. Исследования с участием молодых женщин показали, что общая инфицированность ВПЧ всех типов в возрасте от 17 до 24 лет составляет 15,7–29,4 на 1000 пациенто-месяцев [Аполихина И.А., 2019; Агтеева Д.И. и др., 2021; Kelly H. et al., 2017].

Вышеизложенное свидетельствует о высокой актуальности разработки и внедрения в клиническую практику новых эффективных и безопасных методов профилактики и лечения интраэпителиальных поражений ШМ и рака шейки матки.

Степень разработанности темы исследования

К настоящему времени предложен ряд методов диагностики плоскоклеточных интраэпителиальных поражений ШМ, основными из них являются: цитологическое исследование соскобов экто- и эндоцервикса, молекулярно-биологические методы, позволяющие идентифицировать генотип ВПЧ с определением степени вирусной нагрузки (полимеразная цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени) расширенное кольпоскопическое исследование [Ndifon C.O., Al-Eyud G., 2021; Nayar R., Wilbur D.C., 2017; Mello V, Sundstrom R.K., 2020].

В современных программах скрининга РШМ критически важным является повышение эффективности и точности методов диагностики, одним из которых является оптическая спектроскопия диффузного отражения (DRS). При использовании данного метода освещение аномальных зон эпителия ШМ низкоинтенсивным широкополосным источником света

позволяет получать спектры обратно рассеянного излучения, отличные от таковых, характерных для нормальных тканей ШМ в видимом диапазоне длин волн. Подобные различия спектров могут быть использованы для выявления неопластических поражений эпителия шейки матки. Особенности этих спектров обусловлены размерами и плотностью рассеивателей, концентрацией общего гемоглобина (Hb) и насыщением гемоглобина кислородом, что позволяет их использовать в качестве оптических маркеров для оценки и классификации очагов CIN [Novikova T., 2017; Kyrgiou M. et al., 2017; Park Y.K., Park C.H., 2016].

Флуоресцентная спектроскопия и визуализация основаны на возможности регистрации поглощения и излучения определенным веществом электромагнитных колебаний светового диапазона. Использование флуоресцентной спектроскопии для скрининга и диагностики онкологических заболеваний и предраковых изменений клеток основано на способности этого метода определять молекулярный состав ткани [Kyrgiou M. et al., 2017; Park Y.K., Park C.H., 2016; Zhang W. et al., 2018; Shramova E.I. et al., 2020].

Для лечения цервикальных интраэпителиальных неоплазий широко применяются методы абляции (деструкции пораженных тканей) и эксцизии (иссечение). К первой группе методов относят электро-, радио-, лазерную и криодеструкцию, к эксцизионным методам – LEEP (петлевую электрохирургическую эксцизию), LLETZ (электрохирургическую петлевую эксцизию зоны трансформации), конизацию холодным ножом и лазерную конизацию [Inada N.M. et al., 2019; Xu J. et al., 2020; Li D. et al., 2020]. Однако вышеперечисленные методы лечения являются инвазивными, вызывающими изменения структуры тканей ШМ, приводящими к потере ее функциональности, негативно влияет на репродуктивные возможности пациенток.

В процессе развития медицинских технологий в 90-е гг. XX века был предложен подход, обозначенный термином «тераностика», что подразумевало одновременное использование терапевтического и диагностического потенциала нескольких лечебных и диагностических методов [Kelkar S.S., Reineke T.M., 2011]. Этот термин ввел в 1998 г. Фанкхаузер, понимая под тераностикой сочетание методов лечения и диагностической визуализации [Jenni S., Sour A., 2019], что позволяет осуществлять мониторинг результатов лечения в режиме реального времени [Kelkar S.S., Reineke T.M., 2011].

Перспективным методом диагностики и лечения интраэпителиальной неоплазии ШМ и раннего инвазивного РШМ является фототераностика: совместное использование методов флуоресцентной диагностики (ФД) и лечения с помощью фотодинамической терапии (ФДТ) [Alekseeva P. et al., 2020]. Механизмом действия ФДТ является образование свободных радикалов, в частности, синглетного кислорода, который вызывает локальное фотоокисление, повреждение и разрушение клеток, подвергшихся онкотрансформации.

Однако имеющиеся на сегодняшний день сведения о возможностях применения фототераностики как перспективного подхода к лечению интраэпителиальной неоплазии ШМ и раннего инвазивного РШМ не систематизированы. Требуют уточнения механизмы воздействия используемого лечебного фактора на клетки эпителия ШМ. Четко не сформулированы показания к применению фототераностики при данной патологии, отсутствуют алгоритмы

использования метода в лечении интраэпителиальной неоплазии ШМ и раннего инвазивного РШМ.

Цель исследования – улучшение результатов лечения дисплазии шейки матки тяжелой степени и преинвазивного рака шейки матки на основе применения метода фототераностики.

Задачи исследования:

1. Патогенетически обосновать применение фототераностики в диагностике и лечении интраэпителиальных неоплазий шейки матки и преинвазивного рака шейки матки.
2. Сравнить клиническую эффективность использования фототераностики, основанной на одновременном применении двух инструментальных флуоресцентных методов (видео- и спектроскопического) и стандартных методов диагностики, в лечении интраэпителиальных неоплазий и преинвазивного рака шейки матки с оценкой динамики маркеров пролиферации в очагах неоплазии и преинвазивного рака шейки матки.
3. Оценить безопасность разработанного подхода к лечению интраэпителиальных плоскоклеточных поражений тяжелой степени и преинвазивного рака шейки матки.
4. Изучить репродуктивные исходы у пациенток, которым проводилось лечение интраэпителиальных неоплазий и преинвазивного рака шейки матки с использованием фототераностики.
5. Сформулировать показания к применению метода фотодинамической терапии у данного контингента пациенток.

Научная новизна

Впервые продемонстрированы возможности фототераностики, заключающиеся применительно к рассматриваемой патологии в использовании уточняющей флуоресцентной диагностики, которая представляет собой совместное использование методов спектрально- и видео-флуоресцентной диагностики цервикальных интраэпителиальных неоплазий и преинвазивного рака шейки матки (Cis), а также лечебного воздействия ФДТ с одновременным контролем эффективности проводимой терапии с помощью комбинации методов флуоресцентной диагностики.

Впервые осуществлено патогенетическое обоснование применения метода фототераностики, разработаны алгоритмы использования данного подхода к лечению интраэпителиальных цервикальных новообразований и преинвазивного рака шейки матки.

В данном исследовании впервые оценена эффективность и безопасность разработанного подхода к лечению интраэпителиальных неоплазий шейки матки и преинвазивного рака шейки матки с использованием метода фототераностики. При этом полученные результаты позволят обосновать, что фототераностика с использованием одного источника лазерного излучения для проведения флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии является высокоэффективным и малоинвазивным методом лечения интраэпителиальных поражений шейки матки, преинвазивного рака шейки матки, что способствует элиминации ВПЧ-инфекции.

Использование фототераностики впервые продемонстрировало, что совместное применение методов видео- и спектрально-флуоресцентной диагностики для оценки состояния

очагов поражения шейки матки позволяет контролировать процесс фотодинамической терапии на всех этапах проведения процедуры.

Впервые показано, что безопасность применения метода обусловлена тем, что при его реализации наблюдается минимальное количество нежелательных явлений и побочных реакций в раннем и отдаленном (позднем) периодах после проведенного лечения. При этом осуществляется воздействие, не вызывающее повреждений неизмененных окружающих тканей, грубого рубцевания и стеноза цервикального канала, что позволяет сохранить нормальные анатомо-функциональные характеристики шейки матки после проведенного лечения.

Результаты проведенных исследований представлены в рецензируемых научных изданиях, входящих в международную базу данных SCOPUS, 3 из которых обладают квартилем Q1 (Laser Physics Letters IF-1.704; Cancers IF -6.575; Biomedicines IF -4.575) и одно – квартилем Q2 (Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии IF -1.068).

Получен патент на изобретение № 2782643 «Способ фотодинамической терапии новообразований шейки матки и вульвы под контролем совместной видео- и спектрально-флуоресцентной диагностики с применением фотосенсибилизаторов хлоринового ряда».

Теоретическая и практическая значимость работы

На основании полученных данных сформулированы рекомендации по диагностике и лечению цервикальной интраэпителиальной неоплазии шейки матки тяжелой степени CIN III и преинвазивного рака шейки матки на основе использования фототераностики, предусматривающей проведение фотодинамической терапии с одновременным лазерным возбуждением флуоресценции. При этом продемонстрирована возможность одновременного осуществления спектрально-флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии с использованием источника лазерного излучения, позволяющего в режиме реального времени оценивать индекс контрастности и контролировать фотобликинг фотосенсибилизатора в облучаемой области.

Полученные результаты подтверждают преимущество использования фототераностики при диагностике и лечении интраэпителиальных плоскоклеточных поражений шейки матки тяжелой степени CIN III/HSIL и преинвазивного рака шейки матки по сравнению с альтернативными методами лечения: абляционными, эксцизионными и конизацией шейки матки.

Сформулированы показания и противопоказания к проведению фототераностики. Установлено, что использование фотодинамической терапии способствует успешному лечению патологических очагов на слизистой шейки матки, при этом эффективность метода обеспечивается селективностью воздействия энергии излучения на патологически измененные участки тканей этой области с минимальным поражением участков здоровой ткани.

Показано, что реализация метода позволяет сохранить нормальные анатомо-функциональные характеристики шейки матки, что является важнейшим критерием сохранения фертильности у пациенток с интраэпителиальными плоскоклеточными поражениями тяжелой степени CIN III/HSIL и преинвазивным раком шейки матки.

Результаты исследования позволяют обосновать, что применение фотодинамической терапии способствует значительному снижению риска рецидивов папилломавирусной инфекции, сокращению продолжительности противовирусной терапии и снижению экономических затрат на лечебно-диагностические мероприятия по сравнению использованием стандартных терапевтических подходов.

Методология и методы исследования

Проведено открытое ретроспективно-проспективное рандомизированное сравнительное клиническое исследование в параллельных группах. В исследование были включены 94 пациентки в возрасте от 22 до 49 лет с морфологически подтвержденными ВПЧ-ассоциированными интраэпителиальными неоплазиями шейки матки тяжелой степени и преинвазивным РШМ. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом Института кластерной онкологии имени Л.Л. Левшина на базе Университетской клинической больницы № 1 Сеченовского университета (протокол ЛЭК № 21-22 от 09.12.2021 г.). Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании.

В зависимости от использованного подхода к лечению пациентки были включены в две группы: группу 1 (сравнения) – 49 пациенток, для которых применялись стандартные методы диагностики и лечения рассматриваемой патологии; группу 2 (основную) – 45 пациенток, в лечении которых был использован метод фототераностики: ФДТ с одновременным лазерным возбуждением флуоресценции.

Оценку эффективности фототераностики производили на основании данных расширенной кольпоскопии, цитологического исследования соскобов экзо-, эндоцервикса, PAP-теста или метода жидкостной цитологии, ПЦР на носительство ВПЧ, а также по данным результатов гистологической верификации и иммуногистохимического исследования (ИГХ) биопсийного материала спустя шесть недель после окончания курса ФДТ.

Наличие/отсутствие интраэпителиальных изменений CIN/SIL, злокачественных клеток по данным цитологического исследования соскобов экзоцервикса, эндоцервикса оценивали через 6 недель, 3,6, 9, 12 месяцев после проведенного лечения. Сохранение анатомо-функциональной структуры шейки матки сравнивали по результатам УЗИ шейки матки (цервикометрии), цервикоскопии и зондирования цервикального канала через 6 недель после проведенного лечения.

Безопасность применения метода фототераностики оценивали по частоте и характеру нежелательных явлений (осложнений), также изучали репродуктивные исходы после проведенного лечения у пациенток обеих групп, планировавших беременность.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Фототераностика с использованием одного источника лазерного излучения для проведения фотодиагностики и фотодинамической терапии с применением фотосенсибилизаторов хлоринового ряда является малоинвазивным методом лечения интраэпителиальных плоскоклеточных поражений тяжелой степени и преинвазивного рака шейки матки, который способствует элиминации вируса папилломы человека.

2. Высокая эффективность фототераностики при лечении интраэпителиальных поражений шейки матки и преинвазивного рака шейки матки подтверждается тем, что у 85-88% пациенток наблюдается полный эффект уже после первого сеанса фототераностики, после второго воздействия у всех пациенток достигается полный регресс очагов поражения на слизистой шейки матки.

3. Применение фототераностики является безопасным лечебно-диагностическим методом, что подтверждается низкой частотой нежелательных явлений и побочных реакций, позволяет сохранить нормальные анатомо-функциональные характеристики шейки матки, что обеспечивает сохранение фертильности у рассматриваемого контингента пациенток и лучшие показатели течения планируемой беременности и репродуктивных исходов по сравнению с результатами применения стандартных методов лечения (конизации шейки матки).

Степень достоверности и апробация результатов работы

Достоверность результатов исследования обеспечивается адекватным объемом клинического материала, репрезентативностью комплексного, многоуровневого обследования пациенток, соответствием полученных результатов поставленной цели и задачам исследования, использованием современных методов статистической обработки полученных данных.

Основные результаты исследования представлены в виде докладов на российских и международных конференциях и конгрессах: научно-практической конференции АДИОР «Современные аспекты диагностики и лечения в онкогинекологии» (Москва, 2021), научно-практической конференции с международным участием, посвященной 35-летию ФГБУ «ГНЦ ЛМ им. О.К. Скобелкина ФМБА России «Лазеры в медицине 2021 г.» (Москва, 2021), «The 3rd International Webinar on Cancer Research and Oncology» (online meeting, 2022), XI Международном конгрессе «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика» (Москва, 2022), 24-й Поволжской научно-практической конференции с международным участием «Сохранения здоровья матери и ребенка – приоритетные направления» (Волгоград, 2022).

Апробация диссертации была проведена на заседании кафедры онкологии, радиотерапии и пластической хирургии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)(протокол №10/1 от 3 октября 2022 г.).

Личный вклад соискателя

Личный вклад соискателя заключается в непосредственном участии на всех этапах подготовки диссертационной работы. Автором были сформулированы цель и задачи, исходя из

которых составлен дизайн исследования, разработана программа диагностики, лечения и дальнейшего наблюдения за пациентками с интраэпителиальными плоскоклеточными поражениями тяжелой степени и преинвазивным раком шейки матки. Проведен поиск и анализ научной литературы по изучаемой проблеме. В ходе реализации исследования диссертант лично участвовал в наборе и скрининге пациенток, их обследовании и лечении, проводил статистический анализ полученных материалов, автором лично сформулированы основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации. Диссертантом в соавторстве подготовлены к печати публикации по теме работы.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности: 3.1.6. Онкология, лучевая терапия по тематике, методам исследования и научным положениям, поскольку освещает вопросы лечения интраэпителиальных плоскоклеточных поражений шейки матки тяжелой степени и преинвазивного рака шейки матки.

Реализация и внедрение результатов работы в практику

Результаты, полученные в ходе выполнения исследования, используются в клинической практике специалистов кафедры онкологии, радиотерапии и реконструктивной хирургии ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, онкологического отделения хирургических методов лечения и онкологического отделения противоопухолевой терапии Университетской клинической больницы №1 ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России» (Сеченовский университет), отделения гинекологии ФГАУ «НМИЦ ЛРЦ» Минздрава России.

Материалы исследования использованы в учебном процессе – в лекциях для студентов 6 курса, ординаторов, врачей на кафедре онкологии, радиотерапии и реконструктивной хирургии ФГАОУ ВО «Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова».

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, в числе которых 3 научные статьи в рецензируемых научных журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК Минобрнауки для публикации основных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, 3 статьи в рецензируемых научных изданиях, входящих в международную базу данных SCOPUS, которые обладают квартилем Q1, 4 иные публикации по результатам исследования. Получен патент на изобретение № 2782643 «Способ фотодинамической терапии новообразований шейки матки и вульвы под контролем совместной видео- и спектрально-флуоресцентной диагностики с применением фотосенсибилизаторов хлоринового ряда» (дата государственной регистрации – 31.10.2022 г.).

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалом и методов исследования, главы с описанием полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Общий объем диссертации изложен на 148 страницах, включает 22 рисунка и 27 таблиц. Список литературы включает 255 источников, в том числе 70 отечественных и 185 зарубежных публикаций.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В исследование, проведенное в Университетской клинической больнице №1 Первого МГМУ им. Сеченова и лечебно-реабилитационном центре Минздрава РФ, были включены 94 пациентки в возрасте от 22 до 49 лет с морфологически подтвержденными ВПЧ-ассоциированными интраэпителиальными неоплазиями шейки матки тяжелой степени и преинвазивным раком шейки матки. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом Института кластерной онкологии имени Л.Л. Левшина на базе Университетской клинической больницы № 1 Сеченовского университета (протокол ЛЭК № 21-22 от 09.12.2021 г.). Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Результаты исследования и их обсуждение

Организация и дизайн исследования. Критерии включения пациенток в исследование: возраст от 18 до 45 лет; ВПЧ-ассоциированная тяжелая дисплазия ШМ (ВПЧ-ассоциированное плоскоклеточное интраэпителиальное ШМ тяжелой степени HSIL/CIN III) (N87.2); ВПЧ-ассоциированное злокачественное новообразование ШМ TisN0M0: преинвазивный РШМ (C53.0, C53.1); наличие подписанного информированного добровольного согласия на участие в исследовании.

Критерии не включения: беременность и лактация, психические расстройства, наследственная или приобретенная порфирия, повышенная кожная фоточувствительность, наличие тяжелых сопутствующих соматических заболеваний, наличие признаков печеночной или почечной недостаточности, инвазивный рак \geq 1A1 стадии.

В зависимости от использованного подхода к лечению пациентки были включены в 2 группы:

- **группа 1** (сравнения) – 49 пациенток, в лечении которых применялись стандартные методы диагностики и лечения рассматриваемой патологии;
- **группа 2** (основная) – 45 пациенток, в лечении которых был использован метод фототерапии.

Критерии эффективности лечения: 1) наличие/отсутствие лечебного патоморфоза в виде отсутствия морфологической картины CIN/SIL и злокачественных клеток по данным гистологического заключения в ответ на лечение через 6 недель и 3 месяца; 2) наличие/отсутствие ВПЧ по результатам ПЦР отделяемого цервикального канала через 6

недель, 3, 6, 9, 12 месяцев после проведенной терапии; 3) наличие/отсутствие интраэпителиальных изменений CIN/SIL, злокачественных клеток по данным цитологического исследования соскобов экзоцервикса, эндоцервикса в ответ на лечение через 6 недель, 3, 6, 9, 12 месяцев.

Безопасность применения метода фототераностики оценивали по частоте и характеру нежелательных явлений (осложнений) в раннем и отдаленном периоде после проведенного лечения.

Методы лечения пациенток. В лечении пациенток группы 1 использовали метод конизации ШМ с выскабливанием цервикального канала под внутривенной анестезией.

Пациенткам основной группы проводили лечение методом ФДТ на области влагалищной порции ШМ и цервикального канала. За 3 часа до начала процедуры осуществлялось введение фотосенсибилизатора (ФС) на основе хлорина Е6. Максимальный контраст накопления ФС в опухолевой ткани наблюдался через 2–3 часа после введения. Рассчитанную дозу ФС – 1,0 мг/кг массы тела – растворяли в 100–200 мл 0,9 % раствора натрия хлорида. За 2–3 часа до начала лечения внутривенно капельно в течение 30 минут производили инфузию раствора, приготовленного ex tempore, введение осуществляли в затемненном помещении. Пациентки были проинструктированы о важности соблюдения строгого светового режима.

Флуоресцентная диагностика. ФДТ проводили в условиях операционной. После предварительной обработки кожи наружных половых органов, слизистой влагалища и влагалищной порции ШМ в асептических условиях шейку матки обнажали в зеркалах. Схема исследования тканей ШМ показана на Рисунке 1.

Для видеофлуоресцентной диагностики использовалась двухканальная флуоресцентная видеосистема (ООО «БИОСПЕК, Россия), состоящая из источника белого света, позволяющего наблюдать исследуемые зоны в режиме цветного изображения; источника лазерного излучения с длиной волны 635 нм, возбуждающего флуоресценцию ФС в биотканях и позволяющего наблюдать зоны интереса в режиме черно-белого (флуоресцентного) изображения; Y-образного волоконного кабеля, обеспечивающего доставку белого света и лазерного излучения к поверхности биоткани; универсального устройства регистрации обратно рассеянного и флуоресцентного излучения, оборудованного высокочувствительной черно-белой цифровой ПЗС-камерой и цифровой цветной навигационной камерой; эндоскопа, необходимого для осмотра исследуемых областей. Наложение цветного и черно-белого изображений с выделением флуоресценции в заданном цвете (например, зеленом), позволяло визуально оценить границы новообразований.

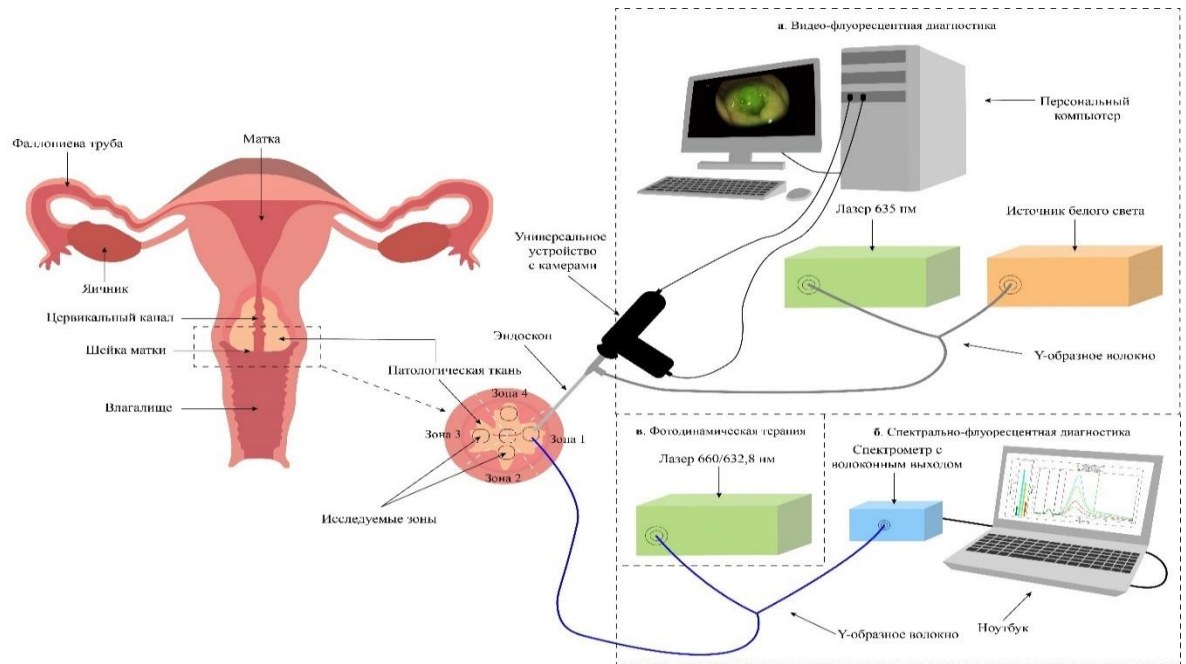


Рисунок 1 – Схема исследования тканей шейки матки

При проведении видеофлуоресцентной диагностики накопление ФС в слизистой шейки матки количественно оценивали по **индексу флуоресценции**, измеренному в исследуемой области, который отображался на экране монитора. Рассчитывали индекс контрастности. Перед проведением диагностики в каждом случае выполняли нормирование индекса контрастности в области с минимальным флуоресцентным сигналом (нормальной слизистой ШМ), которой присваивалось значение – 10 отн. ед. Проведение видеофлуоресцентной диагностики в начале исследования позволяло выявить области наибольшего накопления ФС – патологически измененной ткани (индекс контрастности > 10 отн.ед.).

Для **спектрально-флуоресцентной диагностики** использовали волоконный спектрометр с возбуждением флуоресценции ФС полупроводниковым лазером ЛФТ-02-БИОСПЕК (ООО «БИОСПЕК», Россия) ($\lambda = 660$ нм, $P_{\max} = 2$ Вт). Диагностику проводили с использованием Y-образного оптического волокна (DC-R-1-6), снабженного двумя оптическими коннекторами SMA-905. Регистрировали спектры флуоресценции нормальной и патологической ткани ШМ. Регистрацию проводили до и после ФДТ с применением лазера с длиной волны 660 нм. Рассчитывали индекс флуоресценции как отношение площади под кривой спектра флуоресценции ФС к площади под кривой спектра обратно рассеянного лазерного излучения. Процедуры регистрации и обработки спектров флуоресценции выполнялись с помощью программы Uno Momento, разработанной в лаборатории «Лазерной биоспектроскопии» ИОФ РАН.

При проведении ФДТ в режиме реального времени контролировали фотобликинг ФС в облучаемой ткани по изменению интенсивности флуоресцентного сигнала.

Фототерапию проводили поэтапно: сначала осуществлялось внутривенное введение в организм пациентки раствора ФС на основе хлорина Е6, затем оценивали накопление ФС в пораженных участках ШМ с помощью видео- и спектрально-флуоресцентной диагностики. После этого на опухолевую ткань, накопившую ФС, воздействовали лазерным

излучением с длиной волны, соответствующей максимуму спектра поглощения ФС, то есть проводили собственно ФДТ. Дозы световой энергии при ФДТ слизистой влажной порции ШМ составили 250–300 Дж/см², для цилиндрического эпителия цервикального канала – 200 Дж/см². Средняя плотность мощности при воздействии на ткани ШМ составила 0,35 Вт/см², для цервикального канала – 0,25 Вт/см².

Для облучения эндоцервикса применяли оптическое волокно с цилиндрическим диффузором длиной 40 мм (TF-C40), что позволяло проводить равномерное облучение вдоль всей поверхности цервикального канала. После проведения полипозиционной ФДТ эктоцервикса с диаметром пятна лазерного излучения от 1 до 1,5 см и эндоцервикса диффузором с цилиндрическим облучателем на дистальном конце длиной 4 см оценивали степень выгорания ФС. Посредством анализа индексов флуоресценции до и после ФДТ выполняли расчёт процента фотобличинга с оценкой эффективности терапии. При достижении уровня фотобличинга 60% и более ФДТ прекращали. В случае низкого уровня фотобличинга проводили дополнительное облучение. Процедуру ФДТ заканчивали после регистрации значений фотобличинга ФС на уровнях, которые соответствуют характеристикам нормальной ткани.

Методы исследования. Проводили клиническое акушерско-гинекологическое обследование, расширенную кольпоскопию, микроскопическое исследование отделяемого половых путей с окраской мазков по Граму. Выполняли тестирование на ВПЧ методом двойного гибридного захвата с определением вирусной нагрузки.

В ходе цитологического исследования мазков экто- и эндоцервикса ШМ производили окраску по Папаниколау с оценкой по классификации Бетесда (The Bethesda System) [WHO, Geneva, 2012].

Через 6 недель после курса фототерапии выполняли прицельную биопсию пораженных участков слизистой ШМ под контролем видеофлуоресцентной и спектрально-флуоресцентной диагностики. В качестве материала для исследования использовали биопсийный материал слизистой ШМ, который фиксировали в 10%-ном забуференном рН-нейтральном формалине, подвергали стандартной гистологической автоматизированной обработке. Микропрепараты окрашивали гематоксилином-эозином. При световой микроскопии оценивали степень плоскоэпителиального поражения (степень дисплазии) в соответствии с критериями классификации ВОЗ (WHO Classification of Tumours 5th edition Female Genital Tumor).

С помощью иммуногистохимического исследования оценивали уровни экспрессии маркеров Ki-67, p16 и фосфогиостона путем окрашивания тканей, полученных при биопсии, с использованием антителами к CINtec p16 (Histology, Ventana), Ki-67 (30-9, Ventana) и к фосфогиостону H3 (Cell Signaling Technology), исследование выполняли на иммуногистостейнере BENCHMARK XT (Ventana Medical Systems).

Статистический анализ полученных данных осуществляли при помощи пакета программ «Statistica for Windows 10.0» (StatSoft® Inc., США) с использованием методов описательной статистики и непараметрических критериев для проверки значимости различий.

Количественные показатели представляли в виде $M (SD)$, где M – среднее значение, а SD – среднее квадратичное отклонение, а также в виде $Me (Q_{25}; Q_{75})$ – медиана, нижний и верхний квартили, соответственно. Закон распределения признаков оценивали при помощи критерия Колмогорова-Смирнова. Распределение большинства количественных показателей отличалось от нормального, значимость различий оценивали при помощи непараметрических критериев. Анализ различий в независимых выборках проводили с помощью U -критерия Манна-Уитни. Различия качественных признаков анализировали при помощи критерия χ^2 . Достоверность различий подтверждалась в случае недостижения p порогового уровня статистической значимости нулевой гипотезы 0,05.

Результаты видеофлуоресцентной и спектрально-флуоресцентной диагностики. У всех пациенток, включенных в исследование, были получены изображения слизистой шейки матки до и после проведения ФДТ в трех режимах: черно-белом (флуоресцентном), цветном и совмещенном.

До проведения ФДТ индекс флуоресценции патологически измененной ткани составлял 35,0 (28,5; 42,0) отн. ед. (от 24,0 до 47,0), после ФДТ значение снижалось до 7,0 (5,5; 8,0) отн. ед. в диапазоне от 4,0 до 10,5 отн. ед., что свидетельствовало об уменьшении интенсивности флуоресцентного сигнала патологически измененной ткани после ФДТ вследствие фотобликинга ФС до значений, которые соответствуют характеристикам нормальной ткани (индекс контрастности ≤ 10 отн. ед.).

При спектрально-флуоресцентной диагностике флуоресцентный сигнал, характерный для Се6, был зарегистрирован во всех исследуемых точках. Однако в патологически измененных тканях уровень флуоресценции был в 2–5 раз выше.

Регистрация флуоресценции проводилась в ближнем инфракрасном диапазоне. Работа в этом диапазоне перспективна благодаря более глубокому проникновению излучения в биологические ткани. В тканях ШМ глубина проникновения лазерного излучения для длин волн 675 и 780 нм составляет 2.40 ± 0.22 и 2.61 ± 0.25 мм, соответственно [Stolik S. et al., 2000]. Использование одного источника лазерного излучения для проведения ФД и ФДТ позволяет проводить фототеранотику новообразований ШМ, при этом спектрально-флуоресцентная диагностика в процессе проведения ФДТ в режиме реального времени позволяет контролировать процесс фотобликинга ФС.

Результаты цитологического исследования. Распределение женщин по характеристике очагов поражения приведено в Таблице 1. В группе 1 (сравнения) у 20 пациенток (40,8%) были диагностированы интраэпителиальные плоскоклеточные поражения тяжелой степени, у 29 женщин (59,2%) – преинвазивный РШМ. В основной группе у 17 (37,8%) женщин были выявлены признаки CIN III/HSIL, у 28 пациенток (62,2%) был диагностирован преинвазивный РШМ.

Таблица 1 – Распределение пациенток по характеристикам очагов поражения ШМ до лечения

Диагноз	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
CIN III/HSIL	20	40,8	17	37,8
Преинвазивный рак шейки матки Cis	29	59,2	28	62,2

Через 6 недель после проведения первого курса фототераностики у 35 (78,7 %) женщин основной группы результаты цитологического исследования соответствовали нормальной цитологической картине NILM и были подтверждены данными гистологического заключения. В 10 (21,3%) случаях цитологически верифицированная CIN I была подтверждена у 6 пациенток (60%), которым был проведен повторный курс фототераностики, у оставшихся 4 из 10 пациенток (40%) при гистологическом исследовании не было выявлено признаков плоскоклеточного поражения. Спустя 6 недель после повторного курса фототераностики у 4 из 6 (66,7%) пациенток определялся NILM, в 2 из 6 (33,3%) случаях CIN I/LSIL, подтвержденный гистологически.

Через 3 месяца у 2 из 45 пациенток (4,4%) основной группы было отмечено цитологически верифицированное плоскоклеточное интраэпителиальное поражение ШМ легкой степени, у остальных 43 (95,2 %) женщин – NILM. Через 6, 9, 12 месяцев у всех пациенток основной группы цитологически верифицирована нормальная цитологическая картина NILM.

У 39 пациенток (79,6%) группы сравнения по данным цитологического исследования было выявлено плоскоклеточное интраэпителиальное поражение ШМ тяжелой степени CIN III/HSIL, из них у 21 (42,9%) женщины впоследствии гистологически верифицирован преинвазивный РШМ, а у 18 (36,7%) пациенток гистологическое исследование подтвердило наличие плоскоклеточного интраэпителиального поражения тяжелой степени CIN III/HSIL.

У 8 (16,3 %) пациенток группы сравнения по результатам цитологического исследования диагностирована цервикальная интраэпителиальная неоплазия ШМ умеренной степени CIN II/HSIL, из которых гистологически у 2 (25,0%) – CIN III/HSIL, у 6 (75,0%) женщин – преинвазивный рак. У 2 пациенток этой группы по данным цитологического заключения был выявлен преинвазивный рак, подтвержденный гистологическим исследованием биопсийного материала.

Через 6 недель после конизации в 33 (67,3%) случаях в группе сравнения данные цитологического исследования соответствовали нормальной цитологической картине NILM, из которых гистологически у 32 (65,3%) пациенток диагноз был подтвержден, а у одной пациентки (2,0%) – гистологическое заключение соответствовало CIN I/LSIL.

В 16 (32,7%) случаях цитологически было верифицировано CIN III/HSIL, из которых у 6 (12,2%) пациенток при гистологическом исследовании была выявлена цервикальная интраэпителиальная неоплазия умеренной степени, в 5 (7,2%) случаях CIN I/LSIL, у 2 (4,1%)

пациенток CIN III/HSIL, а у 3 (6,1 %) – преинвазивный рак.

У пациенток с прогрессией в виде тяжелой дисплазии ШМ и преинвазивным РШМ через 6 недель после конизации была проведена реконизация с выскабливанием оставшейся части цервикального канала.

Через 3 месяца у пациенток группы 1 в 11 случаях была выявлена цервикальная интраэпителиальная неоплазия ШМ умеренной степени, у 5 (10,2 %) женщин было выявлено плоскоклеточное интраэпителиальное поражение ШМ легкой степени. У остальных 33 пациенток, по данным цитологического исследования, – NILM. Через 6, 9, 12 месяцев у 38 (77,6%) пациенток группы сравнения при цитологическом исследовании верифицирована нормальная цитологическая картина, у 4 (8,2%) пациенток сохранялась цервикальная интраэпителиальная неоплазия умеренной степени, у 7 (14,3%) плоскоклеточное интраэпителиальное поражение шейки матки легкой степени – CIN I/LSIL.

Результаты определения ВПЧ. До проведения ФДТ у всех пациенток с помощью ПЦР были идентифицированы онкогенные типы ВПЧ, статистически значимых различий по этому показателю не наблюдалось. Чаще всего выявлялись типы 16 – в 24 (49,0%) и 18 (40,0%) случаях соответственно в группах 1 и 2, а также 18 – в 10 (20,5%) и 14 (31,1%) случаях. В основной группе у 6 пациенток был выявлен 33 тип вируса, у 2 пациенток – 11 тип, у 3 пациенток – 35 тип и у 2 пациенток – 56 тип. В группе сравнения по данным ПЦР у 4 пациенток был обнаружен 33 тип ВПЧ, у 2 – 11 тип, у 5 пациенток – 35 тип, у одной пациентки была обнаружена комбинация 31, 35 и 68 типов, 3 пациенток комбинация 16 типа с 45, 11, 33, 18 (16 и 18, 16 и 11, 16 и 45, 16 и 33).

По результатам амплификации дезоксирибонуклеиновых кислот, спустя 5–6 недель после первого курса фототераностики у 91,1% пациенток основной группы была выявлена элиминация ВПЧ, в 8,9 % случаев отмечено сохранение ВПЧ со снижением вирусной нагрузки с $7,8 \pm$ до $2,4 \pm$ (рисунок 2).

В этот же срок у 69,4% пациенток группы сравнения после конизации определено отсутствие вируса в отделяемом цервикального канала, в 30,6% случаев определялось наличие ВПЧ со снижением вирусной нагрузки с $7,8 \pm$ до $4,8 \pm$. Таким образом, в группе 2 значение показателя было статистически значимо ниже ($p=0,003$), чем в группе 1. Через 5–6 недель после повторного курса фототераностики (через 3 месяца от начала исследования) у всех женщин группы 2 была зафиксирована элиминация ВПЧ.

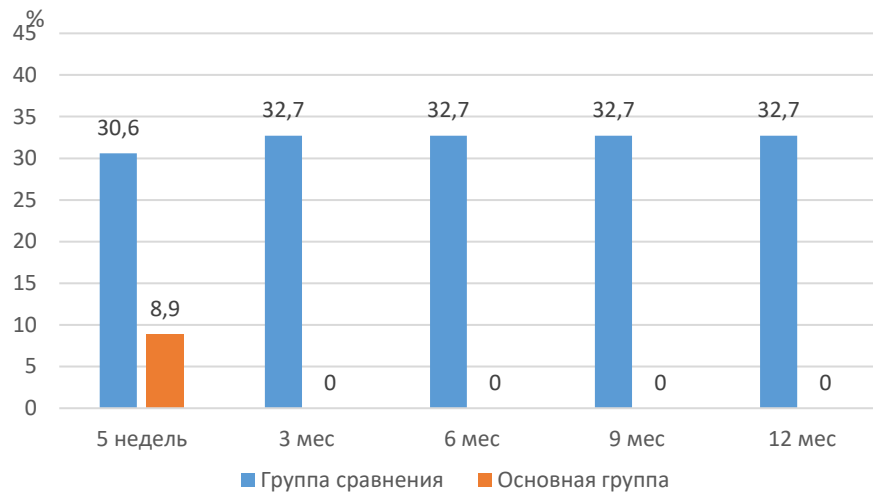


Рисунок 2 – Динамика выявления ВПЧ после проведенного лечения

В дальнейшем, через 6, 9 и 12 месяцев также не было выявлено ВПЧ ни у кого из пациенток основной группы. В группе сравнения через 3 месяца после проведенного лечения ВПЧ был выявлен у 37,5 % пациенток, в том числе у 2 пациенток, у которых через 6 недель после конизации вирус обнаружен не был. Через 6, 9 и 12 месяцев ВПЧ был выявлен у 16 пациенток (32,7 %) первой группы.

Результаты гистологического исследования очагов поражения в области шейки матки. У 15 из 17 пациенток с CIN III/HSIL (88,2%) эффект от проведенного лечения с использованием фототераностики был отмечен уже после одной процедуры ФДТ, у 2 женщин (11,8%) – после второго сеанса терапии.

В группе с преинвазивным РШМ у 24 пациенток (85,7%) эффект был выявлен после первой процедуры ФДТ, в 4 случаях (14,4%) – после второго сеанса. Во всей группе пациенток, которым проводилась фототераностика, у 39 женщин (86,7%) эффект наблюдался после первого сеанса, у 6 пациенток (13,3%) – после второй процедуры.

Сравнение результатов лечения показало, что полная регрессия очагов дисплазии наблюдалась у 15 женщин (88,2%) с интраэпителиальными плоскоклеточными поражениями тяжелой степени основной группы, тогда как в группе сравнения значение этого показателя было ниже – 60,0% (Таблица 2). Полный лечебный патоморфоз наблюдался также у 24 пациенток из 28 (85,7%) группы 2 с преинвазивным РШМ, тогда как в группе 1 значение этого показателя было на уровне 72,4%. В целом в основной группе частота полной регрессии составила 86,7% (39 случаев) и была статистически значимо выше соответствующего уровня в группе сравнения ($p=0,013$).

Таблица 2 – Эффективность лечения, количество пациенток с полной и частичной регрессией очагов

Диагноз	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
Полная регрессия				
CIN III/HSIL	12 (из 20)	60,0	15 (из 17)	8,2
Преинвазивный рак шейки матки Cis	21 (из 29)	72,4	24 (из 28)	85,7
Всего	33 (из 49)	67,3	39 (из 45)	86,7*
Частичная регрессия				
CIN III/HSIL	8 (из 20)	40,0	2 (из 17)	11,8*
Преинвазивный рак шейки матки Cis	8 (из 29)	27,6	4 (из 28)	14,3
Всего	16 (из 49)	32,7	6 из (45)	13,3*

* Различия статистически значимы (при $p < 0,05$) по критерию χ^2 по сравнению с соответствующим значением в группе 1

В то же время частичная регрессия была отмечена у 2 из 17 женщин (11,8%) второй группы с интраэпителиальными плоскоклеточными поражениями тяжелой степени, тогда как в первой группе наблюдалась у 8 из 20 пациенток (40,0%). У пациенток группы 1 с преинвазивным РШМ Cis значение показателя составило 8 из 29 случаев (27,6%), во второй группе – 14,3% (4 из 28 случаев)

В целом частота частичной регрессии в 1 группе составила 32,7% (16 из 49 случаев), в группе 2 – 13,3% (6 из 45 случаев) и была достоверно ниже ($p=0,013$) по сравнению с группой 1.

Частичная регрессия у пациенток основной группы была представлена в виде наличия очагов плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки легкой степени CIN I/LSIL. В группе сравнения частичный и неудовлетворительный ответ на лечение, в том числе с прогрессированием, по данным контрольной биопсии через месяц после конизации, был отмечен у 16 пациенток, в том числе у 2 женщин с HSIL/CIN III, у 3 пациенток с Cis, у 6 пациенток с CIN II/HSIL, у 5 пациенток – LSIL/CIN I. У 5 (2 и 3) пациенток, соответственно с HSIL/CIN III и Cis, была проведена реконизация с выскабливанием оставшейся части цервикального канала.

По данным **расширенной кольпоскопии**, проведенной до начала лечения, в группе 2 аномальные кольпоскопические признаки в виде плотного ацето-белого эпителия, грубой пунктации и грубой мозаики наблюдались у 15 из 17 пациенток (88,2%) с неоплазией CIN III/HSIL, у 27 из 28 (96,4%) пациенток с преинвазивным РШМ. У 2 пациенток с CIN III/HSIL и у 1 пациентки с преинвазивным РШМ были отмечены слабо выраженные кольпоскопические признаки поражения ШМ в виде нежной мозаики, пунктации и тонкого ацетобелого эпителия.

В группе 1 аномальная кольпоскопическая картина II степени с выраженным поражением (наличие плотного ацетобелого эпителия с четкими контурами, грубой мозаики, грубой пунктации) до лечения была выявлена у 18 из 20 пациенток (90,0%) с CIN III/HSIL и у 29 из 29 пациенток (100 %) с преинвазивным РШМ. У 2 пациенток с CIN III/HSIL была

отмечена аномальная кольпоскопическая картина I степени со слабовыраженным поражением ШМ в виде нежной мозаики, пунктации и тонкого ацетобелого эпителия с нечеткими краями.

Анализ результатов кольпоскопии через 6 недель после проведенного лечения показал, что в основной группе количество пациенток с аномальными кольпоскопическими картинками I степени в группе CIN III/HSIL составило 2 (11,8%) случая, а среди пациенток с преинвазивным РШМ – 1 из 28 (3,6%) случаев. Общая частота выявления аномальных кольпоскопических признаков в группе 2 была достоверно меньше, чем в группе 1 ($p < 0,001$). Аномальные кольпоскопические признаки в группе 1 в аналогичные сроки после лечения были выявлены у 11 из 20 пациенток (55,0%) с CIN III/HSIL и у 8 из 29 женщин (27,6%) с преинвазивным РШМ, причем в 12 случаях была отмечена аномальная кольпоскопическая картина I степени, в 7 случаях – аномальная кольпоскопическая картина II степени.

Через 3, 6, 9 и 12 месяцев у всех пациенток основной была диагностирована нормальная кольпоскопическая картина. В группе сравнения через 3, 6, 9 и 12 месяцев наблюдались признаки поражения ШМ соответственно у 16 (32,7%), 11 (22,5%), 7 (14,3%) и 4 (8,2%) пациенток.

Исследование уровней экспрессии маркеров пролиферации. Изучение динамики экспрессии Ki-67 у пациенток с CIN III/HSIL показало высокие уровни этого маркера в обеих группах до лечения, медианы составили 86,5 (84,0; 88,5) и 84,0 (83,0; 87,0) % в группах 1 и 2 соответственно. После лечения величины показателя снизились ($p < 0,05$) относительно исходных значений в обеих группах, составив у женщин группы сравнения 53,5 (34,0; 64,0)%, в основной группе – уровень экспрессии Ki-67 был статистически значимо ниже ($p = 0,007$) – 30,0 (27,5; 33,0)% .

Аналогичной была динамика экспрессии Ki-67 у пациенток с преинвазивным РШМ после проведенного лечения.

Исследование экспрессии маркера пролиферации p16 в клетках слизистой ШМ также свидетельствовало о ее значительном уменьшении после проведенного лечения, что было особенно выражено в группе, где проводилась фототерапевтика. Так, если до лечения величины данного показателя составили у пациенток с CIN III/HSIL первой группы 96,5 (92,0; 98,5), во второй группе - 97,0 (95,0; 99,0) % После проведенного лечения было установлено, что у пациенток группы сравнения уровень экспрессии p16 составил 24,5 (19,0; 35,5)%, в то время как в группе, где проводилась фототерапевтика, значение показателя было в 3 раза ниже ($p < 0,001$) и составило 8,9 (0; 22,5) %

Оценка данного показателя у женщин с преинвазивным раком шейки матки C_{is} показала аналогичную тенденцию, при этом после проведенного лечения в группе 1 уровень p16 составил 53,0 (43,0; 61,5)%, в основной группе его величина была почти в 4 раза ниже ($p < 0,001$) – 13,2 (0; 17,5).

Динамика уровней экспрессии фосфогинона у пациенток с CIN III/HSIL представлена в таблице 3. После проведенного лечения наблюдалось снижение этого показателя в обеих группах: до 3,5 (2,0; 4,5)% в группе 1, тогда как в основной группе было 2,0 (0; 3,0) % ($p = 0,012$).

Анализ динамики данного параметра у женщин с преинвазивным РШМ C_{is} также

свидетельствовал об уменьшении уровня экспрессии фосфогинона после проведенного лечения в обеих группах. После проведения лечения медиана показателя в группе сравнения снизилась до 5,0 (3,0; 6,5)%, в основной группе его была в 2 раза ниже ($p=0,009$) – 2,5 (1,0; 3,0).

Таблица 3 – Динамика уровня экспрессии фосфогинона (%) у пациенток с CIN III/HSIL, Me (Q₂₅, Q₇₅)

Группы пациенток	До лечения	После лечения
Пациентки с CIN III/HSIL		
Группа 1 (сравнения) (n= 20)	6,5 (5,0; 8,5)	3,5 (2,0; 4,5)
Группа 2 (основная) (n=17)	6,0 (4,5; 9,0)	2,0 (0; 3,0)*
Пациентки с преинвазивным раком шейки матки Cis		
Группа 1 (сравнения) (n=29)	7,0 (5,5; 8,5)	5,0 (3,0; 6,5)
Группа 2 (основная) (n=28)	7,5 (4,5; 8,0)	2,5 (1,0; 3,0)*

* Различия статистически значимы ($p<0,05$) относительно соответствующего значения в группе 1 (кр. Манна-Уитни)

Результаты цервикоскопии, цервикометрии и зондирования цервикального канала. До и после проведенной терапии были оценены анатомические особенности ШМ с помощью цервикометрии – измеряли длину эндоцервикса, а также осуществляли зондирование цервикального канала, при этом определялось наличие или отсутствие стеноза цервикального канала. У 7 пациенток (14,3%) первой группы было отмечено наличие полного стеноза цервикального канала, в то время как у всех пациенток группы 2 цервикальный канал визуализировался до области внутреннего зева, слизистая была без визуально определяемых образований. По результатам цервикометрии отмечено укорочение длины цервикального канала у всех пациенток группы 1 от 13 до 18 мм, у пациенток второй группы не было зафиксировано уменьшения длины эндоцервикса.

В ходе оценки безопасности методов лечения тяжелой дисплазии и преинвазивного РШМ было установлено, что все пациентки группы 2 хорошо перенесли внутривенное введение ФС хлоринового ряда. У 5 женщин (11,1%) отмечалась легкая фототоксичность кожи в течение суток после инъекции, которая проявлялась незначительно выраженной гиперемией и отеком на открытых поверхностях тела. В одном случае (2,2%) в группе 2 была отмечена аллергическая реакция замедленного типа в виде крапивницы, купированная внутривенной инфузией дексаметазона. В группе сравнения у 5 пациенток (10,2%) наблюдалось присоединение вторичной инфекции, зафиксировано 9 случаев (18,4%) кровотечения, в дальнейшем у 7 пациенток (14,3%) отмечены стенозы цервикального канала.

В целом частота осложнений в группе 1 составила 42,0% (21 случай), в то время как в группе 2 была значимо ниже ($p=0,002$) – 13,3 % (6 осложнений).

Анализ репродуктивных исходов. На следующем этапе исследования был проведен ретроспективный анализ репродуктивных исходов у 46 пациенток с морфологически подтвержденными ВПЧ-ассоциированными интраэпителиальными неоплазиями ШМ и преинвазивными РШМ, которые планировали беременность.

Эти пациентки входили в группы 1 и 2, их них

- в группу 1 – 24 пациентки, в лечении которых применялись стандартные методы диагностики и лечения рассматриваемой патологии;
- группу 2 – 22 пациентки, в процессе ведения которых был использован метод фототераностики.

Оценка распределения пациенток, планировавших беременность, по диагнозам показала отсутствие достоверных межгрупповых различий. Диагноз CIN III/HSIL был у 14 пациенток (58,3%) в группе 1 и у 15 женщин (68,2%) в группе 2. Преинвазивный РШМ Cis при включении в исследования был выявлен у 10 женщин (41,7%) первой группы и у 7 пациенток (31,8%) второй группы.

Анализ репродуктивных исходов показал, что в группе сравнения беременность наступила у 6 пациенток (25,0%), в основной группе значение этого показателя было статистически значимо выше ($p=0,040$) – у 12 женщин (55,5%) (Таблица 4). Беременность наступила самостоятельно у 4 женщин (16,7%) группы сравнения, в основной группе количество таких случаев было выше ($p=0,013$) – 10 (44,4%).

Таблица 4 – Репродуктивные исходы у пациенток, планировавших беременность (n/%)

Исходы	Группа 1 (сравнения) n=24		Группа 2 (основная) n=22	
	Абс.	%	Абс.	%
Беременность не наступила	18	75,0	10	44,5*
Беременность наступила	6	25,0	12	55,5*
Беременность наступила самостоятельно	4	16,7	10	44,4*
ЭКО	2	8,3	2	9,1

* Различия статистически значимы (при $p<0,05$) по критерию χ^2 по сравнению с соответствующим значением в группе 1

В группе 1 у одной пациентки беременность окончилась выкидышем, у 5 женщин – родами. Доля самостоятельных родов составила в первой группе 60,0% (3 случая), во второй группе – у 8 пациенток (66,7%). Кесарево сечение было выполнено 2 женщинам (40,0%) группы 1 и 4 пациенткам (33,3%) группы 2.

Полученные данные свидетельствуют о преимуществах использования метода фототераностики в лечении рассматриваемой патологии по сравнению с применением стандартных методов лечения у пациенток, планирующих беременность.

ВЫВОДЫ

1. Фототераностика (одномоментная флюоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия) является патогенетически обоснованным, клинически эффективным и безопасным методом диагностики и лечения интраэпителиальных плоскоклеточных поражений шейки матки тяжелой степени и преинвазивного рака шейки матки. В основе лечебного эффекта фототераностики лежит применение фотосенсибилизаторов с последующей их локальной активацией лазерным излучением, длина

волны которого совпадает с пиком поглощения фотосенсибилизатора.

2. По результатам проведенных исследований совместного применения двух инструментальных методов, основанных на видео и спектрально- флуоресцентном подходе, были установлены показания к применению фототераностики: ВПЧ-ассоциированные тяжелые дисплазии шейки матки и преинвазивный рак шейки матки (carcinoma in situ) у женщин репродуктивного возраста, планирующих беременность, что позволяет достичь полного регресса очагов интраэпителиальной неоплазии и преинвазивного рака шейки матки, а также в абсолютном большинстве случаев сопровождается элиминацией ВПЧ-инфекции.

3. Сравнительная оценка эффективности фототераностики и традиционных методов диагностики и лечения интраэпителиальных неоплазий и преинвазивного рака шейки матки выявила более высокую частоту полной регрессии патологических очагов в эпителии шейки матки при использовании фототераностики – 88,9%, (в группе сравнения – 67,3 %), снижение частоты выявления аномальных кольпоскопических картин (в основной группе – 6,7%, в группе сравнения – 38,8 %), более высокую частоту элиминации вируса папилломы человека (в основной группе – 100%, в группе сравнения – 69,4 %).

4. Оценка динамики экспрессии молекулярных маркеров пролиферации в клетках очагов интраэпителиальных плоскоклеточных поражений и преинвазивного рака шейки матки в процессе лечения свидетельствует о выраженном влиянии фотодинамической терапии под контролем флуоресцентной диагностики на течение патологического процесса, выражающееся в снижении индекса пролиферативной активности Ki67 (в 2,1 раза), маркера присутствия ВПЧ-инфекции p16 (в 4,0 раза) и фосфогистона (в 2 раза) по сравнению с результатами применения традиционных методов лечения (конизацией шейки матки с выскабливанием оставшейся части цервикального канала). Данные критерии, указывающие на элиминацию ВПЧ и нормализацию пролиферативной активности эпителиального пласта, являются морфологическим подтверждением полного лечебного патоморфоза.

5. Репродуктивные исходы у пациенток, которым проводилось лечение интраэпителиальных неоплазий и преинвазивного рака шейки матки, характеризуются высокой эффективностью комплексного метода диагностики и лечения с использованием одномоментной видео- и спектрально-флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии. Частота наступления беременности у женщин основной группы была выше и составила 55,5% (в группе сравнения – 25,0%), что связано с сохранением анатомо-функциональной структуры шейки матки после проведенного лечения методом фототераностики.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Метод фототераностики (симультанной флуоресцентной спектроскопии и фотодинамической терапии) целесообразно использовать при диагностике и лечении ВПЧ-ассоциированной тяжелой дисплазии и преинвазивного рака шейки матки у женщин репродуктивного возраста, планирующих беременность, поскольку метод характеризуется высокой клинической эффективностью, безопасностью и органосохраняющим потенциалом.

2. Через 6 недель после лечения следует проводить предварительный цитологический и

по показаниям биопсийный контроль с последующим гистологическим исследованием, динамическое цитологическое исследование, ПЦР-исследование на вирус папилломы человека, а в течение года каждые 3 месяца выполнять кольпоскопию.

3. Для проведения фототераностики пациенткам с тяжелой дисплазией шейки матки и преинвазивным раком шейки матки следует использовать лазерное излучение с длиной волны излучения 660 нм (при применении препаратов хлоринового ряда) для одновременного осуществления флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии.

4. Дозы световой энергии при проведении фотодинамической терапии на область слизистой влагалищной порции шейки матки должны составлять 250–300 Дж/см², при воздействии на очаги в цилиндрическом эпителии цервикального канала – 200 Дж/см². Средняя плотность мощности излучения при воздействии на ткани шейки матки не должна превышать 0,4 Вт/см². Следует использовать фотосенсибилизатор хлоринового ряда в концентрации 1,0 мг/кг массы тела. Время фотодинамического воздействия рассчитывается как отношение плотности энергии лазерного излучения к плотности мощности.

5. Для равномерного распределения энергии воздействия по всей поверхности цервикального канала облучение эндоцервикса следует проводить с помощью оптического волокна с цилиндрическим рассеиванием на дистальном конце длиной 4 см, фотодинамическую терапию влагалищной порции шейки матки следует проводить полипозиционно с диаметром пятна лазерного излучения от 1 до 1,5 см.

6. При проведении фотодинамической терапии целесообразным является применение видеофлуоресцентной системы визуализации, позволяющей оценивать границы патологического очага, накопившего фотосенсибилизатор в большей концентрации, чем в нормальной ткани. Также при этом рекомендуется использование спектрально-флуоресцентной диагностики, позволяющей уточнять границы новообразования, оценивать индекс флуоресценции фотосенсибилизатора и величину фотоблинка.

7. Проведение фототераностики преинвазивного рака шейки матки и тяжелых дисплазий шейки матки следует заканчивать при достижении уровня фотоблинка (фотообесцвечивания) 60% и более.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Alekseeva P.M., Efendiev K.T., Yakovlev D.V., Shiryayev A.A., Ishchenko A.A., **Gilyadova A.V.**, Samoilova S.I., Amirkhanova L.M., Loschenov V.B. Precise fluorescent diagnostics of cervical neoplasms for photodynamic therapy // Physics, Engineering and Technologies for Biomedicine // The 4th International Symposium and International School for Young Scientists. Book of Abstracts. – Moscow, 2019. – P. 98–99.
2. Piteriskova L.S., Alekseeva P.M., Efendiev K.T., Shiryayev A.A., Ishchenko A.A., **Gilyadova A.V.**, Loschenov V.B. Fluorescence diagnostics and photodynamic therapy of cervical neoplasms // Physics, Engineering and Technologies for BioMedicine. The 5th International Symposium and International School for Young Scientists on. – Moscow, 2020. – P. 133–134.

3. Alekseeva P.M., Efendiev K.T., Loshchenov M.V., Shiryaev A.A., Ishchenko A.A., **Gilyadova A.V.**, Karpova R.V., Reshetov I.V., Loschenov V.B. Combined spectral- and video-fluorescent diagnostics of cervical neoplasms for photodynamic therapy // **Laser Physics Letters**. – 2020. – Vol. 17(10). – P. 10560. [Scopus]
4. **Гилядова А.В.**, Ищенко А.А., Решетов И.В. Совершенствование диагностики и лечения интраэпителиальных неоплазий шейки матки, ассоциированных с носительством вируса папилломы человека, путем применения фотодинамической терапии с лазерным возбуждением флуоресценции // Сборник тез. докл. XXII Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и дитя». – М., 2021. – С 99–100.
5. **Гилядова А.В.**, Ищенко А.А., Решетов И.В. Фототераностика – современный подход к диагностике и лечению интраэпителиальных неоплазий шейки матки и преинвазивного рака шейки матки // Сборник тез. докл. XXII Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и дитя». – М., 2021. – С. 100–101.
6. **Патент на изобретение № 278263**, Российская Федерация. Алексеева П.М., Эфендиев К.Т., Лощенов М.В., **Гилядова А.В.**, Ищенко А.А., Ширяев А.А., Решетов И.В., Лощенов В.Б. Способ фотодинамической терапии новообразований шейки матки и вульвы под контролем совместной видео- и спектрально-флуоресцентной диагностики с применением фотосенсибилизаторов хлоринового ряда; патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью «БИОСПЕКТ» – 2021133869, заявл. 22.11.2121, **опубл. 31.0.2022, Бюл. №3**
7. **Гилядова А.В.**, Ищенко А.А., Аполихина И.А., Саидова А.С., Ширяев А.А., Самойлова С.И., Алексеева П.М., Эфендиев К.Т., Решетов И.В. Возможности применения фотодинамической терапии в лечении предраковых заболеваний и рака шейки матки // **Акушерство и гинекология**. – 2022. – № 5. – С. 35–44.
8. **Гилядова А.В.**, Романко Ю.С., Ищенко А.А., Самойлова С.В., Ширяев А.А., Алексеева П.М., Эфендиев К.Т., Решетов И.В. Фотодинамическая терапия предраковых заболеваний и рака шейки матки (**обзор литературы**) // **Biomedical Photonics**. – 2022. – Т. 10, №. 4. – С. 59–67.
9. Решетов И.В., **Гилядова А.В.**, Ищенко А.А., Ищенко А.И., Ширяев А.А., Самойлова С.И., Дуванский Р.А., Алексеева П.М., Эфендиев К.Т., Лощенов М.В., Лощенов В.Б. Фотодинамическая терапия предрака и рака шейки матки с лазерным возбуждением флуоресценции с эффектом фотобличинга // **Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии**. – 2022. – Т. 21(4). – С.40–52.
10. **Gilyadova A.**, Ishchenko A., Samoilova S., Shiryaev A., Kiseleva A., Petukhova N., Efendiev K., Alekseeva P., Stranadko E., Loschenov V., Reshetov I. Analysis of the Results of Severe Intraepithelial Squamous Cell Lesions and Preinvasive Cervical Cancer Phototheranostics in Women of Reproductive Age // **Biomedicines**. – 2022. – Vol. 10(10). – P. 2521(1–13). [Scopus]
11. Gilyadova A., Ishchenko A., Shiryaev A., Alekseeva P., Efendiev K., Karpova R. et al. Phototheranostics of Cervical Neoplasms with Chlorin e6 Photosensitizer // **Cancers**. – 2022. – Vol. 14 (1). – P. 211 (1–15). [Scopus]

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода

ВПЧ – вирус папилломы человека

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РШМ – рак шейки матки

ФС – фотосенсибилизатор

ФДТ – фотодинамическая терапия

ШМ – шейка матки

CIN – цервикальная интраэпителиальная неоплазия

HSIL – интраэпителиальное поражение высокой степени

NILM – интраэпителиальная неоплазия