

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Душкин Александр Дмитриевич

**Показатели мукозального иммунитета шейки матки
в мониторинге клинического течения и эффективности
фотодинамической терапии папилломавирусной инфекции**

3.2.7. Аллергология и иммунология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Афанасьев Максим Станиславович

Москва – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	18
1.1. Эпидемиология и медико-социальная значимость папилломавирусной инфекции шейки матки	18
1.2. Система иммунологического надзора шейки матки.....	20
1.2.1. Иммунные клетки слизистой оболочки экзоцервикса	24
1.2.2. Иммунные клетки зоны трансформации шейки матки.....	26
1.2.3. Иммунные клетки слизистой оболочки эндоцервикса	26
1.3. Характеристика Toll-подобных рецепторов	27
1.4. Роль мукозального иммунитета в патогенезе папилломавирусной инфекции шейки матки	29
1.5. Механизмы развития рака шейки матки. Современные представления.....	34
1.6. Методы скрининга папилломавирусной инфекции шейки матки.....	36
1.7. Фотодинамическая терапия.....	40
1.7.1. Роль Toll-подобных рецепторов при фотодинамической терапии	42
1.7.2. Роль клеток врождённого иммунитета при фотодинамической терапии	43
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	46
2.1. Дизайн исследования	46
2.2. Методы исследования	49
2.3. Методы статистической обработки результатов исследования	54
2.4. Материал исследования	56
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	57
3.1. Анализ клинико-эпидемиологических признаков, показателей мукозального иммунитета, вирусологических и цифрового интегрального значения	57

3.2. Оценка значимости клинико-эпидемиологических признаков, показателей мукозального иммунитета, вирусологических и цифрового интегрального значения для прогнозирования течения папилломавирусной инфекции	69
3.3. Прогностическая модель течения папилломавирусной инфекции шейки матки	75
3.4. Влияние фотодинамической терапии на маркеры мукозального иммунитета, эрадикацию папилломавируса человека и злокачественную трансформацию эпителиальных клеток	81
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	86
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ	94
ВЫВОДЫ	95
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	98
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	99
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	102
ПРИЛОЖЕНИЕ А. Обобщающие таблицы с количественными и категориальными данными	121
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Клинический пример ведения пациентки	126
ПРИЛОЖЕНИЕ В. Клинико-иммунологическое течение папилломавирусной инфекции шейки матки	128

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Папилломавирусная инфекция (ПВИ) является самой распространенной инфекций, передаваемой половым путем в мире [9]. Вирус папилломы человека (ВПЧ) классифицируется как инфекционный агент с доказанным канцерогенным потенциалом. Главной причиной развития рака шейки матки (РШМ) является ВПЧ [9]. РШМ занимает 5-е место в структуре всех злокачественных новообразований и 4-ое в структуре злокачественных новообразований женщин на 2020 год [102]. Международное агентство по исследованию рака (IARC) опубликовало данные по числу новых случаев РШМ – 604 127 и смертей – 341 831 в 2020 году [102]. Смертность от РШМ занимает 7-е место среди всех злокачественных новообразований и 3-е в структуре смертей от злокачественных новообразований у женщин [102]. Прогнозируемое число ежегодно выявляемых случаев РШМ к 2040 году составит 855 130 по данным IARC. По данным ICO/IARC Information Center on HPV and Cancer, 65,4 млн женщин РФ находятся в зоне риска по развитию РШМ [102]. 20,8 – именно такое число женщин умирает от РШМ в РФ в день. Число новых случаев РШМ в РФ составляет 49.8 в день [102]. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) в мае 2018 года заявила о глобальных действиях по искоренению РШМ. В августе 2020 года на 73-й сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения была принята глобальная стратегия по элиминации РШМ [220]. Её главной целью является снижение стандартизированного показателя по выявлению новых случаев РШМ до 4 на 100 тыс. женщин. Для достижения этой цели приняты три основных показателя: вакцинация, диагностика и лечение. Этому соответствует стратегия «90-70-90»: 90% девочек должны быть полностью вакцинированы к 15 годам; 70% женщин к 35 годам и повторно к 45 годам должны проходить полную и высокоэффективную диагностику; 90% женщин с предраковыми заболеваниями шейки матки и РШМ должны пройти полное лечение. Вектор направления исследований по отношению к РШМ, который задает нам ФГБУ «Российская академия наук», указывает на «выявление отдельных клинико-эпидемиологических особенностей проявлений ПВИ должно способствовать

разработке новых и оптимизации существующих профилактических программ в отношении широкого спектра ВПЧ-ассоциированных заболеваний» [37].

Изучение механизмов врожденного иммунитета является одной из актуальных проблем иммунологии. Ключевыми звеньями системы врожденного иммунитета являются паттерн-распознающие рецепторы, одними из которых являются Toll-подобные рецепторы (TLRs). Врожденный и приобретенный иммунитеты имеют определенные фундаментальные различия:

1. Различные стратегии распознавания;
2. Врожденный иммунитет реагирует незамедлительно;
3. Адаптивный иммунитет развивается дни/недели и обладает способностью к формированию клеток памяти.

TLRs высоко селективно распознают структуры патогенных микроорганизмов – паттерны, ассоциированные с микроорганизмами (PAMPs). Лигандами к TLRs могут служить и различные макромолекулы: липиды, углеводы, белки и нуклеиновые кислоты. Наиболее известными лигандами считаются компоненты клеточной стенки бактерий, флагеллин, ДНК микроорганизмов, вирусная ДНК и многие другие. Формирование комплекса с TLRs по типу «рецептор-лиганд» активирует сигнальный пути системы врожденного иммунитета, в результате чего происходит регуляция активности генов цитокинов, противомикробных и противовирусных пептидов. Контроль врожденного иммунитета и развитие адаптивного иммунитета происходит в результате образования продуктов трансляции. Дефекты в системе врожденного иммунитета, связанные с TLRs, могут приводить к развитию тяжелых инфекций, аутоиммунных заболеваний, аллергопатологии и другим заболеваниям. Количество нарушений в системе врожденного иммунитета и TLRs растет от года к году. Исследования, направленные на выявление дефектов и роли системы местного иммунитета, способствуют пониманию врожденного и клеточного иммунного ответов, а также развитию новых методов лечения.

ВПЧ представляет собой простой и двухцепочечный кольцевой ДНК-вирус без оболочки с тропизмом к эпителиальным клеткам, поражающий многослойный эпителий в различных анатомических участках, включая кожу, аногенитальный тракт и полость рта и относящийся к семейству Papillomaviridae [32]. Он является частью

нормальной микрофлоры эпителия иммунокомпетентных людей, участвует в различных доброкачественных или злокачественных поражениях [66]. Известно более 200 типов ВПЧ, включающих 5 родов: Alpha, Beta, Gamma, Mu, Nu. В свою очередь, каждый род включает в себя несколько видов, и каждый вид включает в себя определенные типы. В большинстве случаев инфекция протекает бессимптомно и самопроизвольно проходит при участии иммунного ответа хозяина. В некоторых случаях инфекция может быть скрытой и реактивироваться при определенных условиях, таких как иммуносупрессия. ВПЧ-ассоциированные заболевания характеризуются высокой степенью летальности, главным образом, поражая органы репродуктивной системы, и тем самым обуславливают потерю репродуктивной способности. ВПЧ передается при контакте кожи с кожей или слизистой оболочки со слизистой оболочкой и попадает в организм через микротравму кожи или слизистой оболочки. ВПЧ проникает в эпидермис и слизистые. Вирусные частицы получают доступ к базальным или стволовым клеткам эпителия. Вирус не имеет собственного механизма репликации и поэтому зависит от клеточного деления эпителия, которое происходит от базальных слоев к супрабазальным слоям. ВПЧ использует этот процесс для репликации и получения новых вирусов.

В настоящее время происходит коллаборация различных методов верификации ПВИ для повышения чувствительности и специфичности диагностики. Существует множество систем тестирования и методов диагностики ПВИ шейки матки, начиная с визуального осмотра и заканчивая молекулярно-генетическим исследованием. На этапе визуального осмотра на помощь специалисту приходит оптическое и цифровое оборудование, которое позволяет производить видеофиксацию. Новейшее программное обеспечение обрабатывает цифровые изменения патологической ткани. Спектральная визуализация изображения в узких диапазонах изменения интенсивности подсветки пикселей является мощным инструментом для дифференцировки патологического процесса. Мобильные решения цифровых инструментов позволяют облегчить набор фото- и видеоматериалов для проведения различных исследований. Это помогает поддерживать системы эпидемиологического мониторинга, математического моделирования, дистанционного наблюдения за состоянием пациента, формирование баз данных для алгоритмов машинного

обучения, систем с искусственным интеллектом и модернизировать ИТ-образование врачей с последующим формированием баз знаний.

Данное исследование полностью соответствует национальной и всемирной стратегии профилактики, диагностики и лечения клинических проявлений ПВИ шейки матки.

Степень разработанности темы исследования

Многие работы, которые посвящены изучению ПВИ и ВПЧ-ассоциированным заболеваниям в РФ, затрагивают лишь терминальные стадии ПВИ, а их выявление может занимать значительные временные промежутки, что приводит к ещё большему ухудшению состояния пациента [15, 37]. В РФ не в полной мере решены вопросы создания полноценной системы ведения пациенток с ПВИ шейки матки, учитывающие междисциплинарный характер инфекционного процесса: клинический, иммунологический, морфологический.

В настоящее время диагностика предраковых изменений и рака шейки матки базируется на молекулярно-генетической верификации ВПЧ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), а также патоморфологической оценки методом жидкостной цитологии и/или гистологического исследования. Однако данные исследования базируются на уже фактических изменениях эпителиального пласта и не могут использоваться в качестве прогноза течения папилломавирусной инфекции шейки матки. По мере развития молекулярно-генетических и цифровых технологий, используемых для оценки состояния целостности органов и выраженности течения патологического процесса растет чувствительность и специфичность диагностики [62, 64, 94, 178, 205, 206]. В настоящем исследовании для оценки течения ПВИ шейки матки используются показатели состояния органного, тканевого, клеточного и молекулярного уровней. Многочисленные исследования позволяют связать роль TLRs с развитием плоскоклеточного интраэпителиального поражения (SIL) и РШМ [25, 206]. Попадание ВПЧ и вирусных частиц (PAMPs) на эпителиальные клетки инициирует врожденный иммунный ответ, а также компоненты клетки (DAMPs) в результате распада от вирусолитического действия ВПЧ. Применение иммунологических маркеров в комбинации с клинико-морфологическими и

цифровыми показателями дает возможность определить состояние шейки матки при различной степени выраженности ПВИ.

Таким образом, дальнейшее исследование особенностей течения и разработка методик мониторинга ПВИ шейки матки имеет значение для оптимизации лечебно-диагностических протоколов.

Цель работы

Изучить маркёры мукозального иммунитета у больных папилломавирусной инфекцией шейки матки и возможность их использования для прогнозирования возникновения и течения этого заболевания, а также оценки эффективности фотодинамической терапии.

Задачи исследования

1. Определить и сравнить экспрессию мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 в мазке-соскобе с экзоцервикса у больных ПВИ шейки матки с разной степенью плоскоклеточных интраэпителиальных поражений.
2. Определить и сравнить характер инфильтрации экзоцервикса лимфоидными клетками и нейтрофилами, а также число лейкоцитов в цервикальном секрете и периферической крови у больных ПВИ шейки матки с разной степенью плоскоклеточных интраэпителиальных поражений.
3. Выявить зависимость площади поражения экзоцервикса у больных ПВИ шейки матки по данным йодной пробы Шиллера с последующей цифровой обработкой кольпоскопических картин от степени интраэпителиального поражения.
4. У больных ПВИ шейки матки выявить и охарактеризовать корреляционные связи между экспрессией мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 в мазке-соскобе с экзоцервикса, вирусной нагрузкой, числом лейкоцитов в цервикальном секрете, площадью поражения эпителия экзоцервикса по данным йодной пробы Шиллера с цифровой обработкой кольпоскопических картин, числом нейтрофилов и моноцитов периферической крови.
5. Выявить анамнестические, клинко-диагностические и лабораторные (с фокусом на показатели врожденного мукозального иммунитета) признаки, влияющие

на характер течения ПВИ шейки матки, которые могут учитываться при математическом прогнозировании этого заболевания.

6. Разработать математическую модель клинического течения ПВИ шейки матки на основе классифицирующих уравнений для прогноза заражения ВПЧ, возникновения и прогрессирования плоскоклеточного интраэпителиального поражения и развития РШМ.

7. Оценить эффективность фотодинамической терапии (ФДТ) у больных ПВИ по вирусологическим и цитологическим критериям в зависимости от исходной степени плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки.

8. Определить динамику концентрации IFN- γ , IL-1 β , IL-4, IFN- α , TNF- α и sIgA в цервикальном секрете, а также экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 в мазке-соскобе с экзоцервикса через 2 часа после сеанса ФДТ.

Научная новизна

Исследована: экспрессия мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 на поверхности эпителиоцитов шейки матки; число лейкоцитов в цервикальном секрете, расширенной лейкоцитарной формулы общего анализа крови; степень инфильтрации и морфологического типа клеток лимфоидного ряда и нейтрофилов, инфильтрирующих ткань шейки матки; цифровое интегрального значения поверхности шейки матки, отражающего площадь поражения эпителия экзоцервикса по данным уксусной и йодной проб в соответствии с клинической формой папилломавирусной инфекции. Установлена их статистическая значимость как объективных предикторов клинических форм ПВИ шейки матки. Проведена оценка состояния мукозального иммунитета шейки матки при урогенитальной инфекции (*патент РФ № 2715618*), выраженности инфекционного процесса при урогенитальной инфекции (*патент РФ № 2715626*) и разработан способ прогнозирования течения урогенитальной инфекции с помощью экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 на поверхности эпителиоцитов шейки матки (*патент РФ № 2720135*).

Рассчитана математическая модель прогнозирования течения клинических форм папилломавирусной инфекции с использованием клинико-эпидемиологических показателей (возраст, начало половой жизни), уровня экспрессии мРНК TLR2, TLR3,

TLR4 и TLR8 на поверхности эпителиоцитов шейки матки, числа лейкоцитов в цервикальном секрете, расширенной лейкоцитарной формулы общего анализа крови, значений цифрового интегрального значения поверхности шейки матки с использованием логистической регрессии.

Впервые разработан оригинальный метод цифровой количественной оценки изображения аномальных кольпоскопических картин при ПВИ шейки матки с использованием уксусной пробы (*патент на изобретение РФ № 2758330*).

Отдельно изучена экспрессия мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8, концентрации IL-1 β , IL-4, IFN- α , IFN- γ , TNF- α , sIgA и числа лейкоцитов в цервикальном секрете до и после фотодинамической терапии шейки матки *in vivo*. Обоснована значимость фотодинамической терапии как иммуномодулирующего метода лечения папилломавирусной инфекции шейки матки в онкогинекологии. Разработан протокол проведения ФДТ для эрадикации ВПЧ и злокачественной трансформации эпителиальных клеток шейки матки. Дополнительно выполнена оценка влияния фотодинамической терапии шейки матки на эрадикацию вируса папилломы человека и остановку злокачественной трансформации эпителиальных клеток шейки матки в соответствии с клинической формой ПВИ более чем для 1000 пациенток.

Теоретическая и практическая значимость

Включение в исследование комплекса объективных инструментально-диагностических методов расширило существующий спектр данных в части развития клинических форм папилломавирусной инфекции шейки матки. Данные, которые позволяют расширить существующий спектр: экспрессия мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 на поверхности эпителиоцитов, степень инфильтрации и морфологический тип клеток лимфоидного ряда и нейтрофилов, инфильтрирующих ткань шейки матки, число лейкоцитов в цервикальном секрете и цифровое интегральное значения поверхности шейки матки, отражающего площадь поражения эпителия экзоцервикса по данным уксусной и йодной проб.

Определено, что при папилломавирусной инфекции без плоскоклеточного интраэпителиального поражения наибольший уровень экспрессии мРНК имеет TLR3.

Вирусная нагрузка имеет положительную умеренную корреляцию с экспрессией мРНК TLR3 при данном состоянии.

Доказано, что папилломавирусная инфекция с легкой степенью плоскоклеточного интраэпителиального поражения имеет максимальный уровень экспрессии мРНК TLR2, TLR4 и TLR8. При угнетении экспрессии мРНК данных TLRs плоскоклеточное интраэпителиальное поражение легкой степени прогрессирует в более тяжелые формы папилломавирусной инфекции шейки матки.

Для прогнозирования клинических форм папилломавирусной инфекции обоснована целесообразность применения таких показателей, как возраст пациентки, начало половой жизни, уровень экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 на поверхности эпителиоцитов шейки матки, число лейкоцитов в цервикальном секрете, расширенная лейкоцитарная формула общего анализа крови, цифровое интегральное значение поверхности шейки матки.

Разработана программа ЭВМ «TLR Screen» для оценки состояния мукозального иммунитета шейки матки (*свидетельство о регистрации ЭВМ № 2021681068*) и устройство для скрининга патологии наружных и внутренних половых органов у женщин (*патент на полезную модель №210078*). Определено перспективное направление для оптимизации методик иммунологического мониторинга папилломавирусной инфекции шейки матки.

Доказано действие фотодинамической терапии на ткань шейки матки относительно эрадикации ВПЧ и остановки процесса злокачественной трансформации эпителиальных клеток на статистически репрезентативном материале. Метод может быть рекомендован для оптимального неинвазивного лечения папилломавирусной инфекции шейки матки. Доказанная эффективность фотодинамической терапии клинических форм папилломавирусной инфекции шейки матки, обуславливает целесообразность проведения дальнейших работ по изучению эффективности и безопасности фотодинамической терапии в комбинации с другими методами лечения такими, как системная лекарственная терапия (химиотерапия, таргетная терапия, иммунотерапия), лучевая терапия, хирургическое лечение терминальных стадий рака шейки матки.

Методология и методы исследования

Методология работы спланирована соответственно поставленной цели и задачам исследования. Исследования, направленные на оценку уровня экспрессии мРНК TLRs эпителиоцитов шейки матки и концентрации цитокинов в цервикальном секрете методами ПЦР «real-time» совмещенным с обратной транскрипцией и иммуноферментным анализом соответственно, были проведены в лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова (заведующая лабораторией – д.м.н., профессор, член-корр. РАН О.А. Свитич). Анализ полученных значений проводили на базе кафедры клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (заведующий кафедрой – д.м.н., профессор, академик РАН А.В. Караулов).

Методология исследования базировалась на комплексном подходе в оценке клинических форм ПВИ шейки матки. Лечение пациенток с различными клиническими формами ПВИ шейки матки проводилось с использованием фотодинамической терапии [19–22, 60, 181]. Ретроспективная часть исследования основывалась на 1075 проанализированных историй болезней пациенток с различной степенью тяжести клинической формы ПВИ шейки матки с ноября 2015 по март 2022 года [20, 21]. Истории болезни были получены из архивов медицинского центра ООО «Гута Клиник» и гинекологического отделения центра репродукции и генетики «Нова Клиник» ООО «МедИнСервис».

Проспективная часть исследования основывалась на 122 пациентках с февраля 2021 по март 2022 года. У каждой пациентки из ретроспективной части были проанализированы клинико-эпидемиологические признаки (возраст, менархе, начало половой жизни, число половых партнеров, беременности, роды, аборт, жалобы, наличие ВПЧ вакцинации, терапевтическое лечение вирусной и/или бактериальной инфекции в анамнезе, хирургическое лечение шейки матки в анамнезе, наличие сопутствующих заболеваний органов малого таза, наличие сопутствующей вирусной и/или бактериальной инфекции, тип зоны трансформации шейки матки, наличие ацетобелого эпителия на поверхности шейки матки), вирусологические признаки

(ВПЧ инфекция в анамнезе, наличие кондилом, тип ВПЧ, вирусная нагрузка) и иммунологические признаки (число лейкоцитов в цервикальном секрете).

Для проспективной части проанализированы: экспрессия мРНК TLR2, TLR3, TLR4, TLR 8; степень инфильтрации и морфологического типа ИКК инфильтрирующей ткани шейки матки; концентрация IL-1 β , IL-4, IFN- α , IFN- γ , TNF- α , sIgA и число лейкоцитов в цервикальном секрете. Дополнительно, проведен анализ показателей расширенной лейкоцитарной формулы (абс. число нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов) общего анализа крови.

Примененный в работе комплексный методологический подход с использованием многофакторного анализа позволил с новых позиций изучить особенности течения ПВИ шейки матки, начиная с визуального осмотра и заканчивая молекулярно-генетическим уровнем.

Положения диссертации, выносимые на защиту

1. Уровень экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8, характер лимфоидной и нейтрофильной инфильтрации экзоцервикса, число лейкоцитов в цервикальном секрете у больных ПВИ шейки матки отражают степень ВПЧ-ассоциированного плоскоклеточного интраэпителиального поражения.

2. Использование классификационных уравнений для прогнозирования наличия ВПЧ способствует повышению настороженности врача-клинициста на 31,8%. Дополнительное определение экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 в сочетании с цифровым анализом кольпоскопического изображения позволяет выявить на 63,3% больше пациенток, которые подлежат цитологическому скринингу.

3. Клиническая эффективность ФДТ у больных ПВИ шейки матки по вирусологическим и онкоцитологическим критериям наиболее выражена при тяжелой степени плоскоклеточного интраэпителиального поражения.

4. Повышение концентрации IFN- γ в цервикальном секрете через 2 часа после сеанса ФДТ является информативным ранним маркером эффективности лечения ПВИ шейки матки.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Направление диссертационного исследования соответствует п. 2 «Выяснение механизмов распознавания чужеродных субстанций, их удаления из организма и формирования иммунологической памяти.», п. 3 «Изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии.», п. 4 «Исследование молекулярных и клеточных основ противобактериальной, противовирусной, противоопухолевой, противогрибковой, противопаразитарной иммунной защиты.», п. 7 «Разработка фундаментальных основ иммунопрофилактики, иммунодиагностики и иммунотерапии.» и п. 10 «Проектирование и создание оптимальных биоинформационных и математических моделей функционирования иммунной системы.» паспорта специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология (медицинские науки).

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность полученных результатов обусловлена репрезентативностью и достаточным объемом выборки, применением современных методов аналитического, клинического, статистического, молекулярно-генетического и морфологического анализа. Применялись методы математического моделирования и методики анализа «BigData». Диссертация апробирована на заседании кафедры клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет) Минздрава России протокол № 7 от «7» июля 2022 г.

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на:

1. 2nd International Conference on Photonics Research, November 4-9, 2019, Kemer/Antalya, Turkey;
2. IX Международном конгрессе «Фотодинамическая Терапия и Фотодиагностика», 23-24 октября 2020, Москва, Россия;

3. Photodynamic Therapy and Photodiagnosis Update 2020 E-CONGRESS, November 5-6, 2020, Nancy, France;
4. I Всероссийском Конгрессе с международным участием по фундаментальным проблемам лабораторной диагностики «Академия лабораторной медицины: новейшие достижения», 25-27 мая, 2021, Московская область, Красногорск, Россия;
5. X Международном конгрессе «Фотодинамическая Терапия и Фотодиагностика», 10-11 июня 2021, Москва, Россия; 16th International Conference «Optical Methods of Flow Investigation», June 28 – July 02, 2021, Moscow, Russia;
6. Photogenic Science Contest IPA 2021, November 21, 2021, France;
7. Межрегиональной научно-практической конференции «X Розовая лента», 28-29 октября 2021, Тверь, Россия;
8. I Научно-практическая конференция «Лазерная и фотодинамическая терапия: актуальные вопросы, достижения, инновации», 25 марта 2022, Обнинск, Россия.

Результаты исследования нашли отражение:

При подготовке учебного пособия для системы послевузовского профессионального образования врачей «Фотодинамическая терапия: иммуномодулирующий метод в онкогинекологии» регистрационный номер рецензии № 876 ЭКУ от 19.09.2019 [11].

В учебном процессе кафедры клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) при изучении дисциплин «Иммунология» и «Клиническая иммунология» акт № 116 от 04.07.2022.

Личный вклад автора

Автором лично в полном объеме были выполнены все этапы диссертационного исследования: планирование, организация, систематизация и сбор первичных данных, анализ и статистическая обработка. Автором лично проведен анализ клинических

проявлений ПВИ шейки матки, анализ показателей экспрессии TLRs на поверхности эпителиоцитов шейки матки при ПВИ до и после ФДТ, концентрации цитокинов в цервикальном секрете до и после ФДТ, разработан алгоритм интегральной оценки ПВИ шейки с учетом показателей маркеров мукозального иммунитета, лейкоцитарной реакции и вирусной нагрузки, анализа реакции врожденного иммунитета на клинические проявления ПВИ шейки матки, анализ реакции врожденного иммунитета на фотодинамическую терапию шейки матки, анализ влияния штаммов ВПЧ на клинические проявления ПВИ шейки матки, разработан алгоритм цифровой обработки и анализа кольпоскопических изображений. Автором лично проведены расчеты обобщенных значений показателей мукозального иммунитета шейки матки, вирусной нагрузки и цифрового анализа при клинических формах ПВИ. Автором лично разработаны предложения по внедрению системы диагностики, профилактики и лечению ПВИ шейки матки.

Личный вклад автора составляет 90% при сборе первичной информации, 90% при анализе обобщенных результатов исследования и формулировании оптимизации иммунологических, микробиологических и профилактических направлений при папилломавирусной инфекции шейки матки, 80% при оформлении и написании научных публикаций по теме диссертации.

Публикации

По результатам исследования автором опубликовано 17 работ, из них: 6 статей в изданиях индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed; 2 иные публикации по результатам исследования; 4 патента на изобретение; 1 патент на полезную модель; 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ; 3 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 2 зарубежные конференции). В публикациях содержится полный объем информации по теме диссертации.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 128 страницах машинописного текста, иллюстрирована 10 таблицами, 36 рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы, глав материалов и методов исследования, результатов исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы содержит 220 наименований, представленных 27 отечественными и 189 зарубежными источниками, а также 4 нормативно-правовых документах.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эпидемиология и медико-социальная значимость папилломавирусной инфекции шейки матки

ПВИ шейки матки относится к инфекциям, передающимся преимущественно половым путем (ИППП), которые относятся к перечню социально значимых заболеваний [16]. Распространенность генитальной ПВИ среди женщин с цитологией без атипии составляет от 10 до 12% во всем мире [40, 53, 175]. В возрасте 20–25 лет наблюдается максимальная распространенность ПВИ шейки матки, при этом у женщин с патологическими изменениями шейки матки распространенность возрастает прямо пропорционально тяжести патологического процесса и достигает более 90% с HSIL и инвазивным РШМ [53, 74, 75, 92]. Распространенность ПВИ шейки матки среди возрастной группы 20–25 лет в среднем 20–46%, снижаясь к 30 годам и старше до 2–6% [45, 142].

Распространенность генитальной ПВИ у женщин имеет ряд географических характеристик и варьируется в зависимости от региона мира (Рисунок 1).

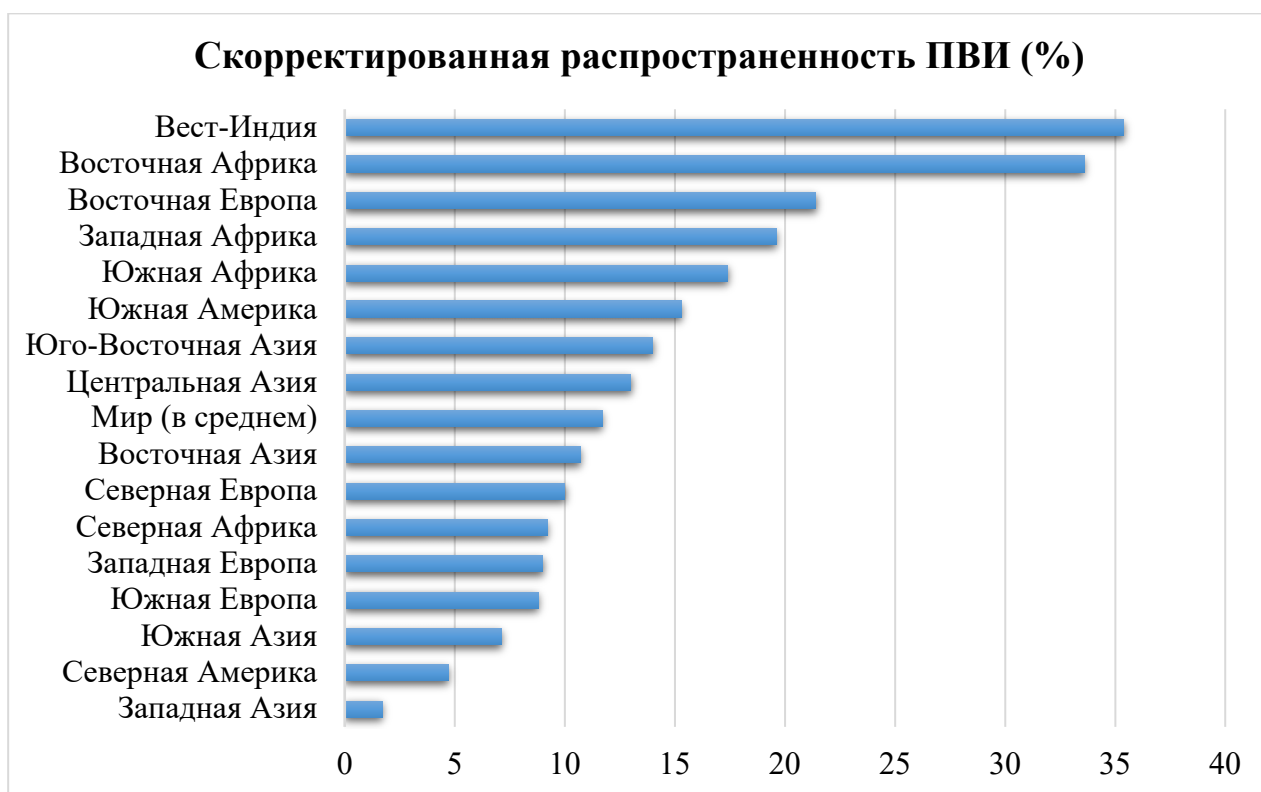


Рисунок 1 – Уровни распространенности ПВИ по регионам мира (модифицировано из Лопухов П.Д. 2018) [15]

Пять наиболее распространенных (высокоонкогенных) типов генитальной ПВИ в мире, встречающихся у здоровых женщин: ВПЧ 16 типа – 3.2%; ВПЧ 18 типа – 1.4%; ВПЧ 52 типа – 0.9%; ВПЧ 31 типа – 0.8%; ВПЧ 58 типа – 0.7%. Примерно у 3.2% обследуемых женщин встречается полиинфицирование разными типами, что составляет примерно 20% среди всех ВПЧ инфицированных женщин [40, 74, 161]. В РФ также оценивалась распространенность генитальной ПВИ [17, 171]. В большинстве исследований распространения генитальной ПВИ в РФ, авторы показали высокую заболеваемость данной инфекцией в различных когортах женского населения (от 13 до 40%). В основной популяции в регионах РФ преобладает ВПЧ 16 типа, реже 31, 33, 56 и 18 типы. [17]. Для ВПЧ установлена доминирующая роль в возникновении РШМ [109], рака органов ротовой полости и губ, вульвы, ротоглотки, глотки, ануса, влагалища и полового члена [36].

Развитие ПВИ шейки матки и её переход к терминальной клинической форме (т.е. РШМ) имеет логическую последовательность от бессимптомного носительства к плоскоклеточному интраэпителиальному поражению легкой (LSIL), тяжелой (HSIL) степени и инвазивному РШМ. В ретроспективных исследованиях было обнаружено, что LSIL, HSIL прогрессируют до РШМ примерно в 5% и 12% случаев соответственно [25]. Регресс LSIL/HSIL возможен в большинстве случаев, что во многом зависит от возраста. По мере увеличения тяжести плоскоклеточного интраэпителиального поражения вероятность регрессии снижается с 60% (LSIL) до 33% (HSIL).

В Российской Федерации 65.4 млн женщин в возрасте 15 лет и старше находятся в зоне риска по развитию РШМ. 15 308 новых случаев РШМ и 7 550 смертей регистрируется ежегодно от данного злокачественного заболевания. РШМ занимает 4-е место среди злокачественных заболеваний у женщин в РФ и 2-е место у женщин в возрасте 15–44 лет. Пик заболеваемости (Рисунок 2), 1 896 новых случаев РШМ, приходится на женщин в возрасте 40–44 лет [102]. По оценкам, около 9.4% женщин в общей численности населения являются носителями ПВИ-16/18 типа шейки матки на данный момент. 73,8% случаев РШМ приходится на 16 и 18 типы ВПЧ.



Рисунок 2 – Уровни распространенности РШМ в соответствии с возрастными периодами в РФ за 2020 год (модифицировано из ICO/IARC HPV Information Center, 2021) [102]

Отмечено, что 5 случаев в 2020 году РШМ в РФ было зарегистрировано в возрасте от 15 до 19 лет. Резкий скачок числа РШМ происходит к 20–25 годам от начала половой жизни с 0.03% до 5.1%, что соответствует 170-кратному приросту.

Таким образом, генитальная ПВИ является антропонозом с контактным механизмом передачи, в реализации которой ведущим путем является половой. ПВИ шейки матки может иметь как бессимптомное течение с последующим элиминированием, так и её проявление в различных клинических формах: LSIL, HSIL или РШМ. Согласно данным ВОЗ, ПВИ имеет широкое распространение, в том числе и у лиц, которых нет патологии шейки матки. ВПЧ-ассоциированные заболевания вносят серьёзный вклад в заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований женского генитального тракта, в частности шейки матки.

1.2. Система иммунологического надзора шейки матки

Женский репродуктивный тракт может быть условно разделен на две иммунологические части: верхнюю (эндоцервикс, полость матки и ходы маточных труб) и нижнюю (экзоцервикс и влагалище). Каждая из двух частей имеет уникальные тканеспецифические иммунологические свойства, а также они проходят специфические

превращения в результате различных физиологических состояний (менструация, беременность, послеродовой период и менопауза).

Шейка матки имеет форму цилиндра, пронизанного полым каналом протяженностью 2–4 см. Канал шейки матки носит название эндоцервикса, а видимая (влагалищная) порция – экзоцервикса. Эндо- и экзоцервикс преимущественно выстланы двумя типами клеток: стромальными и эпителиальными. Разделение их происходит с помощью базальной мембраны. Клеточный компонент стромы представлен фибробластами, гладкомышечными клетками, рассеянными иммунными клетками (ИК) и межклеточным матриксом. Главным образом, локальный иммунный ответ реализуется двумя типами клеток: эпителиальными и рассеянными клетками иммунной системы. Эпителиальные клетки формируют физиологический барьер (эпителиальные листки и слизистая пробка), а ИК способствуют развитию врожденного и адаптивного иммунного ответов [131, 200, 215].

Эпителиальные клетки – это «first responders» при прямом контакте с потенциальными патогенами. Они должны быть гибкими, подвижными и адаптирующимися. Это позволяет им наилучшим образом взаимодействовать с клетками иммунной системы и формировать эффективную защиту от различных патогенов. Также эпителиальные клетки шейки матки обладают иммуногенностью, которая блокирует проникновение восходящей инфекции в верхнюю часть женского генитального тракта. Эпителиальные клетки формируют физиологический иммунный барьер, секретируют антимикробные, цитокиновые и хемокиновые факторы, презентуют антиген [190].

Они представлены двумя типами эпителия: железистым и плоским. Железистый эпителий покрывает верхнюю часть женского генитального тракта, а плоским эпителием выстланы экзоцервикс и вагина. Эпителии имеют промежуточную зону (зона трансформации), представленную метапластическим эпителием. Барьерные свойства железистого эпителия частично регулируются молекулами адгезии, которые находятся в межклеточном пространстве между соседними клетками [49]. Молекулы адгезии (JAM-A, E-cadherin, occluding, claudin-1) играют ключевую роль в регуляции целостности соединений и проницаемости эпителиальных клеток, а также лейкоцитарной инфильтрации. Они обильно представлены в эндоцервиксе [31]. В

эпителии нижней части женского генитального тракта недостаточно плотных межклеточных соединений, что не только позволяет малым молекулам и инфекционным патогенам проникать между ними, но и активирует ИК, такие как дендритные клетки (ДК) или цервиковагинальные эпителиальные клетки Лангерганса. На структуру плотных межклеточных соединений влияют цитокиновые [49] и гормональные факторы [99].

Второй составляющей частью физиологического барьера является слизистый секрет. Он секретируется бокаловидными клетками из псевдожелёз и проходит определенные модификация, в результате которых образуются сигнальные биохимические молекулы [82, 91]. Слизистый секрет является биологическим раствором, который включает различные факторы. Преимущественно в него входят вода, липиды, холестерин, углеводы, минеральные соли и белки (иммуноглобулины, ферменты, муцин и плазматические белки) [91]. Однако, состав секрета и концентрация биологических факторов меняется в течение менструального цикла и беременности. В результате, и иммунный ответ может меняться в зависимости от физиологического (проникновение эякулята, менструация или беременность) или патологического состояний (восходящая инфекция). Муцины представляют собой гликопротеины, которые служат в качестве геля или клея слизистой оболочки. Таким образом муцины способны обездвиживать патогенные микроорганизмы [82]. Известно более 20 различных типов муцинов (MUC4, MUC5, MUC6 и др.), которые выделяются бокаловидными клетками в зависимости от локализации и менструального цикла [82]. Антимикробные и иммунные компоненты слизи дополняют физиологический барьер, который формируется слизистым секретом. Указанные выше составляющие включают иммуноглобулины, факторы системы комплимента, антитела, цитокины, антибактериальные белки и клетки иммунной системы [125]. Концентрация компонентов слизи не подвержена циклическим колебаниям [124, 125]. Сочетание физиологического и иммунного барьера, сформированного слизистой оболочкой и эпителием, компенсирует и усиливает иммунный ответ, например, замедляя диффузию частиц, создавая временную фору для биологической защиты [44].

Эпителиальные клетки шейки матки могут выступать в роли антиген-презентирующих клеток (АПК). Типичные АПК имеют главный комплекс гистосовместимости второго класса (МНС II класса), молекулы которого расположены на поверхности и представляют антиген для CD4⁺ Т-клеток, что является основой для активации, пролиферации и дифференцировки Т-клеток в эффекторные клетки [201]. Презентация антигена эпителиальными клетками была продемонстрирована на многих слизистых поверхностях, включая эпителиальные клетки шейки матки [198, 201]. Половые гормоны могут играть роль в регуляции антигенного представления [26], которое также регулируется цитокинами эпителиальных клеток, о чем свидетельствует тот факт, что эпителиальные клетки продуцируют трансформирующий фактор роста β (TGF- β). Он подавляет АПК в строме матки в ответ на эстрадиол (E2) [202].

Эпителиальные клетки шейки матки экспрессируют различные паттерн-распознающие рецепторы (PRRs). PRRs распознают молекулярные паттерны, ассоциированные с патогеном (PAMPs) на микроорганизмах (бактериях, паразитах и вирусах). К таким PRRs относятся Toll-подобные рецепторы (TLRs), RIG-I-подобные рецепторы (RLRs) и NOD-подобные рецепторы (NLRs) [85, 128, 173]. TLRs 2/4 определяют грамположительных и грамотрицательных бактерий соответственно [85, 128, 173], в то время как NLRs 1/2 опосредованно передают сигналы от фрагментов пептидогликана, происходящих от грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также от небактериальных патогенов, таких как вирусы и простейшие [173]. RLRs опосредованно передают сигнал от различных вирусов, которые приводят к продукции интерферона-1 (IFN-1) и формированию противовирусного ответа [134]. Уровень экспрессии данных PRRs выше в верхней части женского генитального тракта (считающейся «стерильной»), чем в нижней (насыщенной патогенами) [173, 199]. Как отмечалось выше, влагалище и экзоцервикс, которые составляют нижнюю часть женского генитального тракта, характеризуются высоким содержанием микробов, поскольку они непосредственно контактируют с внешней средой в отличие от «стерильного» верхней части генитального тракта женщины.

Таким образом, следует ожидать, что эти две области будут иметь разные иммунологические профили. Кроме того считается, что ИК в этих двух областях

регулируются половыми гормонами во время менструального цикла [199], беременности и в послеродовом периоде [215] специфичным для участка образом, который зависит от типа присутствующих факторов в локальном тканевом микроокружении, таких как факторы роста, цитокины и хемокины [199, 215]. В слизистой оболочке шейки матки Т-клетки более распространены, чем В-клетки [83, 191], из которых 60% - CD8+ Т-клетки и 40% - CD4+ Т-клетки [191]. Большинство (70%) CD4+ Т-клеток, расположенных в шейке матки, проявляют эффекторную память или эффекторный фенотип по сравнению с примерно 60% CD8+ Т-клетками, экспрессирующими фенотип эффекторных клеток, что согласуется с тем, что шейка матки является эффекторным участком для клеточно-опосредованного иммунного ответа Т-клетками CD4+ и CD8+ шейки матки [191, 215]. Напротив, клетки естественные киллеры (NK-клетки) составляют лишь 2,7% CD45+ от общего числа ИК [131], а CD19+ В-клетки составляют 0,9% ИК [131, 191]. Trifonova et al. 2014 свидетельствуют о том, что CD8+ Т-лимфоциты более многочисленны, чем CD4+ Т-лимфоциты, однако локальное распределение CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов остается дискуссионным [191]. Расхождения между некоторыми исследованиями в отношении конкретной популяции лейкоцитов могут быть отчасти связаны с различиями в экспериментальных планах исследований [83, 191], таких как репродуктивная фаза (менструальный цикл или менопауза) по сравнению с беременностью и размер выборки [131].

1.2.1. Иммунные клетки слизистой оболочки экзоцервикса

Т-клетки (CD3+) являются наиболее распространенными лейкоцитами в женском генитальном тракте, больше сконцентрированы в нижней части женского генитального тракта, чем в верхней [199]. Считается, что в нижней части женского генитального тракта большинство Т-клеток имеют фенотип с эффекторной памятью [191], а 35% мононуклеарных клеток CD45+ являются Т-клетками CD3+. Кроме того, незрелые ДК, CD4+ Т-клетки и CD1a+ значительно преобладают в экзоцервиксе, чем во влагалище [191]. С другой стороны, CD4+ и CD8+ Т-клетки одинаково распространены в экзоцервиксе в отличие от эндометрия, где преобладают CD8+ Т-

клетки [199]. Хотя НК-клетки и В-клетки также присутствуют в экзоцервиксе, они гораздо менее распространены, чем Т-клетки [199]. НК и гранулоциты (CD66b+) более многочисленны в верхних отделах женского генитального тракта, чем в нижних [199]. И Т-, и В-клетки больше распространены в экзоцервиксе, чем в эндоцервиксе, что положительно коррелирует с микробной нагрузкой [96, 191]. Тот факт, что Pudney et al. 2005 смогли обнаружить более высокие концентрации CD8+ и TIA1+ Т-лимфоцитов в экзоцервиксе и зоне трансформации шейки матки, позволяет предположить, что они могут быть основными эффекторными участками ответов цитотоксических Т-лимфоцитов [164]. Кроме того, поскольку экзоцервикс и зона трансформации шейки матки содержат наибольшее количество АПК, они, вероятно, также могут быть лучшим местом для индукции клеточно-опосредованного иммунного ответа в нижней части женского генитального тракта [164]. Хотя В-лимфоциты составляют незначительную клеточную популяцию во всем женском репродуктивном тракте, плазматические клетки, продуцирующие IgG и IgA, преимущественно локализованы в шейке матки и, в меньшей степени, во влагалище. В частности, цервикально-влагалищные выделения характеризуются большим количеством IgG, чем IgA, однако оба гормонально регулируются [101].

ДК являются наиболее мощными АПК и играют важную роль в защите матки [146], активируя наивные Т-клетки, что является важным шагом в инициации адаптивного иммунного ответа [146]. ДК преимущественно обнаруживались в базальных и супрабазальных слоях, а их дендритная природа была более выражена в базальных слоях многослойного плоского эпителия экзоцервикса и зоны трансформации шейки матки [146]. ДК также описаны в промежуточном слое без типичных дендритных процессов [166]. Хотя специфическая функция этих клеток остается неизвестной, Rabi et al. 2014 предположили, что они могут быть недендритными вспомогательными АПК [166]. Субэпителиальное распределение ДК неравномерно, и они мигрируют из этого места в эпителий, где сталкиваются с антигенами [166].

1.2.2. Иммунные клетки зоны трансформации шейки матки

Зона трансформации (ЗТ) представляет собой резкий переход между иммунологически различными областями нижнего и верхнего женского генитального тракта, а именно экзо- и эндоцервикса [103, 164]. ЗТ, по-видимому, представляет собой иммунокомпрометированную область, так как является местом инфицирования многих патогенов, включая ВИЧ и ВПЧ, которые оба развиваются в зоне перехода плоского и железистого эпителиев. Поэтому, довольно удивительно, что в нескольких исследованиях были специально изучены клетки из этого иммунологически стратегического региона. Действительно, было показано как предпочтительная локализация лимфоцитов и АПК в ЗТ, по сути, установка «последней» линии защиты между нагруженным патогенами экзоцервиксом и «стерильным» эндоцервиксом [164]. В частности, было установлено, что CD8⁺ и TIA1⁺ Т-клетки накапливаются в ЗТ, подразумевая, что ЗТ функционирует как «последний» иммунологический барьер для восходящих микроорганизмов. Однако, что удивительно, эта область с более высокой концентрацией CD4⁺ является предпочтительным местом заражения ВИЧ-1 [164] и более 90% случаев РШМ происходит из клеток ЗТ [44]. До сих пор неясно, почему такая богатая ИК область и стратегическая иммунологическая «граница» очень восприимчива к заболеваниям и злокачественным опухолям.

1.2.3. Иммунные клетки слизистой оболочки эндоцервикса

Плотность популяции Т-клеток и макрофагов в эндоцервиксе значительно ниже, чем в экзоцервиксе, где преобладает CD8⁺ [164, 199]. Эндоцервикс содержит многочисленные IgA⁺ и IgM⁺ плазматические клетки, которые опосредуют гуморальный иммунный ответ [164]. Более того, дендритные клетки CD1A⁺ не наблюдаются и не локализуются в эпителии, железах или собственной пластинке эндоцервикса [164]. Также, что интересно, не наблюдалось различий в количестве и характере локализации лейкоцитов во время пролиферативной и секреторной фаз менструального цикла или у женщин в постменопаузе [164]. Тем не менее считается, что половые гормоны влияют на функции ИК [164].

Как указывалось ранее, экзо- и эндоцервикс представляют собой две иммунологически разные области с некоторыми различиями в профиле субпопуляций ИК. Например, CD3⁺ и В-клеток в два раза больше в экзоцервиксе по сравнению с эндоцервиксом [191], и, кроме того, как CD4⁺, так и CD8⁺ Т-клетки преобладают в экзоцервиксе, чем в эндоцервиксе [191]. Однако есть и некоторые сходства между двумя регионами. Например, количество подмножеств НК-клеток CD56^{bright}CD16⁻ и CD56^{dim}CD16⁺ существенно не отличается между эндо- и экзоцервиксом, и, как правило, ИЛ-22-продуцирующие НК-клетки, которые, как известно, играют ключевую роль в мукозальном иммунитете, очень редко обнаруживаются в шейке матки [191].

Таким образом, шейка матки играет важную роль в реализации женской репродуктивной функции. На это влияют такие факторы, как стероидные половые гормоны и патогены. Дисфункция иммунологического надзора врожденного и адаптивного иммунитетов приводит к развитию серьезных гинекологических заболеваний инфекционной и неинфекционной природы, например полипы и кисты, дисплазия, РШМ, бактериальный вагиноз, кандидоз и др. Разработка эффективных методик лечения патологии шейки матки должна зависеть от всеобъемлющего понимания молекулярных механизмов иммунного ответа.

1.3. Характеристика Toll-подобных рецепторов

Значимую роль в защите организма от патогенов имеют Toll-подобные рецепторы. TLRs играют важную роль в индукции первичной иммунной реакции в ответ на попадание вирусов, бактерий и других патогенов. У человека известно 10 типов TLRs (Таблица 1). Ключевую роль в распознавании вирусных PAMPs играют TLRs 2/3/4/7/8/9 [23, 97, 98, 104]. TLRs 2 и 4 располагаются на поверхности цитоплазматической мембраны, а TLR3/7/8/9 внутри клетки на мембранах эндосом или лизосом [210].

Таблица 1 – Характеристика TLRs человека

TLRs	Локализация и тип сигнального пути	Лиганд
TLR1	Расположен на поверхности клеточной стенки. MyD88-зависимый сигнальный путь	Триацелированные и диацелированные липопептиды [174]

Продолжение Таблицы 1

TLR2	Расположен на поверхности клеточной стенки. MyD88-зависимый сигнальный путь	Триацелированные липопептиды, микоплазмы и нелипопептидные PAMPs от различных патогенов [174]
TLR3	Внутриклеточное расположение. MyD88-независимый сигнальный путь	Преимущественно бактериальные и вирусные нуклеиновые кислоты [162]
TLR4	Расположен на поверхности клеточной стенки. MyD88-зависимый сигнальный путь/ MyD88-независимый сигнальный путь	Липополисахарид грамм-отрицательных бактерий [174]
TLR5	Расположен на поверхности клеточной стенки. MyD88-зависимый сигнальный путь	Бактериальные жгутики [230]
TLR6	Расположен на поверхности клеточной стенки. MyD88-зависимый сигнальный путь	Диацилированные липопептиды [174]
TLR7/8	Внутриклеточное расположение. MyD88-зависимый сигнальный путь	Преимущественно бактериальные и вирусные нуклеиновые кислоты [162]
TLR9	Внутриклеточное расположение. MyD88-зависимый сигнальный путь	Неметилированная ДНК вирусов и бактерий [96]
TLR10	Не опознан	Не опознан

TLRs относятся к трансмембранным гликопротеиновым рецепторам (Рисунок 1). Внеклеточный участок представлен LLR-доменом. LLR-домен состоит из α -спиралей и β -цепей, которые соединены между собой петлями. В пространстве выстраивается конформация, которая и определяет специфичность связывания TLRs с лигандами. Цитоплазматический участок представлен TIR-доменом. TIR-домен имеет форму β -складчатого слоя в центре, который окружен пятью α -спиралями. Трансмембранный участок располагается между LLR- и TIR-доменами. TIR-домен может связываться с адапторным белком, в результате происходит запуск сигнального пути TLRs-системы.

Классический сигнальный путь TLRs внутрь клетки опосредован через MyD88-протеин (Рисунок 3А). N-концевой фрагмент MyD88-протеина связывается с серин-треониновой IL-1-рецептор-связанную киназу – IRAK и активирует её. Далее происходит связывание и рекрутинг TRAF6 – фактор, связанный с рецептором TNF. Результатом рекрутинга является запуск киназного каскада, активация MAP-киназ и деградация NF- κ B-ингибирующих белков [132].

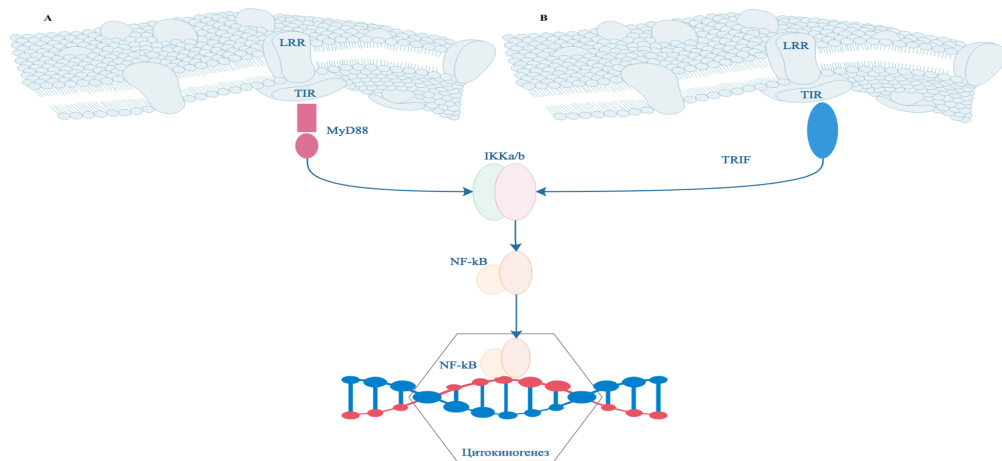


Рисунок 3 – Сигнальные пути TLRs-системы. А – MyD88-зависимый сигнальный путь. В – MyD88-независимый сигнальный путь (модифицировано из Takeuchi et al. 2009) [186]

Существует альтернативный MyD88-независимый сигнальный путь для TLRs через белок TRIF, что приводит к активации NF-κB и MAP-киназы, а также индукцию генов провоспалительных цитокинов (Рисунок 3В) [187]. После связывания лигандов с TLRs, они индуцируют продукцию ДК и макрофагами IFN-1 и провоспалительных цитокинов. Активированные TLRs могут индуцировать созревание ДК и усиливать их антиген-презентующую способность. Также они могут регулировать пролиферацию и дифференцировку Th1-клеток и Th2-клеток, которые в свою очередь обеспечивают резистентность к патогенной инвазии [206]. Накапливаются данные о дефектах TLRs в патогенезе различных соматических и инфекционных заболеваний [76, 168, 192].

1.4. Роль мукозального иммунитета в патогенезе папилломавирусной инфекции шейки матки

За последнее десятилетие накопилось большое количество данных, демонстрирующих роль механизмов врожденного иммунитета в патогенезе соматических и инфекционных заболеваний. Также последние исследования показали роль TLRs в инициации, прогрессирования и метастазирования злокачественных новообразований: рак желудка [76, 160], колоректальный рак [67, 192], рак яичников [203], рак легких [174], рак предстательной железы [86], рак молочной железы [47, 189], рак печени [111, 172] и другие. В последние годы растет объем данных о роли TLRs в патогенезе и канцерогенезе заболеваний, которые сопровождаются первичным инфицированием вирусными патогенами [135, 168, 169].

При гибели и разрушении микроорганизмов генерируются сигналы “опасности” – молекулярные паттерны. Они являются чужеродными для организма консервативными молекулярными структурами инфекционного происхождения – PAMPs. Гибель инфицированных клеток макроорганизма представляет собой один из древнейших механизмов защиты от вторжения патогенных микроорганизмов. При этом происходит размножение живых и метаболически активных клеток макроорганизма, по крайней мере, на первых фазах инфекции чтобы запустить гибель микроорганизмов [77, 127]. Гибель всего нескольких клеток, инфицированных инфекционным патогеном, может вызвать устойчивый антиген-специфический иммунный ответ. При этом иммунные реакции не только способствуют элиминации от вторгающихся патогенов, но и приводят к созданию долговременной иммунологической памяти [114]. До того, как патогены активируют адаптивный иммунитет, PAMPs обнаруживаются рецепторами, которые экспрессируются широким спектром клеток (моноцитами, макрофагами, ДК) и другими компонентами врожденной иммунной системы [39]. Такие PAMPs работают как природные адьюванты, а их взаимодействие с PRRs создают первую линию защиты от инфекции и идеальные условия для инициации антиген-специфических иммунных реакций [39, 48]. При этом запускается иммуногенная гибель микроорганизмов (ICD). PAMPs взаимодействуют с TLRs на плазматической мембране или внутри эндосомальных компартментов, с цитоплазматическими RIG-I-подобными рецепторами или NOD-подобными рецепторами (цитозольные рецепторы ДНК и РНК), приводя к развитию внутриклеточной реакции «опасности» и реакции опасности микроокружения [27, 80, 112, 156]. Сигнализация внутриклеточной опасности включает активацию аутофагии и реакцию развернутого белка на стресс, активируемую накоплением развернутых или неправильно свернутых белков в просвете эндоплазматического ретикула [30, 179]. Реакция на опасность микроокружения определяется секрецией провоспалительных цитокинов, TNF α и IFN-1, обусловленной взаимодействием PAMPs с TLRs [140]. Кроме того, в определенных типах клеток, включая макрофаги, внеклеточная борьба с инфекционными агентами также зависит от активации воспалительных процессов в агонирующих клетках, сопровождающаяся секрецией IL-1 β и IL-18 [129]. Аутофагия обеспечивает сохранение клеточного гомеостаза макроорганизма, а также играет

важную роль в борьбе с вторжением вирусных или бактериальных патогенов [78, 180, 208]. Помимо противовирусного и антибактериального действия на внутриклеточном уровне, аутофагия и фосфорилирование eIF2a обуславливают высвобождение DAMPs опухолевыми клетками. Последние после гибели поглощаются АПК [140]. Из-за присутствия вирусных или бактериальных компонентов погибшие опухолевые клетки также содержат много разнообразных антигенных эпитопов, к которым отсутствует толерантность. Погибшие опухолевые клетки и их остатки захватываются ДК, и эпитопы представляются ими на молекулах МНС класса I и класса II антиген-специфичным CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеткам соответственно, что на фоне повышенной реакции TLRs на эти эпитопы приводит к выраженному иммунологическому ответу на них [24, 170].

Плоскоклеточное интраэпителиальное поражение и РШМ характеризуются длительной персистенцией ПВИ. Афанасьев С.С. и др., 2019 выделяют 4 типа проявлений состояния мукозального иммунитета шейки матки по уровню экспрессии генов (ЭГ) TLR2/3/4/8: угнетение (ЭГ TLR2 < 21.2 OE; ЭГ TLR3 < 23 OE; ЭГ TLR4 < 23 OE; ЭГ TLR8 < 26 OE), физиологическое состояние (ЭГ TLRs 22-23 OE), повышенная реакция (ЭГ TLR2 > 21.2 OE; ЭГ TLR3 > 23 OE; ЭГ TLR4 > 23 OE; ЭГ TLR8 > 26 OE) и гиперреакция (ЭГ TLR8 > 28 OE) [5]. Тяжесть урогенитальной инфекции оценивается по уровням экспрессии генов TLR2 и TLR8 [6], а прогнозировать исход беременности на ранних сроках гестации можно по уровням экспрессии генов TLR3 и 8 [4]. До недавнего времени механизм ускользания ВПЧ от иммунологического надзора не был достаточно изучен. Иммунная система имеет решающее значение в элиминации ВПЧ. Макрофаги, НК-клетки и Т-лимфоциты являются первой линией защиты для своевременной элиминации ВПЧ. Второй линией обороны являются цитотоксические Т-лимфоциты, которые активируют ответ адаптивного иммунитета [188]. Однако ВПЧ может избегать иммунную атаку различными вариантами. Вирус не вызывает воспалительной реакции, так как клетка не гибнет в результате интеграции и репликации ВПЧ, а иммунная система не расценивает вирус как антиген. Белки E6/7 ВПЧ подавляют экспрессию IFN-1 в клетках хозяина (Рисунок 4). Регуляторный фактор IFN-1 индуцирует продукцию переносчика антиген-презентации (TAP-1), IFN- β и белка-1 хемотаксиса моноцитов

(MCP-1), которые очень важны в развитии клеточного иммунного ответа и играют важную роль в предотвращении развития воспаления в инфицированных зонах. Неэффективная стимуляция экспрессии провоспалительных цитокинов, таких как IFN-1, во время распознавания антигена приводит скорее к иммунной толерантности, чем к соответствующей реактивности иммунной системы. В исследовании Yang X, 2015 описано, что белок E5 ВПЧ 16 типа подавляет экспрессию класса HLA-1 [207]. Это приводит к снижению CD8⁺ Т-клеточному распознаванию. Отсутствие продукции цитокинов в ВПЧ-инфицированных клетках предотвращает активацию и созревание ДК, что в свою очередь приводит к ингибированию иммунного ответа цитотоксическими Т-лимфоцитами [79]. В то же время Woodworth 2002 было показано, что экспрессия белков главного комплекса гистосовместимости 1 класса на поверхности клеточной мембраны подавляется белками E5 и E7 ВПЧ [204]. ВПЧ-инфицированные клетки становятся устойчивыми к лизису НК-клетками, но остаются чувствительными к цитокин-активированным НК-клеткам. Активированные макрофаги играют важную роль в элиминации ВПЧ-инфицированных клеток и контролируют злокачественную трансформацию клеток и ткани.

ВПЧ может ускользать от распознавания TLRs и влиять на работу врожденного иммунитета. Так, белок ВПЧ E6 может усиливать экспрессию молекул NF-κB сигнального пути, включая p50, NIK и TRAF-взаимодействующий белок. Исследование Lee et al. не выявило связи TLR9 со степенью плоскоклеточного интраэпителиального поражения и РШМ [130]. Yu et al. 2010 предположили, что постоянное действие различных бактерий на TLR4 связано с прогрессированием РШМ [211]. Они наблюдали снижение уровня экспрессии TLR4 при прогрессировании РШМ. Они связали подавление TLR4 с экспрессией белка p16ink4a, который является важным маркером интеграции ВПЧ в ДНК клетки хозяина. Хроническое воспаление тесно связано с прогрессированием плоскоклеточного интраэпителиального поражения и развитием РШМ [138]. Оно является следствием работы белков E6 и E7, которые связываются с протеином P53 и белком семейства ретинобластом (pRb). P53 и pRb ответственны за нормальное развитие клеточной смерти путем апоптоза. Однако Xiao et al. 2015 исследовали экспрессию патологического пути TLR/NO в ВПЧ-позитивных тканях РШМ. Они обнаружили, что

такие ключевые гены TLR/NO патологического пути, как TLR4, NF-kBp65 и iNOS имели высокое значение экспрессии в ВПЧ-позитивных клетках и тканях [205]. Daud et al. 2011 в своем исследовании выявили, что эпителиальные клетки шейки матки с низкой экспрессией TLR9 были более восприимчивы к папилломавирусу человека, а клетки обладающие высокой экспрессией TLR9 редко имели ВПЧ, предполагая, что элиминация ВПЧ может осуществляться благодаря повышенной экспрессии TLR9 [54]. Britto et al 2020, в исследовании роли маркеров врождённого иммунитета при ВПЧ-ассоциированной дисплазии шейки матки показали, что RIG-I, TLR3, 7 были угнетены при ВПЧ положительных пробах, в то время, как TLR4, 9 имели повышенную экспрессию генов [38]. DeCarlo et al 2012 в исследовании TLRs эпителия и в строме при ВПЧ-позитивном РШМ показали, что относительный уровень экспрессии мРНК TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8 и TLR9 ниже в эпителиалии, чем в строме шейки матки. Относительный уровень экспрессии TLR3 был выше приблизительно в 2 раза у эпителиальных клеткок шейки матки, чем у стромальных [57]. Было продемонстрировано, что онкопротеин E6 ВПЧ может снижать экспрессию гена TLR9 и ингибировать экспрессию молекул, опосредованно связанных через TLR9-зависимый сигнальный путь [94]. Это влияет на обнаружение патогенов и способствует ускользанию ПВИ от иммунной системы. В исследовании экспрессии мРНК TLR3, TLR4, TLR7, TLR9 при поражении шейки матки и их корреляции с ПВИ 16 типа, Hasimu et al. 2011 обнаружили, что экспрессия мРНК TLR4, TLR7, TLR9 значительно изменяется в тканях РШМ, а экспрессия мРНК TLR4 и TLR9 имела положительную корреляцию с ПВИ 16 типа [95]. В результате было предположено, что TLR4 и TLR9 отвечают за распознавание ПВИ. Роли TLR4 и TLR9 в ускользании от иммунного ответа и ключевых молекулярных путей, остаются неясными и требуют дальнейших исследований.

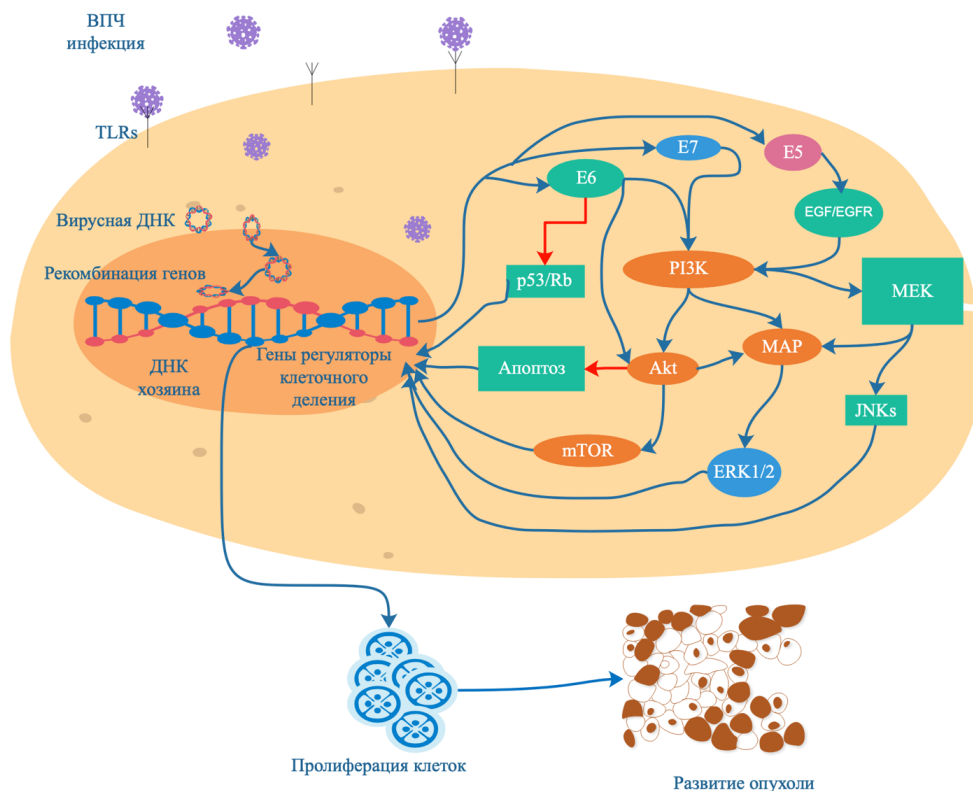


Рисунок 4 – ВПЧ инфицирование эпителиальных клеток хозяина и их злокачественная трансформация (модифицировано из Yang et al. 2017) [206]

В настоящее время накоплены результаты исследований, свидетельствующие об участии сигнальных путей TLRs в развитии клинических форм ПВИ шейки матки. TLRs имеются на поверхности клеток эпителия, базофилах, тучных клетках и макрофагах, участвующих в развитии злокачественной трансформации клеток и тканей.

Таким образом, врожденный иммунитет играет ключевую роль в профилактике и элиминации ПВИ, но антигенная мимикрия, избегание иммунного ответа и инактивация врожденного иммунитета все же происходят, что и приводит к персистирующей ПВИ, а в дальнейшем возникает терминальная стадия – РШМ.

1.5. Механизмы развития рака шейки матки. Современные представления

Развитие РШМ является многостадийным процессом. Как упоминалось ранее, ВПЧ является главным этиологическим фактором в развитии РШМ. Вирионы ВПЧ проникают через травмы в ЗТ и микроповреждения эпителия генитального тракта. Капсид ВПЧ состоит из основного нуклеокапсида L1 и малого нуклеокапсида L2. При

проникновении ВПЧ в клетку капсид претерпевает многочисленные пространственные изменения благодаря наличию конформационной лабильности. Это приводит к эндосомальному поглощению вириона и последующему транспорту нуклеокапсида L2 с вирусной ДНК в комплекс Гольджи [58]. Затем происходит репликация вируса. Ранние гены E1/2/5/6/7 экспрессируются первыми. Экспрессия генов снижается по мере роста концентрации продуктов и постепенно нарастает экспрессия поздних генов L1/2. Онкопротеины E6/7 приводят к нестабильности генома за счет мутаций и эпигенетических модификаций, результатом которых является усиленная опухолевая трансформация инфицированных клеток. ДНК ВПЧ в инфицированных клетках находится в двух формах: эписомальной и интегрированной. При терминальной стадии ПВИ шейки матки ДНК ВПЧ находится в интегрированной форме, что приводит к развитию карциномы [10]. Доброкачественные изменения инфицированных тканей регистрируются при эписомальном течении ПВИ. При малигнизации тканей ДНК ВПЧ интегрируется в ДНК клетки хозяина путем разрыва ДНК и утраты гена E2, что приводит к экспрессии генов E6 и E7 [12, 13].

На втором этапе происходит трансформация, ДНК ВПЧ вводится в геном хозяина. Взаимодействие E6 с p53 приводит к убиквитинированию p53, что приводит к деградации протеасомы и остановке апоптоза [79; 96]. Супрессоры опухолевого роста – это белки семейства ретинобластом (pRB, p130, p107). Они инактивируются при взаимодействии с геномом белка E7. Происходит высвобождение E2F, влияющего на промоторные области клеточных генов. Их экспрессия специфична для S фазы клеточного деления. Описывают нарастание экспрессии нуклеопротеина E7 при переходе CIN I → CIN III [72]. Интегрированная форма ВПЧ обладает самым высоким потенциалом к малигнизации плоского эпителия. При латентном и субклиническом течении ПВИ не происходит интеграции ВПЧ в геном клетки хозяина. В таком случае системы врожденного иммунитета достаточно для реализации противовирусного иммунного ответа, в результате происходит спонтанная элиминация ВПЧ. В фазу клинических проявлений произошла интеграция ВПЧ, и был запущен процесс малигнизации (отключается реализация программы клеточной смерти и запускается

процесс усиленной клеточной пролиферации). В фазу клинических проявлений ПВИ регистрируются клинические формы:

- ПВИ шейки матки без плоскоклеточного интраэпителиального поражения;
- ПВИ шейки матки с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением легкой степени (LSIL) - цервикальная интраэпителиальная неоплазия I (CIN I) и ВПЧ-индуцированные морфологические изменения (койлоцитоз, паракератоз, акантоз и гиперкератоз);
- ПВИ шейки матки с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением тяжелой степени (HSIL) - цервикальная интраэпителиальная неоплазия II/III;
- РШМ – рак *in situ* и инвазивная плоскоклеточная карцинома шейки матки.

Сверхэкспрессия генов E6/7 приводит к активации патологической пролиферации, инактивации апоптоза, усилению деления клеток, неоангиогенезу и инвазии. Существует генетическая нестабильность, которая приводит к повышенной злокачественности клеток [12, 13]. Инициированный ВПЧ канцерогенез РШМ можно разделить на несколько стадий (Рисунок 5).



Рисунок 5 – Этапы канцерогенеза РШМ, инициируемый РШМ

Этот механизм объясняет тот факт, что длительный период в 5–10 лет проходит от момента инфицирования ВПЧ до злокачественной опухоли шейки матки.

1.6. Методы скрининга папилломавирусной инфекции шейки матки

В начале и середине XX века РШМ выявлялся в основном после появления клинической симптоматики. Диагностика РШМ базировалась на оценке жалоб и

результатах гинекологического осмотра. Данных манипуляций было достаточно для установления диагноза – РШМ. В настоящее время выделяют методы морфологического, молекулярно-генетического и инструментального скрининга ПВИ шейки матки и её клинических форм.

Морфологический скрининг ПВИ шейки матки и её клинических форм заключается в приготовление мазков из отделяемого цервикального канала и поверхности шейки матки. Существуют различные способы забора биологического материала: аспирационный метод, метод получения отпечатков или метод получения соскоба. Приготовление мазка с последующей его интерпретацией проводят с использованием традиционного или жидкостного цитологического исследования. Классификация результатов и определение степени тяжести патологического процесса происходит в соответствии с системой The Bethesda System 2014.

Более информативным морфологическим методом является гистологическое исследование биопсийного материала. Несмотря на трудоемкость биопсии и лабораторные исследования тканей, этот метод диагностики имеет ряд существенных преимуществ, позволяющих выявить патологию на ранних стадиях и с высокой точностью определять тип новообразований. Точно определить степень дисплазии и плоскоклеточного интраэпителиального поражения позволяет только гистологическое исследование при проведении прицельной биопсии. В дополнении к гистологическому проводят иммуногистохимическое исследование с целью уточнения и подтверждения диагноза. Это позволяет изучать предраковые изменения и РШМ на ультраструктурном и генетическом уровне. Описано большое количество генов, участвующих в инициации и развитии РШМ. Иммуногистохимическое исследование позволяет выявить гиперэкспрессию генов ответственных за пролиферацию или апоптоз при ПВИ. Нарушения в данных программах описываются многими авторами и являются основой в канцерогенезе ПВИ. Наиболее изученными регуляторами апоптоза и пролиферации в шейки матки являются p53, p16, c-Мус, HIF-1, VEGF, PL2L и др [46, 143, 177, 195, 209].

Инструментальный скрининг ПВИ шейки матки включает в себя проведение простой и расширенной кольпоскопии. Простая кольпоскопия проводится с помощью бинокуляра во время прохождения профилактического осмотра. При подозрении на

наличие патологического процесса врач наносит 3–5% раствор уксусной кислоты и 2% раствор Люголя для получения более четких и характерных кольпоскопических картин. С помощью расширенной кольпоскопии можно более четко выявить подозрительные участки, подлежащие забору для морфологического исследования. Уксусная кислота способствует анемизации слизистой оболочки стенок шейки матки и денатурации нуклеопротеинов цитоплазмы патологических клеток, что проявляется в четкости рельефа сосудистого рисунка и появлении ацетообелого эпителия. Рельеф сосудистого рисунка при патологических процессах шейки матки напоминает мозаику и пунктацию. Таким образом ацетообелый эпителий может проявляться в сочетании с мозаикой и пунктацией или без сосудистых реакций.

Молекулярно-генетические методы скрининга ПВИ шейки матки включают проведение ВПЧ-тестирования на определение ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени или теста Hybrid Capture 2 HR HPV (Digene тест). Последний является наиболее распространенным ВПЧ-тестом в мире, выступая «золотым стандартом» ВПЧ тестирования [141, 162]. ПЦР ДНК ВПЧ с полным генотипированием позволяет выявить отдельные типы ВПЧ и является крупнейшей доступной группой тестов на ВПЧ. Недавние исследования [43] показали, что определение мРНК ВПЧ вместо ДНК может быть полезным в клинической практике из-за повышенной специфичности.

Гибридизация *in situ* является единственным молекулярным методом, позволяющим обнаруживать и идентифицировать alpha-типы ВПЧ на основе «топографической» локализации патологических изменений. Результат реакции оценивают микроскопически [163]. Текущие исследования гибридизации *in situ* считаются слишком трудоемкими и не обладают достаточной чувствительностью и специфичностью для клинического использования.

В настоящее время происходит развитие новых неинвазивных цифровых методик анализа и диагностики ПВИ шейки матки. Этому способствует прирост вычислительных мощностей графических процессоров компьютеров и объема хранилища облачных сервисов для хранения цифровых изображений поверхности шейки матки, других органов и тканей. Первые работы по использованию цифровых инструментов для сбора и анализа кольпоскопических изображений были проведены

в 1994 году [182]. Statistician et al. 1994 предложили первую схему регистрации и валидации цифровых изображений (Рисунок 6) [182]. В 2006 году группа авторов [105] представили ПО по сбору и разметке кольпоскопических изображений. Данное ПО позволяет разделять изображения в соответствии с выявленными визуальными изменениями поверхности шейки матки, создавать виртуальные метки и релевантную базу изображений. В 2018 году было представлено исследование по применению алгоритмов глубокого обучения для классификации кольпоскопических изображений без использования дополнительных тестов (тест с уксусной кислотой и раствором Люголя). Точность классификации кольпоскопических изображений составила 80.1% [214].

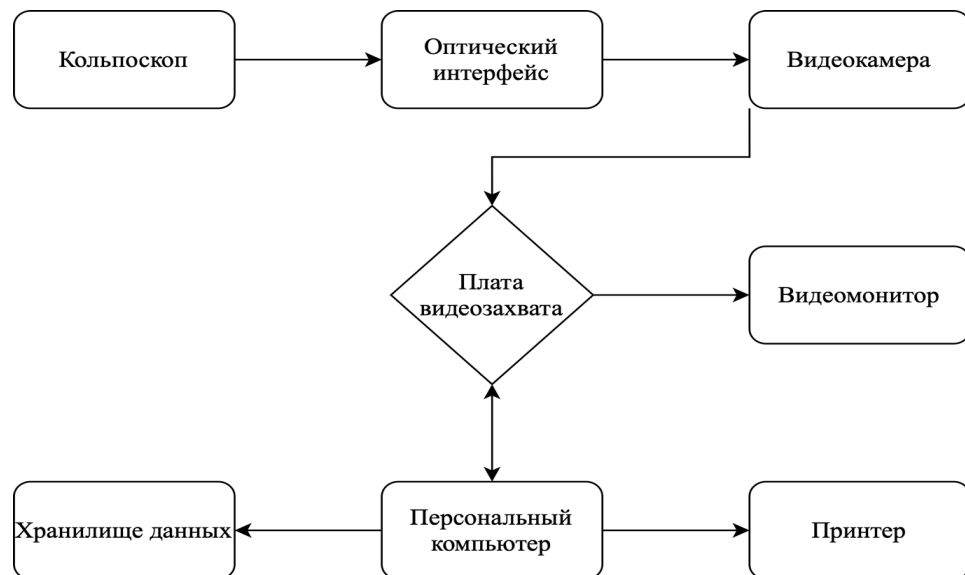


Рисунок 6 – Схема сбора и валидации цифровой кольпоскопии (модифицировано из Statistician et al. 1994) [182]

Таким образом, существующие методики цифрового анализа используют заданные параметры в программном коде для оценки ПВИ шейки матки. Код может модифицироваться, однако, модель определения степени тяжести плоскоклеточного интраэпителиального поражения будет изменяться, что сказывается на чувствительности и специфичности методик.

1.7. Фотодинамическая терапия

Фотодинамическая терапия (ФДТ) основана на селективной деструкции опухолевых клеток за счет фотооблучения (ФО) определенной длины волны фотосенсибилизатора (ФС), который вводится в организм в присутствии тканевого кислорода. ФС должен обладать низкой токсичностью, стабильностью при хранении и введении в организм, высокой селективностью в отношении опухолевых клеток и низкой аккумуляцией в нормальных тканях, коже, быстрым выведением из организма после ФДТ, гидрофильностью, хорошая флуоресценция для определения границ опухоли, способностью активироваться клинически полезной длиной волны света и возникновением фотодинамических реакций, высоким квантовым выходом триплетного состояния с энергией не меньше 94 кДж/моль, иметь интенсивный максимум поглощения в области 660–900 нм [59, 137]. ФС вводят внутривенно, перорально или (в случае поверхностных локализаций) наносят на опухоль в виде мази или аппликатора [22]. ФС распределяется по всему организму, накапливаясь и сохраняясь преимущественно в опухоли, в то время как из интактных тканей организма ФС выводится. Тканевыми и клеточными мишенями ФС являются сосудистая стенка, плазматическая мембрана опухолевых клеток, а также внутриклеточные структуры, ответственные за процессы клеточной пролиферации. Избирательное накопление ФС в опухолевой ткани связано с особенностями строения сосудистого и лимфатического русла, рецепторного аппарата клеток, рН среды. Липофильность ФС способствует их поглощению клетками и распределению на плазматической мембране и мембранах внутриклеточных органелл (митохондрии, лизосомы, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи). Более гидрофобные фотосенсибилизаторы накапливаются в мембранах клеточных органелл и могут наблюдаться в эндоплазматическом ретикулуме, аппарате Гольджи и/или митохондриях, в то время как гидрофильные фотосенсибилизаторы чаще наблюдаются в цитозоле. Это субклеточное расположение обуславливает выраженную многостороннюю манифестацию физиологических и иммунологических реакций организма, как результирующих проявлений клеточных и молекулярных механизмов, запускаемых окислительным повреждением при ФДТ. Ни один из клинически одобренных ФС не накапливается в ядрах клеток и не повреждает ДНК.

Локализация ФС во время облучения как в организме, так и/или клеточных компартментах, в значительной степени определяет, где произойдет окислительное повреждение из-за короткого времени жизни и ограниченной диффузионной способности активных форм кислорода (АФК) [115, 116, 147]. Эффекты ФС по большей части определены путем накопления эндогенных порфиринов в ишемизированных тканях [61].

Основными мишенями для фотоактивации вирусов, будь то вирусы млекопитающих или фаги, являются внешние структуры. Устойчивости к ФДТ у вирусов и бактериофагов не вырабатывается. Эффективность ФС доказана для различных типов вирусов (ДНК- или РНК-вирусов) млекопитающих и бактериофагов независимо от того, покрыты они оболочкой или нет. Большая восприимчивость к ФДТ оболочечных вирусов по сравнению с безоболочечными вирусами указывает на то, что вирусная оболочка может быть более важной мишенью для фотосенсибилизации, чем нуклеиновые кислоты. Вирусы в оболочке легче инактивируются, чем вирусы без оболочки. Липиды, присутствующие на вирусных оболочках, являются важными мишенями для ФДТ. ФС специфически связываются с жизненно важными компонентами вируса: липидной оболочкой (при наличии), белковой оболочкой или нуклеиновыми кислотами [108]. При ФДТ ФС, учитывая их особенности на покрытые оболочкой вирусы, оказывают одновременно вирулицидное и фотоинактивирующее действия или только фотоинактивирующее. На вирусы без оболочки чаще оказываются вирулицидное и фотоинактивирующее действия [152]. При фотодинамической инактивации вируса гриппа выявлены три формы повреждения вириона: “лысые” вирионы с мембранами, сохраняющими структурную целостность, вирионы с поврежденными мембранами и вирионы, которые были полностью разрушены; все три формы оказались неинфекционными [122].

ФДТ влияет на белки вирусной оболочки, а также на другие основные вирусные белки. В случае фотоокисления чувствительных аминокислотных остатков, таких как цистеин, гистидин, тирозин, метионин и триптофан, и ковалентного сшивание пептидных цепей, происходит образование молекулярных агрегатов, которые нарушают их нормальную конформацию. Образование сшитого/агрегированного материала является основным следствием окисления белка, опосредованного

фотосенсибилизацией [55, 56, 106, 107, 136]. ФС сам по себе может вызывать изменения ферментов, приводя к обнажению некоторых аминокислотных остатков. Эти модификации белков сопровождаются изменениями их растворимости, протеолитической чувствительности, поглощения и испускания флуоресценции некоторых из их аминокислот. Аминокислоты, расположенные на поверхности белка, фотоокисляются быстрее, чем остатки, находящиеся внутри молекулы. Если белок полностью развернут, восприимчивые аминокислоты также могут подвергнуться атаке и фотодеградации [110, 154].

1.7.1. Роль Toll-подобных рецепторов при фотодинамической терапии

PAMPs и DAMPs распознаются особой группой рецепторов PRRs, что является интегральным для врождённого иммунитета. К мембранным PRRs относятся макрофагальный сквенджер-рецептор (рецептор класса A, SR-A), макрофагальный рецептор маннозы, β 2-интегрины, участвующие в процессе распознавания PAMPs и инициации фагоцитоза [1]. TLRs рассматриваются как носители эволюционной памяти многоклеточных организмов о том, что такое «свое» и чем оно отличается от «чужого». Они играют важную роль в защите от инфекций, поддержании гомеостаза и нормальной кишечной флоры [1]. Только после попадания лигандов в клетку происходит его связывание с внутриклеточными рецепторами. Если нуклеиновые кислоты высвобождаются из поврежденных тканей в результате инфекционного или неинфекционного процесса, их поглощение происходит эндоцитозом и последующему представляются внутриклеточному TLR. Бактериальные и вирусные нуклеиновые кислоты, репликация которых происходит внутри клетки, захватываются мембранными везикулами и доставляются к TLR эндосомами. TLRs 3/7/8/9 распознают вирусные нуклеиновые кислоты. TLR3 обнаруживает двухцепочечную РНК, которая продуцируется во время цикла репликации большинством вирусов, а TLR7 и TLR8 распознают одноцепочечную РНК. TLRs 7/8 могут также распознавать однонитевую РНК вирусов и бактерий, TLR9 – ДНК [1]. Вызванное повреждением повышение реактивности TLRs опосредуется главным образом макрофагами и ДК с повышенной экспрессией TLR2 и TLR4 на их

поверхности, продуцирующими IL-1, IL-6 и TNF- α . Эндогенное стимулирование активности TLRs возможно HSP60, высвобождаемым при некротической клеточной гибели через активирование врождённых ИК посредством TLR4-зависимого механизма. Фибриноген стимулирует секрецию хемокинов макрофагов посредством TLR4. Некротические клетки через TLR2 индуцируют NF- κ B-опосредованную экспрессию генов воспалительных цитокинов [159]. Многочисленные компоненты и продукты распада внеклеточного матрикса в основном активируют TLR4 [167], а митохондриальная ДНК – агонист TLR9 [139, 213]. Ядерная ДНК из эукариотических клеток также распознается TLR9, если последняя эктопически экспрессируется на плазматической мембране, а не в эндосомах [28]. При взаимодействии агонистов TLRs самостоятельно или в сочетании с радио-, химио- или иммунотерапией вызывают профилактический или терапевтический эффекты в отношении различных опухолей. Эти противоопухолевые эффекты объясняются способностью агонистов TLRs индуцировать *de novo* или усиливать ранее существовавшие (естественные или вызванные терапией) иммунные реакции [194].

1.7.2. Роль клеток врождённого иммунитета при фотодинамической терапии

Моноциты, макрофаги, нейтрофилы, ДК и НК-клетки рекрутируются в обработанный ФДТ участок ткани. Макрофаги способны к активному захвату и перевариванию бактерий, остатков погибших клеток и других чужеродных или токсичных для организма частиц. Предназначены для поддержания гомеостаза ткани, их репарации после физиологического отмирания клеток и травм, для первичного ответа на инфекции, разрешения воспаления и заживления ран [89, 90]. Основной особенностью этих клеток является высокоэффективная способность усваивать и переваривать частицы и клеточный «мусор» (путем эндоцитоза) и поглощать патогенные микроорганизмы и раковые клетки (путем фагоцитоза). При кислород-зависимом уничтожении захваченных мишеней, дыхательный всплеск макрофагов приводит к образованию активных форм кислорода и азота, перекиси водорода и хлорсодержащих активных форм, которые разрушают мембранные структуры мишеней. Независимое от кислорода уничтожение захваченных мишеней включает

лизосомы, действие катепсина и других протеаз [121]. Для макрофагов характерна высокая пластичность, связанная с избытком поверхностных и других рецепторов, с помощью которых они взаимодействуют с широким спектром факторов роста, цитокинов, хемокинов и других молекул в их микроокружении [151]. Макрофаги, являясь АПК, участвуют в Th1- или Th2-типах переключения адаптивного иммунного ответа [89]. Макрофаги при контакте с ФДТ-обработанными клетками опухолей продуцируют TNF- α с цитотоксическим эффектом к опухолевым клеткам [119, 120]. ФДТ-обработанными клетками экспрессируется DAMPs Hsp70, который, взаимодействуя с TLRs 2/4, активирует NF- κ B-путь выработки TNF- α . Активация передачи сигналов NF- κ B также стимулирует выработку оксида азота (NO) в этих макрофагах [119]. Макрофаги при контакте с ФДТ-обработанными клетками опухолей интенсифицируют продукцию белков комплемента C3, C5 и C9 [185], белка пентраксина [71], сфинголипидов, церамида и сфингозин-1-фосфата [68], а также экспрессию TLR2, TLR4, и C3aR [39, 129]. При этом в макрофагах активизируется NOD-like рецептор рупin 3 (NLRP 3), олигомеризация активированного NLRP 3 сопровождается сборкой мультимолекулярного комплекса-инфламмосомы, способствующей выработке воспалительных цитокинов этими макрофагами [52, 68]. Следовательно, в ФДТ-обработанных опухолях макрофаги индуцируют местную выраженную острую воспалительную реакцию с быстрой и массивной инвазией нейтрофилами, тучными клетками и новыми моноцитами [199].

Анализируя литературный обзор, можно сделать вывод, что установленные данные противовирусного и противоопухолевого иммунного ответа оценивались лишь при терминальной стадии ПВИ – РШМ. ФДТ-индуцированный иммунный ответ также был исследован при РШМ. В настоящий момент изучаются различные звенья иммунного ответа на фотодинамическое воздействие при различных злокачественных и инфекционных заболеваниях. Ввиду этого является целесообразным изучить показатели мукозального иммунитета шейки матки при ПВИ и соотнести их с вирусологическими, морфологическими и цифровыми маркерами различных клинических форм. Клиническая эффективность ФДТ *in vivo* также не была изучена, что и стало предметом для изучения в данной работе.

Обзор литературы написан в соответствии с концепцией «EVPИ» - ожидаемой ценности совершенной информации [157], статьей «Writing a Literature Review» [26] и плану проведения литературного обзора по Харту [93].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования

Работа проводилась на базе кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГАОУ ВО Первого МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) совместно с сотрудниками клинических и диагностических учреждений г. Москва (ООО «Гута-Клиник», ООО «МедИнСервис» и ФГБУН «НИИ вакцин и сывороток им. И.М. Мечникова»). Работа одобрена локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первого МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) – протокол № 15-21.

Общий дизайн исследования был разработан в соответствии с поставленной целью и задачами. Дизайн состоял из трех этапов (Рисунок 7).

После изучения и анализа современных литературных источников на I этапе исследования были определены клинико-эпидемиологические признаки (возраст, менархе, начало половой жизни, число половых партнеров, число беременностей, число родов, число аборт, жалобы на момент первичного обращения, продолжительность ВПЧ инфекции, наличие ВПЧ вакцинации, терапевтическое лечение вирусной и/или бактериальной инфекции органов малого таза в анамнезе, хирургическое лечение шейки матки в анамнезе, наличие сопутствующих заболеваний органов малого таза, наличие сопутствующей вирусной и/или бактериальной инфекции органов малого таза, тип зоны трансформации шейки матки, наличие ацетобелого эпителия на поверхности шейки матки) у пациенток с различной степенью тяжести ПВИ шейки матки, включенных в исследование.

На II этапе – проводилось исследование экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 на поверхности эпителиоцитов шейки матки, концентрации цитокинов (IL-1 β , IL-4, INF- α , INF- γ , sIgA, TNF- α) и числа лейкоцитов в цервикальном секрете в соответствии с клинической формой ПВИ. Определяли тип ВПЧ инфекции и вирусной нагрузки. Оценивали влияние ФДТ шейки матки на экспрессию мРНК TLRs на поверхности эпителиоцитов шейки матки, секрецию цитокинов и содержание лейкоцитов в цервикальном секрете, эрадикацию ВПЧ (ретроспективно-проспективно) и злокачественную трансформацию эпителиальных клеток шейки

матки (ретроспективно-проспективно). Дополнительно изучалось состояние системного клеточного звена иммунной системы в рамках расширенной лейкоцитарной формулы (абс. число нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов и базофилов) общего анализа крови.

На III этапе исследования проводили расчет прогностической модели течения ПВИ шейки матки в соответствии с клинической формой.

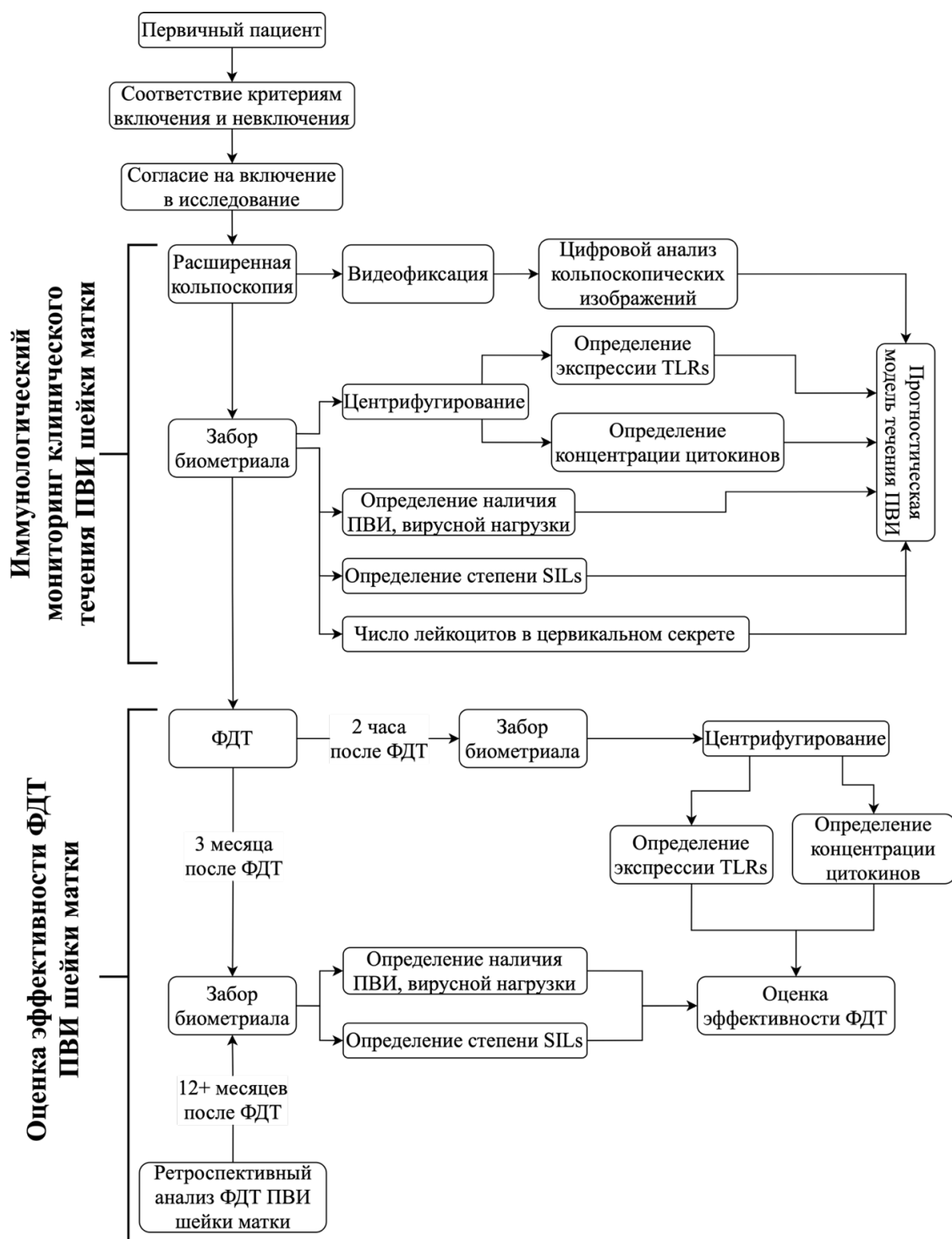


Рисунок 7 – Схема общего дизайна исследования

Ниже представлены критерии *включения* пациенток в исследование.

Перспективная часть: подтвержденная клиническая форма ПВИ шейки матки; наличие видеофиксации расширенного кольпоскопического исследования; наличие показаний к проведению ФДТ; наличие расширенной лейкоцитарной формулы в ОАК; определяемое число лейкоцитов в цервикальном секрете при определении флоры в отделяемом урогенитального тракта; отрицательный тест на инфекцию ВИЧ, вирус гепатита С и В; отрицательная реакция Вассермана; отсутствие клинически значимой концентрации бактериальной/вирусной флоры в отделяемом урогенитального тракта; отсутствие аллергической реакции на йод и йодсодержащие препараты; отсутствие менструации в период менструального цикла; наличие контрольного исследования на наличие ВПЧ и SILs через 3 месяца после ФДТ; письменное согласие на проведение клинико-лабораторного исследования; письменное согласие на лечение ФДТ и обработку персональных данных.

Ретроспективная часть: подтвержденная клиническая форма ПВИ шейки матки; наличие показаний к проведению ФДТ; письменное согласие на лечение ФДТ и обработку персональных данных. письменное согласие на проведение клинико-лабораторного исследования; наличие контрольного ВПЧ тестирования и цитологического исследования (наличие SIL) через 12+ месяцев после ФДТ.

Ниже представлены критерии *невключения* пациенток в исследование.

Перспективная часть: пациентки в период лактации; пациентки во время беременности; наличие повышенной чувствительности к фотосенсибилизатору; РШМ II стадии и более; пациентки, находящиеся в процессе химиотерапии, гормонотерапии или иммунотерапии; пациентки, которым предшествовала лучевая терапия шейки матки; пациентки, находящиеся в процессе лекарственной терапии вызывающей иммуносупрессию или в процессе иммуномодулирующего лечения; острая сопутствующая бактериальная/вирусная или отсутствие ремиссии хронической инфекции органов женской репродуктивной системы; активное или отсутствие ремиссии хронического воспалительного заболевания органов малого таза; наличие тяжелого хронического заболевания не в ремиссии; обострение аллергического заболевания; отсутствие возможности объяснить суть исследования и согласие пациентки на участие в данном исследовании.

Ретроспективная часть: наличие тяжелого хронического заболевания не в ремиссии; наличие повышенной чувствительности к фотосенсибилизатору; РШМ II стадии и более; отказ пациентки от лечения; пациентки, находящиеся в процессе химиотерапии, гормонотерапии или иммунотерапии; пациентки, находящиеся в процессе лекарственной терапии вызывающей иммуносупрессию или в процессе иммуномодулирующего лечения.

В соответствии с полученными данными по результатам проведенных исследований и тестирований был сформирован единый файл с базой данных. После первичного обследования со всеми участниками была проведена беседа по соблюдению комплайенса и даны рекомендации по уходу за нижней частью генитального тракта после ФДТ. Исследование носило комплексный многоэтапный характер с использованием описательных, диагностических и аналитических приемов и элементами анализа «Data Science».

2.2. Методы исследования

Для решения поставленных задач в исследовании использовались следующие методы:

А. Общеклинический

Для ретроспективной и проспективной частей исследования использовались следующие клинико-эпидемиологические характеристики: возраст, менархе, начало половой жизни, число половых партнеров, беременности, роды, аборт, жалобы, наличие ВПЧ вакцинации, терапевтическое лечение вирусной и/или бактериальной инфекции в анамнезе, хирургическое лечение шейки матки в анамнезе, наличие сопутствующих заболеваний органов малого таза, наличие сопутствующей вирусной и/или бактериальной инфекции, тип зоны трансформации шейки матки, наличие ацетобелого эпителия на поверхности шейки матки.

Индекс соотношения абсолютного числа нейтрофилов к лимфоцитам (ИСНЛ) использовался в качестве маркера субклинического воспаления [73]. В данном исследовании для оценки ИСНЛ использовался диапазон в соответствии с

референсными значениями при проведении общего анализа крови (ОАК). Диапазон значение был определен от $1,83 \left(\frac{5,5}{3}\right)$ до $3,33 \left(\frac{4}{1,2}\right)$.

Для субклинической оценки состояния иммунной системы использовались показатели расширенной лейкоцитарной формулы ОАК, описанными в статье *Borisov G. et al. 2015* [35] и представленных материалах на конференции Российского общества клинической онкологии RUSSCO «Иммуноонкология» от 9 апреля 2022, Москва – доклад «К вопросу об иммунотипах онкологических пациентов» (Таблица 2).

Таблица 2 – Субклиническая оценка состояния иммунной системы (Модифицировано из *Borisov G. et al. 2015*) [35]

Показатели		Лимфоциты абс.		
		Повышены	Норма	Понижены
Лейкоциты абс.	Повышены	Активация врожденного иммунитета	Активация врожденного иммунитета	Активация адаптивного иммунитета
	Норма	Иммунная недостаточность	Ареактивное состояние	Активация адаптивного иммунитета
	Понижены	Иммунная недостаточность	Иммунная недостаточность	Активация адаптивного иммунитета

В. Молекулярно-генетический

Оценку экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 на поверхности эпителиоцитов шейки матки проводили в образцах биологического материала, полученного с помощью скарификационной биопсией (три ротации на 360° по часовой и три ротации на 360° против часовой стрелки) из цервикального канала и поверхности шейки матки. Биоматериал помещали в пробирки типа Эппендорф. Экспрессию генов TLRs определяли полимеразной цепной реакцией в режиме реального времени с обратной транскрипцией (OT-Real-Time PCR) с красителем SYBR Green I (ООО «НПФ Синтол», Россия). Амплификатор DT-96 (ООО «ДНК-технология», Россия) использовался для ПЦР в режиме реального времени. Уровни экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 стандартизировали по уровню экспрессии гена GAPDH. Все образцы были центрифугированы. Скорость вращения составляла 10000 вращений в минуту. Осадок и надосадочная жидкость были разделены. Растворение осадка

осуществляли с помощью лизирующего раствора для экстракции нуклеиновой кислоты из клинических материалов «РИБО-сорб К2-1-Эт-100-СЕ» (Амплисенс Биотехнология, Россия). Разработка олигонуклеотидных праймеров для TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 была основана на биоинформационном анализе с программным обеспечением Vector NTI Advance 9.0 (ПК) (<http://www.invitrogen.com/site/us/en/home.html>), DNASTAR, BLAST (<http://blast.Ninlhv/>). Синтез олигонуклеотидов осуществлялся на автоматическом синтезаторе. Использовался амидофосфитный метод. Экспресс-уровень мРНК TLR стандартизирован геном GAPDH-F. Общая РНК была получена в соответствии с протоколом инструментария для экстракции ДНК/РНК путём аффинной сорбции на силикагеле из клинического материала (ООО «ИЛС», Россия).

Формула « 2^{-ddCT} » Livak K. et al, 2001 была использована для расчета количественной экспрессии [133]. $ddCT = (\text{Исследуемый образец (CT_TLR X - CT_GAPDH)}) - (\text{Контрольная группа (CT_TLR X - CT_GAPDH)})$, где X – тип TLR.

Определение типа ВПЧ и вирусной нагрузки (ДНК ВПЧ типа 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) в биологическом материале шейки матки проводили с помощью метода ПЦР «real-time» и тест-системой HPV КВАНТ по ТУ 9398-032-464820629-2019 (HPVквант-15).

Концентрацию цитокинов (IL-1 β , IL-4, INF- α , INF- γ , sIgA, TNF- α) в цервикальном секрете определяли с использованием методики иммуноферментного анализа (ИФА) в цервикальном секрете наборами ИФА-БЕСТ (ЗАО «Вектор-Брест-Европа»). Биологический материал из цервикального канала был помещён в питательную среду DMEM reduced serum (Hy Clone, USA) в количестве 600 мкл в эппендорфы объёмом 1,5 мл. Смывы были получены путём отбора надосадочной жидкости механическим дозатором после центрифугирования эппендорфов с содержимым со скоростью 10000 об/мин в течение 4 мин. Измерение величины оптической плотности растворов в лунках стрипов производилось на спектрофотометре вертикального сканирования Epsom LQ-100 в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения 630 нм. Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не превышало 10 минут.

Оценку эрадикации ВПЧ из шейки матки проводили в биологическом материале, полученном скарификационной биопсией с помощью ВПЧ Digene-теста (DIGENE HYBRID CAPTURE, МЗ РФ № 98/61).

С. Морфологический

Забор биопсийного материала проводили с использованием «MAGNUM Автоматическая многократная биопсийная система» (BARD MAGNUM, РЗН 2015/2501). Материал отправлялся в Московскую международную лабораторию патоморфологии (ООО «Лаборатуар Де Жени», лиц. № ЛО-77-01-010998), где проводилась оценка степени инфильтрации тканей и типом клеток лимфоидного ряда и нейтрофилами, инфильтрирующей ткань цервикального канала и наружной поверхности шейки матки. Оценка биопсийного материала проводилась у пациенток, которым показано проведение гистологического исследования в соответствии с приложением 2 к приказу Департамента здравоохранения города Москвы от «22» апреля 2022 г. № 400.

Забор биологического материала проводили с помощью скарификационной биопсии с последующим исследованием методом жидкостная цитология согласно технологии BD SurePath liquid-based Pap test (BD SurePath, SKU/REF 491452) с автоматизированной системой просмотра BD Focal Point GS (BD FocalPoint GS Imaging System, PID No. 779-04194-02) в лаборатории жидкостной цитологии КГ «Лапино» (ООО «ХАВЕН», лиц. № ЛО-50-01-011906).

На основании результатов морфологического цитологического исследования проводилась оценка ФДТ индуцированного противоопухолевого действия. Конечной точкой оценки для проспективной части пациентов был 3-месячный период, а для ретроспективной части был 12-месячный период и более.

Д. Цифровой

Оцифровку поверхности шейки матки проводили с помощью цифрового кольпоскопа Kernel-2200A. Цифровую обработку кольпоскопических изображений проводили с помощью программного обеспечения «ImageJ» [176]. Алгоритм проведения цифрового анализа проводили согласно изложенной методике в статьях [62, 64].

Во время расширенного кольпоскопического исследования проводят видеофиксацию уксусной (нанесение 3–5% раствора уксусной кислоты на поверхность шейки матки) и йодной (нанесение раствора Люголя на поверхность шейки матки после уксусной кислоты) проб. С помощью функции «Screenshot» на персональном компьютере подготавливают изображения поверхности шейки матки в момент реагирования на нанесение уксусной кислоты и раствора Люголя. Далее изображение загружают в программное обеспечение «ImageJ» v.2.3.0/1.53q с помощью функции «File – Open». Изображение переводят в 8-битный формат с использованием функции «Adjust – Threshold – 8-bit». На выгруженном изображении выделяют поверхность шейки матки с использованием функции «Freehand selection» на панели управления. После выделения, определяют максимальную (MaxGV) и минимальную (MinGV) интенсивности значения серого пикселя после уксусной и йодной проб. С помощью функции «Analyze – Measure» проводится автоматизированный подсчет пораженной площади (%Area). В соответствии с полученными значениями проводят расчет интегральных значений между MaxGV, MinGV и %Area. Таким образом рассчитывается значение «IndGV» для уксусной и йодной проб. Формула для расчета $IndGV = (MaxGV - MinGV) \times \%Area$.

При проведении цифрового анализа были разработаны авторская методика повышения эффективности определения степени тяжести ПВИ шейки матки по кольпоскопической картине (Патент РФ № 2758330) [7], а также устройство для скрининга патологии наружных и внутренних половых органов у женщин (Патент РФ 210078) [3].

Е. Фотодинамическая терапия

ФДТ проводилась на основании статьи 20 Федерального закона № 323 [219] и в соответствии с протоколом, описанным в пособии [11] и статьях [19–21]. За 180–200 минут до фотооблучения (ФО) внутривенно вводят лекарственный препарат – фотосенсибилизатор (ФС). В данном исследовании использовали ФС на основе молекулы Хлорина Е6 – ФОТОРАН (ООО «РАНФАРМА», рег. № ЛП-004885). Перед ФО проводили флуоресцентную диагностику (ФД) с использованием источника света длинной волны равной 400 нм и желтого светофильтра. На основании ФД определяли число полей (диаметр одного поля 25 мм) для ФО. Процедуру ФО цервикального

канала проводили с использованием световода диффузного типа, а поверхности шейки матки с использованием световода с микролинзой для лазерной аппаратуры «СИЛМА-01» (ООО «Полироник», РУ на медицинское изделие № РЗН 2017/5438). Для ФО использовали лазерный аппарат «ЛАХТА-МИЛОН» для фотодинамической терапии (MILON GROUP, РУ № ФСР 2010/09641), который генерирует свет с длиной волны равной 662 нм. По завершению ФО проводили ФД для контроля выгорания ФС.

2.3. Методы статистической обработки результатов исследования

Сбор и хранение данных осуществляли в пакете Excel программного обеспечения Microsoft Office 365. Полученный цифровой материал приведен в соответствие с международной системой единиц. При представлении результатов оценки вмешательств рассчитывали показатели, принятые в доказательной медицине [14, 165]. Результаты исследования анализировались с применением современных параметрических и непараметрических методов статистики.

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей ($Q_1 - Q_3$). Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

Сравнение двух групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, при условии равенства дисперсий выполнялось с помощью t-критерия Стьюдента, при неравных дисперсиях выполнялось с помощью t-критерия Уэлча. Сравнение трех и более групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, выполнялось с помощью однофакторного дисперсионного анализа, апостериорные сравнения проводились с помощью критерия Тьюки (при условии равенства дисперсий), критерия Геймса-Хауэлла (при неравных

дисперсиях). Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U-критерия Манна-Уитни. Сравнение трех и более групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью критерия Краскела-Уоллиса, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой Холма.

Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью критерия хи-квадрат Пирсона (при значениях ожидаемого явления более 10), точного критерия Фишера (при значениях ожидаемого явления менее 10). Сравнение процентных долей при анализе многопольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью критерия хи-квадрат Пирсона.

Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена – r_s (при распределении показателей, отличном от нормального). Прогностическая модель, характеризующая зависимость количественной переменной от факторов, разрабатывалась с помощью метода линейной регрессии. Построение прогностической модели вероятности определенного исхода выполнялось при помощи метода логистической регрессии. Мерой определенности, указывающей на ту часть дисперсии, которая может быть объяснена с помощью логистической регрессии, служил коэффициент R^2 Найджелкерка. Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода, применялся метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определялось по наивысшему значению индекса Юдена.

При сравнении нормально распределенных количественных показателей, рассчитанных для двух связанных выборок, использовался парный t-критерий Стьюдента. При сравнении количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, в двух связанных группах, использовался критерий Уилкоксона. Сравнение бинарных показателей, характеризующих две связанные совокупности, выполнялось с помощью теста МакНемара.

Анализ 5-летней безрецидивной выживаемости пациентов после фотодинамической терапии проводился по методу регрессии Кокса с построением графиков по процедуре Каплан-Мейера, подразумевающую прогнозирование риска

наступления события для рассматриваемого объекта и оценку влияния заранее определенных независимых переменных (предикторов) на этот риск. Риск рассматривается как функция, зависящая от времени. Базовые предположения, лежащие в основе метода, состоят в том, что все объясняющие переменные независимы, линейно влияют на риск наступления события, а также что риски наступления события для любых двух объектов в любой отрезок времени пропорциональны. При этом использовали термин – *медиана выживаемости* для оценки эффективности проведенного лечения [118, 183, 218]. Анализ полученных данных проведен в соответствии со стандартами «Data Science». Основными элементами «Data Science» протокола являлись «Feature Engineering» и разведывательный анализ данных «EDA», которые позволяют сделать экстраполяцию данных на общую популяцию. Для «Data Mining» использовались такие ресурсы, как: <https://github.com>, <https://www.kaggle.com>, <https://archive.ics.uci.edu/ml/index.php>. Для обработки данных и вывода результатов использовался язык программирования Python v3.10.0 в IDE Visual Studio Code v1.66.2.

2.4. Материал исследования

В исследование включено 1075 пациенток с клиническими формами ПВИ шейки матки. Все они были включены в ретроспективный анализ. 122 пациентки были отобраны для проспективной оценки. Собрано 128 образцов биологического материала из шейки матки (64 до ФДТ и 64 после ФДТ). Поставлено 256 ПЦР real-time совмещенных с обратной транскрипцией. Проанализирован 141 результат ОАК с расширенной лейкоцитарной формулой. 91 образец биопсийного материала до ФДТ проанализирован в отношении степени инфильтрации и морфологического типа клеток лимфоидного ряда и нейтрофилов, инфильтрирующих ткань шейки матки. Поставлено 156 реакций методом иммуноферментного анализа для определения концентрации цитокинов (IL-1 β , IL-4, INF- α , INF- γ , sIgA, TNF- α) в цервикальном секрете. 122 оцифрованные поверхности шейки матки были проанализированы с помощью программного обеспечения «ImageJ».

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Анализ клинико-эпидемиологических признаков, показателей мукозального иммунитета, вирусологических и цифрового интегрального значения

На первом этапе исследования были проанализированы клинико-эпидемиологические данные, результаты значений экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4, TLR8 на поверхности эпителиоцитов шейки матки, степени инфильтрации и морфологического типа клеток лимфоидного ряда и нейтрофилов (ИКК), инфильтрирующих ткань, вирусологических показателей и цифрового интегрального значения (IndGV) в соответствии с клинической формой ПВИ у 122 пациенток. В зависимости от клинической формы материал был разделен на 4 группы:

- Группа ПВИ с NILM – ПВИ без плоскоклеточного интраэпителиального поражения (диагноз МКБ-10 – N72, B97.7);
- Группа ПВИ с LSIL – ПВИ с легкой степенью плоскоклеточного интраэпителиального поражения (диагноз МКБ-10 – N87.0);
- Группа ПВИ с HSIL – ПВИ с тяжелой степенью плоскоклеточного интраэпителиального поражения (диагноз МКБ-10 – N87.1, N87.2);
- Группа РШМ – рак шейки матки (диагноз МКБ-10 – D06, C53).

Результаты исследований сравнивались между группами и с группой контроля – отсутствие ПВИ шейки матки. Распределение пациенток по группам представлено на рисунке 8.

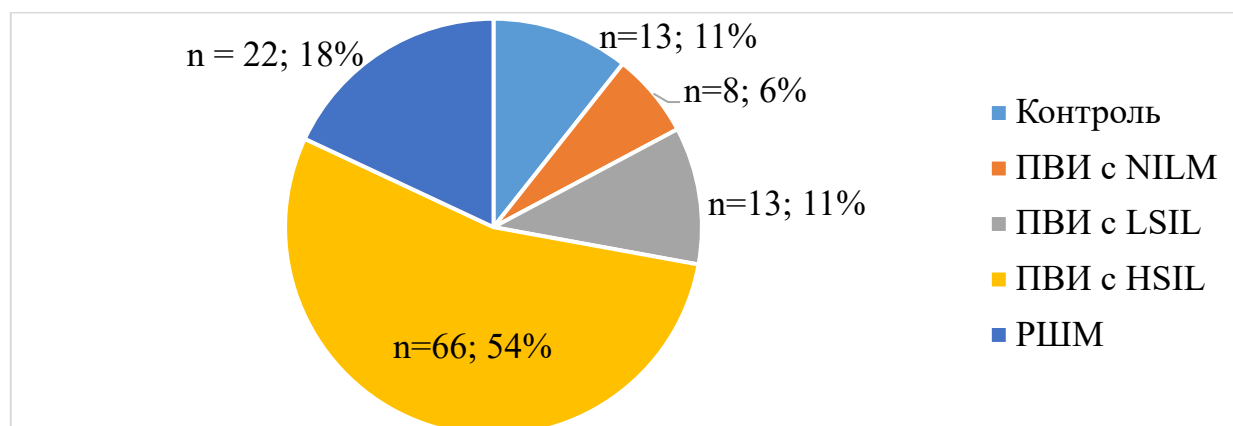


Рисунок 8 – Диаграмма распределения пациенток по группам

Основные характеристики признаков представлены в Приложении А (Таблица А.1, А.2).

Преобладание пациенток в группе ПВИ с HSIL (диагноз МКБ-10 – N87.1, N87.2) обусловлено лечебно-диагностическими особенностями. Пациентки с РШМ направляются на лечение в профильные онкологические федеральный центры, а ПВИ с NILM или с LSIL чаще остаются под наблюдением.

При анализе клинико-эпидемиологических признаков (Таблица 3, 4) было определено, что степень SILs при ПВИ нарастает в зависимости от возраста пациентки ($p = 0,033$ – критерий Краскела-Уоллиса). На степень SIL также влияет и число половых партнеров в анамнезе. В группах ПВИ с HSIL и РШМ регистрируется статистически значимое увеличение числа половых партнеров по сравнению с группами контроля, ПВИ с NILM и LSIL ($p = 0,012$ – критерий Краскела-Уоллиса). При оценке состояния поверхности шейки матки было выявлено, что ацетобелый эпителий превалирует по всех группах по сравнению с контрольной ($p < 0,001$ – χ^2 Пирсона). Максимальная частота ацетобелого эпителия была в группе ПВИ с LSIL и составила 92,3%. На втором месте была группа РШМ – 90,9%. При ПВИ с NILM и ПВИ с HSIL частоты регистрации составили 87,5% и 80,3% соответственно. В группе контроля ацетобелый эпителий был зарегистрирован в 15,4% случаев. Такой клинический признак, как кондиломы на поверхности шейки матки или стенках влагалища, имел статистически значимые различия ($p = 0,041$ – χ^2 Пирсона). Максимальная частота регистрации составила в группе ПВИ с NILM, а минимальная для ПВИ с HSIL – 50% и 13,6% случаев соответственно. При ПВИ с LSIL и РШМ данный показатель составил 23,1% и 18,2% соответственно. Остальные признаки не имели статистически значимых различий при сопоставлении с группой.

Таблица 3 – Статистически значимые количественные клинико-эпидемиологические признаки в зависимости от группы

Признак	Группа	Статистика			P-value
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Возраст (год)	Контроль	30	29 – 38	13	0,033* p _{HSIL – LSIL} = 0,049 p _{РШМ – LSIL} = 0,049
	ПВИ	30	26 – 38	8	
	LSIL	27	27 – 31	13	
	HSIL	34	30 – 39	66	
	РШМ	37	30 – 39	22	

Продолжение Таблицы 3

Признак	Группа	Статистика			P-value
		Me	Q ₁ – Q ₃		
No. половых партнеров	Контроль	3	2 – 3	13	0,012*
	ПВИ	4	2 – 5	8	
	LSIL	3	2 – 4	13	
	HSIL	5	3 – 7	66	
	РШМ	5	3 – 10	22	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

Таблица 4 – Статистически значимые категориальные клинико-эпидемиологические признаки в зависимости от группы

Признак	Значение	Группа					P-value
		Контроль	ПВИ	LSIL	HSIL	РШМ	
Ацетобелый эпителий	Есть	2 (15,4)	7 (87,5)	12 (92,3)	53 (80,3)	20 (90,9)	$p_{\text{Контроль} - \text{ПВИ}} = 0,008$ $p_{\text{Контроль} - \text{LSIL}} < 0,001$ $p_{\text{Контроль} - \text{HSIL}} < 0,001$ $p_{\text{Контроль} - \text{РШМ}} < 0,001$
	Нет	11 (84,6)	1 (12,5)	1 (7,7)	13 (19,7)	2 (9,1)	
Кондиломы	Есть	13 (100,0)	4 (50,0)	10 (76,9)	57 (86,4)	18 (81,8)	$0,041^*$ $p_{\text{Контроль} - \text{ПВИ}} = 0,046$
	Нет	0 (0,0)	4 (50,0)	3 (23,1)	9 (13,6)	4 (18,2)	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

При анализе показателей мукозального иммунитета (Таблица 5, 6) было определено, что тип лейкоцитарной реакции и число лейкоцитов в цервикальном секрете имеют статистически значимые различия ($p < 0,001$ – χ^2 Пирсона; $p < 0,001$ – критерий Краскела-Уоллиса соответственно) в зависимости от клинической формы ПВИ. Тип лейкоцитарной реакции определяли в соответствии с числом лейкоцитов в цервикальном секрете: I тип до 4 в поле зрения; II тип от 5 до 14 в поле зрения; III тип от 15 до 40 в поле зрения; IV тип от 40 и более в поле зрения [8]. Анализ экспрессии мРНК TLR2 и TLR4 (Рисунок 9) имел статистически значимые различия в зависимости от клинической формы ($p = 0,049$; $p = 0,025$ соответственно – критерий Краскела-Уоллиса). При оценке уровня экспрессии мРНК TLR3 и TLR8 не удалось выявить статистически значимые различия ($p = 0,565$; $p = 0,074$ – критерий Краскела-Уоллиса). Степень инфильтрации и морфологический тип клеток лимфоидного ряда и нейтрофилы, инфильтрирующий ткань эндоцервикса не имели статистически

значимых различий в зависимости от клинической формы ПВИ ($p > 0,05$ – χ^2 Пирсона). Исходя из полученных данных при анализе степени инфильтрации экзоцервикса (Рисунок 10) были установлены статистически значимые различия ($p < 0,001$ – χ^2 Пирсона). Морфологический тип клеток лимфоидного ряда и нейтрофилы, инфильтрирующий ткань экзоцервикса, не имели существенных различий ($p > 0,05$ – χ^2 Пирсона). Фиброз эндо- и экзоцервикса превалировал при ПВИ с NILM и ПВИ с LSIL ($p = 0,008$; $p = 0,028$ – χ^2 Пирсона) при сравнении с ПВИ с HSIL и РШМ.

Таблица 5 – Статистически значимые количественные признаки мукозального иммунитета в зависимости от группы

Признак	Группа	Статистики			P-value
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Число лейкоцитов в цервикальном секрете (клеток в поле зрения)	Контроль	8	5 – 8	13	$< 0,001^*$ $p_{\text{РШМ} - \text{Контроль}} < 0,001$ $p_{\text{РШМ} - \text{LSIL}} < 0,001$ $p_{\text{РШМ} - \text{HSIL}} < 0,001$
	ПВИ	16	14 – 25	8	
	LSIL	5	2 – 12	13	
	HSIL	13	7 – 18	66	
	РШМ	25	20 – 35	22	
TLR2 (OE)	Контроль	0,95	0,73 – 1,27	12	$0,049^*$ $p_{\text{LSIL} - \text{Контроль}} = 0,034$
	ПВИ	1,23	1,00 – 1,48	8	
	LSIL	2,26	1,19 – 43,80	11	
	HSIL	1,54	1,04 – 2,18	18	
	РШМ	1,77	0,97 – 2,62	15	
TLR4 (OE)	Контроль	0,84	0,72 – 1,41	12	$0,025^*$ $p_{\text{LSIL} - \text{Контроль}} = 0,021$
	ПВИ	1,32	1,19 – 1,43	8	
	LSIL	2,14	1,19 – 60,28	11	
	HSIL	1,36	0,90 – 2,87	18	
	РШМ	1,57	1,19 – 3,44	15	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

Таблица 6 – Статистически значимые категориальные признаки мукозального иммунитета в зависимости от группы

Признак	Значение	Группа				P-value
		ПВИ	LSIL	HSIL	РШМ	
Степень инфильтрации ИКК экзоцервикса	Неопределенная	26 (65,0)	5 (83,3)	7 (29,2)	5 (55,6)	0,001*
	Слабая	4 (10,0)	1 (16,7)	2 (8,3)	0 (0,0)	
	Умеренная	3 (7,5)	0 (0,0)	1 (4,2)	0 (0,0)	
	Выраженная	7 (17,5)	0 (0,0)	14 (58,3)	4 (44,4)	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

При инфицировании ВПЧ превалирует II и III типы лейкоцитарной инфильтрации 28,6% и 57,1% соответственно. Число лейкоцитов в цервикальном

секрете при ПВИ с NILM возрастает в 2 раза по сравнению с группой контроля. Экспрессия мРНК TLR2 и TLR4 была выше в 1,3 и 1,6 раза соответственно по сравнению с группой контроля. Выраженная, умеренная и слабая степень инфильтрации экзоцервикса ИКК регистрируется в 17,5%, 7,5% и 10% случаев соответственно. В 65% случаев не удалось определить точную степень инфильтрации.

Интеграция ДНК ВПЧ сопровождается угнетением иммунного ответа [196]. Для группы ПВИ с LSIL регистрируется I и II типы лейкоцитарной инфильтрации 38,5% и 46,2% соответственно. Число лейкоцитов в цервикальном секрете снижается в 3,2 раза по сравнению с ПВИ с NILM. Экспрессия генов TLRs 2/4 была выше в 1,84 и 1,62 раза соответственно по сравнению с ПВИ с NILM. Регистрируется экспрессия TLR8 выше по сравнению с остальными типами TLRs. Инфильтрация экзоцервикса ИКК при ПВИ с LSIL имеет слабую степень в 16,7% случаев. В 83,3% случаев не удалось точно определить степень инфильтрации экзоцервикса.

В отсутствие адекватного иммунного ответа трансформирующее действие ВПЧ приводит к возникновению тяжелой степени SIL. Иммунная система обнаруживает злокачественные клетки, регистрируется рост числа лейкоцитов в цервикальном секрете. III тип лейкоцитарной реакции регистрируется в 37,9% случаев для группы ПВИ с HSIL. Нарушения 2 фазы злокачественной трансформации (равновесие между адекватным иммунным ответом и злокачественной трансформацией) [144] приводит к иммунологической толерантности опухолевых клеток. Происходит угнетение экспрессии мРНК TLR2 и TLR4 в 1,46 и 1,57 раза соответственно по сравнению с ПВИ с LSIL. Уровень экспрессии мРНК TLR8 минимален по сравнению с группой ПВИ с LSIL. При нарастании степени SIL увеличивается и степень инфильтрации ИКК экзоцервикса. Так, выраженная степень инфильтрации ИКК при ПВИ с HSIL регистрируется в 58,3% случаев. Умеренная и слабая степень инфильтрации экзоцервикса регистрировалась в 4,7% и 8,3% соответственно.

Число лейкоцитов в цервикальном секрете при РШМ продолжает расти, а III тип лейкоцитарной реакции регистрируется в 81,8%. Однако это не приводит к остановке злокачественной трансформации. Экспрессия генов TLRs 2/4 нарастает по сравнению с группой ПВИ с HSIL на 13%. Ткань экзоцервикса имеет выраженную степень инфильтрации в 44,4% случаев, а неопределенная степень в 55,6% случаев.

Существенно снижается частота (до 29,2%) регистрации неопределенной степени инфильтрации ИКК экзоцервикса.

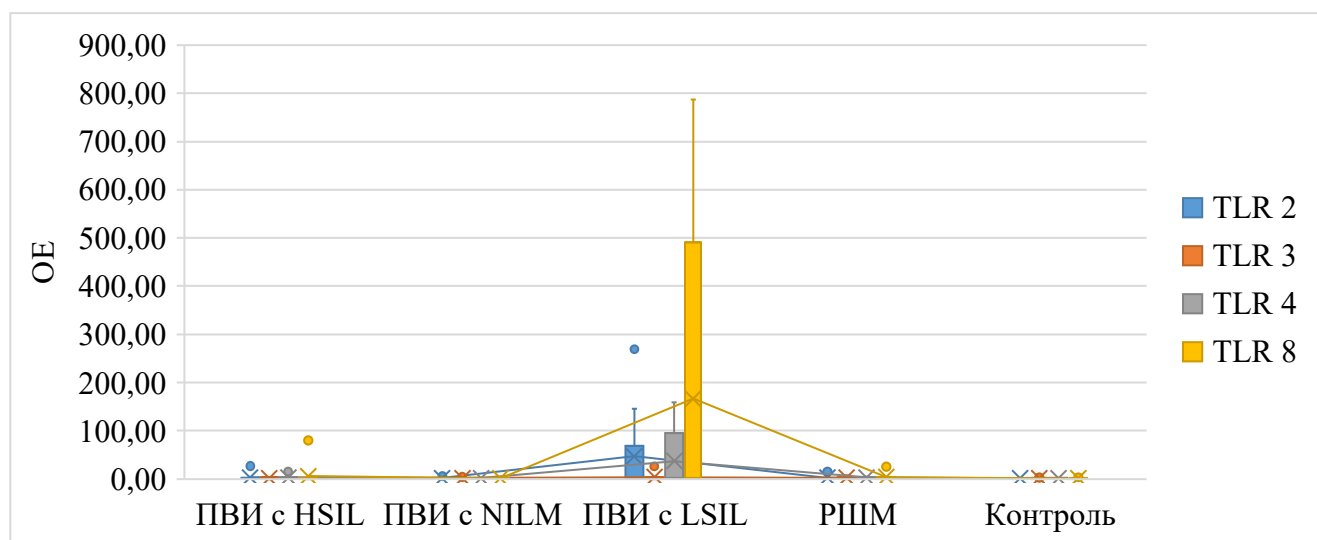


Рисунок 9 – Анализ экспрессия TLRs в зависимости от группы

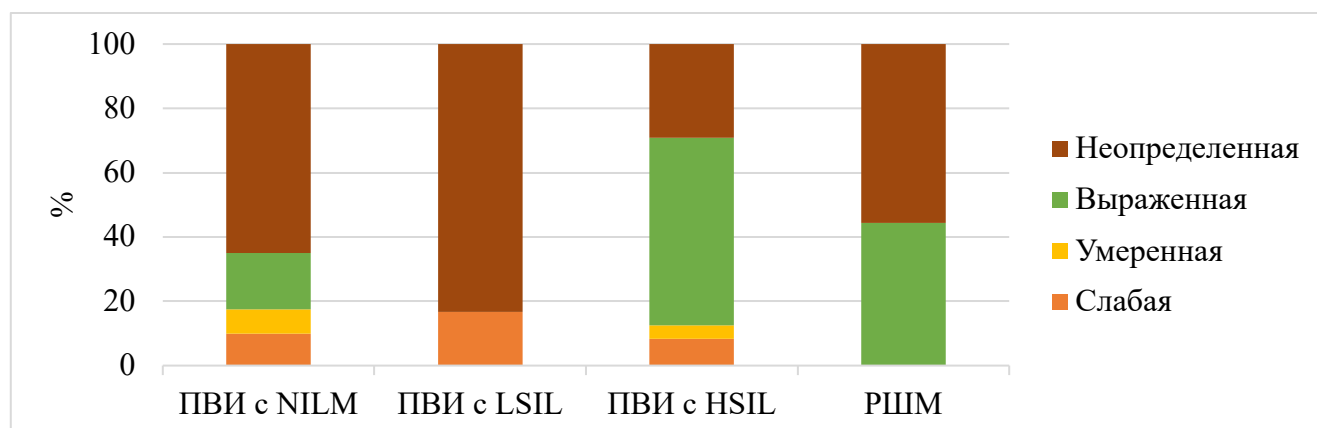


Рисунок 10 – Анализ степени инфильтрации ИКК экзоцервикса в зависимости от группы

Активная ПВИ была обнаружена у 98 пациенток с различными клиническими формами. Исходя из данных, полученных в результате молекулярно-генетического тестирования пациенток на наличие ВПЧ с различными клиническими формами ПВИ, были оценены частоты встречаемости ведущих типов ВПЧ в соответствии с типом инфекции (полиинфекция – 2 и более типа ВПЧ | моноинфекция – 1 тип ВПЧ).

При анализе типа инфицирования (Рисунок 11) и ведущего типа ВПЧ (Рисунок 12) в зависимости от группы были обнаружены статистически значимые различия ($p < 0,001$; $p = 0,024$ – χ^2 Пирсона). При тяжелых клинических формах (ПВИ с HSIL и РШМ) частота регистрации моноинфекции ВПЧ была выше в 1,9 раза, чем при ПВИ с

LSIL. При ПВИ с NILM частота регистрации моно- (50%) и полиинфекции (50%) была на одинаково сопоставимом уровне. Частота регистрации отсутствия активной ПВИ снижалась от ПВИ с LSIL к РШМ с 15,4% до 9,1% соответственно.

Частота регистрации ведущего ВПЧ 16 типа нарастала в зависимости от клинической формы. При ПВИ с NILM он регистрировался в 37,5% случаев, а для РШМ данный показатель составил 64,7%. В 76,5% случаев РШМ были зарегистрированы 16/18 типы ВПЧ, что полностью соответствует литературным данным [41, 53, 102]. 25% инфицирования с NILM приходилось на ведущие 31 (12,5%) и 39 (12,5%) типы ВПЧ. При ПВИ с LSIL 18 тип не регистрировался, что позволяет судить о более агрессивном течении ПВИ 18 типа и/или принадлежности к определенному типу эпителия (не плоскому). Однако регистрировались на одинаково сопоставимом уровне 33, 53, 56 и 58 типы ВПЧ (11,1%). При ПВИ с HSIL нарастала частота регистрации ПВИ 33 типа (18,9%).

ВПЧ 16 типа в 1,7 раза чаще встречался при моноинфекции (60%), чем при полиинфекции (35,7%). 33 (15,5%), 31 (6,9%), 18 и 45 (5,2%), 52 (3,4%), 56 и 59 (1,7) типы регистрировались в моноинфекции реже, чем при полиинфекции. Остальные типы ВПЧ регистрировались только при полиинфекции (Рисунок 13).

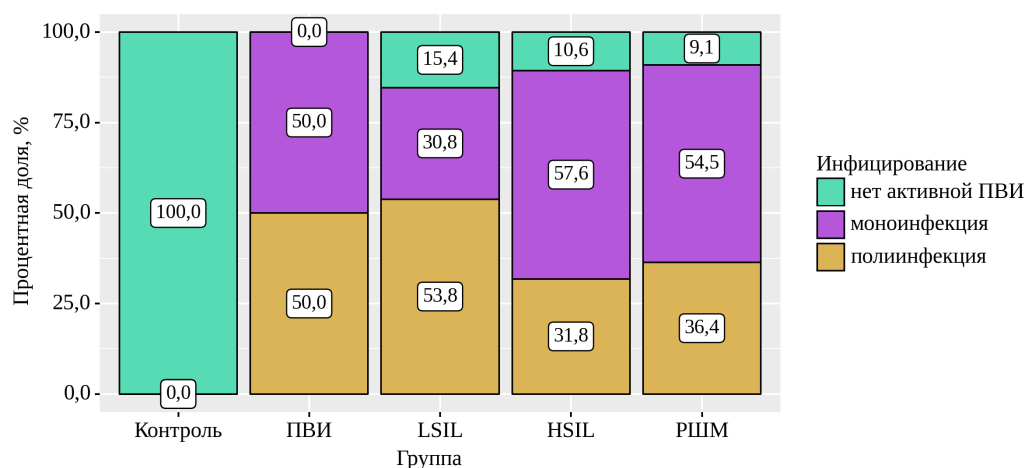


Рисунок 11 – Частота регистрации типа инфицирования в зависимости от группы

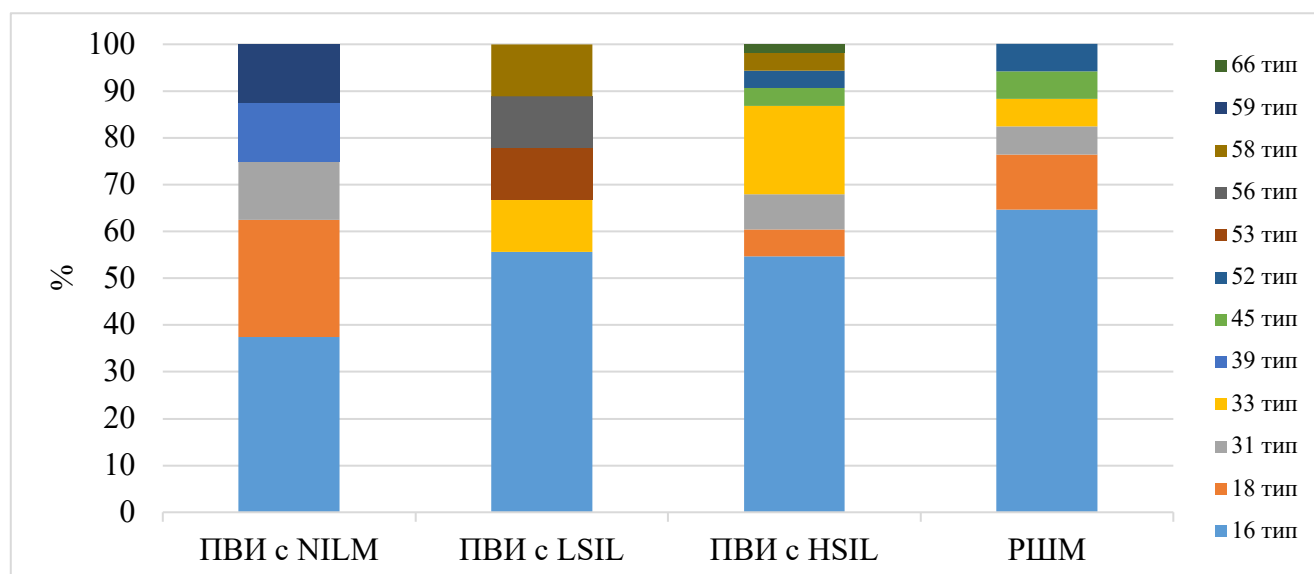


Рисунок 12 – Частота регистрации типа ВПЧ в зависимости от клинической формы ПВИ

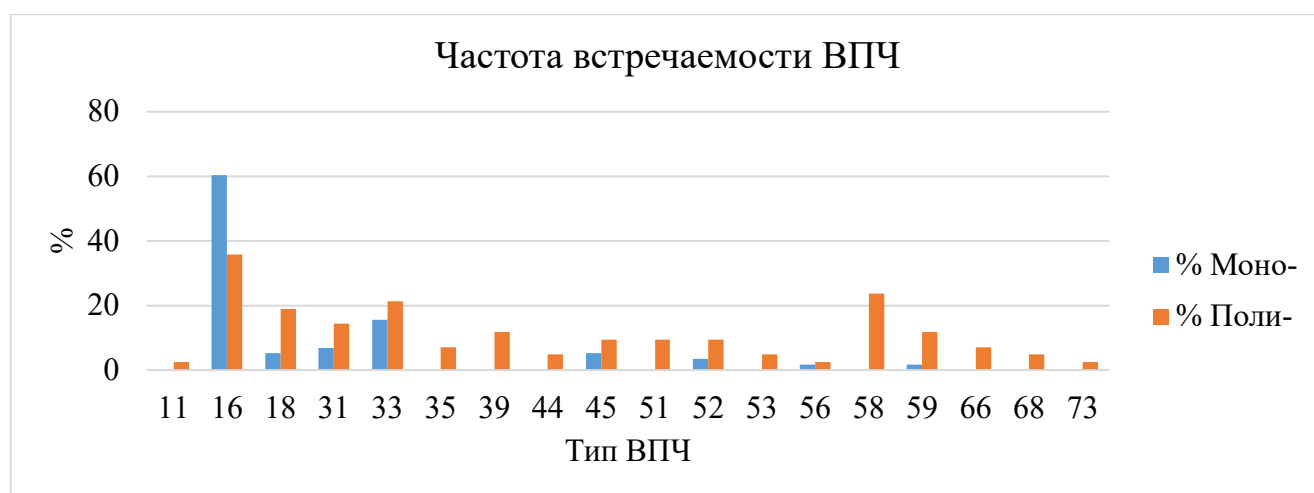


Рисунок 13 – Частота встречаемости ведущего типа ВПЧ в зависимости от типа инфекции

Дополнительно был проведен анализ системной иммунной реакции в рамках расширенной лейкоцитарной формулы (абс. число лейкоцитов, нейтрофилов и моноцитов) общего анализа крови, а также нейтрофильно-лейкоцитарного соотношения. Соотношение указывает на наличие субклинического воспаления. По соотношению показателей также было оценено системной клеточной иммунной реакции – адаптивного иммунитета (АИ) и врожденного иммунитета (ВИ). Матрица для оценивания представлена в таблице 2.

Влияние тяжести плоскоклеточного интраэпителиального поражения на значения расширенной лейкоцитарной формулы (абс. число лейкоцитов, нейтрофилов и моноцитов) ОАК не было значимым ($p > 0,05$ – критерий Краскела-Уоллиса,

критерий Краскела-Уоллиса, F-критерий Фишера, F-критерий Фишера соответственно). Системная клеточная иммунная реакция не имела различий в соответствии с клинической формой ПВИ ($p > 0,05$ – χ^2 Пирсона). Ареактивное состояние линейно снижалось от группы контроля к раку шейки матки на 20,5% (Линейная тренда, $R^2 = 0,95$). Системная иммунная реакция имела тренд к иммунной недостаточности. Значение нарастало от группы ПВИ с NILM (0%) → ПВИ с LSIL (6%) → ПВИ с HSIL (17%) и снижалось к РШМ – 11% (полиномиальная функций третьей степени, $R^2 = 0,96$).

Цифровые показатели после проведенного уксусного теста (с 3–5% раствором уксусной кислоты) имеют характерные значения в зависимости от степени тяжести патологического процесса. «dGV ацетобелого эпителия» оценивает интенсивность ацетобелого эпителия на поверхности шейки матки. Значение признака (Рисунок 15) статистически значимо ($p = 0,023$ – критерий Краскела-Уоллиса) нарастало от группы контроля к РШМ. Процент пораженной ткани (Рисунок 14) после проведенной уксусной пробы статистически значимо ($p = 0,02$ – критерий Краскела-Уоллиса) нарастает от контрольной группы к РШМ, что характеризует степень тяжести плоскоклеточного интаэпителиального поражения не только в толщу эпителия, но и относительно всей площади шейки матки. Йодная проба окрашивает здоровые участки эпителия в темно-коричневый цвет, а патологические остаются не окрашенными. Цифровые показатели, оцененные после йодной пробы (с раствором Люголя), аналогично показателям после уксусного теста имеют характерные значения для роста тяжести патологического процесса. «dGV йодной пробы» не имеет статистически значимых различий ($p = 0,170$ – критерий Краскела-Уоллиса). Таким образом, данный признак находится на сопоставимом уровне при любой степени поражения. Однако значение процента пораженной площади (Рисунок 17) поверхности шейки матки после окрашивания раствором Люголя имеет статистически значимый прирост в соответствии с клинической формой ПВИ ($p = 0,002$ – критерий Краскела-Уоллиса).

Было проанализировано цифровое интегральное значение (IndGV) ПВИ шейки матки в зависимости от клинической формы. Статистически значимые различия были получены для IndGV уксусной (Рисунок 16) и йодной (Рисунок 18) проб ($p = 0,018$; p

= 0,003 – критерий Краскела-Уоллиса). IndGV для уксусной пробы нарастало к ПВИ с LSIL. В группах с SILs IndGV для уксусной пробы выявляется на сопоставимом уровне. При сопоставлении IndGV для йодной пробы в соответствии с клинической формой определяется статистически значимый прирост. По сравнению с контрольной группой значение нарастает в 2,15; 2,3; 2,6; 3,2 раза для ПВИ с NILM, ПВИ с LSIL, ПВИ с HSIL и РШМ соответственно.

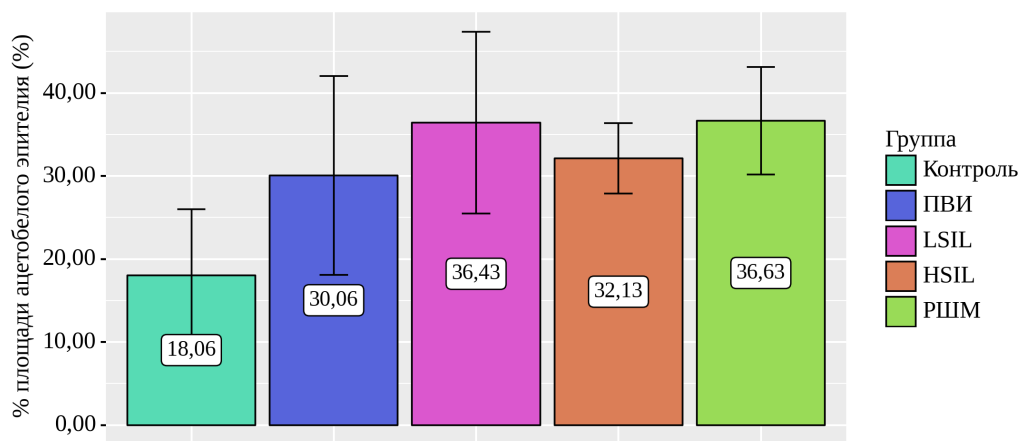


Рисунок 14 – % площади ацетобелого эпителия в зависимости от группы

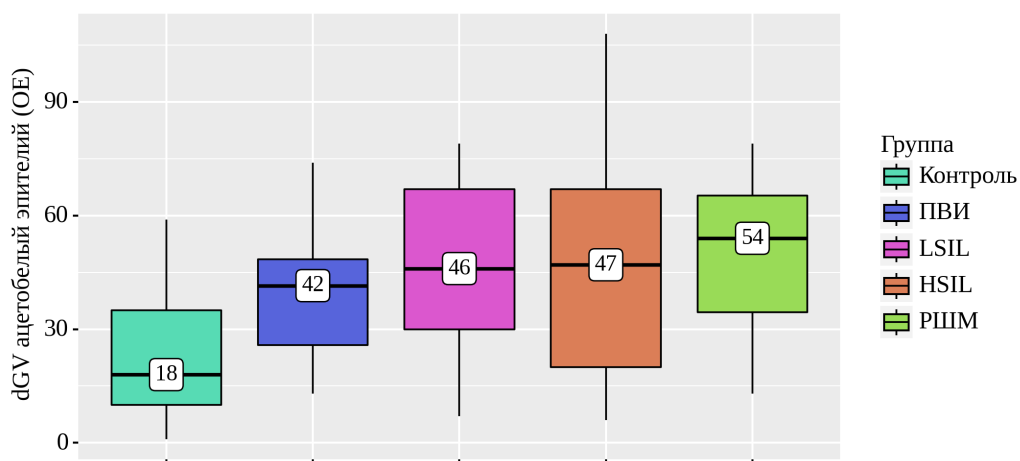


Рисунок 15 – dGV ацетобелого эпителия в зависимости от группы

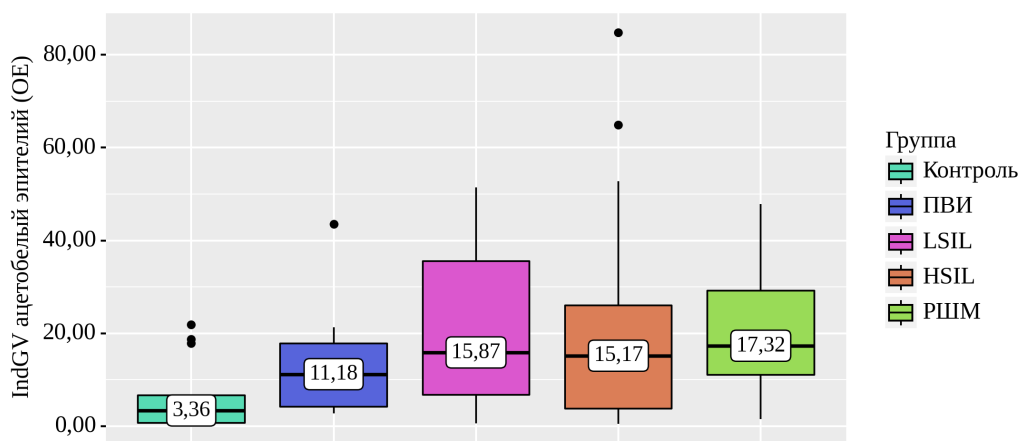


Рисунок 16 – IndGV ацетобелого эпителия в зависимости от группы

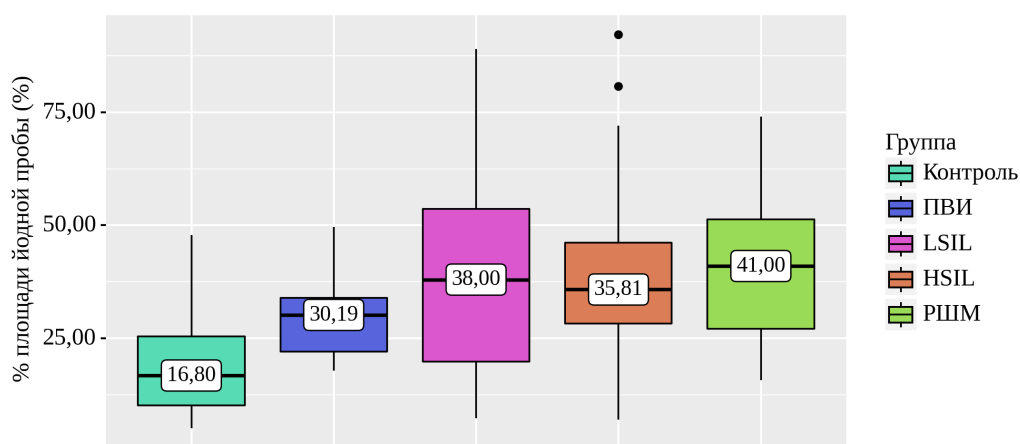


Рисунок 17 – % площади йодной пробы в зависимости от группы

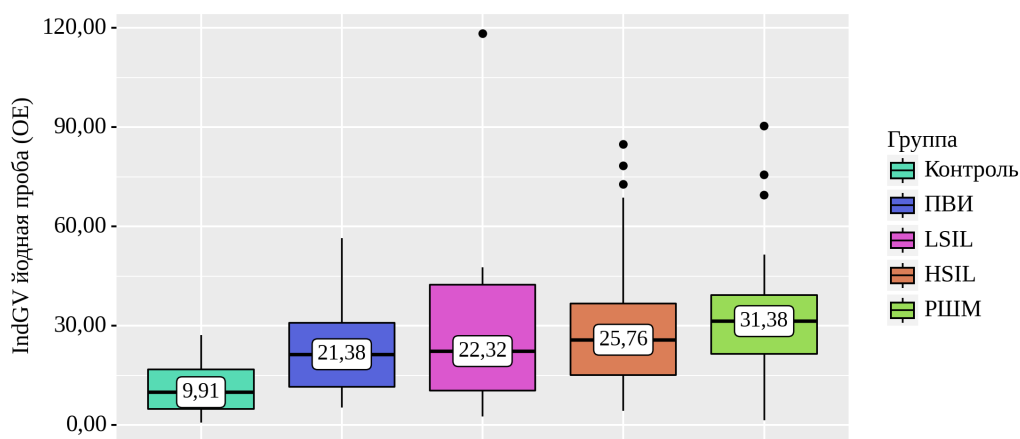


Рисунок 18 – IndGV йодной пробы в зависимости от группы

Анализ полученных данных и сопоставление результатов тестирования свидетельствует о том, что каждая клиническая форма ПВИ имеет общий тренд на увеличение значимых признаков. Отмечено, что такой признак мукозального иммунитета, как TLR3 ответственный за распознавание вирусных нуклеиновых

кислот, не имел статистически значимых различий в зависимости от клинической формы, однако, его экспрессия была наибольшей в группе ПВИ с NILM. Длительная персистенция ВПЧ не всегда сопровождается его интегрированием в геном ДНК клеток хозяина. В составе цервикального секрета наблюдается II и III типы лейкоцитарной реакции. Если интеграция все же произошла, то вирус запускает процессы блокады программируемой клеточной гибели и активацию клеточной пролиферации. Происходит угнетение инфильтрация ИКК тканей шейки матки и выход их в составе цервикального секрета. По мере увеличения толщины плоскоклеточного интраэпителиального поражения регистрируется и его рост площади поражения, что свидетельствует об усиленной репликации вируса и заражении большего пула эпителиальных клеток. Это подтверждает максимальный уровень экспрессии мРНК TLR2, TLR4, TLR8 при ПВИ с LSIL. При переходе к тяжелым клиническим формам ПВИ шейки матки происходит угнетение экспрессии мРНК TLRs, а инфильтрация ИКК ткани экзоцервикса и выход их в составе цервикального секрета начинают нарастать. Это позволяет говорить о вовлечении иммунной системы в противоопухолевый иммунный ответ. Активность иммунной системы направлена на два звена патологического процесса: эрадикацию ВПЧ и остановку злокачественной трансформации эпителиальных клеток. Об этом говорит значительный прирост инфильтрации ИКК тканей экзоцервикса и числа лейкоцитов в составе цервикального секрета. Происходит незначительный прирост в экспрессии мРНК TLRs. Учитывая главную роль ВПЧ в поддержании репликации, клетка выполняет роль лишь резервуара для его копий. При нарастании числа копий клетка «взрывается», а дочерние вирусы внедряются в соседние клетки. Злокачественная трансформация эпителиальных клеток приводит к неконтролируемому делению. Популяция опухолевых клеток замещает доброкачественные, тем самым приводит к уменьшению числа копий в эпителиальном пласте. Опухолевая клетка, зараженная вирусом, конкурирует за выживание, что формирует равновесие между злокачественной трансформацией и репликацией вируса. Это происходит путем активации иммунной системы в ответ биогенные вещества, продуцируемые опухолевой клеткой. Таким образом, при переходе от тяжелой степени плоскоклеточного интраэпителиального поражения к раку шейки матки запускаются

конкурирующие процессы за выживание. Это приводит к срыву адекватного иммунного ответа на эрадикацию ВПЧ и остановку злокачественной трансформации.

3.2. Оценка значимости клинико-эпидемиологических признаков, показателей мукозального иммунитета, вирусологических и цифрового интегрального значения для прогнозирования течения папилломавирусной инфекции

Для создания прогностической модели течения ПВИ шейки матки необходимо отобрать статистически значимые признаки, однако стоит избегать мультиколлинеарности для схожих признаков. Полная коллинеарность приводит к неопределенности признаков в регрессионной модели независимо от методов оценки. Был проведен корреляционный анализ и оценка значимости признаков для прогнозирования течения ПВИ шейки матки.

Отмечается отсутствие статистически значимой корреляции вирусной нагрузки с возрастом, длительностью ПВИ, началом половой жизни, числом половых партнеров ($p > 0,05$). Полиинфекция регистрировалась у пациенток с большим числом половых партнеров ($p = 0,038$ – критерий Краскела-Уоллиса). Это увеличивает не только риск передачи ВПЧ высокоонкогенного риска, но и усиливает генетическую нестабильность эпителиальных клеток. Ранее начало менструации оказывает продолжительную гормональную нагрузку на органы мишени. Фиброз эндоцервикса регистрировался у пациенток с более ранним началом менструации ($p = 0,041$). Влияние возраста, начала половой жизни, числа половых партнеров и длительности ПВИ на значение IndGV после уксусной пробы отсутствовало ($p > 0,05$).

Число половых партнеров статистически значимо увеличивало значение IndGV для йодной пробы ($r_s = 0,23$; $p = 0,01$). IndGV для уксусной (Рисунок 19) и йодной (Рисунок 20) проб статистически значимо снижался при переходе от 1 к 3 типу ЗТ ($p < 0,001$; $p < 0,001$ – критерий Краскела-Уоллиса соответственно) и снижение IndGV для ацетобелого эпителия (Рисунок 21) при отсутствии кондилом ($p = 0,031$ – U-критерий Манна-Уитни). Длительность ПВИ статистически значимо снижала значение IndGV после йодной пробы ($r_s = -0,22$; $p = 0,024$).

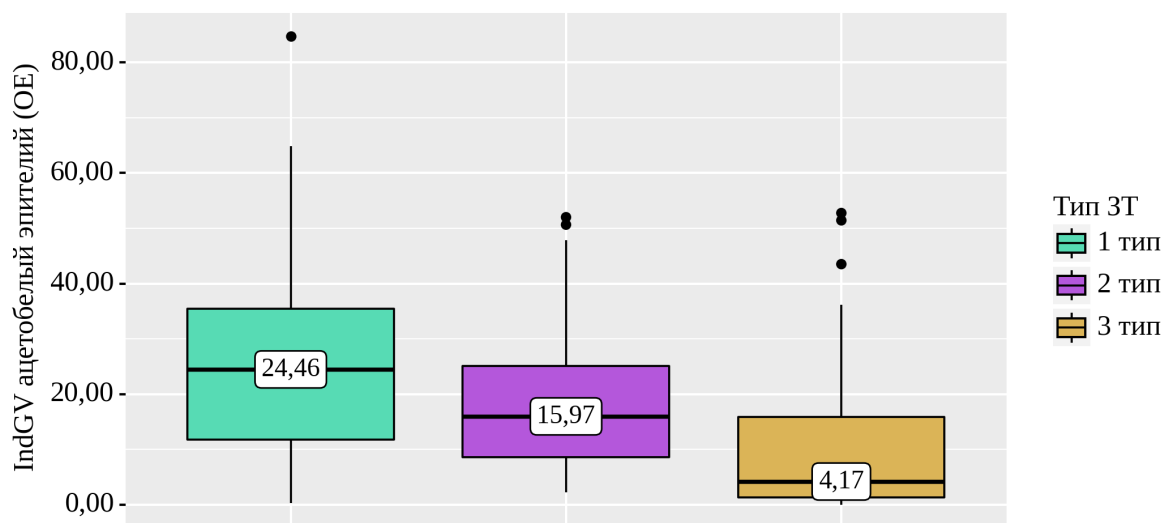


Рисунок 19 – IndGV ацетобелого эпителия в зависимости от типа ЗТ

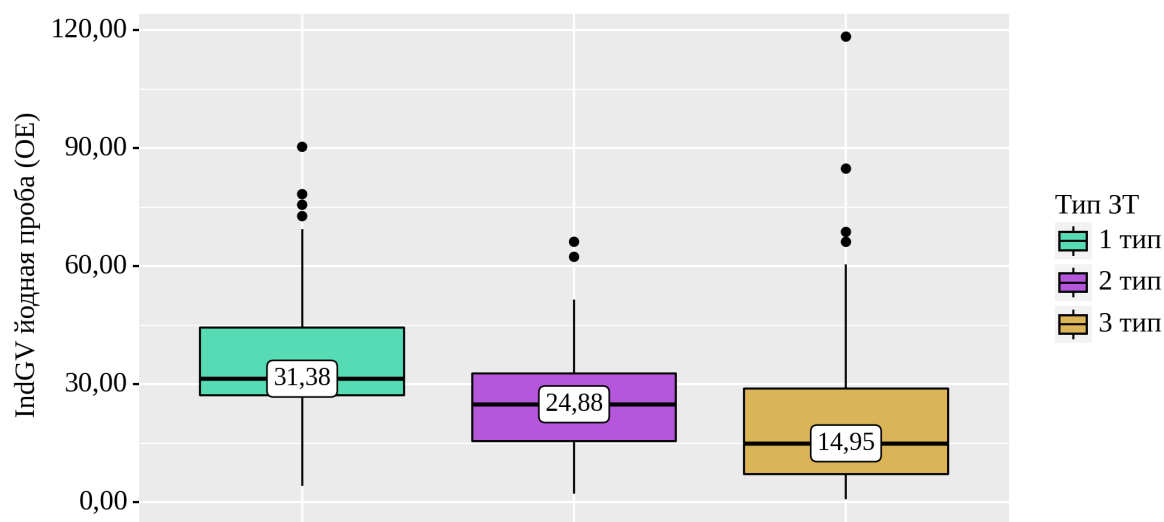


Рисунок 20 – IndGV йодной пробы в зависимости от типа ЗТ

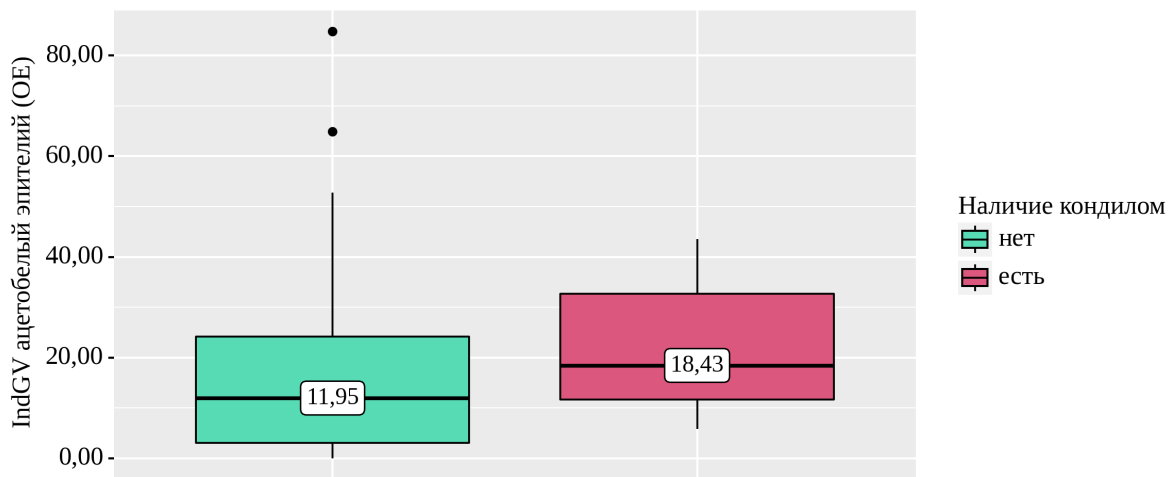


Рисунок 21 – IndGV ацетобелого эпителия в зависимости от наличия кондилом

Ацетобелый эпителий регистрируется на поверхности шейки матки. ВПЧ угнетает действие иммунной системы. II и III типы лейкоцитарной реакции в цервикальном секрете в 2,7 и 2,1 раза чаще (Рисунок 22) регистрировались в присутствии ацетобелого эпителия на поверхности шейки матки ($p = 0,019 - \chi^2$ Пирсона).

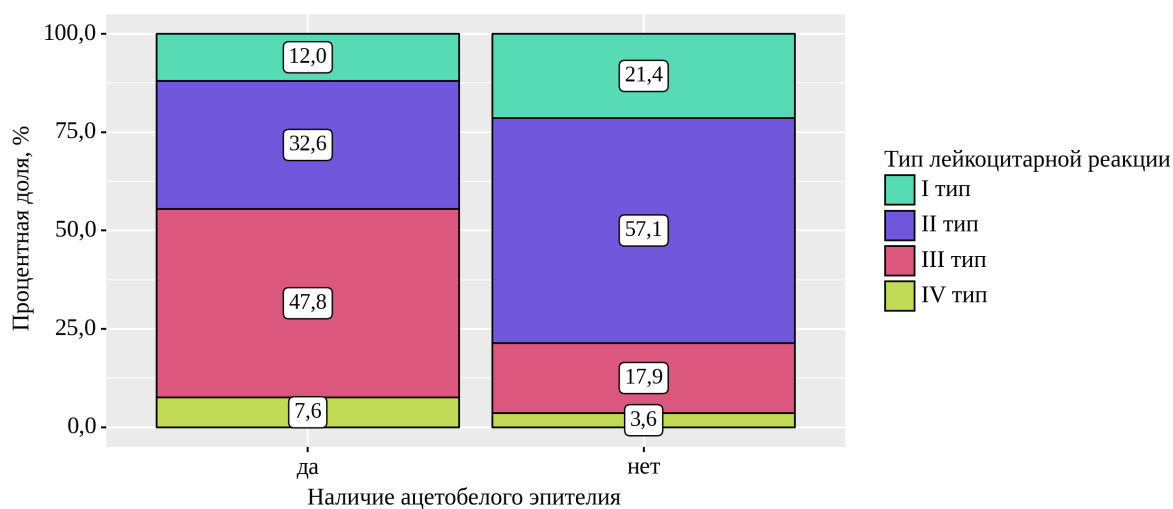


Рисунок 22 – Типа лейкоцитарной реакции в зависимости от наличия ацетобелого эпителия

Длительность ПВИ уменьшает тип лейкоцитарной реакции в цервикальном секрете. Продолжительная ПВИ вовлекает большее число эпителиальных клеток и проникает в цервикальный канал. Это приводит к угнетению иммунного ответа со стороны эндоцервикса. Так, медианная продолжительность ПВИ для I типа лейкоцитарной реакции составила 39,65 месяцев против 4,67 месяцев для IV типа ($p = 0.036 -$ критерий Краскела-Уоллиса). Отмечается, что такие признаки, как ВПЧ в анамнезе, тип ЗТ, кондиломы не имели статистически значимого влияния на тип лейкоцитарной реакции в цервикальном секрете ($p > 0,05 - \chi^2$ Пирсона).

При моно- и полиинфицировании обнаружение клинического признака ПВИ – ацетобелый эпителий, было в 1,5 раза чаще ($p = 0,002 - \chi^2$ Пирсона). При обнаружении ацетобелого эпителия на поверхности шейки матки происходило снижение степени выраженности инфильтрации ИКК экзоцервикса ($p = 0,045 - \chi^2$ Пирсона). Наблюдается смещение иммунологической активности по мере инфицирования

эпителиального пласта. Повышенное содержание лейкоцитов в цервикальном секрете регистрировалось при наличии ацетобелого эпителия на поверхности шейки матки ($p = 0,01$ – U-критерий Манна-Уитни). Экспрессия мРНК TLR2, TLR4 в 1,6 раза была статистически значимо выше для обоих рецепторов при обнаружении ацетобелого эпителия на поверхности шейки матки ($p = 0,018$; $p = 0,006$ соответственно – U-критерий Манна-Уитни).

Экспрессия мРНК TLR2, TLR4, TLR8 имеет обратную корреляцию с возрастом (Таблица 7), что подтверждает повышенную иммунологическую активность у молодых пациенток ($r_s = -0,27/p = 0,029$; $r_s = -0,25$; $p = 0,048$; $r_s = -0,25/p = 0,042$ соответственно). Гинекологическая инфекция в анамнезе угнетает экспрессию мРНК TLR2 ($p = 0,023$ – U-критерий Манна-Уитни). Половой путь оказывает значимую роль на распространение ПВИ. Это прямо коррелирует с числом половых партнеров. В результате это приводит к повышенной экспрессии мРНК TLR2 и TLR8 ($r_s = 0,25/p = 0,05$; $r_s = 0,3/p = 0,017$). Продуктивная генитальная ПВИ приводит к образованию кондилом на шейке матки и стенках влагалища, однако это не оказывает никакого влияния на экспрессию мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 ($p > 0,05$ – U-критерий Манна-Уитни). При переходе ПВИ в интегративную форму начинает нарастать вирусная нагрузка и трансформирующее действие на эпителиальные клетки шейки матки. Происходит выход лейкоцитов в составе цервикального секрета и повышается экспрессия мРНК TLR3 ($r_s = 0,29/p = 0,009$; $r_s = 0,43/p = 0,009$ соответственно). Наивысший уровень экспрессии мРНК имеет TLR3 для каждого типа инфицирования (Рисунок 23). Если ПВИ развивается за счет инфицирования одним типом ВПЧ, то экспрессия мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 будет выше (по медианному значению), чем при инфицировании двумя и более типами ($p = 0,008$, $p = 0,036$, $p = 0,007$, $p = 0,011$ соответственно – критерий Краскела-Уоллиса). Наибольший уровень экспрессии мРНК регистрируется у TLR3 (Рисунок 24). Однако среднее значение экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 нарастает линейно от отсутствия активной ПВИ к полиинфекции ($R^2 = 1$).

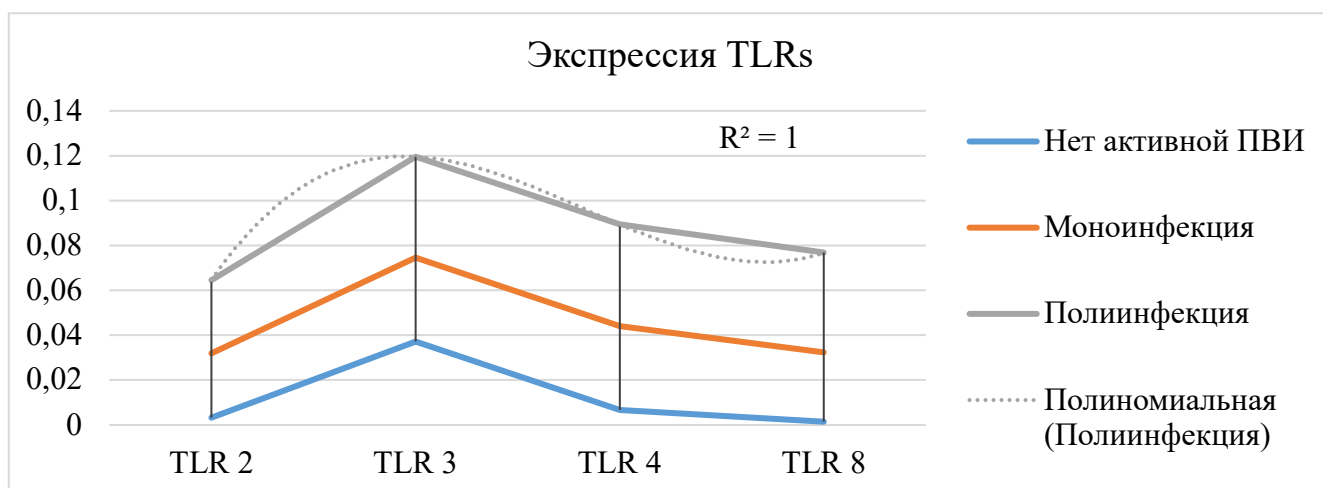


Рисунок 23 – Среднее значение экспрессии мРНК TLRs в зависимости от типа инфицированности

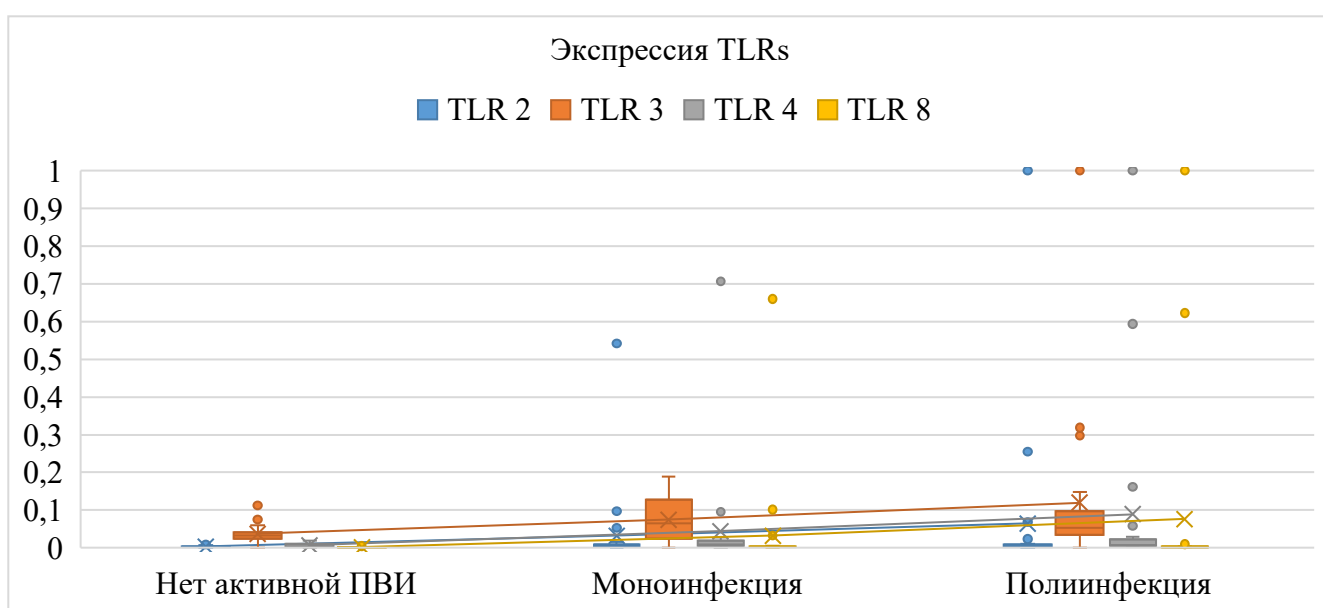


Рисунок 24 – Экспрессия мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 в зависимости от типа инфекции

Между абсолютным числом лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов в системном кровотоке и числом лейкоцитов в цервикальном секрете не было обнаружено статистически значимой связи ($p > 0,05$). Однако наблюдалось статистически значимое увеличение числа лейкоцитов в цервикальном секрете системной реакции клетками врожденного иммунитета ($p = 0,013$ – критерий Краскела-Уоллиса) при субклинической оценке. При выявлении ацетобелого эпителия на поверхности шейки матки статистически значимых изменений в абсолютном числе лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов не было обнаружено ($p > 0,05$ – t-критерий Стьюдента, U-критерий Манна-Уитни, t-критерий Стьюдента, U-критерий Манна-Уитни соответственно). Тип инфекции не оказывал статистически значимого

влияния на показатели расширенной лейкоцитарной формулы ОАК ($p > 0,05$ – F-критерий Фишера, критерий Краскела-Уоллиса, критерий Краскела-Уоллиса, F-критерий Фишера соответственно). Абс. число нейтрофилов крови имеет слабую статистически значимую связь с вирусной нагрузкой ($r_s = 0,23$; $p = 0,05$). Остальные показатели расширенной лейкоцитарной формулы ОАК не имели статистически значимой корреляции. ПВИ 16 типом статистически значимо снижала уровень лимфоцитов в системном кровотоке на 13,2% по сравнению с инфицированием остальными типами ВПЧ ($p = 0,029$ – t-критерий Стьюдента). Была обнаружена прямая корреляция абсолютного числа моноцитов с уровнем мРНК TLR8 ($r_s = 0,28$; $p = 0,023$). Статистически значимо процент площади пораженной поверхности шейки матки был выше при системной клеточной активации адаптивного и врожденного иммунитета ($p = 0,037$ – критерий Краскела-Уоллиса) при субклинической оценке.

Таблица 7 – Результаты корреляционного анализа экспрессии мРНК TLRs

Признак	TLR2 (r_s/p -value)	TLR3 (r_s/p -value)	TLR4 (r_s/p -value)	TLR8 (r_s/p -value)
Возраст	-0,27/0,029	-	-0,25/0,048	-0,25/0,042
Но. половых партнеров	0,25/0,05	-	-	0,3/0,017
Вирусная нагрузка	-	0,29/0,009	-	-
Абс. число моноцитов	-	-	-	0,28/0,023

При проведении цифрового анализа [62, 64, 65] и подсчета IndGV для уксусной и йодной проб регистрируется прямая зависимость для содержания лейкоцитов в цервикальном секрете и экспрессии мРНК TLR2, TLR3 и TLR4 (Таблица 8). Экспрессии мРНК TLR8 не имеет статистически значимой зависимости.

Таблица 8 – Корреляционный анализ IndGV, числа лейкоцитов в цервикальном секрете и экспрессии TLRs

Признаки	IndGV Уксусная проба		IndGV Йодная проба	
	Корреляция (r_s)	P-value	Корреляция (r_s)	P-value
Число лейкоцитов в Цк/секрете	0,21	0,023	0,26	0,003
Экспрессия TLR2 (ОЕ)	0,29	0,029	0,31	0,017
Экспрессия TLR3 (ОЕ)	0,33	0,012	0,374	0,004
Экспрессия TLR4 (ОЕ)	0,3	0,022	0,29	0,024

Цк/секрете – цервикальный секрет.

В результате проведенного анализа признаков ПВИ выявлены статистически значимые признаки для построения прогностической модели.

3.3. Прогностическая модель течения папилломавирусной инфекции шейки матки

Для построения прогностической модели были разработаны четыре классификационных уравнения:

1. Прогноз наличия папилломавирусной инфекции (ПВИ);
2. Прогноз наличия плоскоклеточного интраэпителиального поражения (SIL);
3. Прогноз наличия тяжелой степени плоскоклеточного интраэпителиального поражения (HSIL);
4. Прогноз наличия рака шейки матки (РШМ).

Каждое уравнение базировалось на бинарной логистической регрессии $P = \frac{1}{(1+e^{-z})}$, где z – регрессионные коэффициенты независимых переменных; P – вероятность события.

Наблюдаемая зависимость для прогноза наличия ВПЧ описывается регрессионными коэффициентами:

$$z = 1,807 + 0,041X_{\text{Возраст}} + 0,658X_{\text{жалобы}} - 0,159X_{\text{терапевтическое лечение в анамнезе}} - 0,100X_{\text{Начало половой жизни}} + 0,094X_{\text{число половых партнеров}} + 0,471X_{\text{гинекологическое заболевание в анамнезе}} + 0,471X_{\text{гинекологическая инфекция в анамнезе}} + 0,005X_{\text{число лейкоцитов в цервикальном секрете}} - 0,012X_{\text{тип ЗТ}} - 0,477X_{\text{тип ЗТ}} - 1,494X_{\text{ацетеобелый эпителий}} + 5,280X_{\text{кондиломы}} - 0,311X_{\text{Абс. число нейтрофилов}}$$

где $X_{\text{Возраст}}$ – (лет), $X_{\text{жалобы}}$ – (0 – да, 1 – нет), $X_{\text{терапевтическое лечение в анамнезе}}$ – (0 – есть, 1 – нет), $X_{\text{Начало половой жизни}}$ – (лет), $X_{\text{число половых партнеров}}$ – количество человек, $X_{\text{гинекологическое заболевание в анамнезе}}$ – (0 – да, 1 – нет), $X_{\text{гинекологическая инфекция в анамнезе}}$ – (0 – да, 1 – нет), $X_{\text{число лейкоцитов в цервикальном секрете}}$ – (клеток в поле зрения), $X_{\text{тип ЗТ}}$ – (0 – 1 тип, 1 – 2 тип), $X_{\text{тип ЗТ}}$ – (0 – 1 тип, 1 – 3 тип), $X_{\text{наличие ацетеобелого эпителия}}$ – (0 – да, 1 – нет), $X_{\text{кондиломы}}$ – (0 – нет, 1 – есть), $X_{\text{Абс. число нейтрофилов}}$ – (тыс/л)

Полученная регрессионное уравнение является статистически значимым ($p = 0,012$). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, уравнение объясняет 31,8% наблюдаемой дисперсии наличия ВПЧ. При оценке наличия

ацетобелого эпителия шансы ВПЧ (+) уменьшались при отсутствии ацетобелого эпителия в 4,454 раза. При оценке зависимости вероятности ВПЧ (+) от значения логистической функции P с помощью ROC-анализа была получена следующая кривая (Рисунок 25).

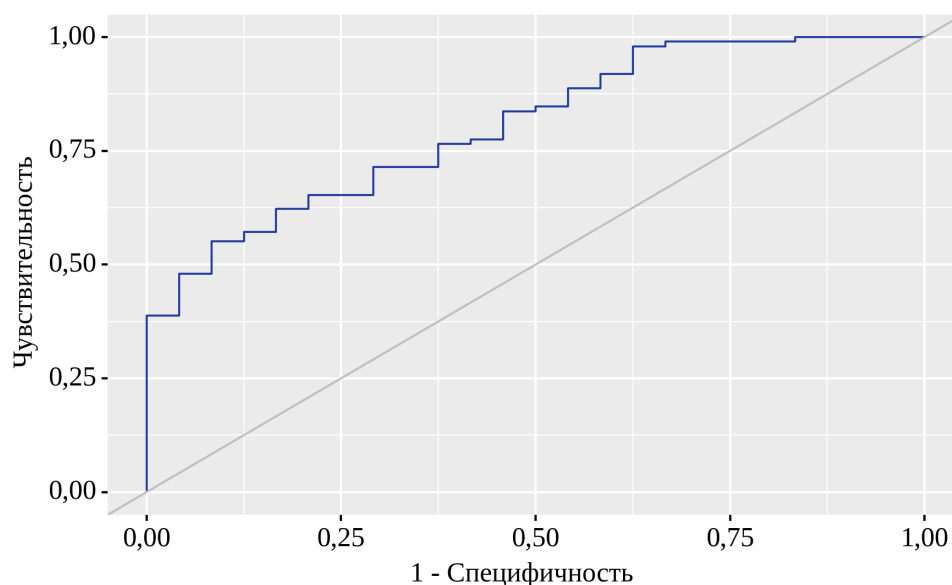


Рисунок 25 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности ВПЧ от значения логистической функции P

Площадь под ROC-кривой составила $0,805 \pm 0,043$ с 95% ДИ: 0,721 – 0,888. Полученная модель была статистически значимой ($p < 0,001$). Пороговое значение логистической функции P в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 0,880. ВПЧ (+) прогнозировалось при значении логистической функции P выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность уравнения составили 55,1% и 91,7%, соответственно.

Наблюдаемая зависимость для прогноза наличия SIL описывается регрессионными коэффициентами:

$$z = -0,595 + 0,150X_{\text{Возраст}} - 0,015X_{\text{Менархе}} - 0,118X_{\text{Начало половой жизни}} + 0,296X_{\text{число половых партнеров}} - 0,033X_{\text{число лейкоцитов в цервикальном секрете}} + 0,283X_2 \text{ тип ЗТ} - 3,839X_3 \text{ тип ЗТ} - 1,764X_{\text{кондиломы}} - 0,256X_{\text{TLR2}} - 1,112X_{\text{TLR3}} + 1,260X_{\text{TLR4}} + 1,395X_{\text{TLR8}} + 0,047X_{\% \text{ площади йодной пробы}} + 0,024X_{\% \text{ площади ацетобелого эпителия}} - 2,031X_{\text{ВПЧ в анамнезе}} - 4,242X_{\text{хирургическое лечение в анамнезе}},$$

где $X_{\text{Возраст}}$ – (лет), $X_{\text{Менархе}}$ – (лет), $X_{\text{Начало половой жизни}}$ – (лет), $X_{\text{число половых партнеров}}$ – (чел.), $X_{\text{число лейкоцитов в цервикальном секрете}}$ – (клеток в поле зрения), $X_{2 \text{ тип ЗТ}}$ – (0 – 1 тип, 1 – 2 тип), $X_{3 \text{ тип ЗТ}}$ – (0 – 1 тип, 1 – 3 тип), $X_{\text{кондиломы}}$ – (0 – нет, 1 – есть), X_{TLR2} – (ОЕ), X_{TLR3} – (ОЕ), X_{TLR4} – (ОЕ), X_{TLR8} – (ОЕ), $X_{\% \text{ площади йодной пробы}}$ – (%), $X_{\% \text{ площади ацетобелого эпителия}}$ – (%), $X_{\text{ВПЧ в анамнезе}}$ – (0 – нет, 1 – есть), $X_{\text{хирургическое лечение в анамнезе}}$ – (0 – нет, 1 – есть).

Полученная регрессионное уравнение является статистически значимым ($p = 0,001$). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, уравнение объясняет 63,3% наблюдаемой дисперсии наличия SIL. При оценке типа ЗТ шансы наличия SIL уменьшались при наличии 3 типа ЗТ в 46,479 раза. При оценке хирургического лечения в анамнезе шансы наличия SIL уменьшались при наличии хирургического лечение в анамнезе в 69,533 раза. При оценке зависимости вероятности наличия SIL от значения логистической функции P с помощью ROC-анализа была получена следующая кривая (Рисунок 26).

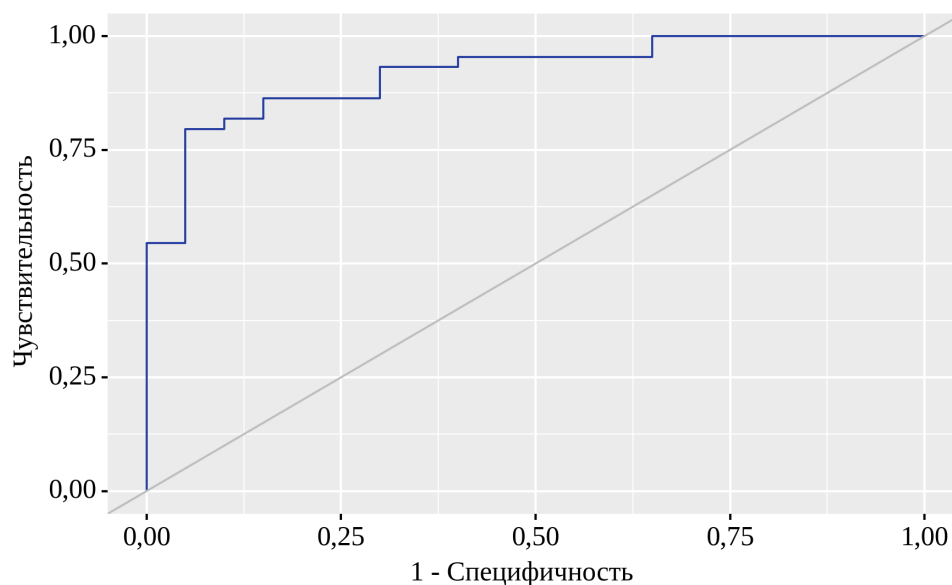


Рисунок 26 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности наличия SILs от значения логистической функции P

Площадь под ROC-кривой составила $0,919 \pm 0,033$ с 95% ДИ: 0,854 – 0,985. Полученная модель была статистически значимой ($p < 0,001$). Пороговое значение логистической функции P в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 0,802. Наличие SIL прогнозировалось при

значении логистической функции P выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность уравнения составили 79,5% и 95,0%, соответственно.

Наблюдаемая зависимость для прогноза наличия HSIL описывается регрессионными коэффициентами:

$$z = -0,368 + 0,184X_{\text{Возраст}} - 0,279X_{\text{терапевтическое лечение в анамнезе}} - 4,253X_{\text{хирургическое лечение в анамнезе}} + 0,372X_{\text{Менархе}} - 0,368X_{\text{Начало половой жизни}} + 0,341X_{\text{число половых партнеров}} + 0,059X_{\text{число лейкоцитов в цервикальном секрете}} - 0,861X_{2 \text{ тип ЗТ}} - 3,754X_{3 \text{ тип ЗТ}} - 1,562X_{\text{кондиломы}} - 3,565X_{\text{ацетобелый эпителий}} - 0,072X_{\text{TLR2}}$$

где $X_{\text{Возраст}}$ – (лет), $X_{\text{терапевтическое в анамнезе}}$ – (0 – есть, 1 – нет), $X_{\text{хирургическое лечение в анамнезе}}$ – (0 – нет, 1 – есть), $X_{\text{Менархе}}$ – (лет), $X_{\text{Начало половой жизни}}$ – (лет), $X_{\text{число половых партнеров}}$ – (чел.), $X_{\text{число лейкоцитов в цервикальном секрете}}$ – (клеток в поле зрения), $X_{2 \text{ тип ЗТ}}$ – (0 – 1 тип, 1 – 2 тип), $X_{3 \text{ тип ЗТ}}$ – (0 – 1 тип, 1 – 3 тип), $X_{\text{кондиломы}}$ – (0 – нет, 1 – есть), $X_{\text{ацетобелый эпителий}}$ – (0 – да, 1 – нет), X_{TLR2} – (OE).

Полученная регрессионное уравнение является статистически значимым ($p < 0,001$). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, уравнение объясняет 64,3% наблюдаемой дисперсии наличия HSIL. При увеличении возраста на 1 год шансы наличия HSIL увеличивались в 1,202 раза. При оценке хирургического лечения в анамнезе шансы наличия HSIL уменьшались при наличии хирургического лечения в анамнезе в 70,29 раза. При увеличении числа половых партнеров на 1 шансы наличия HSIL увеличивались в 1,406 раза. При оценке типа ЗТ шансы наличия HSIL уменьшались при наличии 3 типа ЗТ в 42,683 раза. При оценке наличия ацетобелого эпителия шансы наличия HSIL уменьшались при его отсутствии в 35,35 раза. При оценке зависимости вероятности наличия HSIL от значения логистической функции P с помощью ROC-анализа была получена следующая кривая (Рисунок 27).

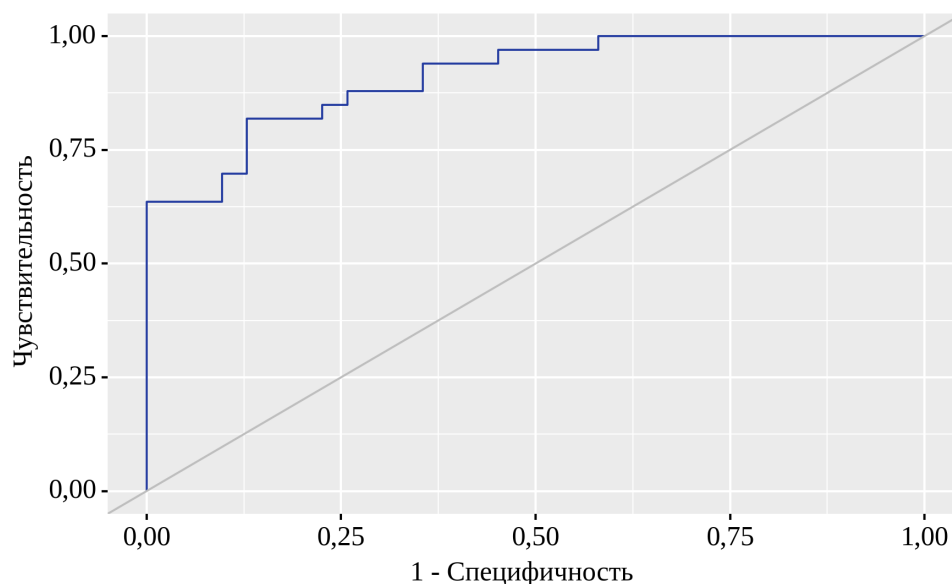


Рисунок 27 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности наличия HSIL от значения логистической функции P

Площадь под ROC-кривой составила $0,911 \pm 0,038$ с 95% ДИ: 0,837 – 0,985. Полученная модель была статистически значимой ($p < 0,001$). Пороговое значение логистической функции P в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 0,537. Наличие HSIL прогнозировалось при значении логистической функции P выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность уравнения составили 81,8% и 87,1%, соответственно.

Наблюдаемая зависимость для прогноза наличия РШМ описывается регрессионными коэффициентами:

$z = -2,579 + 0,081X_{\text{число лейкоцитов в цервикальном секрете}}$, где $X_{\text{число лейкоцитов в цервикальном секрете}}$ – (клеток в поле зрения).

Полученная регрессионное уравнение является статистически значимым ($p = 0,001$). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, уравнение объясняет 23,5% наблюдаемой дисперсии РШМ. При увеличении числа лейкоцитов в цервикальном секрете на 1 клетку в поле зрения шансы наличия РШМ увеличивались в 1,084 раза. При оценке зависимости вероятности наличия РШМ от значения логистической функции P с помощью ROC-анализа была получена следующая кривая (Рисунок 28).

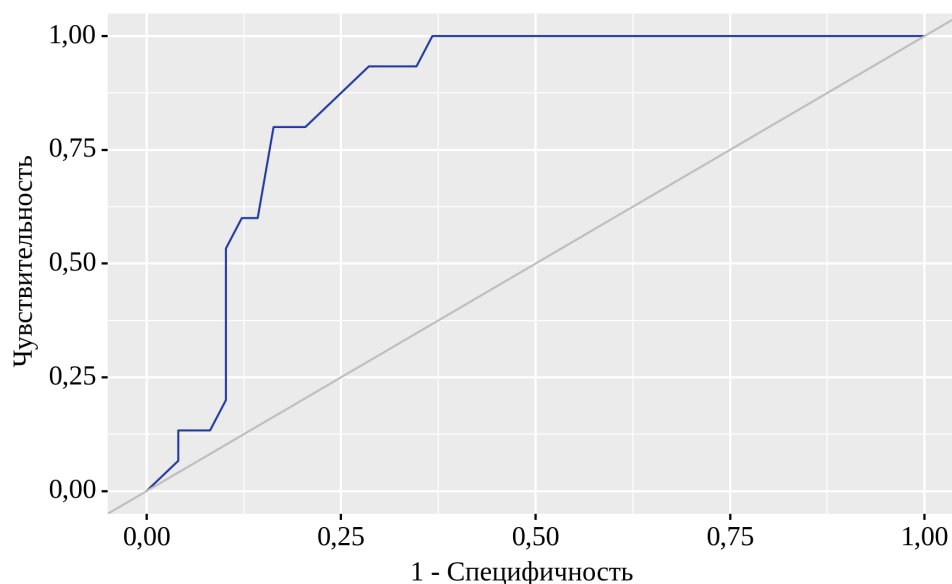


Рисунок 28 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности РШМ от значения логистической функции Р

Площадь под ROC-кривой составила $0,861 \pm 0,064$ с 95% ДИ: 0,736–0,986. Полученная модель была статистически значимой ($p < 0,001$). Пороговое значение логистической функции Р в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 0,204. Наличие РШМ прогнозировалось при значении логистической функции Р выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность уравнения составили 93,3% и 71,4%, соответственно.

Разработанные классификационные уравнения позволяют прогнозировать течение ПВИ шейки матки. Использование описанных выше признаков в сочетании с рассчитанными регрессионными коэффициентами может повысить выявляемость ПВИ с тяжелыми клиническими формами до инвазивного вмешательства. Модель должна быть использована только в сочетании четырёх классификационных уравнений. Уравнение для оценки прогноза наличия ВПЧ может использоваться как само по себе, так и в сочетании с другими.

3.4. Влияние фотодинамической терапии на маркеры мукозального иммунитета, эрадикацию папилломавируса человека и злокачественную трансформацию эпителиальных клеток

Фотодинамическая терапия вызывает окислительный стресс внутри клетки, что провоцирует усиленную репликацию ВПЧ. IFN- γ – продукт антиген-стимулированных лимфоцитов. Наблюдалось увеличение концентрации IFN- γ в цервикальном секрете через 2 часа после ФДТ в 1,5 раза ($p = 0,047$ – критерий Уилкоксона). Следует отметить отсутствие статистически значимых различий между концентрациями IL-1 β , IL-4, IFN- α , TNF- α и sIgA в цервикальном секрете до ФДТ и через 2 часа после ($p > 0,05$ – критерий Уилкоксона). Однако, наблюдали тренд на снижение для TLR2 на 13% и увеличение для TLR4 на 16,7%. Для групп с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением вирус находится в интегрированном состоянии. Максимальная концентрация ФС обнаруживается в злокачественных клетках [2, 11]. При ПВИ с NILM злокачественная трансформация отсутствует. Концентрация ФС в клетках при ПВИ с NILM меньше. ФС накапливается и во внутриклеточных мембранных органеллах. После ФО происходит перекисное окисление не только клеточной мембраны, но и мембран внутриклеточных органелл. Это приводит к активации механизмов клеточной гибели [11]. Механизмы клеточной гибели включают активацию NF- $\kappa\beta$, что приводит к фрагментации ДНК. Через 2 часа после ФДТ не происходит статистически значимой активации экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4, TLR8 ни в одной из исследуемых групп ($p > 0,05$ – критерий Уилкоксона).

Через три месяца после ФДТ происходила нормализация лейкоцитарной реакции в цервикальном секрете – I и II типы для каждой клинической формы ПВИ. Число лейкоцитов в цервикальном секрете (Рисунок 29) статистически значимо снижалось для ПВИ с NILM, с HSIL и РШМ ($p = 0,039$; $p = 0,002$; $p < 0,001$ – критерий Уилкоксона).

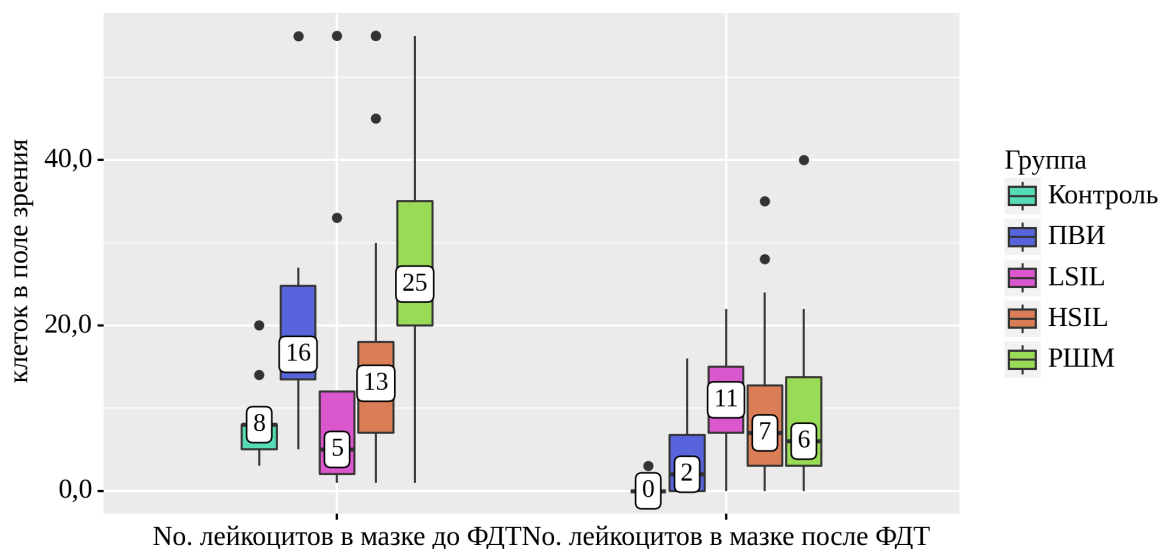


Рисунок 29 – Динамика числа лейкоцитов в цервикальном секрете через 3 месяца после ФДТ

Эрадикация ВПЧ через 3 месяца (Рисунок 30) после ФДТ была достигнута в группах ПВИ с LSIL, HSIL и РШМ ($p = 0,002$; $p < 0,001$; $p < 0,001$ соответственно – критерий Уилкоксона). В группе ПВИ с NILM эрадикация ВПЧ не была статистически значимой ($p = 0,083$ – критерий Уилкоксона).

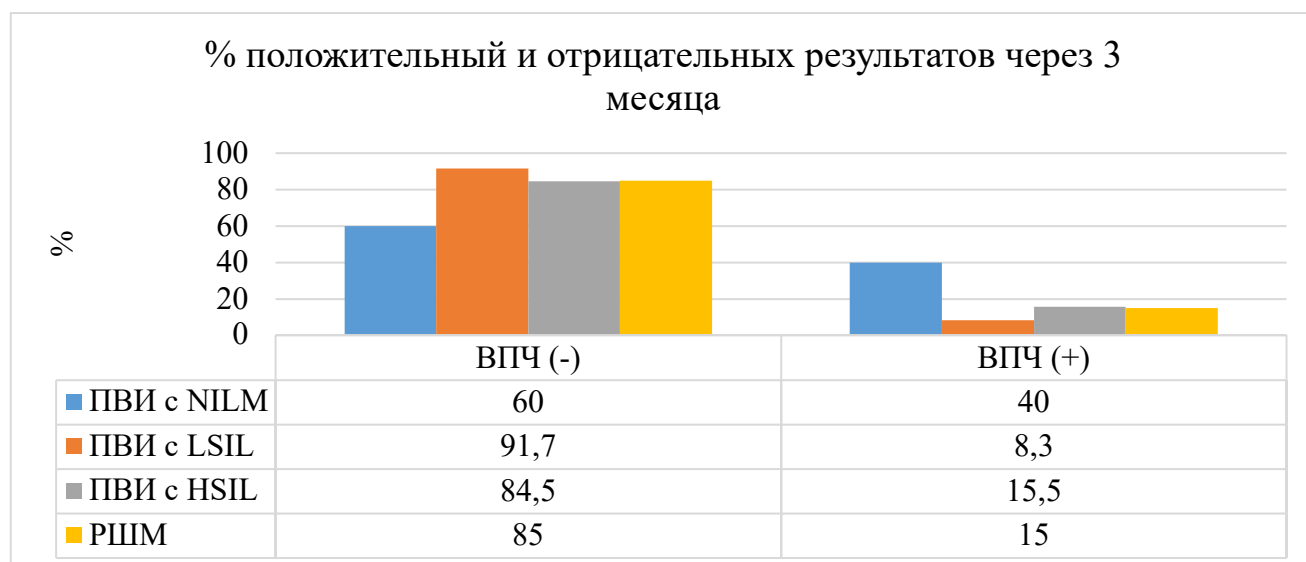


Рисунок 30 – Эрадикация ВПЧ через 3 месяца после ФДТ в зависимости от группы

Достаточно важным был факт, что ФС хуже накапливается в зараженных ВПЧ клетках, не имеющих злокачественной трансформации. Об этом свидетельствуют наихудшие результаты эрадикации ВПЧ в группе ПВИ с NILM. При оценке влияния ФДТ на злокачественную трансформацию эпителиальных клеток было обнаружено, что в группе ПВИ с NILM через 3 месяца обнаруживаются реактивные изменения в

клетках, не имеющих признаков атипии. В остальных группах (Рисунок 31) был достигнут терапевтический эффект в отношении злокачественной трансформации ($p < 0,001$; – критерий Уилкоксона).

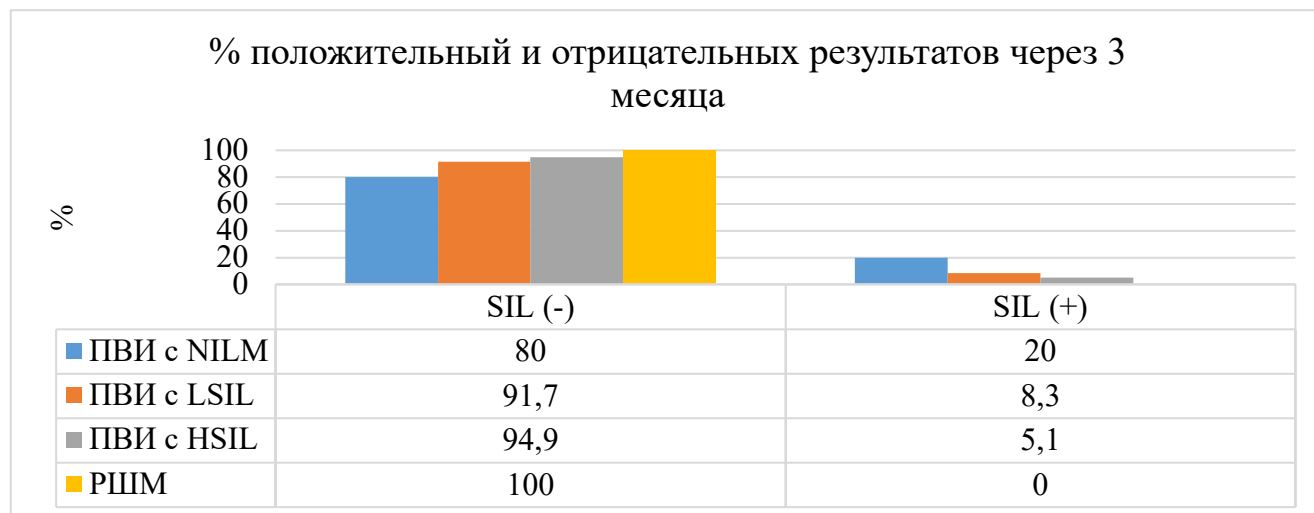


Рисунок 31 – Противоопухолевый эффект ФДТ через 3 месяца

Оценка отдаленных результатов ФДТ проводилась на выборке из 1075 пациенток ретроспективно. Пациентки были разделены также на 4 группы (Рисунок 32): ПВИ с NILM ($n = 150$), ПВИ с LSIL ($n = 171$), ПВИ с HSIL ($n = 571$), РШМ ($n = 183$).



Рисунок 32 – Распределение пациенток по группам из ретроспективной части исследования

ФДТ-индуцированный противовирусный (Рисунок 33) и противоопухолевый (Рисунок 34) ответ оценивались с использованием кривой безрецидивной выживаемости (60-месячный период) в зависимости от группы по методу Каплана-

Мейера и регрессии Кокса. Анализ показал, что медиана безрецидивного периода в группах ПВИ с NILM, ПВИ с LSIL, ПВИ с HSIL и РШМ не была достигнута.

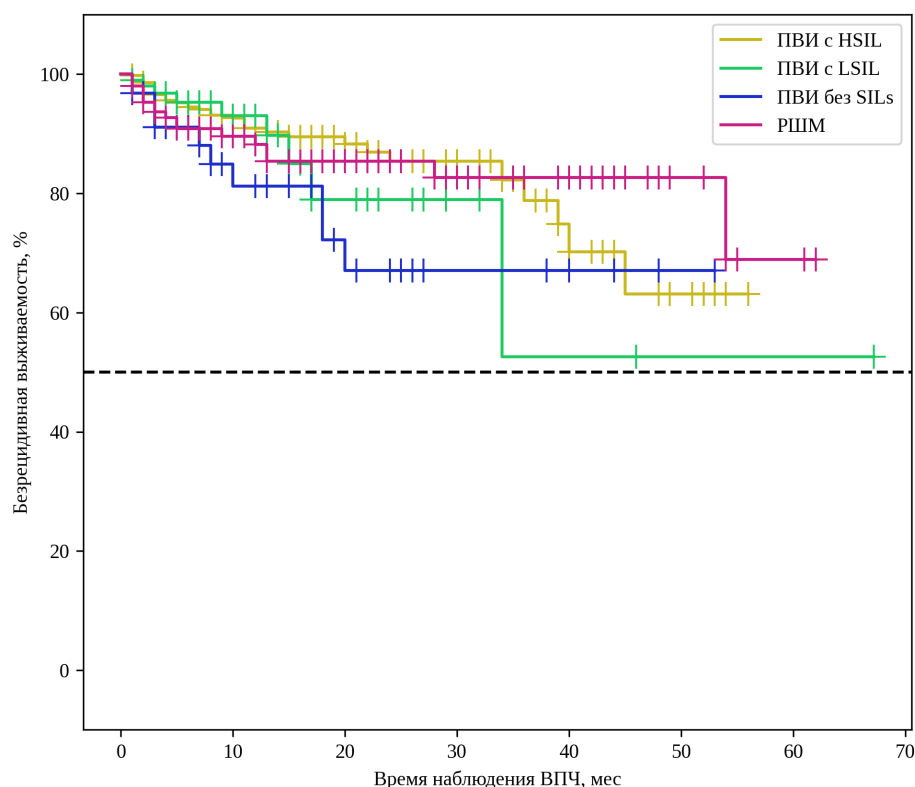


Рисунок 33 – Кривая безрецидивного периода ПВИ в зависимости от группы

Отсутствие пересечения кривыми пунктирной линии (медианы безрецидивной выживаемости) свидетельствует о том, что проведенная фотодинамическая терапия эффективна в эрадикации ПВИ. Хуже всего поддается эрадикации группа ПВИ с LSIL. Самая большая вероятность рецидива наступает через 32 месяца после ФДТ. Более 45% пациенток из этой группы имели рецидив. Для группы ПВИ с NILM критическим периодом до наступления рецидива более чем в 20% случаев был 18-й месяц. 80% пациенток с РШМ имели безрецидивный период более 50 месяцев. Для группы ПВИ с HSIL такой процент держался до 32 месяцев. Для групп ПВИ с NILM, ПВИ с HSIL и РШМ наблюдается 60-месячная безрецидивная выживаемость в 68%, 63% и 70% соответственно в эрадикации ПВИ.

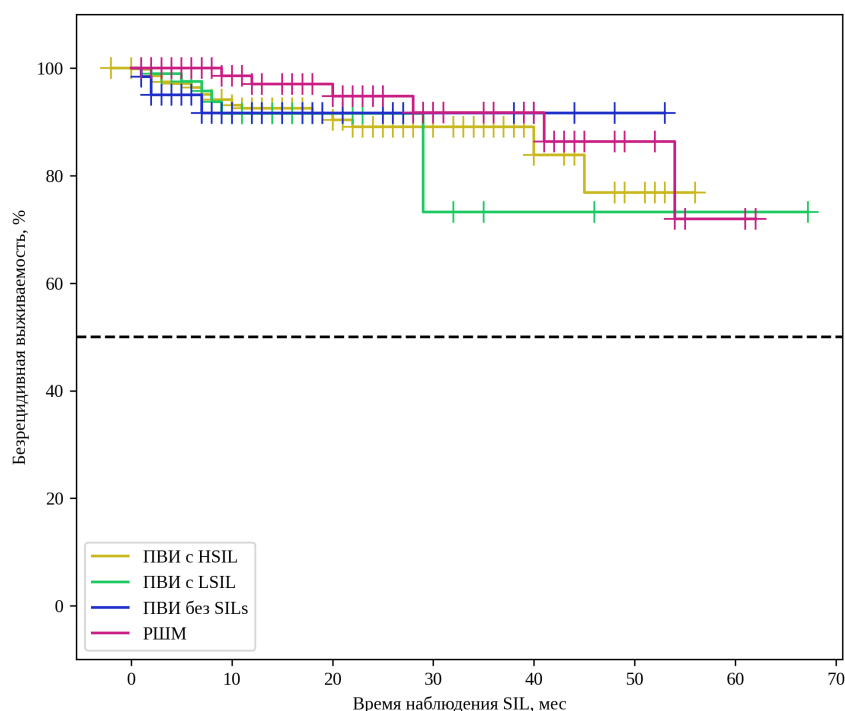


Рисунок 34 – Кривая безрецидивного периода SILs в зависимости от группы

Отсутствие пересечения кривыми пунктирной линии (медианы безрецидивной выживаемости) свидетельствует о том, что проведённая ФДТ эффективна и в устранении злокачественной трансформации эпителиальных клеток шейки матки. Хуже всего поддаются устранению группы ПВИ с LSIL и РШМ. Самая большая вероятность рецидива наступает через 30 и 52 месяца после ФДТ соответственно. 30% пациенток из этих группы имели рецидив к данным периодам наблюдения. Для группы ПВИ с NILM периодом появления реактивных изменений более чем в 10% случаев был 10-й месяц. Более 80% пациенток из группы ПВИ с HSIL имели безрецидивный период 40 месяцев. Для групп ПВИ с NILM, ПВИ с LSIL, ПВИ с HSIL и РШМ наблюдается 60-месячная безрецидивная выживаемость в 90%, 73%, 77% и 70% соответственно в устранении злокачественной трансформации эпителиальных клеток.

Таким образом, в результате ретроспективного исследования были получены данные о достоверном влиянии ФДТ на эрадикацию ВПЧ и устранение злокачественной трансформации эпителиальных клеток шейки матки. Что актуализирует исследование эффективности фотодинамической терапии ПВИ шейки матки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Женский генитальный тракт является сложной системой с множеством биохимических и биофизических взаимосвязей, от баланса которых зависит самочувствие женщины. Нижняя часть представлена экзоцервиксом и вагиной. Эта область представляет наибольший интерес для исследований, так как она постоянно подвергается действию различных физических, химических и биологических факторов. В норме микрофлора влагалища представлена *Lactobacillus spp.* и может изменяться в процессе развития различных физиологических [184] и патологических состояний. При повышении pH более 4,5 происходит снижение концентрации *Lactobacillus spp.*, начинает превалировать условно-патогенная и патогенная флора. Развивается одно из патологических состояний – бактериальный вагиноз. Это приводит к повышенной восприимчивости данной области к другим инфекциям, передающихся половым путем. Одной из таких инфекций является папилломавирусная (ПВИ). Предыдущие исследования показывают, что существует тесная корреляция между бактериальным вагинозом и персистенцией ВПЧ высокого онкогенного риска. Исследование, которое было проведено Gillet et al. 2011, показало, что пациентки с бактериальным вагинозом более склонны к ПВИ высокого онкогенного риска [81]. В то же время бактериальный вагиноз приводит продолжительной нерегрессирующей ПВИ высокого онкогенного риска [88].

Исследования в области метаболомики влагалища выявили различия у ВПЧ негативных и ВПЧ позитивных женщин. Такие метаболиты, как биогенные амины, глутатион и метаболиты, связанные с липидами, тесно коррелировали с отсутствием ВПЧ [34]. В исследовании Lagenaur et al. 2021 была показана тесная связь *L. Crispatus*, продуцирующих перекись водорода, со здоровым состоянием влагалища [126].

Rodriguez-Cerdeira et al. 2012 предположили, что *G. vaginalis* один из основных микроорганизмов у ВПЧ-позитивных женщин. Это подтвердили исследования с использованием секвенирования нового поколения [158, 212]. Имеются данные о том, что снижение содержания *Sneathia spp.* является маркером ВПЧ инфекции. Keller et al. 2015 доказали, что ВИЧ потенцирует действия ВПЧ 16 типа [113]. HSIL при ПВИ регистрируется в 13 раз чаще с ВИЧ инфекции, чем при её отсутствии.

При активном течении ПВИ шейки матки каскад противовирусных и противоопухолевых иммунных реакций, лежащих в основе естественного иммунного ответа, разворачивается на локальном уровне вне зависимости от локализации антигена, и лишь срыв компенсаторных механизмов приводит к реализации системного противовирусного и противоопухолевого иммунного ответа. Это указывает на важную роль ВПЧ в угнетении иммунитета, а в особенности клинических форм ПВИ [197]. Murphy et al. 2016 и Gosmann et al. 2014 показали, что при бактериальном вагинозе происходит повышение уровня IL-1b и снижается уровень IL-17 [87, 150]. В наше исследование были включены пациентки с отсутствием клинически значимой концентрации бактериальной флоры (*Enterobacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp.), облигатно-анаэробных микроорганизмов (*Gardnerella vaginalis*; *Prevotella bivia*; *Porphyromonas* spp.; *Eubacterium* spp.; *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp.; *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp.; *Lachnobacterium* spp. + *Clostridium* spp.; *Mobiluncus* spp. + *Corynebacterium* spp.; *Peptostreptococcus* spp.; *Atopobium vaginae*; *Mycoplasma hominis*; *Ureaplasma urealyticum* + *parvum*; *Mycoplasma genitalium*) и *Candida* spp. в урогенитальном соскобе. При анализ концентрации IL-1b в цервикальном секрете в зависимости типа инфицированности ВПЧ (нет активной ПВИ, моноинфицированность, полиинфицированность) у SIL+ пациенток не было обнаружено статистически значимых различий ($p > 0,05$ – F-критерий Фишера). Предыдущие исследования обнаружили отрицательное влияние ВПЧ на активность TLR9 [197]. Однако в данном исследовании не уточняется тяжесть плоскоклеточного интраэпителиального поражения (SIL), при котором происходил забор биологического материала с шейки матки. Это требует дополнительного изучения экспрессии TLR9.

Нами изучалась экспрессия мРНК TLR2, TLR3, TLR4, TLR8 в соответствии со степенью тяжести плоскоклеточного интраэпителиального поражения. Доказано, что при ПВИ с LSIL регистрируется максимальный уровень экспрессии мРНК TLR8, 4, 2. Показано, что максимальный уровень экспрессии мРНК TLR3 регистрируется при ПВИ с NILM. TLR3 статистически значимо прямо коррелирует с вирусной нагрузкой ведущего типа ВПЧ. Максимальный средний уровень экспрессии был у TLR3 при

отсутствии активной ПВИ, моноинфицированности и полиинфицированности ВПЧ. Медианное значение экспрессии мРНК было статистически значимо выше при моноинфицированности для TLR2, TLR3, TLR4, TLR8. Стоит отметить, что в нашем исследовании подтверждено, что у молодых пациенток экспрессия мРНК TLRs имеет более высокие значения.

С ростом числа половых партнеров (от 5 и более) происходит заметное снижение экспрессии мРНК TLR2 и TLR8. Примечательно, что пациентки, имеющие зарегистрированную гинекологическую инфекцию в анамнезе, имеют пониженную экспрессию мРНК TLR2. Таким образом, можно сказать, что на TLR8 не влияет хроническое воспаление или его активность подвержена восстановлению.

Определено, что TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 участвуют в распознавании нуклеиновых кислот вирусов. Примечательно, что развитие злокачественной трансформации сопровождается уже повышенной экспрессией других TLRs, главным образом TLR2 и TLR4 [205, 206, 217]. Нам удалось определить, что TLR8 имеет максимальную экспрессию при ПВИ с LSIL. Zidi et al. исследовали экспрессию мРНК TLR2, TLR3, TLR4, TLR9 при различных стадиях (I-IV) РШМ [217]. Авторами было обнаружено, что максимальная экспрессия TLRs наблюдается при III–IV стадиях, чем при I–II. В наше исследование были включены пациентки с ранним (0-I стадии) раком шейки матки. Данная группа имеет пониженную экспрессию TLRs по сравнению с ПВИ с NILM и ПВИ с LSIL. При ПВИ с HSIL происходит их угнетение. В исследовании экспрессии TLR9 эпителиальных клеток при РШМ Hasan et al. 2007 показали, что ВПЧ 16 и 18 типа приводят к угнетению, в то же время ВПЧ низкого онкогенного риска не вызывают подобный эффект [94]. Они предполагают, что угнетение TLRs не является частью ускользания ВПЧ от иммунного ответа, а составляет каскад реакций, усиливающих злокачественную трансформацию. Этот механизм остается дискуссионным. В работах Kim et al. 2008a и Lee et al. 2007 описывается другая ситуация. Наблюдается повышенная экспрессия мРНК TLR5 и TLR9 в эпителиальных клетках с тяжелой степенью SIL и раком шейки матки, а в здоровых клетках или с легкой степенью SIL экспрессия мРНК TLR5 и TLR9 минимальна или вовсе отсутствует [117, 130]. Такое различие в данных может свидетельствовать о влиянии полиморфизмов генов ответственных за экспрессию

TLRs. Yu et al. описывают снижение экспрессии мРНК TLR4 с увеличением степени тяжести SIL [211]. Наши данные полностью согласуются с вышеописанными. Снижение экспрессии мРНК TLR4 связывают с интеграцией ДНК ВПЧ в ДНК клетки хозяина, что наблюдается с гиперэкспрессией p16ink4a при ПВИ с LSIL.

При инфицировании ВПЧ и его персистенции клинически обнаруживается ацетобелый эпителий. Его появление обусловлено проникновением уксусной кислоты через мембрану инфицированной клетки и денатурацией цитоплазматических белков. ВПЧ оказывает локальное иммуносупрессирующее действие. При обнаружении ацетобелого эпителия на поверхности шейки матки происходит снижение степени выраженности инфильтрации ИКК экзоцервикса. Нами обнаружена повышенная экспрессия мРНК TLR2 и TLR 4 при выявлении ацетобелого эпителия на поверхности шейки матки. IndGV, который количественно оценивает значение интенсивности ацетобелого эпителия, прямо коррелирует не только с экспрессией мРНК TLR2 и TLR 4, но и TLR3.

Иммуносупрессивное действие ВПЧ подтверждается анализом зависимости содержания лейкоцитов в цервикальном секрете в зависимости от продолжительности ПВИ. Также снижает реактивное состояние, нарастает иммунная недостаточность при клинической оценке расширенной лейкоцитарной формулы. Течение инфекции имеет восходящий характер относительно женского генитального тракта. Наблюдается смещение иммунологической активности по мере инфицирования эпителиального пласта. Повышенное содержание лейкоцитов в цервикальном секрете регистрировалось при наличии ацетобелого эпителия на поверхности шейки матки. Это подтверждает и прямая зависимость с вирусной нагрузкой. Дополнительно обнаружена корреляция числа лейкоцитов в цервикальном секрете с IndGV. Примечательно, что ацетобелый эпителий чаще регистрируется в сочетании с кондиломами, однако наличие кондилом не оказывает никакого влияния на экспрессию мРНК TLRs. Вовлечение клеток врожденного иммунитета в ответ на инфицирование ВПЧ подтверждает и тот факт, что число лейкоцитов в цервикальном секрете имеет прямую зависимость с числом клеток врожденного иммунитета в системном кровотоке. Обнаружено статистически значимое снижение уровня лимфоцитов в системном кровотоке при изучении персистенции 16 типа ВПЧ.

Интересен и другой факт, что отсутствует разница между экспрессией TLRs в зависимости от типа эпителия. Зона трансформации (ЗТ) является границей между плоским и железистыми эпителиями, а сама она представлена метапластическим эпителием. При 1-м типе она смещается в сторону экзоцервикса, где в свою очередь обнаруживаются клетки железистого эпителия. 3-й тип характеризуется тем, что граница смещена в цервикальный канал, а поверхности шейки матки представлена плоским эпителием. 2-й тип является промежуточным вариантом. В данной работе при анализе экспрессии TLRs в зависимости от типа ЗТ не удалось обнаружить статистически значимых различий.

Данные, описанные в литературе, и наши собственные, позволяют говорить о волнообразном течении ПВИ. При каждой клинической форме ПВИ происходит активация различных типов TLRs. Имеются данные и полиморфизме генов ответственных за экспрессию TLRs у женщин различных популяций [29, 69, 153, 216, 217]. Для формирования полноценной картины течения ПВИ шейки матки в соответствии с экспрессией генов TLRs необходимо проведение более комплексных исследований, включающих анализ и их полиморфизма.

Первичная профилактика ПВИ базируется на вакцинации девочек до начала половой жизни. На сегодняшний день имеются вакцины от 6, 11, 16 и 18 типов ВПЧ. Отмечено, что вакцины могут формировать перекрестный иммунитет против 6 и 11 типов ВПЧ. Иммунитет сохраняется в среднем на протяжении 5 лет. Роль ВПЧ 16 и 18 остается главной в развитии РШМ. Однако и другие типы ВПЧ также приводят к РШМ. Так, в нашем исследовании (ретроспективной части) установлено, что 14% в группе РШМ имеет отличный от 16 и 18 типов ВПЧ. Процент женщин, которым вакцинация от ВПЧ не поможет достаточно велик. А если посмотреть на роль 16 и 18 типов ВПЧ в первичном инфицировании, то она составляет 53,9% случаев (по нашим данным). Еще порядка 5% женщин получают перекрестный иммунитет к 6 и 11 типам ВПЧ в группе ПВИ с NILM. 40% женщин останутся неохваченными. Появляются данные о 9-валентных вакцинах, но в РФ зарегистрированы только би- и квадριвалентные. Данные по их эффективности остаются дискуссионными. Вторичная профилактика РШМ базируется на профилактических гинекологических осмотрах, цитологических исследованиях мазка шейки матки и ВПЧ-тестировании.

При проведенном нами независимом анонимном анкетировании с использованием сервиса «Google Forms» 760 женщин из города Москвы с возрастом 18+ было выявлено, что профилактический осмотр проходят 41,1% женщин 1 раз в год. 32,5% посещают гинеколога 1 раз в 6 месяцев. Порядка 8,6% посещают 1 раз в 3 месяца. 17,9% посещают не чаще 1 раза в 2 года. Из всей выборке лишь 40,5% женщин проходит тест на ВПЧ. Цитологическое исследование проводят в 73,5% случаев. Практически все женщины (95,5%) проходили визуальный осмотр наружных половых органов и шейки матки. Однако только половине из них было проведено кольпоскопическое исследование.

Данные проведенного анкетирования находятся в открытом доступе (<https://clck.ru/sMLhZ>) и не содержат персональной информации. Использование классификационного уравнения для прогнозирования наличия ВПЧ будет способствовать повышению настороженности врача-клинициста на 31,8%. Это может увеличить обнаружение ВПЧ при отсутствии аномальных изменений при визуальном осмотре. Дополнительное определение мРНК TLR2, TLR3, TLR4, TLR 8 в сочетании с цифровым анализом кольпоскопического изображения позволит выявить на 63,3% больше пациенток, которые подлежат цитологическому скринингу. Классификационные уравнения имеют высокую чувствительность и специфичность с достоверным уровнем надежности ($p < 0,05$). Это позволит снизить частоту необоснованных инвазивных диагностических вмешательств.

При обнаружении клинической формы ПВИ шейки матки пациентки должны получить соответствующее лечение. Однозначных данных по эффективности лечения ПВИ шейки матки каким-либо методом нет. Используются лекарственные препараты, направленные на активацию противовирусного иммунного ответа и снижение репликации вируса. В нашем исследовании около 38,4% пациенток имели терапевтическое лечение в анамнезе. Хирургические методики лечения используют как органосохраняющую тактику в объеме конусовидной резекции шейки матки (при ПВИ с LSIL, HSIL), так и радикальное её удаление (РШМ). Рецидивирующее течение ПВИ после хирургических вмешательств колеблется от 30 до 70% [33, 42, 51, 100]. Нами обнаружено, что 31,5% пациенток имели хирургическое вмешательство

различной степени. Новым перспективным направлением терапии папилломавирусной инфекции являются агонисты TLR4 [84].

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является альтернативой существующих методик лечения. Проведение ФДТ не требует инвазивного вмешательства, а в последствии происходит сохранение репродуктивной функции. ФДТ участвует в инициации противовирусного и противоопухолевого иммунного ответа [22, 70, 148, 149]. Из негативных последствий ФДТ можно выделить атрезию цервикального канала, которая корригируется в момент ее обнаружения. Частота рецидивов колеблется от 10 до 30% случаев в зависимости от периода наблюдения и характеристики рецидива (возврат ВПЧ или SIL). Нами доказана клиническая эффективность ФДТ в эрадикации ВПЧ и злокачественной трансформации эпителиальных клеток. При оценке фотодинамического действия в потенцировании иммунного ответа было обнаружено, что повышается концентрация IFN- γ в цервикальном в 1,5 раза через 2 часа после ФДТ. При проведении аналогичного исследования ФДТ немеланомного рака кожи [18] не было обнаружено статистически значимого повышения концентрации IL-2, IL-6 и TNF- α через 2 часа. Для IL-1 β был обнаружен статистически значимый прирост концентрации через 1 час. В нашем исследовании для IL-1 β , -4, IFN- α , TNF- α и sIgA не было определено статистически значимого повышения или снижения концентрации через 2 часа после ФДТ. Уровень экспрессии мРНК TLRs через 2 часа после ФДТ не имел статистически значимых различий. Исходя из полученных данных можно сказать, что ФДТ-индуцированный иммунный ответ развивается в более поздние сроки. Результаты клинической оценки ФДТ-индуцированного противовирусного и противоопухолевого иммунного ответа это подтверждают. В проспективной части исследования было показано, что ПВИ с SIL имела максимальный эффект от ФДТ как для эрадикации ВПЧ, так и злокачественной трансформации эпителиальных клеток (85+% эффективность суммарно для всех групп). В ретроспективной оценке более 70% пациенток с различными клиническими формами ПВИ шейки матки и более 50% пациенток не имеют SIL и ВПЧ. Для оценки был принят 12+ месяцев безрецидивный период. Нами установлено, что эффективность лечения зависит от степени поражения. Лучшее всего результаты лечения были получены для группы ПВИ с HSIL. Три компонента

основных компонента ФДТ: кислород, энергия света и фотосенсибилизатор (ФС). Свет имеет неизменные характеристики, которые передаются на ткань шейки матки. Зависимыми переменными являются кислород и ФС. Следовательно, в отношении данных компонентов должны строиться дальнейшие исследования для улучшения эффективности терапии.

Для внедрения полученных результатов в сферу образовательно-практического здравоохранения разработаны: учебно-методическое пособие, программа для ЭВМ. Программа позволяет использовать результаты предиктивного анализа для оценки течения инфекционного процесса шейки матки. В пособие подробно изложен алгоритм проведения фотодинамической терапии.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Полученные результаты могут быть использованы в современной фундаментальной и/или клинической медицине и являются частью персонализированной медицины, которая эффективна при выявлении групп риска и прогнозировании развития нозологии для коррекции профилактических и лечебных мероприятий с учетом персональных особенностей пациента. В результате проведенной работы собрана база данных кольпоскопических изображений с разрешением в высоком качестве, разработана полезная модель для скрининга патологии наружных и внутренних половых органов у женщин, а также программа для оценки состояния мукозального иммунитета шейки матки. Все это позволяет использовать отработанный алгоритм сбора данных для наращивания объема материала и создания автоматизированной системы для комплексной диагностики и профилактики РШМ.

ВЫВОДЫ

1. При папилломавирусной инфекции (ПВИ) шейки матки максимальный уровень экспрессии мРНК TLR2, TLR4 и TLR8 в мазке-соскобе с экзоцервикса зарегистрирован у больных с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением легкой степени (LSIL), TLR3 – у пациентов без плоскоклеточного интраэпителиального поражения (NILM). При плоскоклеточном интраэпителиальном поражении тяжелой степени (HSIL) экспрессия мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 снижалась.

2. При ПВИ с HSIL и раке шейки матки (РШМ) доказана более выраженную инфильтрацию экзоцервикса лимфоидными клетками и нейтрофилами, чем у больных ПВИ шейки матки с NILM; при LSIL степень инфильтрации этими клетками варьировала в широком диапазоне. В цервикальном секрете у больных РШМ и ПВИ с NILM число лейкоцитов увеличивалось в большей степени, чем при LSIL и HSIL. В венозной крови число лейкоцитов у пациентов с РШМ было на 20,5% ниже, чем у здоровых доноров; у пациентов с ПВИ количество лейкоцитов уменьшалось по мере роста степени плоскоклеточного поражения, но даже у больных с HSIL статистически значимо не отличалось от условной нормы.

3. У больных ПВИ шейки матки площадь поражения экзоцервикса по данным йодной пробы Шиллера с последующей цифровой обработкой кольпоскопических картин увеличивалась с ростом степени интраэпителиального поражения: NILM → LSIL → HSIL → РШМ.

4. У больных ПВИ шейки матки экспрессия мРНК TLR3 в мазке-соскобе с экзоцервикса находилась в прямой корреляционной связи с вирусной нагрузкой ($r_s = 0,43$), числом лейкоцитов в цервикальном секрете ($r_s = 0,29$) и площадью поражения эпителия экзоцервикса, оцениваемой йодной пробой Шиллера с цифровой обработкой кольпоскопических картин ($r_s = 0,37$). Площадь поражения эпителия экзоцервикса, определенная вышеуказанным способом, коррелировала с числом лейкоцитов в цервикальном секрете ($r_s = 0,26$), экспрессией мРНК TLR2 ($r_s = 0,31$) и TLR4 ($r_s = 0,29$) в образцах с поверхности шейки матки. Вирусная нагрузка была прямо связана с числом лейкоцитов в цервикальном секрете ($r_s = 0,29$), а также абсолютным числом

нейтрофилов крови ($r_s = 0,23$). Экспрессия TLR8 в мазке-соскобе с экзоцервикса прямо коррелировала с абсолютным числом моноцитов крови ($r_s = 0,28$).

5. На характер клинического течения ПВИ шейки матки влияют следующие признаки, которые могут учитываться при математическом прогнозировании: возраст; наличие жалоб, с которыми больные ПВИ обращаются к врачу; начало половой жизни; число половых партнеров; наличие терапевтического и хирургического лечения шейки матки в анамнезе; наличие иных гинекологических заболеваний или инфекций в анамнезе; тип зоны трансформации; число лейкоцитов в цервикальном секрете; экспрессия мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 в мазке-соскобе с экзоцервикса; интегральный цифровой индекс (IndGV), отражающий площадь поражения эпителия экзоцервикса по данным уксусной и йодной проб; наличие ацетобелого эпителия; наличие кондилом.

6. Разработана математическая модель клинического течения ПВИ шейки матки на основе четырёх классифицирующих уравнений для прогноза наличия: вируса папилломы человека (ВПЧ), плоскоклеточного интраэпителиального поражения, HSIL и РШМ. Модель позволяет увеличить настороженность клинициста в отношении наличия ВПЧ на 31,8% и наличия плоскоклеточного интраэпителиального поражения на 63,3%.

7. Во всех группах больных ПВИ шейки матки с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением через 3 месяца после фотодинамической терапии (ФДТ), направленной на цервикальный канал и экзоцервикс, снижалась доля ВПЧ-положительных лиц; при этом вирусологическая эффективность ФДТ была выше у пациенток с LSIL, чем у таковых с HSIL и РШМ. В группе больных ПВИ без плоскоклеточных интраэпителиальных поражений (NILM) через 3 месяца после ФДТ выявлена лишь тенденция к снижению числа ВПЧ-положительных лиц. Доля пациентов без признаков злокачественной трансформации эпителиоцитов в мазках-соскобах с экзо- и эндоцервикса через 3 месяца после ФДТ была выше в группах с более высокой исходной степенью интраэпителиального поражения шейки матки. У 1/5 больных с NILM через 3 месяца после фотооблучения выявляли реактивные изменения в эпителиоцитах без признаков атипии.

8. Через 2 часа после завершения сеанса ФТД концентрация IFN- γ в цервикальном секрете была выше исходных значений в 1,5 раза; статистически значимых изменений уровня IL-1 β , IL-4, IFN- α , TNF- α и sIgA не выявили. ФДТ также не изменяла экспрессию мРНК TLR3 и TLR8 в мазке-соскобе с экзоцервикса, вместе с тем наблюдали тенденцию к снижению экспрессии мРНК TLR2 и увеличению экспрессии мРНК TLR4.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

В соответствии с изложенными результатами проведенного исследования разработан алгоритм (Рисунок 35) проведения клинико-иммунологического мониторинга ПВИ шейки матки.

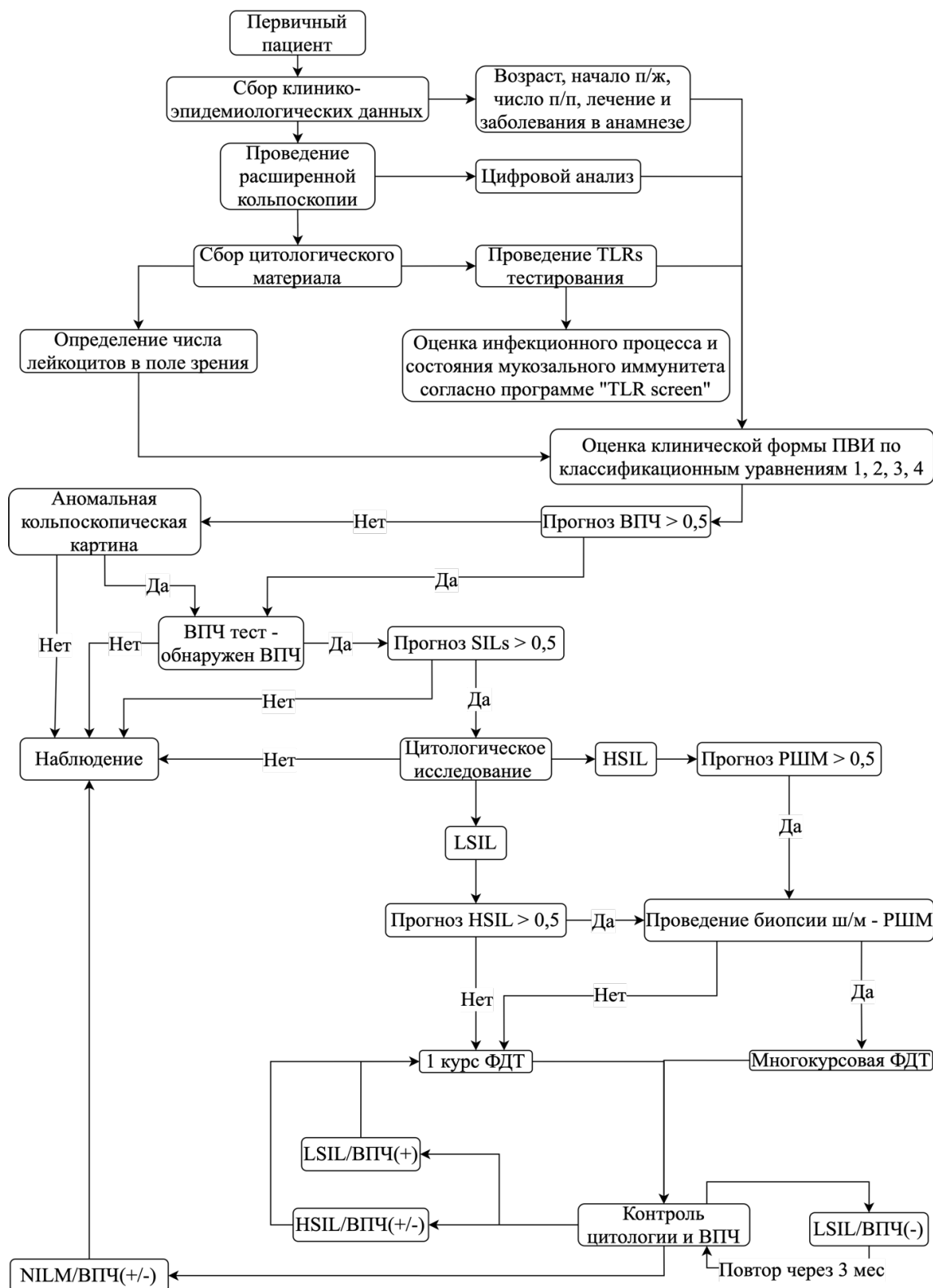


Рисунок 35 – Алгоритм иммунологического мониторинга

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

CD – кластер дифференцировки

CIN – цервикальная интраэпителиальная неоплазия

c-Myc – протоонкоген семейства MYC

DAMPs – damage-associated molecular patterns

EGFR – рецептор эпидермального фактора роста

eIF2a – эукариотический фактор инициации трансляции 2A

gMDSCs – гранулоцитарные миелоидные клетки-супрессоры

GMP – монофосфат гуанозина

HDN - нейтрофилы с высокой плотностью

HIF-1 – гипоксией индуцирующий фактор 1

HPV – human papillomavirus

HR – высокого онкогенного риска

HSIL – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение тяжелой степени

Hsp – белок теплового шока

IACO – International Agency for Cancer Observatory

ICD – иммуногенная гибель

ICO/IARC - Catalan Institute of Oncology/International Agency for Research on Cancer

Ig – иммуноглобулины

IFN - интерфероны

IL – интерлейкины

IndGV – интегральный цифровой индекс, отражающий площадь поражения эпителия экзоцервикса по данным уксусной и йодной проб

LLR – лизин-лизин повторы

LSIL – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение легкой степени

MAP – митоген-активируемая протеинкиназа

MCP-1 - белок-1 хемотаксиса моноцитов

MMP – матричная металлопептидаза

MPO – металлопероксидаза

MyD88 – цитозольный адаптерный белок, участвующий в передаче сигнала от TLRs

NLR – NOD-подобные рецепторы

NLRP3 – NOD-like рецептор ругin 3
NF- κ B – ядерный фактор каппа легких цепей, активирующий В-клетки
p16 – ингибитор циклин-зависимой киназы 2A
p53 – клеточный опухолевый антиген
PAMPs – pathogen-associated molecular patterns
pH – водородный показатель
PL2L – PIWIL2-подобные белки
PRRs – паттерн-распознающие рецепторы
RGB – red, green and blue
Rg ОГК – рентгенография органов грудной клетки
RLR – RIG-I-подобные рецепторы
SIL – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение
SR – скавенджер-рецептор
TAMs - опухоль-ассоциированные макрофаги M2
TAN – противоопухолевые нейтрофилы
TAP – переносчик антиген-презентации 1
TGF- β – трансформирующий фактор роста β
TIR – Toll-интерлейкин-1 рецептор
TNF – фактор некроза опухолей
TRAF – цитозольный адаптерный фактор, связанный с рецепторов TNF
TLR – Toll-подобные рецепторы
TRIF – TIR адаптер индуцирующий ИНФ- β
VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста
АБЭ – ацетобелый эпителий
АПК – антиген-презентирующие клетки
АФК – активные формы кислорода
БХАК – биохимический анализ крови
ВИ – воспалительные изменения
ВОЗ – всемирная организация здравоохранения
ВПГ – вирус простого герпеса
ВПЧ – вирус папилломы человека

ДИ – доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЗТ – зона трансформации

ИГХ – иммуногистохимическое исследование

ИКК – иммунокомпетентные клетки лимфоидного ряда и нейтрофилы

ИСНЛ – индекс соотношения нейтрофилов к лимфоцитам

ИППП – инфекции, передаваемые половым путем

ИФА – иммуноферментный анализ

ЛПС – липополисахарид

МКБ – международная классификация болезней

МРТ ОМТ – магнитно-резонансная томография органов малого таза

ОАК – общий анализ крови

ОАМ – общий анализ мочи

ПВИ – папилломавирусная инфекция

ПО – программного обеспечение

п/п – половые партнеры

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

РШМ – рак шейки матки

СПОЛ – свободно-радикальное перекисное окисление липидов

УЗИ ОМТ – ультразвуковое исследование органов малого таза

ФД – флуоресцентная диагностика

ФДТ – фотодинамическая терапия

ФО – фотооблучение

ФС – фотосенсибилизатор

ФХР – фотохимическая реакция

ЭКГ – электрокардиография

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Афанасьев М.С. [и др.]. Роль врождённого иммунитета в патогенезе, молекулярно-генетические механизмы диагностики и лечения при урогенитальной инфекции женщин / Афанасьев М.С., Караулов А.В., Алешкин А.В., Бондаренко Н.Л., Воропаева Е.А., [и др.], под ред. Афанасьев М.С., Караулов А.В., Алёшкин А.В., 1-е изд., Москва: Династия, 2019. 288 с.
2. Афанасьев М.С. [и др.]. Материалы IX Международного конгресса «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика» // BIOMEDICAL PHOTONICS. 2020. № 4s (9). С. 5–62.
3. Афанасьев М.С., Душкин А.Д., Афанасьев С.С. Устройство для скрининга патологии наружных и внутренних половых органов у женщин // 2022. С. 1–12.
4. Афанасьев С.С. [и др.]. Способ прогнозирования течения беременности при урогенитальной инфекции // 2019. С. 15.
5. Афанасьев С.С. [и др.]. Способ оценки состояния мукозального иммунитета при урогенитальной инфекции у беременных // 2019. С. 16.
6. Афанасьев С.С. [и др.]. Способ оценки выраженности инфекционности процесса при урогенитальной инфекции у беременных // 2019. С. 15.
7. Афанасьев С.С. [и др.]. Способ определения степени дисплазии шейки матки // 2021. С. 20.
8. В.А. Алёшкин [и др.] Микробиоценозы и здоровье человека / под ред. В.А. Алёшкина, С.С. Афанасьева, А.В. Караулова, 1-е изд., Москва: Династия, 2015. 548 с.
9. Всемирная организация здравоохранения Рак шейки матки // Информационные бюллетени [Электронный ресурс]. URL: [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/human-papillomavirus-\(hpv\)-and-cervical-cancer](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/human-papillomavirus-(hpv)-and-cervical-cancer) (дата обращения: 22.02.2022).
10. Залетаев Д.В., Немцова М.В., Бочков Н.П. Метилирование ДНК как этиологический фактор канцерогенеза // Вестник Российской академии медицинских наук. 2002. № 4. С. 6–11.
11. Караулов А.В. [и др.]. Фотодинамическая терапия: иммуномодулирующий метод в онкогинекологии. / Караулов А.В., Афанасьев М.С., Петрищев Н.Н., Гришачёва Т.Г.,

- Несвижский Ю.В., [и др.], под ред. Караулов А. В., Афанасьев М.С., Петрищев Н.Н., 1-е изд., Москва: ООО «Контакт», 2020. 144 с.
12. Киселев В.И. [и др.]. Этиологическая роль вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки: генетические и патогенетические механизмы, возможности терапии и профилактики // Гинекология. 2004. № 4 (6). С. 174–180.
13. Киселев В.И., Аполихина И.А., Муйжнек Е.Л. Патогенетические подходы к лечению ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки под ред. Прилепской В.Н., Москва: МЕДпресс-информ, 2008.С. 87–94.
14. Котельников Г.П., Шпигель А.С. Доказательная медицина. Научно-обоснованная медицинская практика / Котельников Г.П., Шпигель А.С., Москва: Гэотар-Медиа, 2012. 242 с.
15. Лопухов П.Д. Научно-методическое обоснование направлений оптимизации эпидемиологического надзора и профилактики папилломавирусной инфекции 2018.
16. М. Фрадков Постановление Правительства РФ от 1 декабря 2004 г. N 715 «Об утверждении перечня социально значимых заболеваний и перечня заболеваний, представляющих опасность для окружающих» (с изменениями и дополнениями). Москва, 2004.
17. Роговская С.И. [и др.]. Распространенность папилломавирусной инфекции в России // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2012. № 62 (1). С. 25–33.
18. Adamek M. [и др.]. Topical ALA–PDT modifies neutrophils' chemiluminescence, lymphocytes' interleukin-1beta secretion and serum level of transforming growth factor beta1 in patients with nonmelanoma skin malignancies // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. 2005. № 1 (2). С. 65–72.
19. Afanasiev M. [и др.]. The Multi-Course Approach of Photodynamic Therapy to Treat Invasive Cervical Cancer IB2: A Case Report // Case Reports in Oncology. 2021. № 1 (14). С. 506–519.
20. Afanasiev M. S. [и др.]. Photodynamic therapy for early-stage cervical cancer treatment // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. 2022. (37). С. 102620.
21. Afanasiev MS, Grishacheva TG, Dushkin AD A Comprehensive Approach for Preventing and Treating Squamous Intraepithelial Lesions with HPV Infection // EC Gynaecology. 2021. № 2 (10). С. 25–31.

22. Agostinis P. [и др.]. Photodynamic therapy of cancer: An update // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2011. № 4 (61). С. 250–281.
23. Alexopoulou L. [и др.]. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF- κ B by Toll-like receptor 3 // *Nature*. 2001. № 6857 (413). С. 732–738.
24. Alloatti A. [и др.]. Dendritic cell maturation and cross-presentation: timing matters! // *Immunological Reviews*. 2016. № 1 (272). С. 97–108.
25. Arends M. J., Buckley C. H., Wells M. Aetiology, pathogenesis, and pathology of cervical neoplasia // *Journal of Clinical Pathology*. 1998. № 2 (51). С. 96–103.
26. Baker M.J. Writing a Literature Review // *The Marketing Review*. 2000. № 2 (1). С. 219–247.
27. Barber G. N. STING-dependent cytosolic DNA sensing pathways // *Trends in Immunology*. 2014. № 2 (35). С. 88–93.
28. Barton G. M., Kagan J. C., Medzhitov R. Intracellular localization of Toll-like receptor 9 prevents recognition of self DNA but facilitates access to viral DNA // *Nature Immunology*. 2006. № 1 (7). С. 49–56.
29. Berghofer B. [и др.]. Common human Toll-like receptor 9 polymorphisms and haplotypes: association with atopy and functional relevance // *Clinical and Experimental Allergy*. 2005. № 9 (35). С. 1147–1154.
30. Bettigole S. E., Glimcher L. H. Endoplasmic Reticulum Stress in Immunity // *Annual Review of Immunology*. 2015. № 1 (33). С. 107–138.
31. Blaskewicz C. D., Pudney J., Anderson D. J. Structure and Function of Intercellular Junctions in Human Cervical and Vaginal Mucosal Epithelia¹ // *Biology of Reproduction*. 2011. № 1 (85). С. 97–104.
32. Boda D. [и др.]. Human papilloma virus: Apprehending the link with carcinogenesis and unveiling new research avenues (Review) // *International Journal of Oncology*. 2018.
33. BOGANI G. [и др.]. Recurrence rate after loop electrosurgical excision procedure (LEEP) and laser Conization: A 5-year follow-up study // *Gynecologic Oncology*. 2020. № 3 (159). С. 636–641.
34. Borgogna J. [и др.]. The vaginal metabolome and microbiota of cervical HPV-positive and HPV-negative women: a cross-sectional analysis // *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2020. № 2 (127). С. 182–192.

35. Borisov G. A., Savchenko A. A., Kudryavtsev I. v. FEATURES OF THE IMMUNE RESPONSE DURING VIRAL INFECTION // Russian Journal of Infection and Immunity. 2015. № 2 (5). С. 148–156.
36. Bosch F. X. [и др.]. Comprehensive Control of Human Papillomavirus Infections and Related Diseases // Vaccine. 2013. (31). С. H1–H31.
37. Briko N. I. [и др.]. Clinical and epidemiological features of papillomavirus infection manifestations on the example of cervical cancer and genital warts // Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk. 2020. № 1 (75). С. 77–82.
38. Britto A. M. A. [и др.]. HPV Induces Changes in Innate Immune and Adhesion Molecule Markers in Cervical Mucosa With Potential Impact on HIV Infection // Frontiers in Immunology. 2020. (11).
39. Broz P., Monack D. M. Newly described pattern recognition receptors team up against intracellular pathogens // Nature Reviews Immunology. 2013. № 8 (13). С. 551–565.
40. Bruni L. [и др.]. Cervical Human Papillomavirus Prevalence in 5 Continents: Meta-Analysis of 1 Million Women with Normal Cytological Findings // The Journal of Infectious Diseases. 2010. № 12 (202). С. 1789–1799.
41. Bruni L. [и др.]. Human Papillomavirus and Related Diseases in the World- Summary report // ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). 2019. № June. С. 307.
42. Bruno M. T. [и др.]. HPV16 persistent infection and recurrent disease after LEEP // Virology Journal. 2019. № 1 (16). С. 4–7.
43. Burger E. A. [и др.]. HPV mRNA tests for the detection of cervical intraepithelial neoplasia: A systematic review // Gynecologic Oncology. 2011. № 3 (120). С. 430–438.
44. Burghardt E., Ostör A. G. Site and origin of squamous cervical cancer: a histomorphologic study. // Obstetrics and gynecology. 1983. № 1 (62). С. 117–27.
45. Burk R. D. [и др.]. Sexual Behavior and Partner Characteristics Are the Predominant Risk Factors for Genital Human Papillomavirus Infection in Young Women // Journal of Infectious Diseases. 1996. № 4 (174). С. 679–689.
46. Burlev V. A., Il'yasova N. A., Dubinskaya E. D. Proliferative Activity of Microvessels and Angiogenesis in Eutopic Endometrium in Patients with Peritoneal Endometriosis // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2005. № 6 (139). С. 727–731.

47. Cai Z. [и др.]. Activation of Toll-like Receptor 5 on Breast Cancer Cells by Flagellin Suppresses Cell Proliferation and Tumor Growth // *Cancer Research*. 2011. № 7 (71). С. 2466–2475.
48. Cao X. Self-regulation and cross-regulation of pattern-recognition receptor signalling in health and disease // *Nature Reviews Immunology*. 2016. № 1 (16). С. 35–50.
49. Capaldo C. T., Nusrat A. Cytokine regulation of tight junctions // *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*. 2009. Т. 1788. № 4. С. 864–871.
50. Cecic I., Sun J., Korbelik M. Role of Complement Anaphylatoxin C3a in Photodynamic Therapy-elicited Engagement of Host Neutrophils and Other Immune Cells // *Photochemistry and Photobiology*. 2006. № 2 (82). С. 558.
51. Chang H. [и др.]. Programmed death-1 (PD-1) expression in cervical intraepithelial neoplasia and its relationship with recurrence after conization // *Journal of Gynecologic Oncology*. 2018. № 3 (29). С. 1–14.
52. Coffelt S. B., Wellenstein M. D., Visser K. E. de Neutrophils in cancer: neutral no more // *Nature Reviews Cancer*. 2016. № 7 (16). С. 431–446.
53. Crow J. M. HPV: The global burden // *Nature*. 2012. № 7413 (488). С. S2–S3.
54. Daud I. I. [и др.]. Association between toll-like receptor expression and human papillomavirus type 16 persistence // *International Journal of Cancer*. 2011. № 4 (128). С. 879–886.
55. Davies M. J. Reactive species formed on proteins exposed to singlet oxygen // *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2004. № 1 (3). С. 17.
56. Davies M. J. The oxidative environment and protein damage // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*. 2005. № 2 (1703). С. 93–109.
57. DeCarlo C. A. [и др.]. Toll-Like Receptor Transcriptome in the HPV-Positive Cervical Cancer Microenvironment // *Clinical and Developmental Immunology*. 2012. (2012). С. 1–9.
58. DiGiuseppe S. [и др.]. Topography of the Human Papillomavirus Minor Capsid Protein L2 during Vesicular Trafficking of Infectious Entry // *Journal of Virology*. 2015. № 20 (89). С. 10442–10452.

59. Donohoe C. [и др.]. Cell death in photodynamic therapy: From oxidative stress to anti-tumor immunity // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*. 2019. № 2 (1872). С. 188308.
60. Dougherty T. J. [и др.]. Photodynamic Therapy // *JNCI Journal of the National Cancer Institute*. 1998. № 12 (90). С. 889–905.
61. Dragieva G. [и др.]. Topical photodynamic therapy in the treatment of actinic keratoses and Bowen's disease in transplant recipients // *Transplantation*. 2004. № 1 (77). С. 115–121.
62. Dushkin A. [и др.]. Digital analysis of colposcopic images in papillomavirus infection // *Journal of Physics: Conference Series*. 2021. № 1 (2127). С. 012063.
63. Dushkin A. [и др.]. Personalized approach to management of high-grade squamous intraepithelial lesion // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2022. (39). С. 103038.
64. Dushkin A. D. [и др.]. Digital analysis and quantitative assessment of the cervical surface with dysplasia // *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2021. № 7 (66). С. 417–421.
65. Dushkin A. D. [и др.]. Digital analysis and quantitative assessment of the cervical surface with dysplasia // *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2021. № 7 (66). С. 417–421.
66. Egawa N., Doorbar J. The low-risk papillomaviruses // *Virus Research*. 2017. (231). С. 119–127.
67. Eiró N. [и др.]. Study of the Expression of Toll-Like Receptors in Different Histological Types of Colorectal Polyps and Their Relationship with Colorectal Cancer // *Journal of Clinical Immunology*. 2012. № 4 (32). С. 848–854.
68. Elliott E. I., Sutterwala F. S. Initiation and perpetuation of NLRP3 inflammasome activation and assembly // *Immunological Reviews*. 2015. № 1 (265). С. 35–52.
69. Etem E. O. [и др.]. The investigation of toll-like receptor 3, 9 and 10 gene polymorphisms in Turkish rheumatoid arthritis patients // *Rheumatology International*. 2011. № 10 (31). С. 1369–1374.
70. Falk-Mahapatra R., Gollnick S. O. Photodynamic Therapy and Immunity: An Update // *Photochemistry and Photobiology*. 2020. № 3 (96). С. 550–559.
71. Ferrario A. [и др.]. Survivin, a Member of the Inhibitor of Apoptosis Family, Is Induced by Photodynamic Therapy and Is a Target for Improving Treatment Response // *Cancer Research*. 2007. № 10 (67). С. 4989–4995.

72. Fiedler M. [и др.]. High level HPV-16 E7 oncoprotein expression correlates with reduced pRb-levels in cervical biopsies // *The FASEB Journal*. 2004. № 10 (18). С. 1120–1122.
73. Forget P. [и др.]. What is the normal value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio? // *BMC Research Notes*. 2017. № 1 (10). С. 12.
74. Forman D. [и др.]. Global Burden of Human Papillomavirus and Related Diseases // *Vaccine*. 2012. (30). С. F12–F23.
75. Franco E. L. [и др.]. Epidemiology of Acquisition and Clearance of Cervical Human Papillomavirus Infection in Women from a High-Risk Area for Cervical Cancer // *The Journal of Infectious Diseases*. 1999. № 5 (180). С. 1415–1423.
76. Fukata M., Abreu M. T. Role of Toll-like receptors in gastrointestinal malignancies // *Oncogene*. 2008. № 2 (27). С. 234–243.
77. Galluzzi L. [и др.]. Viral Control of Mitochondrial Apoptosis // *PLoS Pathogens*. 2008. № 5 (4). С. e1000018.
78. Galluzzi L. [и др.]. Autophagy in malignant transformation and cancer progression // *The EMBO Journal*. 2015. № 7 (34). С. 856–880.
79. Garcia-Bates T. M. [и др.]. Enhanced Cytotoxic CD8 T Cell Priming Using Dendritic Cell–Expressing Human Papillomavirus-16 E6/E7-p16^{INK4} Fusion Protein with Sequenced Anti–Programmed Death-1 // *The Journal of Immunology*. 2016. № 6 (196). С. 2870–2878.
80. Gay N. J. [и др.]. Assembly and localization of Toll-like receptor signalling complexes // *Nature Reviews Immunology*. 2014. № 8 (14). С. 546–558.
81. Gillet E. [и др.]. Bacterial vaginosis is associated with uterine cervical human papillomavirus infection: a meta-analysis // *BMC Infectious Diseases*. 2011. № 1 (11). С. 10.
82. Gipson I. K. Mucins of the human endocervix // *Frontiers in Bioscience*. 2001. № 1 (6). С. d1245.
83. Givan A. L. [и др.]. Flow Cytometric Analysis of Leukocytes in the Human Female Reproductive Tract: Comparison of Fallopian Tube, Uterus, Cervix, and Vagina // *American Journal of Reproductive Immunology*. 1997. № 5 (38). С. 350–359.
84. Gizinger O. A., Radzinsky V. E. Human Papillomavirus: Pathogenesis and Correction of Immune Disturbances // *Doctor.Ru*. 2021. № 6 (20). С. 80–86.

85. Gonzalez J. M. [и др.]. Toll-like receptors in the uterus, cervix, and placenta: is pregnancy an immunosuppressed state? // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2007. № 3 (197). С. 296.e1-296.e6.
86. González-Reyes S. [и др.]. Study of TLR3, TLR4, and TLR9 in prostate carcinomas and their association with biochemical recurrence // *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2011. № 2 (60). С. 217–226.
87. Gosmann C. [и др.]. IL-17 Suppresses Immune Effector Functions in Human Papillomavirus-Associated Epithelial Hyperplasia // *The Journal of Immunology*. 2014. № 5 (193). С. 2248–2257.
88. Guo Y. [и др.]. Bacterial vaginosis is conducive to the persistence of HPV infection // *International Journal of STD & AIDS*. 2012. № 8 (23). С. 581–584.
89. Gwinn M. R., Vallyathan V. Respiratory Burst: Role in Signal Transduction in Alveolar Macrophages // *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*. 2006. № 1 (9). С. 27–39.
90. Hamblin M. R. Photodynamic Therapy for Cancer: What's Past is Prologue // *Photochemistry and Photobiology*. 2020. № 3 (96). С. 506–516.
91. Han L., Taub R., Jensen J. T. Cervical mucous and contraception: what we know and what we don't // *Contraception*. 2017. Т. 96. № 5. С. 310–321.
92. Hariri S. [и др.]. Prevalence of Genital Human Papillomavirus Among Females in the United States, the National Health and Nutrition Examination Survey, 2003–2006 // *The Journal of Infectious Diseases*. 2011. № 4 (204). С. 566–573.
93. Hart C. *Doing a Literature Review: Releasing the Social Science Research Imagination* Chris Hart / C. Hart, First Edition-е изд., London: SAGE Publications Inc, 1998. 230 с.
94. Hasan U. A. [и др.]. TLR9 Expression and Function Is Abolished by the Cervical Cancer-Associated Human Papillomavirus Type 16 // *The Journal of Immunology*. 2007. № 5 (178). С. 3186–3197.
95. Hasimu A. [и др.]. Expressions of Toll-like receptors 3, 4, 7, and 9 in cervical lesions and their correlation with HPV16 infection in Uighur women // *Chinese Journal of Cancer*. 2011. № 5 (30). С. 344–350.
96. Hausen H. zur Papillomaviruses in the causation of human cancers — a brief historical account // *Virology*. 2009. № 2 (384). С. 260–265.

97. Heil F. [и др.]. Species-Specific Recognition of Single-Stranded RNA via Toll-like Receptor 7 and 8 // *Science*. 2004. № 5663 (303). С. 1526–1529.
98. Hemmi H. [и др.]. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA // *Nature*. 2000. № 6813 (408). С. 740–745.
99. HESS A., NAYAK N., GIUDICE L. Oviduct and Endometrium Cyclic Changes in the Primate Oviduct and Endometrium Elsevier, 2006. С. 337–381.
100. Heymans J. [и др.]. Type-specific HPV geno-typing improves detection of recurrent high-grade cervical neoplasia after conisation // *International Journal of Cancer*. 2011. № 4 (129). С. 903–909.
101. Hickey D. K. [и др.]. Innate and adaptive immunity at mucosal surfaces of the female reproductive tract: stratification and integration of immune protection against the transmission of sexually transmitted infections // *Journal of Reproductive Immunology*. 2011. № 2 (88). С. 185–194.
102. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer II. Complementary data on cervical cancer prevention. Barcelona, 2021.
103. Jacobs N. [и др.]. Distinct T Cell Subsets and Cytokine Production in Cultures Derived from transformation Zone and Squamous Intraepithelial Lesion Biopsies of the Uterine Cervix // *American Journal of Reproductive Immunology*. 2003. № 1 (49). С. 6–13.
104. Janssens S., Beyaert R. Role of Toll-Like Receptors in Pathogen Recognition // *Clinical Microbiology Reviews*. 2003. № 4 (16). С. 637–646.
105. Jeronimo J. [и др.]. Digital Tools for Collecting Data from Cervigrams for Research and Training in Colposcopy // *Journal of Lower Genital Tract Disease*. 2006. № 1 (10). С. 16–25.
106. Jiang S. [и др.]. Oxidation of protein disulfide bonds by singlet oxygen gives rise to glutathionylated proteins // *Redox Biology*. 2021. (38). С. 101822.
107. Jiang S. [и др.]. Formation of protein cross-links by singlet oxygen-mediated disulfide oxidation // *Redox Biology*. 2021. (41). С. 101874.
108. Jockusch S. [и др.]. Photo-induced inactivation of viruses: adsorption of methylene blue, thionine, and thiopyronine on Qbeta bacteriophage. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1996. № 15 (93). С. 7446–7451.

109. Jonsson R. The Nobel prize in physiology or medicine for 2008 // *Scandinavian Journal of Immunology*. 2008. № 6 (68). С. 553–553.
110. Jori G. [и др.]. Dye-sensitized Photooxidation As a Tool for Determining the Degree of Exposure of Amino Acid Residues in Proteins // *Journal of Biological Chemistry*. 1970. № 13 (245). С. 3375–3383.
111. Junjie X. [и др.]. The association between Toll-like receptor 2 single-nucleotide polymorphisms and hepatocellular carcinoma susceptibility // *BMC Cancer*. 2012. № 1 (12). С. 57.
112. Kanneganti T.-D. Central roles of NLRs and inflammasomes in viral infection // *Nature Reviews Immunology*. 2010. № 10 (10). С. 688–698.
113. Keller M. J. [и др.]. Cervical Precancer Risk in HIV-Infected Women Who Test Positive for Oncogenic Human Papillomavirus Despite a Normal Pap Test // *Clinical Infectious Diseases*. 2015. № 10 (61). С. 1573–1581.
114. Kempen T. S. van [и др.]. Perception of self: distinguishing autoimmunity from autoinflammation // *Nature Reviews Rheumatology*. 2015. № 8 (11). С. 483–492.
115. Kessel D. Subcellular Targets for Photodynamic Therapy: Implications for Initiation of Apoptosis and Autophagy // *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2012. № Suppl 2 (10). С. S-56-S-59.
116. Kessel D. Subcellular Targeting as a Determinant of the Efficacy of Photodynamic Therapy // *Photochemistry and Photobiology*. 2017. № 2 (93). С. 609–612.
117. Kim W. Y. [и др.]. Increased expression of Toll-like receptor 5 during progression of cervical neoplasia // *International Journal of Gynecologic Cancer*. 2008. № 2 (18). С. 300–305.
118. Kishore J., Goel M., Khanna P. Understanding survival analysis: Kaplan-Meier estimate // *International Journal of Ayurveda Research*. 2010. № 4 (1). С. 274.
119. Korbelik M. Complement upregulation in photodynamic therapy-treated tumors: Role of Toll-like receptor pathway and NFκB // *Cancer Letters*. 2009. № 2 (281). С. 232–238.
120. Korbelik M. [и др.]. Ceramide and sphingosine-1-phosphate act as photodynamic therapy-elicited damage-associated molecular patterns: Cell surface exposure // *International Immunopharmacology*. 2014. № 2 (20). С. 359–365.

121. Korbelik M., Krosi G. Photofrin accumulation in malignant and host cell populations of various tumours // *British Journal of Cancer*. 1996. № 4 (73). С. 506–513.
122. Korneev [и др.]. Ultrastructural Aspects of Photodynamic Inactivation of Highly Pathogenic Avian H5N8 Influenza Virus // *Viruses*. 2019. № 10 (11). С. 955.
123. Krieg A. M. Therapeutic potential of Toll-like receptor 9 activation // *Nature Reviews Drug Discovery*. 2006. № 6 (5). С. 471–484.
124. Kutteh W. H. [и др.]. Variations in immunoglobulins and IgA subclasses of human uterine cervical secretions around the time of ovulation // *Clinical and Experimental Immunology*. 2003. № 3 (104). С. 538–542.
125. Kutteh W. H., Moldoveanu Z., Mestecky J. Mucosal immunity in the female reproductive tract: correlation of immunoglobulins, cytokines, and reproductive hormones in human cervical mucus around the time of ovulation. // *AIDS research and human retroviruses*. 1998. (14 Suppl 1). С. S51-5.
126. Lagenaur L. A. [и др.]. Connecting the Dots: Translating the Vaginal Microbiome Into a Drug // *The Journal of Infectious Diseases*. 2021. № Supplement_3 (223). С. S296–S306.
127. LaRock D. L., Chaudhary A., Miller S. I. Salmonellae interactions with host processes // *Nature Reviews Microbiology*. 2015. № 4 (13). С. 191–205.
128. Lashkari B. S., Shahana S., Anumba D. O. Toll-like receptor 2 and 4 expression in the pregnant and non-pregnant human uterine cervix // *Journal of Reproductive Immunology*. 2015. (107). С. 43–51.
129. Latz E., Xiao T. S., Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes // *Nature Reviews Immunology*. 2013. № 6 (13). С. 397–411.
130. Lee J.-W. [и др.]. Increased toll-like receptor 9 expression in cervical neoplasia // *Molecular Carcinogenesis*. 2007. № 11 (46). С. 941–947.
131. Lee S. K. [и др.]. Immune Cells in the Female Reproductive Tract // *Immune Network*. 2015. № 1 (15). С. 16.
132. Lin S.-C., Lo Y.-C., Wu H. Helical assembly in the MyD88–IRAK4–IRAK2 complex in TLR/IL-1R signalling // *Nature*. 2010. № 7300 (465). С. 885–890.
133. Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method // *Methods*. 2001. № 4 (25). С. 402–408.

134. Loo Y.-M., Gale M. Immune Signaling by RIG-I-like Receptors // *Immunity*. 2011. № 5 (34). С. 680–692.
135. Lopes J. A. G., Borges-Canha M., Pimentel-Nunes P. Innate immunity and hepatocarcinoma: Can toll-like receptors open the door to oncogenesis? // *World Journal of Hepatology*. 2016. Т. 8. № 3. С. 162–182.
136. MACDONALD I. J., DOUGHERTY T. J. Basic principles of photodynamic therapy // *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*. 2001. № 02 (05). С. 105–129.
137. Mansoori B. [и др.]. Photodynamic therapy for cancer: Role of natural products // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2019. (26). С. 395–404.
138. Mantovani A. [и др.]. Cancer-related inflammation // *Nature*. 2008. № 7203 (454). С. 436–444.
139. Marques P. E. [и др.]. Chemokines and mitochondrial products activate neutrophils to amplify organ injury during mouse acute liver failure // *Hepatology*. 2012. № 5 (56). С. 1971–1982.
140. McNab F. [и др.]. Type I interferons in infectious disease // *Nature Reviews Immunology*. 2015. № 2 (15). С. 87–103.
141. Meijer C. J. L. M. [и др.]. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older // *International Journal of Cancer*. 2009. № 3 (124). С. 516–520.
142. Melkert P. W. J. [и др.]. Prevalence of HPV in cytomorphologically normal cervical smears, as determined by the polymerase chain reaction, is age-dependent // *International Journal of Cancer*. 2009. № 6 (53). С. 919–923.
143. Miller D. M. [и др.]. c-Myc and Cancer Metabolism // *Clinical Cancer Research*. 2012. № 20 (18). С. 5546–5553.
144. Mittal D. [и др.]. New insights into cancer immunoediting and its three component phases—elimination, equilibrium and escape // *Current Opinion in Immunology*. 2014. (27). С. 16–25.
145. Mohammad Hosseini A. [и др.]. Toll-Like Receptors in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases // *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2015. № Suppl 1 (5). С. 605–614.

146. Morelli A. E., Paola G. di, Fainboim L. Density and distribution of Langerhans cells in the human uterine cervix // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 1992. № 2 (252). С. 65–71.
147. Moserova I., Kralova J. Role of ER Stress Response in Photodynamic Therapy: ROS Generated in Different Subcellular Compartments Trigger Diverse Cell Death Pathways // *PLoS ONE*. 2012. № 3 (7). С. e32972.
148. Mroz P. [и др.]. Stimulation of anti-tumor immunity by photodynamic therapy // *Expert Review of Clinical Immunology*. 2011. № 1 (7). С. 75–91.
149. Mroz P. [и др.]. Cell Death Pathways in Photodynamic Therapy of Cancer // *Cancers*. 2011. № 2 (3). С. 2516–2539.
150. Murphy K., Mitchell C. M. The Interplay of Host Immunity, Environment and the Risk of Bacterial Vaginosis and Associated Reproductive Health Outcomes // *Journal of Infectious Diseases*. 2016. № suppl 1 (214). С. S29–S35.
151. Murray P. J., Wynn T. A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets // *Nature Reviews Immunology*. 2011. № 11 (11). С. 723–737.
152. Nikolaeva-Glomb L. [и др.]. Photodynamic Effect of some Phthalocyanines on Enveloped and Naked Viruses // *Acta virologica*. 2017. № 03 (61). С. 341–346.
153. Noguchi E. [и др.]. An association study of asthma and total serum immunoglobulin E levels for Toll-like receptor polymorphisms in a Japanese population // *Clinical Experimental Allergy*. 2004. № 2 (34). С. 177–183.
154. Ochsner M. Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 1997. № 1 (39). С. 1–18.
155. O'Neill L. A. J., Golenbock D., Bowie A. G. The history of Toll-like receptors — redefining innate immunity // *Nature Reviews Immunology*. 2013. № 6 (13). С. 453–460.
156. Onomoto K., Onoguchi K., Yoneyama M. Regulation of RIG-I-like receptor-mediated signaling: interaction between host and viral factors // *Cellular & Molecular Immunology*. 2021. № 3 (18). С. 539–555.
157. Oostenbrink J. B. [и др.]. Expected Value of Perfect Information: An Empirical Example of Reducing Decision Uncertainty by Conducting Additional Research // *Value in Health*. 2008. № 7 (11). С. 1070–1080.

158. Paola M. di [и др.]. Characterization of cervico-vaginal microbiota in women developing persistent high-risk Human Papillomavirus infection // *Scientific Reports*. 2017. № 1 (7). С. 10200.
159. Paterson H. M. [и др.]. Injury Primes the Innate Immune System for Enhanced Toll-Like Receptor Reactivity // *The Journal of Immunology*. 2003. № 3 (171). С. 1473–1483.
160. Pimentel-Nunes P. [и др.]. Increased Expression of Toll-like Receptors (TLR) 2, 4 and 5 in Gastric Dysplasia // *Pathology & Oncology Research*. 2011. № 3 (17). С. 677.
161. Poljak M. [и др.]. Human Papillomavirus Prevalence and Type-Distribution, Cervical Cancer Screening Practices and Current Status of Vaccination Implementation in Central and Eastern Europe // *Vaccine*. 2013. (31). С. H59–H70.
162. Poljak M., Kocjan B. J. Commercially available assays for multiplex detection of alpha human papillomaviruses // *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2010. № 10 (8). С. 1139–1162.
163. Poljak M., Seme K., Gale N. Detection of Human Papillomaviruses in Tissue Specimens // *Advances in Anatomic Pathology*. 1998. № 4 (5). С. 216–234.
164. Pudney J., Quayle A. J., Anderson D. J. Immunological Microenvironments in the Human Vagina and Cervix: Mediators of Cellular Immunity Are Concentrated in the Cervical Transformation Zone1 // *Biology of Reproduction*. 2005. № 6 (73). С. 1253–1263.
165. Quinn PG, Keough MJ *Experimental Design and Data Analysis for Biologists* / Quinn PG, Keough MJ, под ред. Quinn PG, Keough MJ, New Yourk: Cambridge University Press, 2002. 537 с.
166. Rabi S. Morphological Study of Dendritic Cells in Human Cervix by Zinc Iodide Osmium Method // *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. 2014.
167. Rakoff-Nahoum S., Medzhitov R. Toll-like receptors and cancer // *Nature Reviews Cancer*. 2009. № 1 (9). С. 57–63.
168. Re V. de [и др.]. Overview of Epstein–Barr-Virus-Associated Gastric Cancer Correlated with Prognostic Classification and Development of Therapeutic Options // *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. № 24 (21). С. 9400.
169. Rich A. M. [и др.]. Toll-Like Receptors and Cancer, Particularly Oral Squamous Cell Carcinoma // *Frontiers in Immunology*. 2014. (5).

170. Roche P. A., Furuta K. The ins and outs of MHC class II-mediated antigen processing and presentation // *Nature Reviews Immunology*. 2015. № 4 (15). С. 203–216.
171. Rogovskaya S. I. [и др.]. Human Papillomavirus Prevalence and Type-Distribution, Cervical Cancer Screening Practices and Current Status of Vaccination Implementation in Russian Federation, the Western Countries of the former Soviet Union, Caucasus Region and Central Asia // *Vaccine*. 2013. (31). С. H46–H58.
172. Roh Y. S., Seki E. Toll-like receptors in alcoholic liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and carcinogenesis // *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2013. (28). С. 38–42.
173. S. Lashkari B., Anumba D. O. C. Estradiol alters the immune-responsiveness of cervical epithelial cells stimulated with ligands of Toll-like receptors 2 and 4 // *PLOS ONE*. 2017. № 3 (12). С. e0173646.
174. Samara K. Expression profiles of Toll-like receptors in non-small cell lung cancer and idiopathic pulmonary fibrosis // *International Journal of Oncology*. 2012.
175. Sanjosé S. de [и др.]. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis // *The Lancet Infectious Diseases*. 2007. № 7 (7). С. 453–459.
176. Schneider C. A., Rasband W. S., Eliceiri K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis // *Nature Methods*. 2012. № 7 (9). С. 671–675.
177. Semenza G. L. Targeting HIF-1 for cancer therapy // *Nature Reviews Cancer*. 2003. № 10 (3). С. 721–732.
178. Shafi M. I. [и др.]. Digital imaging colposcopy, image analysis and quantification of the colposcopic image // *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 1994. № 3 (101). С. 234–238.
179. Sica V. [и др.]. Organelle-Specific Initiation of Autophagy // *Molecular Cell*. 2015. № 4 (59). С. 522–539.
180. Siqueira M. da S., Ribeiro R. de M., Travassos L. H. Autophagy and Its Interaction With Intracellular Bacterial Pathogens // *Frontiers in Immunology*. 2018. (9).
181. Soergel P. [и др.]. Photodynamic therapy of cervical intraepithelial neoplasia with hexaminolevulinate // *Lasers in Surgery and Medicine*. 2008. № 9 (40). С. 611–615.

182. Statistician J. A. D. [и др.]. Digital imaging colposcopy, image analysis and quantification of the colposcopic image. 1994.
183. Stel V. S. [и др.]. Survival Analysis I: The Kaplan-Meier Method // *Nephron Clinical Practice*. 2011. № 1 (119). С. с83–с88.
184. Stojanović N., Plećaš D., Plešinac S. Normal vaginal flora, disorders and application of probiotics in pregnancy // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2012. № 2 (286). С. 325–332.
185. Stott B., Korbelik M. Activation of complement C3, C5, and C9 genes in tumors treated by photodynamic therapy // *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2007. № 5 (56). С. 649–658.
186. Takeuchi O., Akira S. Innate immunity to virus infection // *Immunological Reviews*. 2009. № 1 (227). С. 75–86.
187. Tanaka T. [и др.]. DiC14-amidine cationic liposomes stimulate myeloid dendritic cells through Toll-like receptor 4 // *European Journal of Immunology*. 2008. № 5 (38). С. 1351–1357.
188. Tavares-Murta B. M. [и др.]. Local profile of cytokines and nitric oxide in patients with bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2008. № 1 (138). С. 93–99.
189. Theodoropoulos G. E. [и др.]. Toll-like receptors gene polymorphisms may confer increased susceptibility to breast cancer development // *The Breast*. 2012. № 4 (21). С. 534–538.
190. Tomasi J. B. de, Opata M. M., Mowa C. N. Immunity in the Cervix: Interphase between Immune and Cervical Epithelial Cells // *Journal of Immunology Research*. 2019. (2019). С. 1–13.
191. Trifonova R. T., Lieberman J., Baarle D. van Distribution of Immune Cells in the Human Cervix and Implications for HIV Transmission // *American Journal of Reproductive Immunology*. 2014. № 3 (71). С. 252–264.
192. Tsimogiannis K. E. [и др.]. Toll-like receptors in the inflammatory response during open and laparoscopic colectomy for colorectal cancer // *Surgical Endoscopy*. 2012. № 2 (26). С. 330–336.

193. Uematsu S. [и др.]. Detection of pathogenic intestinal bacteria by Toll-like receptor 5 on intestinal CD11c+ lamina propria cells // *Nature Immunology*. 2006. № 8 (7). С. 868–874.
194. Vacchelli E. [и др.]. Trial watch: FDA-approved Toll-like receptor agonists for cancer therapy // *OncoImmunology*. 2012. № 6 (1). С. 894–907.
195. Vaupel P. The Role of Hypoxia-Induced Factors in Tumor Progression // *The Oncologist*. 2004. № S5 (9). С. 10–17.
196. Vu H. L. [и др.]. HPV-induced oropharyngeal cancer, immune response and response to therapy // *Cancer Letters*. 2010. № 2 (288). С. 149–155.
197. Wakabayashi R. [и др.]. The Host-Microbe Interplay in Human Papillomavirus-Induced Carcinogenesis // *Microorganisms*. 2019. № 7 (7). С. 199.
198. Wallace P. K. [и др.]. MHC class II expression and antigen presentation by human endometrial cells // *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2001. № 1–5 (76). С. 203–211.
199. Wira C. R. [и др.]. The Role of Sex Hormones and the Tissue Environment in Immune Protection Against HIV in the Female Reproductive Tract // *American Journal of Reproductive Immunology*. 2014. № 2 (72). С. 171–181.
200. Wira C. R., Grant-Tschudy K. S., Crane-Godreau M. A. Epithelial Cells in the Female Reproductive Tract: a Central Role as Sentinels of Immune Protection // *American Journal of Reproductive Immunology*. 2005. № 2 (53). С. 65–76.
201. Wira C. R., Rossoll R. M. Antigen-presenting cells in the female reproductive tract: influence of sex hormones on antigen presentation in the vagina. // *Immunology*. 1995. № 4 (84). С. 505–8.
202. Wira C. R., Rossoll R. M. Oestradiol regulation of antigen presentation by uterine stromal cells: role of transforming growth factor-beta production by epithelial cells in mediating antigen-presenting cell function // *Immunology*. 2003. № 3 (109). С. 398–406.
203. Woods D. C. [и др.]. TLR4 activates NF- κ B in human ovarian granulosa tumor cells // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2011. № 4 (409). С. 675–680.
204. Woodworth C. D. HPV innate immunity // *Frontiers in Bioscience*. 2002. № 4 (7). С. A898.

205. Xiao J. [и др.]. [Study on the expression and signification of TLR4/NO pathway in cervical tumorigenesis with high risk HPV infection]. // *Zhonghua fu chan ke za zhi*. 2015. № 1 (50). С. 41–7.
206. Yang X., Cheng Y., Li C. The role of TLRs in cervical cancer with HPV infection: a review // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2017. № 1 (2). С. 17055.
207. Yang X., Lu L. Expression of HPV-16 E6 Protein and p53 Inactivation Increases the Uterine Cervical Cancer Invasion // *Drug Research*. 2014. № 02 (65). С. 70–73.
208. Yao R.-Q. [и др.]. Organelle-specific autophagy in inflammatory diseases: a potential therapeutic target underlying the quality control of multiple organelles // *Autophagy*. 2021. № 2 (17). С. 385–401.
209. Ye Y. [и др.]. Identification of Piwil2-Like (PL2L) Proteins that Promote Tumorigenesis // *PLoS ONE*. 2010. № 10 (5). С. e13406.
210. Yeh D.-W. [и др.]. Interplay between Inflammation and Stemness in Cancer Cells: The Role of Toll-Like Receptor Signaling // *Journal of Immunology Research*. 2016. (2016). С. 1–14.
211. Yu L. [и др.]. Expression of toll-like receptor 4 is down-regulated during progression of cervical neoplasia // *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2010. № 7 (59). С. 1021–1028.
212. Zhang C. [и др.]. The direct and indirect association of cervical microbiota with the risk of cervical intraepithelial neoplasia // *Cancer Medicine*. 2018. № 5 (7). С. 2172–2179.
213. Zhang Q. [и др.]. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury // *Nature*. 2010. № 7285 (464). С. 104–107.
214. Zhang X., Zhao S.-G. Cervical image classification based on image segmentation preprocessing and a CapsNet network model // *International Journal of Imaging Systems and Technology*. 2019. № 1 (29). С. 19–28.
215. Zhou J. Z., Way S. S., Chen K. Immunology of the Uterine and Vaginal Mucosae // *Trends in Immunology*. 2018. № 4 (39). С. 302–314.
216. Zidi S. [и др.]. Involvement of Toll-like receptors in cervical cancer susceptibility among Tunisian women // *Bulletin du Cancer*. 2014. № 10 (101). С. E31–E35.
217. Zidi S. [и др.]. Evaluation of Toll-Like Receptors 2/3/4/9 Gene Polymorphisms in Cervical Cancer Evolution // *Pathology & Oncology Research*. 2016. № 2 (22). С. 323–330.

218. Ziegler A., Lange S., Bender R. Überlebenszeitanalyse: Eigenschaften und Kaplan-Meier Methode // DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift. 2007. № S 01 (132). С. e36–e38.
219. Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ (ред. от 02.07.2021) «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.01.2022). Москва, 2011.
220. World Health Organization. Global strategy to accelerate the elimination of cervical cancer as a public health problem (17.11.2020) // [Internet source]. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240014107>.

ПРИЛОЖЕНИЕ А. Обобщающие таблицы с количественными и категориальными данными

Таблица А.1 – Распределения количественных клинико-эпидемиологических, иммунологических и цифровых признаков в зависимости от клинической формы ПВИ шейки матки

Признак	Статистики	Группа				
		Контроль (n = 13)	ПВИ с NILM (n = 8)	ПВИ с LSIL (n = 13)	ПВИ с HSIL (n = 66)	РШМ (n = 22)
Возраст (год)	M ± SD / Me	30	30	27	34	37
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	29 – 38	26 – 38	27 – 31	30 – 39	30 – 39
Менархе (лет)	M ± SD / Me	13	12	13	13	13
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	12 – 14	12 – 13	13 – 13	13 – 14	12 – 14
Начало половой жизни (лет)	M ± SD / Me	18	18	18	18	18
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	17 – 19	16 – 19	16 – 20	17 – 18	16 – 19
Но. половых партнеров (чел)	M ± SD / Me	3	4	3	5	5
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	2 – 3	2 – 5	2 – 4	3 – 7	3 – 10
Длительность ПВИ (мес)	M ± SD / Me	-	44,97	22,35	13,82	21,33
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	-	26,18 – 66,36	6,35 – 61,82	3,08 – 30,83	10,26 – 73,57
Число лейкоцитов в цервикальном секрете (клеток в поле зрения)	M ± SD / Me	8	16	5	13	26
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	5 – 8	14 – 25	2 – 12	7 – 18	20 – 35
Вирусная нагрузка (Log(10 ⁵))	M ± SD / Me	-	5,86	5,55	5,80	6,15
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	-	5,70 – 6,45	4,80 – 6,62	5,10 – 6,60	5,65 – 8,12
Площадь ацетобелого эпителия (%)	M ± SD / Me	18,06 ± 13,12	30,06 ± 14,31	36,43 ± 18,10	32,13 ± 17,33	36,63 ± 14,62
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	10,13 – 25,98	18,10 – 42,02	25,50 – 47,37	27,86 – 36,39	30,15 – 43,12
dGV ацетобелый эпителий (ОЕ)	M ± SD / Me	18	42	46	47	54
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	10 – 35	26 – 48	30 – 67	20 – 67	34 – 65
IndGV ацетобелый эпителий (ОЕ)	M ± SD / Me	3,36	11,18	15,87	15,17	17,32
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	0,72 – 6,60	4,20 – 17,86	6,74 – 35,52	3,75 – 26,02	11,01 – 29,17

Продолжение Таблицы А.1

Признак	Статистики	Группа				
		Контроль (n = 13)	ПВИ с NILM (n = 8)	ПВИ с LSIL (n = 13)	ПВИ с HSIL (n = 66)	РШИМ (n = 22)
Площадь йодной пробы (%)	M ± SD / Me	16,8	30,19	38	35,81	41
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	10,21 – 25,45	22,03 – 33,91	19,92 – 53,59	28,26 – 46,15	27,09 – 51,32
dGV йодная проба (OE)	M ± SD / Me	59	64	63	71	78
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	28 – 73	45 – 100	47 – 78	56 – 86	72 – 92
IndGV йодная проба (OE)	M ± SD / Me	9,91	21,38	22,32	25,76	31,38
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	4,89 – 16,79	11,55 – 30,88	10,39 – 42,34	15,08 – 36,71	21,47 – 39,32
TLR2 (OE)	M ± SD / Me	0,95	1,23	2,26	1,54	1,77
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	0,73 – 1,27	1,00 – 1,48	1,19 – 43,80	1,04 – 2,18	0,97 – 2,62
TLR3 (OE)	M ± SD / Me	0,89	1,61	1,24	1,27	1,58
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	0,80 – 1,23	1,30 – 1,93	0,69 – 2,32	0,30 – 2,49	0,77 – 3,69
TLR4 (OE)	M ± SD / Me	0,84	1,32	2,14	1,36	1,57
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	0,72 – 1,41	1,19 – 1,43	1,19 – 60,28	0,90 – 2,87	1,19 – 3,44
TLR8 (OE)	M ± SD / Me	0,90	1,12	2,15	1,30	1,75
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	0,72 – 1,29	0,79 – 1,46	0,90 – 256,19	0,94 – 2,02	1,13 – 3,50
Абс. число лейкоцитов (тыс/л)	M ± SD / Me	7,10	5,52	5,53	5,80	6,01
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	5,80 – 8,07	4,38 – 6,88	4,86 – 6,93	4,67 – 6,89	4,85 – 6,67
Абс. число нейтрофилов (тыс/л)	M ± SD / Me	3,62	2,83	3,06	3,07	2,99
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	3,20 – 4,60	2,27 – 4,03	2,40 – 3,60	2,41 – 4,13	2,47 – 3,79
Абс. число лимфоцитов (тыс/л)	M ± SD / Me	2,40 ± 0,49	2,09 ± 0,65	2,13 ± 0,65	2,00 ± 0,66	2,04 ± 0,60
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	2,10 – 2,70	1,55 – 2,63	1,74 – 2,52	1,84 – 2,17	1,77 – 2,31
Абс. число моноцитов (тыс/л)	M ± SD / Me	0,52 ± 0,15	0,48 ± 0,16	0,49 ± 0,15	0,43 ± 0,13	0,46 ± 0,14
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	0,43 – 0,61	0,35 – 0,62	0,41 – 0,58	0,39 – 0,46	0,40 – 0,52
Индекс нейтрофилов / лимфоцитам (OE)	M ± SD / Me	1,45	1,72	1,43	1,59	1,55
	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	1,28 – 1,79	1,35 – 1,80	1,25 – 1,65	1,17 – 2,15	1,08 – 1,93

Таблица А.2 – распределения категориальных клинико-эпидемиологических, иммунологических и цифровых признаков в зависимости от клинической формы ПВИ шейки матки

Показатели	Категории	Группа				
		Контроль (n = 13)	ПВИ с NILM (n = 8)	ПВИ с LSIL (n = 13)	ПВИ с HSIL (n = 66)	РШМ (n = 22)
Жалобы	да	3 (23,1)	0 (0,0)	2 (15,4)	11 (16,7)	6 (27,3)
	нет	10 (76,9)	8 (100,0)	11 (84,6)	55 (83,3)	16 (72,7)
Терапевтическое лечение в анамнезе	есть	10 (76,9)	3 (37,5)	8 (61,5)	28 (42,4)	10 (45,5)
	нет	3 (23,1)	5 (62,5)	5 (38,5)	38 (57,6)	12 (54,5)
Хирургическое лечение в анамнезе	нет	1 (7,7)	2 (25,0)	5 (38,5)	19 (28,8)	6 (27,3)
	есть	12 (92,3)	6 (75,0)	8 (61,5)	47 (71,2)	16 (72,7)
Беременность в анамнезе	да	9 (69,2)	3 (37,5)	6 (46,2)	47 (71,2)	16 (72,7)
	нет	4 (30,8)	5 (62,5)	7 (53,8)	19 (28,8)	6 (27,3)
	нет	11 (84,6)	5 (62,5)	9 (69,2)	37 (56,1)	11 (50,0)
Гинекологическое заболевание в анамнезе	да	9 (69,2)	8 (100,0)	9 (69,2)	48 (72,7)	13 (59,1)
	нет	4 (30,8)	0 (0,0)	4 (30,8)	18 (27,3)	9 (40,9)
Гинекологическая инфекция в анамнезе	да	3 (23,1)	2 (25,0)	3 (23,1)	8 (12,1)	3 (13,6)
	нет	10 (76,9)	6 (75,0)	10 (76,9)	58 (87,9)	19 (86,4)
ВПЧ в анамнезе	нет	7 (53,8)	7 (87,5)	10 (76,9)	31 (47,0)	13 (59,1)
	есть	6 (46,2)	1 (12,5)	3 (23,1)	35 (53,0)	9 (40,9)
Тип ЗТ	1 тип	3 (23,1)	1 (12,5)	2 (15,4)	17 (25,8)	9 (40,9)
	2 тип	2 (15,4)	3 (37,5)	6 (46,2)	27 (40,9)	7 (31,8)
	3 тип	8 (61,5)	4 (50,0)	5 (38,5)	22 (33,3)	6 (27,3)
Наличие ацетобелого эпителия	да	2 (15,4)	7 (87,5)	12 (92,3)	53 (80,3)	20 (90,9)
	нет	11 (84,6)	1 (12,5)	1 (7,7)	13 (19,7)	2 (9,1)
Тип кондилом	нет кондилом	13 (100,0)	4 (50,0)	10 (76,9)	57 (86,4)	18 (81,8)
	плоская кондилома	0 (0,0)	4 (50,0)	3 (23,1)	7 (10,6)	3 (13,6)
	остроконечные кондиломы	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,5)	1 (4,5)
	папилломатоз / кондиломатоз	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,5)	0 (0,0)
Наличие кондилом	нет	13 (100,0)	4 (50,0)	10 (76,9)	57 (86,4)	18 (81,8)
	есть	0 (0,0)	4 (50,0)	3 (23,1)	9 (13,6)	4 (18,2)

Продолжение Таблицы А.2

Показатели	Категории	Группа				
		Контроль (n = 13)	ПВИ с NILM (n = 8)	ПВИ с LSIL (n = 13)	ПВИ с HSIL (n = 66)	РШМ (n = 22)
Инфицирование	нет активной ПВИ	13 (100,0)	0 (0,0)	2 (15,4)	7 (10,6)	2 (9,1)
	моноинфекция	0 (0,0)	4 (50,0)	4 (30,8)	38 (57,6)	12 (54,5)
	полиинфекция	0 (0,0)	4 (50,0)	7 (53,8)	21 (31,8)	8 (36,4)
Тип лейкоцитарной реакции	I тип	3 (25,0)	0 (0,0)	5 (38,5)	8 (12,1)	1 (4,5)
	II тип	8 (66,7)	2 (28,6)	6 (46,2)	29 (43,9)	1 (4,5)
	III тип	1 (8,3)	4 (57,1)	1 (7,7)	25 (37,9)	18 (81,8)
	IV тип	0 (0,0)	1 (14,3)	1 (7,7)	4 (6,1)	2 (9,1)
Ведущий тип	16 тип	-	3 (37,5)	5 (55,6)	29 (54,7)	11 (64,7)
	18 тип	-	2 (25,0)	0 (0,0)	3 (5,7)	2 (11,8)
	31 тип	-	1 (12,5)	0 (0,0)	4 (7,5)	1 (5,9)
	33 тип	-	0 (0,0)	1 (11,1)	10 (18,9)	1 (5,9)
	39 тип	-	1 (12,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	45 тип	-	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (3,8)	1 (5,9)
	52 тип	-	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (3,8)	1 (5,9)
	53 тип	-	0 (0,0)	1 (11,1)	0 (0,0)	0 (0,0)
	56 тип	-	0 (0,0)	1 (11,1)	0 (0,0)	0 (0,0)
	58 тип	-	0 (0,0)	1 (11,1)	2 (3,8)	0 (0,0)
	59 тип	-	1 (12,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
66 тип	-	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,9)	0 (0,0)	
Степень инфильтрации ИКК экзоцервикса	Неопределенная	-	5 (83,3)	5 (62,5)	10 (27,0)	4 (50,0)
	Слабая	-	1 (16,7)	1 (12,5)	7 (18,9)	0 (0,0)
	Умеренная	-	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (8,1)	1 (12,5)
	Выраженная	-	0 (0,0)	2 (25,0)	17 (45,9)	3 (37,5)
Системная клеточная иммунная реакция	Снижен	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	12 (18,2)	2 (9,1)
	Норма	10 (76,9)	7 (87,5)	11 (84,6)	48 (72,7)	16 (72,7)
	Преимущественно клетки АИ	2 (15,4)	1 (12,5)	2 (15,4)	5 (7,6)	2 (9,1)
	Преимущественно клетки ВИ	1 (7,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,5)	2 (9,1)

Продолжение Таблицы А.2

Показатели	Категории	Группа				
		Контроль (n = 13)	ПВИ с NILM (n = 8)	ПВИ с LSIL (n = 13)	ПВИ с HSIL (n = 66)	РШМ (n = 22)
Степень инfiltrации ИКК экзоцервикса	Неопределенная	-	5 (83,3)	5 (62,5)	10 (27,0)	4 (50,0)
	Слабая	-	1 (16,7)	1 (12,5)	7 (18,9)	0 (0,0)
	Умеренная	-	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (8,1)	1 (12,5)
	Выраженная	-	0 (0,0)	2 (25,0)	17 (45,9)	3 (37,5)
Тип ИКК экзоцервикса	Смешанная	-	3 (50,0)	2 (25,0)	14 (37,8)	2 (25,0)
	Лимфоцитарная	-	2 (33,3)	4 (50,0)	12 (32,4)	3 (37,5)
	Лимфоплазмоцитарная	-	0 (0,0)	0 (0,0)	10 (27,0)	2 (25,0)
	Лимфогистиоцитарная	-	1 (16,7)	2 (25,0)	1 (2,7)	1 (12,5)
Фиброз экзоцервикса	Есть	-	4 (66,7)	6 (75,0)	9 (23,7)	3 (33,3)
	Нет	-	2 (33,3)	2 (25,0)	29 (76,3)	6 (66,7)
Степень инfiltrации ИКК эндоцервикса	Неопределенная	-	1 (50,0)	0 (0,0)	2 (14,3)	2 (40,0)
	Слабая	-	1 (50,0)	2 (50,0)	4 (28,6)	2 (40,0)
	Умеренная	-	0 (0,0)	1 (25,0)	2 (14,3)	0 (0,0)
	Выраженная	-	0 (0,0)	1 (25,0)	6 (42,9)	1 (20,0)
Тип ИКК эндоцервикса	Смешанная	-	1 (50,0)	0 (0,0)	4 (28,6)	2 (40,0)
	Лимфоцитарная	-	1 (50,0)	3 (75,0)	2 (14,3)	2 (40,0)
	Лимфоплазмоцитарная	-	0 (0,0)	1 (25,0)	7 (50,0)	1 (20,0)
	Лимфогистиоцитарная	-	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (7,1)	0 (0,0)
Фиброз эндоцервикса	Есть	-	3 (100,0)	1 (25,0)	1 (6,7)	1 (16,7)
	Нет	-	0 (0,0)	3 (75,0)	14 (93,3)	5 (83,3)

ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Клинический пример ведения пациентки [63]

Пациентка П. 43 года. ИМТ = 21,5 кг/м². Обратилась в июне 2021 года на прием к онгинекологу. Ранее, в марте 2021, пациентка проходила профилактический гинекологический осмотр. Была выявлена ВПЧ моноинфекция - 33 типа. На цитологическом скрининге выявлена LSIL. Рекомендовано наблюдение, повторное обследование через один месяц. В начале мая 2021 на повторном осмотре была проведена электрохирургическая биопсия шейки матки. Обнаружено плоскоклеточное интраэпителиальное поражение тяжелой степени (HSIL), в крае резекции также определяется плоскоклеточное интраэпителиальное поражение тяжелой степени (HSIL). Пациентке предложена ампутация шейки матки. Пациентка отказалась от предложенного лечения с целью сохранения фертильности. Пациентка обратилась на прием в ООО «МедИнСервис» к доктору онкогинекологу, иммунологу – М.С. Афанасьеву. Причина обращения – поиск альтернативного неинвазивного метода лечения ПВИ шейки матки с HSIL с целью сохранения фертильности. Была предложена фотодинамическая терапия и изучение мукозального иммунитета шейки матки в рамках данной диссертационной работы от пациентки было получено согласие на проведение всех лечебно-диагностических процедур, а также включение биологических материалов в иммунологическое исследование.

Алгоритм ведения:

Сбор клинико-эпидемиологических данных:

- Возраст – 42 года;
- Менархе – 15 лет;
- Начало половой жизни – 18 лет;
- Число половых партнеров – 4;
- Терапевтическое лечение в анамнезе - нет;
- Хирургическое лечение в анамнезе – нет;
- Гинекологическая инфекция в анамнезе – нет;
- Гинекологическое заболевание в анамнезе – есть;
- Кондилом на влагалище и поверхности шейки матки нет;

- Ацетобелый эпителий – нет, отмечается рана от электрохирургической процедуры;
- Тип инфекции – моноинфекция.

Цифровой анализ:

- % площади ацетобелого эпителия = 30,1%;
- % площади йодной пробы = 36%.

Системное клеточное звено иммунитета:

- Лейкоциты крови абс. – $4,37 \cdot 10^9$;
- Нейтрофилы крови абс. – $1,79 \cdot 10^9$;
- Лимфоциты крови абс. – $1,86 \cdot 10^9$;
- Моноциты крови абс. – $2,8 \cdot 10^8$;
- ИСНЛ = 0,96 ОЕ.

Результат – ареактивное состояние, тренд к иммунной недостаточности.

Местное клеточное звено иммунитета:

- Лейкоциты в цервикальном секрете – 5–6 в поле зрения;
- Лейкоцитарной реакции – II типа;
- Отмечается выраженная воспалительная инфильтрация эндо- и экзоцервикса.

TLRs тестирование:

- TLR2 = 1,01 ОЕ;
- TLR3 = 0,14 ОЕ;
- TLR4 = 0,83 ОЕ;
- TLR8 = 0,9 ОЕ.

Использование уравнения прогнозирования ВПЧ. Прогноз: вероятность наличия ВПЧ – 0,77 (77%). Использование уравнения прогнозирования SILs. Прогноз: вероятность наличия плоскоклеточного поражения – 0,99 (99%). Использование уравнения прогнозирования HSIL. Прогноз: вероятность наличия HSIL – 0,98 (98%). Использование уравнения прогнозирования РШМ. Прогноз: вероятность наличия РШМ – 0,11 (11%). Проведение 1 курса фотодинамической терапии.

Контрольное обследование через 3 месяца. Отсутствие клеточной атипии (NILM). ВПЧ Digene тест – отрицательно.

ПРИЛОЖЕНИЕ В. Клинико-иммунологическое течение папилломавирусной инфекции шейки матки

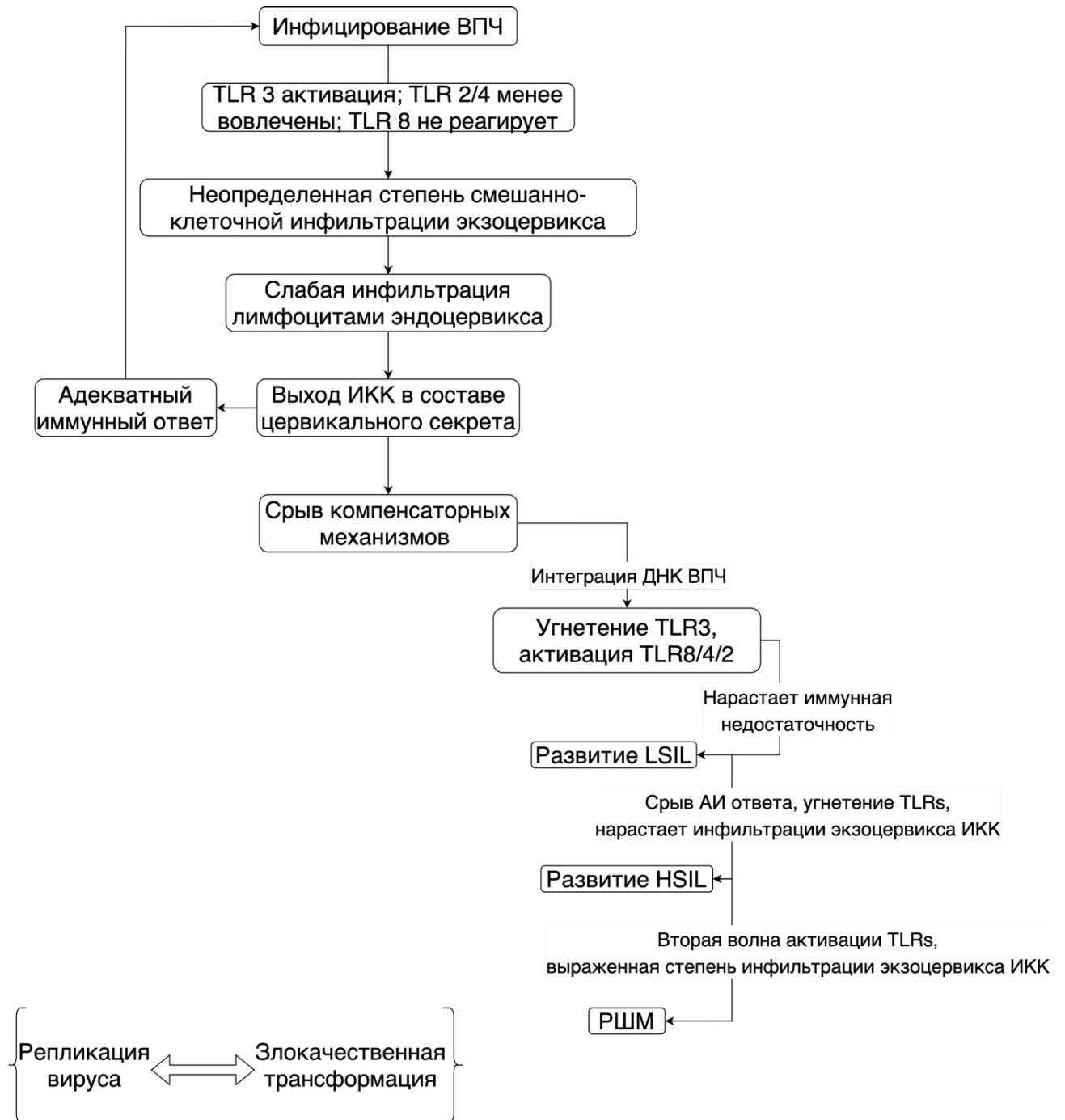


Рисунок В.1 – клинико-иммунологическое течение папилломавирусной инфекции шейки матки