

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



Гилядова Аида Владимировна

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

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

Диссертация

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН

Решетов Игорь Владимирович

Москва – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ВОЗМОЖНОСТЯХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФОТОТЕРАНОСТИКИ И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСЕ ЛЕЧЕБНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ ПРИ ПРЕДРАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ.....	16
1.1 Распространенность, этиология и патогенез предраковых поражений эпителия и рака шейки матки.....	16
1.2 Возможности использования биомаркеров в диагностике интраэпителиальных поражений шейки матки.....	20
1.3 Основные подходы к лечению цервикальных интраэпителиальных неоплазий.....	23
1.4 Возможности флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии заболеваний шейки матки.....	28
1.4.1 Принципы фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики. Характеристика фотосенсибилизаторов.....	28
1.4.2 Механизмы лечебного действия фотодинамической терапии.....	32
1.4.3 Результаты клинических исследований по оценке эффективности и безопасности фотодинамической терапии предраковых поражений шейки матки и рака шейки матки.....	35
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	45
2.1 Организация и дизайн исследования.....	45
2.2 Методы лечения пациенток.....	49
2.3 Методы исследования.....	54
2.3.1 Общеклинические методы исследования.....	54
2.3.2 Лабораторные методы исследования.....	55
2.3.3 Инструментальные методы исследования.....	58

2.4 Статистическая обработка полученных данных.....	58
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	60
3.1 Клиническая характеристика пациенток, включенных в исследование.....	60
3.2 Результаты видеофлуоресцентной и спектрально-флуоресцентной диагностики.....	69
3.3 Результаты цитологического исследования.....	76
3.4 Результаты определения вируса папилломы человека с помощью полимеразной цепной реакции.....	79
3.5 Результаты гистологического исследования очагов поражения в области шейки матки.....	81
3.6 Результаты расширенной кольпоскопии.....	84
3.7 Исследование уровней экспрессии маркеров пролиферации.....	87
3.8 Результаты цервикоскопии, цервикометрии и зондирования цервикального канала.....	92
3.9 Оценка безопасности применения методов лечения тяжелой дисплазии и преинвазивного рака шейки матки.....	92
3.10 Анализ репродуктивных исходов.....	93
КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИМЕРЫ.....	98
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	109
ВЫВОДЫ.....	116
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	118
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	120
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	122

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Среди гинекологических заболеваний у женщин репродуктивного возраста патология шейки матки (ШМ) составляет от 10 до 15%, при этом на долю воспалительных заболеваний в их структуре приходится более 60% [Аполихина И.А. и др., 2016; Прилепская В.Н. и др., 2015; Роговская С.И. и др., 2016]. Изучение как предраковых, так и доброкачественных и воспалительных заболеваний представляется крайне важным в аспекте совершенствования профилактических мероприятий в отношении рака шейки матки (РШМ). В связи с тем, что РШМ занимает лидирующее место среди злокачественных опухолей у женщин в возрасте от 15 до 39 лет, существует необходимость адекватного своевременного лечения предраковых заболеваний ШМ и раннего инвазивного РШМ с сохранением репродуктивных возможностей пациенток [Решетов И.В. и др., 2022; Гилядова А.В. и др., 2022; Global Cancer Observatory., 2019].

Папилломавирусная инфекция является наиболее распространенным инфекционным заболеванием, передаваемым половым путем, у взрослого населения [Андосова Л.Д. и др., 2019; Arbyn M. et al., 2020; Brand T.M. et al., 2017; Hategaka C. et al., 2020]. По оценкам специалистов, вероятность заражения вирусом папилломы человека (ВПЧ) в течение жизни у пациентов любого пола к 45 годам составляет более 80% [Сафарова Р.И. и др., 2019; Basu P. et al., 2013; Chesson H.W. et al., 2014]. Наиболее высокие показатели заболеваемости зарегистрированы у людей молодого возраста сразу после начала половой активности [Arrossi S. et al., 2016; Dorsainvil M., 2017]. Максимальная распространенность ВПЧ наблюдается среди пациенток в возрасте до 25 лет. Лонгитудинальные исследования с участием молодых женщин показали, что общая инфицированность ВПЧ всех типов в возрасте от 17 до 24 лет составляет 15,7–29,4 на 1000 пациенто-месяцев [Аполихина И.А., 2019; Аттоева Д.И. и др., 2021; Handler N.S. et al., 2015; Kelly H. et al., 2017].

Вышеизложенное свидетельствует о высокой актуальности разработки и

внедрения в клиническую практику новых эффективных и безопасных методов профилактики и лечения интраэпителиальных поражений ШМ и рака шейки матки.

Степень разработанности темы исследования

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

В современных программах скрининга РШМ критически важным является повышение эффективности и точности методов диагностики, одним из которых является оптическая спектроскопия диффузного отражения (DRS). При использовании данного метода освещение аномальных зон эпителия ШМ низкоинтенсивным широкополосным источником света позволяет получать спектры обратно рассеянного излучения, отличные от таковых, характерных для нормальных тканей ШМ в видимом диапазоне длин волн. Подобные различия спектров могут быть использованы для выявления неопластических поражений эпителия шейки матки. Особенности этих спектров обусловлены размерами и плотностью рассеивателей, концентрацией общего гемоглобина (Hb) и насыщением гемоглобина кислородом, что позволяет их использовать в качестве оптических маркеров для оценки и классификации очагов CIN [Novikova T., 2017; Kyrgiou M. et al., 2017; Park Y.K., Park C.H., 2016].

Флуоресцентная спектроскопия и визуализация основаны на возможности регистрации поглощения и излучения определенным веществом электромагнитных колебаний светового диапазона. Использование флуоресцентной спектроскопии для скрининга и диагностики онкологических

заболеваний и предраковых изменений клеток основано на способности этого метода определять молекулярный состав ткани [Kyrgiou M. et al., 2017; Park Y.K., Park C.H., 2016; Zhang W. et al., 2018; Shramova E.I. et al., 2020].

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

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

Перспективным методом диагностики и лечения интраэпителиальной неоплазии шейки матки и раннего инвазивного РШМ является фототераностика: совместное использование методов флуоресцентной диагностики (ФД) и лечения с использованием фотодинамической терапии (ФДТ) [Alekseeva P. et al., 2020].

Продемонстрирована высокая эффективность применения ФДТ в лечении CIN и носительства ВПЧ-инфекции ШМ, при этом неблагоприятных последствий для фертильности не наблюдается [Li D. et al., 2020]. Терапевтический эффект ФДТ заключается в образовании свободных радикалов, в частности, синглетного

кислорода, который вызывает локальное фотоокисление, повреждение и разрушение клеток, подвергшихся трансформации. Этот эффект основан на генерации избыточных активных форм кислорода (АФК), поражающих опухолевые клетки в процессе индукции окислительного стресса.

Эффективность и безопасность ФДТ при лечении новообразований шейки матки подтверждена в ряде исследований [Shramova E.I. et al., 2020; Inada N.M. et al., 2019]. ФДТ занимает особое место в лечении предраковых состояний шейки матки. Полученные в ходе проведения исследования данные свидетельствуют о том, что фотосенсибилизаторы (ФС) хлоринового ряда обладают хорошей фотодинамической активностью и низкой частотой побочных эффектов.

Несмотря на определенную эффективность применения ФДТ в лечении CIN и ВПЧ-инфекции ШМ, имеются сообщения о возникновении рецидивов неоплазии, результаты элиминации ВПЧ у этой категории пациенток достаточно противоречивы [Chizenga E.P. et al., 2019; Fu Y. et al., 2016; Li D. et al., 2020]. В то же время имеющиеся на сегодняшний день сведения о возможностях применения фототерапии как перспективного подхода к лечению интраэпителиальной неоплазии ШМ и раннего инвазивного РШМ не систематизированы. Требуют уточнения механизмы воздействия используемого лечебного фактора на клетки эпителия ШМ. Четко не сформулированы показания к применению фототерапии при данной патологии, отсутствуют алгоритмы использования метода в лечении интраэпителиальной неоплазии ШМ и раннего инвазивного РШМ.

Цель исследования

Улучшение результатов лечения плоскоклеточной дисплазии тяжелой степени и преинвазивного рака шейки матки на основе применения метода фототерапии.

Задачи исследования

1. Патогенетически обосновать применение фототерапии в диагностике и лечении интраэпителиальных неоплазий шейки матки и

преинвазивного рака шейки матки.

2. Сравнить клиническую эффективность использования фототераностики, основанной на одновременном применении двух инструментальных флуоресцентных методов (видео- и спектроскопического) и стандартных методов диагностики, в лечении интраэпителиальных неоплазий и преинвазивного рака шейки матки с оценкой динамики маркеров пролиферации в очагах неоплазии и преинвазивного рака шейки матки.

3. Оценить безопасность разработанного подхода к лечению интраэпителиальных плоскоклеточных поражений тяжелой степени и преинвазивного рака шейки матки.

4. Изучить репродуктивные исходы у пациенток, которым проводилось лечение интраэпителиальных неоплазий и преинвазивного рака шейки матки с использованием фототераностики.

5. Сформулировать показания к применению метода фотодинамической терапии у данного контингента пациенток.

Научная новизна

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

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

В данном исследовании впервые оценена эффективность и безопасность

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

Использование фототераностики впервые продемонстрировало, что совместное применение методов видео- и спектрально-флуоресцентной диагностики для оценки состояния очагов поражения шейки матки позволяет контролировать процесс фотодинамической терапии на всех этапах проведения процедуры.

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

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

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

Теоретическая и практическая значимость работы

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

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

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

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

Результаты исследования позволяют обосновать, что применение фотодинамической терапии способствует значительному снижению риска рецидивов папилломавирусной инфекции, сокращению продолжительности

противовирусной терапии и снижению экономических затрат на лечебно-диагностические мероприятия по сравнению использованием стандартных терапевтических подходов.

Методология и методы исследования.

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

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

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

Наличие/отсутствие интраэпителиальных изменений CIN/SIL, злокачественных клеток по данным цитологического исследования соскобов экзоцервикса, эндоцервикса оценивали через 6 недель, 3,6, 9, 12 месяцев после

проведенного лечения. Сохранение анатомо-функциональной структуры шейки матки сравнивали по результатам УЗИ шейки матки (цервикометрии), цервикоскопии и зондирования цервикального канала через 6 недель после проведенного лечения.

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

Основные положения, выносимые на защиту

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

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

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

Степень достоверности и апробация результатов работы

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

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

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

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

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

Внедрение результатов в практику

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

Материалы исследования использованы в учебном процессе – в лекциях для студентов шестого курса, ординаторов, врачей на кафедре онкологии, радиотерапии и реконструктивной хирургии ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

Личный вклад

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии во всех этапах подготовки диссертационной работы. Автором были сформулированы цель и задачи, исходя из них составлен дизайн исследования, разработана программа диагностики, лечения и дальнейшего наблюдения за пациентками с интраэпителиальными плоскоклеточными поражениями тяжелой степени и преинвазивным раком шейки матки. Проведен поиск и анализ научной литературы по изучаемой проблеме. В ходе реализации исследования диссертант лично участвовал в наборе и скрининге пациенток, их обследовании и лечении, проводил статистический анализ полученных материалов, автором лично сформулированы основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации. Диссертантом в соавторстве подготовлены к печати публикации по теме работы.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 11 работ, в том числе 3

научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 3 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed), 4 иные публикации по результатам исследования, 1 патент на изобретение № 2782643 «Способ фотодинамической терапии новообразований шейки матки и вульвы под контролем совместной видео- и спектрально-флуоресцентной диагностики с применением фотосенсибилизаторов хлоринового ряда» (дата государственной регистрации – 31.10.2022 г.).

Структура и объем диссертации

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

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность и признательность профессору доктору физико-математических наук, заведующему лабораторией лазерной биоспектроскопии ИОФ им. А.М. Прохорова РАН, заведующему кафедрой лазерных микро-, нано- и биотехнологий Национального исследовательского ядерного университета МИФИ Лощену В.Б. и младшему научному сотруднику лаборатории лазерной биоспектроскопии ИОФ им. А.М. Прохорова РАН Алексеевой П.М. за помощь в подготовке представленной работы.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ВОЗМОЖНОСТЯХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФОТОТЕРАНОСТИКИ И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСЕ ЛЕЧЕБНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ ПРИ ПРЕДРАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ

1.1 Распространенность, этиология и патогенез предраковых поражений эпителия и рака шейки матки

Рак шейки матки (РШМ) является распространенным онкологическим заболеванием и в настоящее время выступает в качестве одной из ведущих причин смертности женщин от онкозаболеваний в большинстве экономически развитых стран [Cohen P.A. et al., 2019; Siegel R.L. et al., 2020]. По данным Международного агентства по изучению рака Всемирной организации здравоохранения, в 2020 г. в мире было зарегистрировано 603 863 новых случаев РШМ, абсолютное количество смертных случаев вследствие данного заболевания в течение года составило 341 680 [Sung H. et al., 2021]. Пятилетняя выживаемость этой категории пациенток в 2020 г. варьировалась в разных странах от 37 до 77% [Гилядова А.В. и др., 2022; Cancer today, 2020]. Прирост заболеваемости РШМ в течение последних 10 лет составил 25% при среднегодовом темпе роста 2,2%. Этап опухоли все чаще диагностируется у женщин детородного возраста [Боровкова Л.В. и др., 2019].

Среди гинекологических заболеваний, встречающихся у женщин репродуктивного возраста, патология шейки матки (ШМ) составляет от 10 до 15% [Роговская С.И. и др., 2016]. Интраэпителиальные неоплазии шейки матки (ШМ) являются предраковыми формами РШМ. Риск развития опухоли у пациенток при наличии очагов предракового поражения эпителия ШМ – цервикальной интраэпителиальной неоплазией (CIN) – в 20 раз превышает таковой у здоровых женщин [Sayed S.A. et al., 2021]. O. Shaki et al. (2018) в рамках скринингового обследования выявили в большинстве случаев отрицательные по

интраэпителиальной неоплазии (NILM) (52,8%) результаты, частота воспалительных изменений составила 18,4%, изменения клеток неопределенного значения (ASCUS) были установлены у 4% обследуемых женщин, тогда как предраковые состояния встречались реже: плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени (LSIL) в 6,8% случаях и высокой степени (HSIL) – у 6% обследуемых женщин.

В настоящее время общепризнанно, что крайне важно начинать лечение CIN на ранних стадиях, чтобы избежать прогрессии интраэпителиальной неоплазии в инвазивный РШМ [Боровкова Л.В. и др., 2019; Гилядова А.В. и др., 2022; Cohen P.A. et al., 2019; Sayed S.A. et al., 2021].

Инфекция ВПЧ связана с локальным снижением количества бактерий, продуцирующих молочную кислоту, что, в свою очередь, приводит к разрушению биологического барьера локальной иммунной микросреды влагалища и усугублению нарушений состава вагинальной микрофлоры, способствует аномальной адгезии ВПЧ во влагалище. Вышеперечисленные изменения в свою очередь вызывают локальный дисбаланс влагалищной микросреды и способствуют нарушениям локального иммунного барьера цервикального канала, что обеспечивает одновременно адгезию, инвазию и колонизацию слизистых оболочек урогенитального тракта со стороны измененной микрофлоры [Пестрикова Т.Ю. и др., 2020; Placidi A. et al., 2016; Mitrea M. et al., 2019].

Эти процессы формируют порочный круг в микросреде влагалища, в результате чего происходит прогрессирование инфекции ВПЧ и развитие цервикальных поражений. С учетом концепции о стереотипном реагировании слизистых оболочек человека при хроническом воспалении очевидно, что важнейшим направлением исследований патогенеза заболеваний ШМ должно быть углубление представлений о связи регенеративных и иммуновоспалительных процессов и их роли в морфогенезе данной патологии. Полученные результаты позволят расширить представления о механизмах хронизации воспалительного процесса в эпителии ШМ как возможной основы развития предрака и рака данной локализации.

В подавляющем большинстве случаев в качестве ведущего этиологического фактора развития плоскоклеточных интраэпителиальных поражений ШМ и плоскоклеточного РШМ выступает вирус папилломы человека (ВПЧ) [Гилядова А.В. и др., 2022; Lyu Z. et al., 2017; Chabeda A. et al., 2018]. ВПЧ – небольшие по размерам безоболочечные вирусы с двухцепочечной молекулой ДНК, геном которых содержит 8000 пар нуклеотидов, которые кодируют так называемые ранние регуляторные белки (E1, E2, E5, E6 и E7) и поздние структурные белки (L1 и L2).

ВПЧ являются наиболее распространенными вирусами, передающимися половым путем [Sayed S.A. et al., 2021; Lyu Z. et al., 2017]. К 2018 г. был охарактеризован 221 тип ВПЧ [Mühr L.S.A. et al., 2018]. Представители рода Alpha, инфицирующие главным образом слизистые оболочки аногенитального тракта, полости рта, глотки и гортани, разделяются по степени канцерогенного потенциала на три группы: ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВПЧ-ВКР) (типы 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 и 82), возможно высокого риска (26, 53 и 66) и низкого риска (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 и 89) [D'arc M. et al., 2020].

Заражение человека ВПЧ-ВКР и интеграция генома ВПЧ в хромосому хозяина эпителиальных клеток ШМ являются ключевыми ранними событиями в неопластическом прогрессировании поражений ШМ. К настоящему времени установлено, что вирусные онкопротеины, преимущественно E6 и E7, ответственны за начальные изменения, происходящие в ходе этого процесса в эпителиальных клетках. Вирусные белки инактивируют два основных белка-супрессора опухолей – p53 и белок ретинобластомы (pRb). Инактивация этих белков нарушает как механизмы репарации ДНК, так и процесс апоптоза, что приводит к быстрой пролиферации клеток. При прогрессировании CIN множественные гены, участвующие в репарации ДНК, пролиферации клеток, активации факторов роста, процессах ангиогенеза, а также гены митогенеза становятся высоко экспрессируемыми. Эта геномная нестабильность побуждает клетки, инфицированные ВПЧ, прогрессировать до инвазивной карциномы [Peng

L. et al., 2020]. Установлены сильные корреляционные связи наличия ВПЧ-ВКР с выявлением у женщин CIN II–III ст., что подтверждает роль вируса как важнейшего фактора прогрессирования предрака ШМ в инвазивный РШМ [Koshiol J. et al., 2008; Cibula D. et al., 2018].

Плоскоклеточное интраэпителиальное поражение ШМ, характеризующееся поражением плоского эпителия (SIL) / цервикальной интраэпителиальной неоплазией (CIN) в виде атипической трансформации плоскоклеточного эпителия ШМ без инвазии в строму, является предраковым состоянием [Dudea-Simon M. et al., 2021]. Плоскоклеточное интраэпителиальное повреждение ШМ подразделяют на поражение плоского эпителия легкой степени (LSIL) и поражение плоского эпителия тяжелой степени (HSIL). Согласно цитологической классификации заболеваний Бетесда (Terminology Bethesda System) поражения ШМ подразделяют на: CIN I – недифференцированные клетки занимают нижнюю треть эпителиального пласта, CIN II – незрелые клетки занимают нижние две трети толщины эпителия; CIN III (включают тяжелую дисплазию и преинвазивный рак) – незрелые аномальные клетки занимают более чем две трети толщины эпителиального пласта или всю его толщину, но инвазия в подлежащую строму отсутствует [Ndifon C.O., Al-Eyd G., 2021].

Установлено, что около 60% поражений CIN I регрессируют без лечения, 1% этих поражений прогрессирует до РШМ; в то же время многие авторы считают, что женщины с CIN II и CIN III подвержены значительно более высокому риску развития инвазивного опухоли [Cohen P.A. et al., 2019; Graham S.V., 2017; Lili E. et al., 2018; Ndifon C.O., Al-Eyd G., 2021].

В отношении своевременной профилактики РШМ крайне важной является возможность обнаружения предшествующего состояния – плоскоклеточного интраэпителиального повреждения ШМ. Ранняя диагностика и лечение этих предраковых поражений позволяет предотвратить естественное прогрессирование этих поражений в РШМ [Jain M.A., Limaïem F., 2021]. В связи с этим выявление и мониторинг гистологических плоскоклеточных интраэпителиальных поражений ШМ тяжелой степени (HSIL) в настоящее время рассматривается в качестве

одной из важнейших задач общественного здравоохранения, с учетом того, что примерно в 30% случаев эти поражения потенциально могут трансформироваться в РШМ в течение последующих 30 лет [Dudea-Simon M. et al., 2021]. Своевременная диагностика и адекватное лечение могут существенно снизить эти риски. Учитывая высокую распространенность CIN и РШМ и значимый удельный вес этой патологии в популяции молодых женщин, мы считаем актуальными разработку и совершенствование патогенетически обоснованных и клинически эффективных методов лечения вирусассоциированных плоскоклеточных интраэпителиальных поражений ШМ и РШМ.

К настоящему времени предложен и внедрен в клиническую практику широкий комплекс лечебно-диагностических мероприятий, проводимых в отношении этой патологии. К основным методам диагностики относятся расширенное кольпоскопическое исследование, цитологическое исследование соскобов экто- и эндоцервикса, молекулярно-биологические методы, позволяющие идентифицировать генотип ВПЧ и определять степень вирусной нагрузки, – полимеразная цепная реакция (ПЦР), в том числе ПЦР в режиме реального времени, а также амплификация на основе последовательности нуклеиновой кислоты (NASBA) [Basu P. et al., 2018; Kocken M. et al., 2012; Mello V., Sundstrom R.K., 2020].

1.2 Возможности использования биомаркеров в диагностике интраэпителиальных поражений шейки матки

На сегодняшний день активно проводятся исследования, направленные на совершенствование и поиск различных, в том числе альтернативных методов скрининга РШМ. Однако пока не охарактеризованы четко установленные биомаркеры с высокой прогностической ценностью, позволяющие, например, оценить вероятность развития карциномы ШМ на стадии CIN II+, когда лечение является высокоэффективным [Ebisch R.M. et al., 2016; Luttmer R. et al., 2016].

Выдвинуто предположение о том, что использование «сетей» биомаркеров

вместо отдельных молекул потенциально может повысить точность и прогностическую ценность методов диагностики патологии ШМ и позволить более точно идентифицировать ранние признаки наличия опухолевого процесса, типы опухоли и стадии ее развития. В связи с этим ряд авторов полагают, что при выполнении лабораторных тестов, результаты которых позволят различать стадии CIN и будут характеризоваться высокой чувствительностью и специфичностью, необходимо использование панели биомаркеров [Ebisch R.M. et al., 2016]. При этом указывают, что предпочтительным является отсутствие патогенетических связей между комбинируемыми биомаркерами [Ebisch R.M. et al., 2016; Luttmner R. et al., 2016]. Предлагается использовать комбинации молекул, участвующих в разных механизмах патогенеза РШМ: иммунологические маркеры, антитела к метилированным нуклеиновым кислотам, маркеры апоптоза, то есть показатели независимых диагностических тестов [Guerrero-Preston R. et al., 2016; Goebel E.A. et al., 2017; Louvanto K. et al., 2020].

В последние годы производится оценка уровня экспрессии белков Ki-67 и p16 применяется для характеристики клеточной пролиферации и апоптоза [Calil L.N. et al., 2014; Chen C.C. et al., 2016; Major A.L. et al., 2021]. Также в литературе имеются данные о том, что онкопротеин E6 может быть биомаркером РШМ: в инфицированных ВПЧ 18 типа клетках E6 способствует развитию опухоли, индуцируя активность сосудистого фактора роста (VEGF) через активацию белка p53 [Sahasrabudde V.V. et al., 2011; Frega A. et al., 2016]. Показано, что экспрессия клеточного опухолевого антигена p53 и фактора VEGF обратно пропорционально соотносятся друг с другом и зависят от действия белков ВПЧ [Ершов В.А. и др., 2017], однако четкие закономерности и диагностические возможности факторов роста, биомаркеров пролиферации и онкобелков в решении вопроса о возможном прогрессировании патологического процесса не определены.

В настоящее время в качестве одного из ключевых аспектов патогенеза РШМ рассматриваются процессы клеточного обновления эпителия ШМ. Ряд исследований был посвящен оценке экспрессии ряда маркеров, характеризующих

процессы апоптоза и пролиферации клеток: p53, bcl-2, Ki-67, PCNA и др. [Бокач О.М. и др., 2018; Miralpeix E. et al., 2016; Goebel E.A. et al., 2017]. Общеизвестно, что для апоптотической гибели клеток характерно отсутствие воспалительной реакции, сохранность окружающих гистоструктур и возможность реутилизации освобождающегося генетического и пластического материала. Эффекторные белки апоптоза выявляются в большинстве клеток, клетки изначально запрограммированы на апоптоз, в то время как в нормальных же условиях данная программа заблокирована [Cicinelli E. et al., 2009].

Характеристики Ki-67 и p16 позволяют рассматривать эти белки в качестве потенциальных биомаркеров предраковых изменений и РШМ, ассоциированного с ВПЧ. При этом установлено, что экспрессия этих молекул коррелирует с гистологической стадией и инфицированностью женщин ВПЧ ВКР [Uijterwaal M.H. et al., 2015; Ciavattini A. et al., 2017].

Белок p16 – это клеточный протеин, участвующий в регуляции клеточного цикла. В нормально функционирующих клетках синтез p16 сдерживается по механизму обратной связи и, следовательно, концентрация данного белка в нормальной клетке чрезвычайно мала, что проявляется негативной иммуноцитохимической реакцией [Song F.B. et al., 2020]. Известно, что экспрессия данного белка ассоциирована с наличием признаков CIN I-III и внутриэпителиального РШМ. Этот маркер практически не обнаруживается в клетках плоского эпителия без признаков дисплазии (0–2% случаев) [Chaloob M.K. et al., 2016; Venevolo M. et al., 2017; Ding L. et al., 2017].

Ki-67 – антиген раковой опухоли, который можно обнаружить в клетке в фазе деления, однако в фазе покоя клеточного цикла этот маркер не определяется [Montagna E. et al., 2015]. Эта особенность Ki-67 может быть использована при его рассмотрении в качестве индикатора прогноза предракового заболевания. Полагают, что совместное определение p16 и Ki-67 повышает точность диагностики. Так, в исследовании Yu L.L. et al. (2016) частота положительного результата диагностики значительно возросла с увеличением тяжести выявляемых цитологических и гистологических аномалий. Авторами были

установлены сильные ассоциации уровней этих маркеров с диагнозом CIN II+, отношение шансов (ОШ) составило 16,03; 95%-ный доверительный интервал (ДИ) 4,46–57,59. Высокая специфичность определения концентраций p16 и Ki-67 в аспекте диагностики CIN III и более тяжелых поражений была подтверждена в ряде исследований [Luttmer R. et al., 2016]. Сочетанная экспрессия p16 и ki 67 позволяет идентифицировать ВПЧ-ассоциированные онкотрансформированные клетки [Димитриади Т., 2020].

В работах последних лет рассматривается подход к диагностике рассматриваемой патологии с использованием комбинированного окрашивания капсидного белка TOP2A и Ki-67 [Peres A.L. et al., 2016], а также p16INK4a/Ki-67 и L1 [Byun S.W. et al., 2013]. Показано, что у 60% пациенток с ВПЧ-16-положительным РШМ в отделяемом цервикального канала и сыворотке крови присутствуют анти-ВПЧ-16 E7 антитела класса иммуноглобулинов, в то время как у здоровых пациенток эти антитела не выявляются [Tjong M.Y. et al., 2001].

Следует отметить: несмотря на то, что к настоящему времени для идентификации биомаркеров предраковых изменений клеток ШМ и выявления РШМ было проведено множество исследований с использованием материалов и даже биопсии [Tota J.E. et al., 2014; Wentzensen N., Silver M.I., 2016], однако новых белковых биомаркеров рассматриваемой патологии в ЦВО до настоящего времени не выявлено.

1.3 Основные подходы к лечению цервикальных интраэпителиальных неоплазий

Для лечения CIN в настоящее время применяют методы абляции (деструкции) и эксцизии (иссечение) патологически измененных тканей. К методам абляции относятся электро-, радио-, лазерную деструкцию и криодеструкцию. К эксцизионным методам относят LEEP (петлевую электрохирургическую эксцизию), LLETZ (электрохирургическую петлевую эксцизию зоны трансформации), конизацию холодным ножом и лазерную

конизацию [Ndifon C.O., Al-Eyd G., 2021].

Следует отметить, что эффективность используемых в настоящее время методов лечения интраэпителиальных плоскоклеточных поражений ШМ представляется недостаточной, у пациенток нередко отмечаются рецидивы заболевания. Американское общество кольпоскопии и патологии шейки матки (ASCCP) рекомендует женщинам с гистологически подтвержденными CIN II–III степени проводить абляционное или эксцизионное лечение [Basu P. et al., 2018]. Однако нередко даже после проведенного лечения выявленные трансформации CIN II–III сохраняются, у пациенток выявляется персистенция ВПЧ-ВКР [Massad L.S. et al., 2012]. Рецидив CIN может быть результатом неадекватного лечения предраковых поражений ШМ (т.е. неэффективности лечения), неполного удаления ВПЧ, что приводит к персистированию инфекции, а также результатом повторного инфицирования другим типом ВПЧ, не связанным с первичным поражением ШМ [Tachezy R. et al., 2006].

В рамках систематического обзора данных, полученных в ходе выполнения 45 исследований, был выполнен анализ результатов оценки персистенции ВПЧ после лечения у 6106 женщин из стран Европы (58%), Азии и Австралии (22%), Северной, Центральной и Южной Америки (18%), 2% – из других регионов. Было установлено, что результаты конизации и LEEP были более эффективны по сравнению с процедурами криотерапии в отношении элиминации возбудителя ВПЧ при обследовании женщин в течение 12 месяцев после проведенного лечения. Медиана показателя персистенции ВПЧ через 3, 6, 12 и 24 месяцев после лечения составила 48, 35, 16 и 18%, соответственно, после криотерапии; 28, 21, 21 и 9% – после петлевой эксцизии; 20, 6, 4 и 2% – после конизации шейки матки. Для LEEP и конизации была характерна более высокая элиминация ВПЧ по сравнению с криотерапией. Снижалась частота выявления инфицированности женщин ВПЧ-ВКР после лечения конизацией с использованием CO₂-лазера, значения показателя составили 51,2% через 3 месяца, 41,9% через 6 месяцев и 22,5% через 12 месяцев после лечения [Hoffman S.R. et al., 2017].

По данным Kocken M. et al. (2012), общий риск рецидива после

хирургического лечения CIN II составляет около 10–14%, при этом рецидивы CIN II и III возникают в течение 5 лет соответственно у 6% и 16,5% пациенток, что обусловлено персистенцией папилломавирусной инфекции или неполным иссечением патологически измененных тканей.

В рамках систематического обзора Hurtado-Roca Y. et al. (2020) проанализировали данные восемь рандомизированных клинических исследований, в которых оценивалась эффективность лечения CIN с использованием методов криотерапии или холодной конизации по сравнению с LEEP. Мета-анализ данных включенных исследований показал, что использование холодной конизации снижает риск остаточного заболевания по сравнению с применением метода LEEP. При этом использование криотерапии увеличивает риск рецидива заболеваний и повторного инфицирования, уровень этого риска ассоциирован с наличием положительного края резекции.

По данным систематического обзора El-Nashar S. et al. (2017), применение LEEP увеличивает частоту рецидивов заболеваний почти в два раза по сравнению с использованием холодной конизации.

Xiang L. et al. (2015) провели ретроспективный анализ данных 1359 пациенток в возрастном диапазоне от 19 до 72 лет. 92,2% из них была выполнена конизация с целью лечения CIN, а у 7,8% женщин эта процедура осуществлялась с диагностической целью. По результатам гистологического заключения было показано, что использование конизации позволило выявить наличие CIN у 1113 (81,9%) пациенток, у 116 (8,5%) женщин был подтвержден диагноз инвазивной карциномы, включая 72 карциномы стадии 1A1 по FIGO, 29 карцином стадии 1A2 по FIGO и 15 – стадии 1b1 по FIGO. В течение средней продолжительности наблюдения 46 месяцев (диапазон: 24–106 месяцев) неопластические поражения ШМ были зарегистрированы у 50 (4,6%) пациенток. Из них у 23 женщин возник рецидив LG-CIN, у 21 – HG-CIN, у двух пациенток – HG-CIN с сопутствующей вагинальной интраэпителиальной неоплазией (VaIN). В этот же период были отмечены четыре случая прогрессирования до инвазивной карциномы. Средний интервал между выполнением конизации и выявлением рецидива заболевания

составил 10 месяцев (от 3 до 64). У 56 % пациенток рецидив возник в течение первого года после конизации [Xiang L. et al., 2015].

Эксцизионные методы лечения и в меньшей степени абляционные являются инвазивными. Их использование приводит к изменениям анатомии и морфологии ШМ, нарушая ее функциональность, тем самым негативно влияя на репродуктивные возможности женщины и исходы беременности. Использование подобных инвазивных методов лечения может вызвать такие осложнения, как кровотечение, стеноз шейки матки, а также может способствовать возникновению очагов эндометриоза [Xiang L. et al., 2015]. При этом у женщин, которым проводится лечение с применением вышеуказанных подходов, нередко наблюдаются осложнения последующих беременностей: самопроизвольный аборт и преждевременные роды, у новорожденных отмечается низкий вес [Jin J. et al., 2015].

Традиционные методы лучевой и химиотерапии, которые широко используются в лечении РШМ, безусловно, отрицательно влияют на фертильность пациентки.

Kyrgiou M. et al. (2017) провели метаанализ результатов 69 исследований (6357823 беременностей, в том числе 65098 беременностей у пролеченных и 6292725 беременностей у нелеченых женщин. У пациенток, которым проводилось лечение с использованием эксцизионных методов, был отмечен повышенный общий риск преждевременных родов (менее 37 недель) (10,7% против 5,4%), повышенный риск разрыва плодных оболочек, выкидыша в первом и втором триместрах беременности, более высокая частота рождения детей с низкой массой тела (менее 2500 г.) по сравнению с женщинами, которым не проводилось лечение. Риск преждевременных родов был выше при использовании эксцизионных методов (удаление по сравнению с отсутствием лечения: 11,2% против 5,5%, 4599416 участников), чем при абляционных (абляция по сравнению с отсутствием лечения: 7,7% против 4,6%, 602370 участников). Повторное лечение увеличивало общий риск недоношенности (повторение по сравнению с отсутствием лечения: 13,2% против 4,1%).

Вышеприведенные данные свидетельствуют о необходимости совершенствования используемых подходов и о важности поиска новых методов лечения предраковых поражений и РШМ, который интенсивно проводился в течение последних десятилетий. В качестве одного из подобных направлений был предложен подход, предусматривающий одновременное проведение диагностики и лечения этой патологии, – фототераностика, включающая одновременную реализацию диагностических и лечебных мероприятий в виде фотодинамической терапии (ФДТ) у данного контингента пациенток.

Известно, что стойкая персистенция ВПЧ обусловлена присутствием вируса в слизистой оболочке влагалища, вследствие чего возможно повторное инфицирование ШМ [Hoffman S.R. et al., 2017]. Поэтому актуальной является также разработка методов лечения, позволяющих добиться элиминации вируса со всей слизистой половых путей, к которым ВПЧ является тропным. Исходя из этого, невозможно провести деструкцию и/или абляцию относительно больших по площади участков на поверхности ШМ, влагалища и вульвы одномоментно при учете возможности инфицированности этих анатомических областей. Особенностью ФДТ является возможность воздействия на все указанные локализации с целью эрадикации ВПЧ [Гилядова А.В. и др., 2022; Решетов И.В. и др., 2022].

В заключение следует отметить, что основной целью совершенствования методов лечения РШМ остается на сегодняшний день повышение выживаемости больных, предлагаемые подходы к терапии заболевания зависят от стадии, метастазирования опухоли или развития ее рецидива [Sayed S.A. et al., 2021; Balasubramaniam S.D. et al., 2019]. Стандартные методы лечения CIN, в частности, диатермокоагуляция, криотерапия, лазерная вапоризация, а также лазерная и электрокоагуляция, являются инвазивными. Их применение может приводить к развитию ряда осложнений, в первую очередь кровотечений. Относительно высокой является частота нарушений репродуктивной функции при использовании вышеперечисленных подходов к лечению CIN, проявляющихся бесплодием либо патологией течения беременности [Dudea-Simon M. et al., 2021;

McCredie M.R. et al., 2008; Mello V., Sundstrom R.K., 2020].

1.4 Возможности флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии заболеваний шейки матки

1.4.1 Принципы фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики. Характеристика фотосенсибилизаторов

Фотодинамическая терапия (ФДТ) представляет собой перспективный высокоселективный метод лечения, который в настоящее время применяется при лечении целого ряда заболеваний, как незлокачественных (грибовидный микоз, остроконечные кондиломы, болезнь Боуэна), так и злокачественных (плоскоклеточный рак, опухоли желудочно-кишечного тракта) [Гилядова А.В. и др., 2022; Решетов И.В. и др., 2022; Hillemanns P., Soergel P., 2011; Novikova T., 2017]. Метод основан на системном или местном применении лекарственных препаратов-фотосенсибилизаторов (ФС) с последующим воздействием на них лазерным излучением, длина волны которого совпадает с пиком поглощения ФС. Клинические эффекты ФДТ обусловлены генерацией под действием светового излучения свободных кислородных радикалов, что, в свою очередь, приводит к локальному фотоокислению, повреждению и разрушению определенных клеток [Гилядова А.В. и др., 2022; Решетов И.В. и др., 2022; Alekseeva P.M. et al., 2020; Agostinis P. et al., 2011; Xu J. et al., 2021; Li D. et al., 2020]. При взаимодействии молекулы ФС и кванта света, опосредованном каскадом фотохимических реакций, образуются активные формы кислорода. В первую очередь к ним относится синглетный кислород (1O_2), который, повреждая мембрану клетки и ее внутренние структуры, запускает процессы перекисного окисления липидов, приводящие к гибели клеток. Опухолевые клетки поглощают ФС значительно активнее, чем здоровые, что обеспечивает избирательное противоопухолевое действие ФДТ с максимальным сохранением здоровых тканей. Помимо этого, важную роль в противоопухолевом действии играют развивающиеся нарушения

кровообращения опухоли за счет повреждения эндотелия сосудов опухолевой ткани [Alekseeva P.M. et al., 2020; Kyrgiou M. et al., 2014].

В качестве ФС используются различные группы препаратов, в частности:

- производные порфирина – Фотогем, Фотофрин-2;
- производное фталоцианина – Фотосенс;
- производные хлорина – Фотодитазин, Радахлорин, Фоторан, Фотолон, Фоскан;
- производные 5-аминолевулиновой кислоты – Аласенс 20% гель, гексоаминолевулинат (HAL) [Гилядова А.В. и др., 2022; Лукьянец Е.А., 2013; Торчинов А.М. и др., 2013; Juarranz A. et al., 2008].

«Идеальный» ФС должен удовлетворять целому ряду требований:

- наличие интенсивной полосы поглощения в красной или ближней инфракрасной (ИК) области спектра – в так называемом «терапевтическом окне»;
- отсутствие агрегации в водных растворах, приводящей к падению квантового выхода генерации $^1\text{O}_2$;
- наличие интенсивной флюоресценции, позволяющей одновременно проводить флуоресцентную диагностику, и достаточно большая длительность триплетного состояния, обеспечивающая возможность реализации фотодинамического эффекта;
- высокая стабильность при хранении и эксплуатации, в частности фазовая стабильность – отсутствие образования осадка;
- отсутствие общей токсичности [Церковский Д.А., Дунаевская В.В., 2020].

В настоящее время проводится поиск новых эффективных ФС, в частности, среди веществ – органических красителей, прежде всего среди порфиринов и их синтетических аналогов. Хлорины (дигидропорфирины) характеризуются увеличением интенсивности длинноволновой части спектра и ее смещением в красную область по сравнению с порфиринами. Из хлоринов можно отметить водорастворимые моно-L-аспартилхлорин еб и другие различные формы хлорина еб. В нашей стране разработаны и применяются такие препараты, как фотодитазин, радахлорин, а также синтетические хлорины – 5,10,15,20-тетракис

(*m*-гидроксифенил) хлорин (темопорфин, *m*-ТНРС, фоскан) и производные бензопорфирина (бензопорфирин монокислота, кольцо А) [Лукьянец Е.А., 2013].

Присущие большинству ФС для ФДТ водорастворимых производных порфиринов недостатки в значительной мере устраняются при использовании их структурного аналога – фталоцианина и его производных. Вследствие особенностей их молекулярной структуры, которая, как установлено, отличается наличием в молекуле этих ФС атомов азота, эти соединения имеют более интенсивную длинноволновую полосу поглощения, чем порфирины, к тому же их поглощение смещено в красную область спектра, где прозрачность биологических тканей выше, что расширяет терапевтические возможности метода. Из водорастворимых фталоцианинов наиболее доступны и изучены в качестве препаратов для ФДТ их сульфопроизводные, в первую очередь хлоралюминиевый и цинковый комплексы. Их эффективность и механизм действия зависят от степени сульфирования, причем большинство из них более эффективно, чем их порфириновые аналоги (НРД, фотофрин-2) [Гилядова А.В. и др., 2022; Лукьянец Е.А., 2013; Странацко Е.Ф., 2021].

На основе сульфозамещенного фталоцианина алюминия был разработан отечественный ФС фотосенс, эффективность и безопасность которого была оценена в ряде клинических исследований (КИ) в ряде медицинских учреждений. Продемонстрирована его высокая терапевтическая эффективность в лечении ряде новообразований [Лукьянец Е.А., 2013; Странацко Е.Ф., 2021]. В настоящее время фотосенс разрешен к медицинскому применению в РФ.

Перспективными для целевой доставки ФС в опухоль являются их конъюгаты с различными носителями, в частности с моноклональными антителами, а также с α -аминокислотами, углеводами, аминсахарами [Iqbal Z. et al., 2012]. Был предложен ряд систем целевой (таргетной) доставки ФС в опухолевые клетки с использованием различных наночастиц [Gao D. et al., 2019; Ha J.H., Kim Y.J., 2019].

Особое место среди ФС для ФДТ занимает 5-аминолевулиновая кислота (гидрохлорид), важнейшее природное соединение – общий предшественник

порфиринов в микроорганизмах, растениях и животных. Это соединение накапливается преимущественно в опухолевой ткани и превращается в результате биологических трансформаций в протопорфирин IX (ППИХ) – фотоактивное вещество, которое способно люминесцировать и генерировать $^1\text{O}_2$ при облучении видимым светом. Показано, что накопление ППИХ в раковых клетках может происходить в течение нескольких часов, высокая концентрация отмечается в течение 1–2 суток. В то же время в здоровых клетках ППИХ довольно быстро переходит в фотонеактивный гем. В результате наблюдается более сильная флюоресценция опухоли по сравнению с окружающими тканями. Этот феномен применяется в процессе осуществления интраоперационной диагностики при определении границ местной распространенности злокачественного процесса. Подобная избирательность лежит в основе механизма эффективности ФДТ наряду с высокой безопасностью данного виде лечения опухоли, поскольку при его проведении не происходит повреждения окружающих тканей [Гилядова А.В., 2022; Лукьянец Е.А., 2013].

Ценными являются и другие аспекты применения препаратов на основе 5-АЛК – весьма низкий уровень темновой токсичности и кожной фототоксичности [Лукьянец Е.А., 2013].

ФДТ включает два этапа: введение фотосенсибилизатора (ФС) и локальное воздействие направленного светового излучения [van Straten D. et al., 2017]. При проведении ФДТ ФС вводится, как правило, внутривенно, либо эти вещества наносятся местно в виде геля или мази [Park Y-K., Park C-H., 2016].

Ключевыми факторами эффективности ФДТ являются:

- использование электромагнитного излучения видимого спектра;
- правильный выбор ФС;
- активация кислородом нетоксичного ФС, накапливающегося преимущественно в патологически измененных тканях [Agostinis P. et al., 2011; Szpringer E. et al., 2004].

Наиболее распространенные режимы, применяемые при проведении ФДТ следующие: в качестве источника света используются диодные лазеры с длиной

волны 630–670 нм, выходная мощность источников света составляет от 1 до 2,0–2,5 Вт, плотность потока мощности от 80 до 300 мВт/см² [Гилядова А.В. и др., 2022]. Сеанс лазерного облучения цервикального канала по всей его длине проводится с использованием гибкого световода с цилиндрическим диффузором длиной 3 см. Облучение экзоцервикса осуществляется дистанционно световодом со шлифованным торцом или микролинзой, с диаметром светового пятна 1,5–2,0 см [Давыдов А.И. и др., 2020; Iqbal Z. et al., 2012; Choi M.C. et al., 2013].

Тканевая селективность, высокая безопасность метода по сравнению с традиционными методами способствовали тому, что ФДТ все достаточно широко используется в качестве эффективного альтернативного подхода к лечению ВПЧ-ассоциированной цервикальной CIN и преинвазивного рака, особенно у молодых женщин, планирующих беременность [Гилядова А.В. и др., 2022].

1.4.2 Механизмы лечебного действия фотодинамической терапии

К настоящему времени проведен ряд исследований, в том числе экспериментов *in vitro*, по изучению механизмов действия ФДТ и оценке эффективности применения различных ФС. Так, в исследовании Ambreen G. et al. (2020) изучалась возможность применения липосом, содержащих куркумин, в сочетании с ФДТ в экспериментах *in vitro*. Куркумин представляет собой природное соединение, обладающее противоопухолевой активностью, которое потенциально может использоваться в качестве ФС. Три линии клеток, ассоциированных с ВПЧ, были обработаны нагруженными куркумином липосомами, что соответствовало концентрации куркумина 0–100 мкмоль/л. В дальнейшем на клетки воздействовали световым излучением с длиной волны 457 нм в течение 45, 136 и 227 с, при плотности энергии 220,2 Вт/м² (100 мА), что соответствует 1, 3 и 5 Дж см⁻².

Полученные результаты показали, что фотоактивация липосом, нагруженных куркумином, приводит к значительному снижению колониеобразования и миграционной способности клеток, а также к усилению

гибели опухолевых клеток. Авторами было сделано заключение о том, что использование комбинации нагруженных куркумином липосом с ФДТ можно рассматривать в качестве перспективного метода лечения злокачественных новообразований, в этиологии которых играет важную роль папилломавирус [Ambreen G. et al., 2020].

Было выдвинуто предположение, что микрокапсулирование и таргетная доставка цитотоксических и антибактериальных агентов в комплексе с ФДТ способны улучшить результаты лечения ряда инфекционных заболеваний и опухолей. Ermakov A.V. et al. (2020) предприняли попытку применения *in vitro* водорастворимого катионного препарата, производного холина фталоцианина цинка (Cholosens) с помощью биоразлагаемых микрокапсул из сульфата декстрана и поли-1-аргинина при проведении ФДТ. Изучали эффективность высвобождения лекарственного средства в зависимости от его концентрации в капсуле, а также эффективность воздействия светового излучения на клетку. В качестве тест-систем использовали клеточные линии аденокарциномы шейки матки (HeLa) и нормальных фибробластов кожи человека (NHDF), а также два бактериальных штамма *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Результаты исследования показали, что инкапсулированные формы Cholosens обладают цитотоксическими и бактерицидными свойствами, следовательно, могут быть потенциально эффективны в качестве препаратов, которые для проведения ФДТ [Гилядова А.В. и др., 2022].

Li Z. et al. (2021) было проведено изучение механизмов ФДТ с использованием 5-аминокетовалерата (ALA-PDT) для оценки влияния излучения на митохондрии. Авторы оценивали влияние ALA-PDT на ВПЧ-ВКР, в частности, механизм действия на эндоплазматический ретикулум. При этом клетки РШМ человека линии HeLa (содержащие полный геном ВПЧ-ВКР18) обрабатывали ALA-PDT, оценивали их жизнеспособность с помощью методов иммунофлуоресценции и проточной цитометрии. Установлено, что ALA-PDT подавляет жизнеспособность клеток HeLa *in vitro*, индуцируя аутофагию в клетках HeLa. Установленное при этом ингибирование аутофагии может

увеличить скорость апоптоза клеток HeLa при воздействии ALA-PDT, что свидетельствует о том, что аутофагия может являться одним из механизмов устойчивости к ФДТ.

В работе На J.H., Kim Y.J. (2021) была оценена возможность использования капсул, содержащих феофорбид А (Pheo A) – таргетный лиганд (эпитопный аналог онкопротеина E7, EAE7) в составе полимерных наночастиц, при комбинированном лечении инфекции ВПЧ с помощью ФДТ и холодноплазменного воздействия на клетки РШМ. Результаты анализа эффективности ФДТ *in vitro* продемонстрировали, что использование наночастиц повышает активность метода в отношении клеток линии CaSki, что обусловлено усилением таргетного действия излучения. Кроме того, комбинированное воздействие более эффективно подавляло рост клеток РШМ, вызывая повышенное внутриклеточное образование активных форм кислорода и апоптотическую гибель клеток.

Pola M. et al. (2021) исследовали роль кислорода при фотодинамическом воздействии на клетки РШМ линии HeLa. Влияние ФДТ оценивали в условиях добавления в культуру клеток дисульфонируемого фталоцианина цинка ($ZnPcS_2$) и тетрасульфированного тетрафенилпорфирина цинка ($ZnTPPS_4$). Анализ фототоксичности при различных уровнях парциального давления кислорода показал дозозависимые клеточные ответы на воздействие ФДТ. Отмечена эффективность использования $ZnPcS_2$ в качестве ФС при минимальном уровне кислорода в атмосфере. Было установлено, что гипербарическая оксигенация не приводила к более высокой эффективности ФДТ ни с одним из использованных в исследовании фотосенсибилизаторов. При этом установлено, что оба вещества могут вызывать значительное снижение потенциала митохондриальной мембраны, а $ZnPcS_2$ оказывает более сильное влияние на дыхание митохондрий, которое полностью блокируется после двух коротких циклов ФДТ. В целом результаты проведенного исследования показали: ФДТ может быть эффективна даже в условиях гипоксии, при выборке адекватного ФС.

В работе Li Z. et al. (2021) был предложен и апробирован новый

фотосенсибилизатор – 1-трифениламинбензо [с] [1,2,5] тиадiazол-4-ил (стирил) – 1-метилпиридин-1-йодидная соль (TBZPy). Авторы изучали механизм действия этого ФС и возможность его потенциального применения в лечении заболеваний, связанных с ВПЧ-ВКР. Клетки HeLa, инфицированные штаммом ВПЧ-ВКР, тип 18, подвергались ФДТ с использованием TBZPy.

Было установлено, что использование этого метода подавляло жизнеспособность клеток, стимулировало продукцию активных форм кислорода, высвобождение лактатдегидрогеназы и апоптоз клеток HeLa *in vitro*. Использование TBZPy-PDT также способствовало потере потенциала митохондриальной мембраны, приводило к подавлению экспрессии антиапоптотических белков и увеличивало экспрессию проапоптотических белков. Также было установлено, что применение данного метода подавляло экспрессию белков E6 и E7 ВПЧ. По мнению авторов, полученные результаты свидетельствуют о возможности использования нового ФС при лечении заболеваний, связанных с папилломавирусной инфекцией [Li Z. et al., 2021].

В исследовании Chin W. et al. (2006) была подтверждена корреляция между выраженностью некроза тканей облученной области и степенью фотобличинга ФС, наблюдаемыми сразу после проведения ФДТ.

Показано, что глубина проникновения лазерного излучения в ткани ШМ при проведении ФДТ для длин волн 675 и 780 нм составляет 2.40 ± 0.22 и 2.61 ± 0.25 мм, соответственно [Henderson T.A., Morrises L.D., 2015].

1.4.3 Результаты клинических исследований по оценке эффективности и безопасности фотодинамической терапии предраковых поражений шейки матки и рака шейки матки

В целом к настоящему времени продемонстрирована высокая клиническая эффективность и безопасность ФДТ в лечении пациенток с CIN и носительством ВПЧ-инфекции ШМ без неблагоприятных последствий для фертильности [Давыдов А.И. и др., 2020; Дуванский Р.А., Торчинов А.М., 2015; Новикова Е.Г.,

Трушина О.И., 2018; Садуллаева Э.Т., 2010; Park Y.K., Park C.H., 2016; Shramova E.I. et al., 2020; Inada N.M. et al., 2019; GZhang W. et al., 2018]. Авторами была отмечена частота полной эрадикации вируса на уровне 94–98%. Так, Park Y.K., Park C.H. (2016) установили более высокую частоту излечения CIN I–II при наличии ВПЧ, чем при отсутствии возбудителя. Стойкий противовирусный эффект применения ФДТ наблюдается в течение достаточно длительного периода времени, в 93–98% случаев. Этот эффект описан как при ФДТ с системным введением ФС, так и при местном его нанесении.

Продемонстрировано, что в случае применения ФДТ с целью эрадикации папилломавирусной инфекции эффект достигается в 94% случаев при использовании производного аминолевулиновой кислоты [Дуванский Р.А., Торчинов А.М., 2015], тогда как применение этого ФС в отношении лечения CIN характеризуется эффективностью на уровне 60%.

По данным мета-анализа Zhang W. et al. (2018), было показано, что частота полной ремиссии – показатель, отражающий эффективность применения ФДТ у пациентов с ВПЧ-инфекцией шейки матки, варьируется от 53,4 до 94,4%. У 520 из 647 пациентов (80,4%) с ВПЧ-инфекцией ШМ было отмечено полное излечение на этапе финальной контрольной точки. Факторами, определяющими наличие существенных различий по частоте полной ремиссии и эрадикации возбудителя ВПЧ-инфекции (80,4% и 62,3%, соответственно), могут быть различные периоды динамического наблюдения и использование исследователями разных видов ФС.

В исследовании Inada N.M. et al. (2019) были оценены отдаленные результаты ФДТ при CIN I и II/III с периодом наблюдения до двух лет. В исследование были включены 56 пациенток с CIN I, 10 пациенток с CIN II/III. В группу плацебо были включены 14 пациенток. У 75% (n = 42) пациенток с CIN I после ФДТ был отмечен полный ответ на лечение. Рецидив, прогрессирование и/или наличие остаточных поражений в течение двух лет наблюдения после проведения ФДТ были выявлены у 23,2% (n = 13) пациенток, в лечении которых применялся этот метод. У 90% пациенток с CIN II/III через 1–2 года наблюдался полный регресс очагов заболевания. В целом спустя два года после проведенного

лечения в группе пациенток, которым проводилась ФДТ, были зарегистрированы более благоприятные исходы, чем в группе плацебо. В течение периода наблюдения в течение двух лет уровень эрадикации после ФДТ составил 90%, и только у одной пациентки был диагностирован рецидив CIN III.

Zhu M. et al. (2015) было показано, что из 238 пациенток, которым проводилась ФДТ в процессе лечения CIN, в дальнейшем у 211 (88,7%) не было выявлено персистенции или рецидивирования очагов поражения, в то время как у 27 (11,3%) женщин были выявлены рецидивы CIN.

В настоящее время используются несколько типов ФС, однако следует отметить, что отсутствуют данные клинических исследований, в рамках которых проводилось бы сравнение эффективности этих ФС в лечении CIN или цервикальной инфекции ВПЧ. Результаты исследований продемонстрировали высокую эффективность ФДТ с применением препаратов на основе хлорина еб при лечении женщин с плоскоклеточным интраэпителиальным повреждением ШМ тяжелой степени (HSIL) [Istomin Y.P. et al., 2010; Li D. et al., 2020]. Преимуществами этих ФС является селективность накопления в тканях, обуславливающая в свою очередь низкую фототоксичность и частоту побочных эффектов. Высокая скорость распределения водорастворимых ФС производных хлорина еб в опухолевых тканях позволяет сократить интервал между введением препарата и проведением облучения. Механизм действия этих ФС в большей степени основан на накоплении препарата в сосудистой сети, а не в опухолевой ткани. Эффективность ФДТ с использованием хлоринов обусловлена преимущественным разрушением сосудистой системы новообразований при воздействии светового излучения [Гилядова А.В. и др., 2022; Решетов И.В. и др., 2022; Gomes A.T. et al., 2020; Abrahamse H., Hamblin M.R., 2016].

Систематический обзор и метаанализ рандомизированных клинических исследований, посвященных оценке эффективности и безопасности ФДТ при CIN и ВПЧ, в базах данных Medline, EMBASE и Кокрановского центрального реестра, на основании данных 168 исследований, проведенный Choi M.C. et al. (2013), продемонстрировал эффективность ФДТ у пациенток с CIN I, II или III степени,

при этом 82 % (804 из 980) пациенток достигли первичной полной ремиссии в конце 3-месячного периода наблюдения, что подтверждалось данными цитологических и гистологической исследований. Ни одна из пациенток не была беременна на момент начала ФДТ, шесть женщин забеременели в течение трех месяцев после окончания лечения и родили доношенных здоровых младенцев. Эти результаты свидетельствуют, по мнению авторов, об эффективности метода для лечения пациенток с ВПЧ-ассоциированным плоскоклеточным интраэпителиальным поражением ШМ без какого-либо серьезного неблагоприятного воздействия на фертильность.

Аминова И.П., Аминов С.А. (2014) выполнили «комплексное исследование с целью оптимизации параметров фотодинамического воздействия с препаратом фотодитазин у пациенток с опухолевой и предопухолевой патологией шейки матки. В исследование были включены 52 пациентки: у 34 диагностированы предраковые заболевания шейки матки (CIN I – у 9, CIN II – у 13, CIN III – у 12), у 11 – верифицирован рак шейки матки (у 8 – плоскоклеточный рак, у 3 – аденокарцинома цервикального канала), у 7 – хронический цервицит. Исследуемый препарат в виде 0,5% геля наносили на шейку матки в объеме 1 мл. Результаты исследования показали, что фотодитазин хорошо накапливается в патологических тканях. Максимум накопления препарата был отмечен через 30 мин, сохранялся около 15 мин, а затем постепенно снижался. Максимальный уровень флюоресценции фотосенсибилизатора был отмечен в очагах злокачественной опухоли и тяжелой интраэпителиальной неоплазии.

Установлено, что минимальная световая доза, необходимая для активации каскада фотохимических реакций, составляет 100 Дж/см^2 , а оптимальная – 250 Дж/см^2 . Эта доза позволила уничтожить все атипические клетки, находящиеся в зоне светового воздействия после нанесения геля фотодитазина. Полученные данные позволили сделать вывод, что наиболее эффективным режимом фотодинамической терапии с местной аппликацией препарата фотодитазин-гель для лечения дисплазии и преинвазивного рака шейки матки является доза лазерного облучения 250 Дж/см^2 при продолжительности времени аппликации

30–45 мин.

Филоненко Е.В. и др. (2015) были представлены результаты клинического исследования эффективности ФДТ с препаратом радахлорин у пациенток с предопухолевыми и опухолевыми заболеваниями шейки матки. Авторы указывают, что «в исследование было включено 30 пациенток, в том числе с эрозией шейки матки – четыре пациентки, с дисплазией II ст. – пять пациенток, с дисплазией III ст. – 13 пациенток, с carcinoma in situ – четыре пациентки и с диагнозом рак шейки матки Ia ст. – четыре пациентки. Радахлорин вводили однократно внутривенно посредством 30-минутной инфузии в дозе 1,0 мг/кг массы тела за три часа до проведения облучения (длина волны 662 нм, плотность энергии 300–350 Дж/см²). Результат лечения у 26 (86,7%) пациенток был квалифицирован как полная регрессия опухоли, у четырех (13,3%) – как частичная регрессия. В группах с клиническим диагнозом эрозия шейки матки, дисплазия II ст. и carcinoma in situ полная регрессия отмечена во всех наблюдениях. В группах с дисплазией III ст. полная регрессия после первого курса ФДТ достигнута у 77% пациенток, с диагнозом рак шейки матки Ia ст. – у 75% больных. У всех больных с частичной регрессией был проведен второй курс ФДТ в срок от трех до шести месяцев после первого курса, после чего была зарегистрирована полная регрессия. В процессе лечения и при последующем наблюдении не было зарегистрировано каких-либо нежелательных реакций, связанных с применением радахлорина или проведением ФДТ. Результаты исследования свидетельствовали, по мнению авторов, что отечественный фотосенсибилизатор радахлорин характеризуется высокой эффективностью в лечении предопухолевой и опухолевой патологии шейки матки».

Choi M.C. et al. (2013) сообщили о частоте нежелательных явлений при проведении ФДТ на уровне 13,6%, при этом побочные реакции проявлялись местным дискомфортом, ощущением жжения и выделениями из влагалища от легкой до умеренной степени выраженности. Семь зафиксированных побочных явлений не были связаны с использованием ФДТ в процессе лечения. Ни одной из пациенток не потребовалось прерывать лечение из-за побочных эффектов,

отсутствовали случаи фототоксичности кожи, изменения жизненно важных функций и системной реакции на введение ФС пациенткам.

Ahn T.G. и Han S.J. (2011) использовали одновременную химиофотодинамическую терапию (ХФДТ) для лечения РШМ на стадиях 1B1 и 1B2 у женщин детородного возраста, пожелавших сохранить фертильность. Две из трех пациенток в исследовании родили доношенных детей с помощью кесарева сечения через 16 месяцев после прекращения ХФДТ. Кроме того, в конце 60-месячного периода наблюдения не было отмечено случаев рецидива заболевания.

В целом, как считают Филоненко Е.В. и др. (2020), «имеющиеся на сегодняшний день сведения об эффективности и безопасности ФДТ, а также удобство и простота применения метода, позволяют рассматривать эту медицинскую технологию в качестве наиболее перспективных направлений в лечении различной степени выраженности интраэпителиальных поражений шейки матки, а также вульвы и влагалища».

В большинстве работ представлены результаты лечения предраковых заболеваний шейки матки (CIN II–III) с внутривенным введением ФС, в то время как гелевые формы применяются при лечении CIN II в качестве второго этапа после диатермокоагуляции или радиоволновой конизации CIN III. При этом показана более высокая эффективность ФДТ с внутривенным введением ФС по сравнению с их аппликационным применением.

Диапазон эффективности ФДТ с аппликационным применением фотосенсибилизатора при дисплазии I–II степени варьирует от 51% при применении аминолевулиновой кислоты до 80–100% при применении гелевых композиций на основе производных хлорина [Гилядова А.В. и др., 2022]. При лечении CIN III не было получено данных о 100%-й эффективности метода. В то же время полученные в большом количестве исследований результаты применения метода сопоставимы, их эффективность превосходят таковую при использовании диатермокоагуляции и радиоволновой конизации [Торчинов А.М. и др., 2013].

По мнению Д.А. Церковского и В.В. Дунаевской (2020), «эффективность

ФДТ при лечении пациенток с CIN зависит от химической структуры и способа применения ФС. При этом максимальная эффективность достигается при системном (внутривенном) введении ФС, тогда как использование аппликационных форм 5-АЛК (растворы, гели и мази) не приводит к достижению высокой эффективности лечения CIN».

Анализ литературных данных свидетельствует, что ФДТ применяется, как правило, для лечения больных CIN I–II. Ограниченное применение метода при тяжелой дисплазии шейки матки обусловлено в большинстве случаев опасениями малигнизации [Гилядова А.В. и др., 2022]. Тем не менее российские авторы, которые проводили ФДТ с системным применением ФС, сообщили о частоте полного эффекта лечения на уровне 90% случаев [Дуванский Р.А. и др., 2018; Михалева Л.В. и др., 2021; Странадко Е.Ф., 2021].

ФДТ привлекает специалистов как органосохраняющий метод лечения, который целесообразно применять у пациенток репродуктивного возраста в качестве альтернативы конизации, которая может приводить к развитию шеечной недостаточности и невынашиванию плода. Зарубежные специалисты оценивают ФДТ как экономически выгодную альтернативу хирургическому лечению дисплазии ШМ, в первую очередь за счет снижения расходов на лечение осложнений протекания беременности, возникающих вследствие конизации [Гилядова А.В. и др., 2022; Soergel P. et al., 2011].

В последние десятилетия внимание специалистов все больше привлекают перспективы комплексного использования методов диагностики и фотодинамической терапии в рамках подхода, получившего название «фототераностика» [Alekseeva P. et al., 2020]. Можно предполагать, что достаточно эффективным может быть совместное применение методов флуоресцентной диагностики и лечения интраэпителиальной неоплазии шейки матки и раннего инвазивного РШМ.

Поскольку результаты исследований различных авторов подтверждают широкие возможности использования ФДТ в лечении пациентов с CIN, то очевидно, что применение фототераностики будет иметь ряд преимуществ по

сравнению с существующими стандартными методами лечения.

К основным преимуществам ФДТ можно отнести:

- минимальную токсичность для окружающих нормальных тканей в связи с преимущественным избирательным накоплением ФС в патологических тканях;
- невысокий риск возникновения выраженного болевого синдрома;
- незначительные системные эффекты;
- отсутствие механизмов первичной и приобретенной резистентности;
- возможность амбулаторного проведения сеанса лечения;
- возможность комбинации с другими методами лечебного воздействия;
- отсутствие лимитирующих кумулятивных доз ФС и светового воздействия, возможность многократного повторения процедуры;
- возможность реализации органосохраняющих подходов [Гилядова А.В. и др., 2022; Решетов И.В. и др., 2022; Церковский Д.А., Дунаевская В.В., 2020].

Заключение по первой главе

Поскольку РШМ доминирует в структуре злокачественных опухолей у женщин в возрасте от 15 до 39 лет, актуальным является совершенствование методов лечения предраковых заболеваний ШМ и раннего инвазивного РШМ. Эта опухоль является одной из наиболее успешно поддающихся лечению форм рака при выявлении заболевания на ранней стадии. Следовательно, одним из направлений научного поиска является разработка и апробация методов лечения ВПЧ-ассоциированных плоскоклеточных интраэпителиальных поражений ШМ и преинвазивного РШМ, применение которых не наносит ущерба фертильности и обеспечивает сохранение репродуктивных возможностей данного контингента пациенток.

Стойкая персистенция ВПЧ в эпителии ШМ в значительной степени

обусловлена присутствием вируса в слизистой оболочке влагалища, вследствие чего возможно повторное инфицирование ШМ. Поэтому актуальной является также разработка методов лечения, позволяющих добиться элиминации вируса со слизистой оболочки половых путей, с учетом тропности ВПЧ к клеткам эпителия этой области. Исходя из этого, мы считаем невозможным провести деструкцию и/или абляцию относительно больших по площади участков на поверхности ШМ, влагалища и вульвы одновременно, учитывая вероятность инфицированности этих анатомических областей. В то же время преимуществом ФДТ является возможность воздействия на очаги поражения всех указанных локализаций с целью эрадикации ВПЧ [Гилядова А.В. и др., 2022; Решетов И.В. и др., 2022].

Имеющиеся на сегодняшний день сведения об эффективности и безопасности ФДТ, а также удобство и простота применения метода, позволяют рассматривать эту медицинскую технологию как наиболее перспективное направление в лечении различной степени выраженности интраэпителиальных поражений шейки матки, а также вульвы и влагалища.

Анализ данных литературы свидетельствует, что использование ФДТ способствует успешному результату лечения патологических очагов на слизистой ШМ, эффективность метода обеспечивается избирательностью воздействия на патологически измененные участки тканей этой области. При реализации данного метода осуществляется воздействие, не вызывающее повреждений нормальных окружающих тканей, грубого рубцевания и стеноза цервикального канала, тем самым ФДТ позволяет сохранить нормальные анатомо-функциональные характеристики ШМ [Гилядова А.В. и др., 2022; Решетов И.В. и др., 2022].

Однако, несмотря на эффективность применения ФДТ в лечении CIN и носительства ВПЧ-инфекции, продемонстрированную в ряде работ, имеются также сообщения о рецидивах поражений слизистой ШМ, результаты лечения неоплазии и РШМ неоднозначны.

При этом следует отметить, что на сегодняшний день в доступной литературе практически отсутствуют сведения о возможностях применения рассматриваемого подхода в рамках фототерапии, заключающейся

применительно к рассматриваемой патологии, в применении уточняющей флуоресцентной диагностики, которая предусматривает совместное использование методов спектрально- и видео-флуоресцентной диагностики интраэпителиальных цервикальных неоплазий и преинвазивного РШМ в комплексе с лечебным воздействием ФДТ.

Мы полагаем, что использование комплексного подхода – фототерапии с использованием одного источника лазерного излучения для проведения видео- и спектрально-флуоресцентной диагностики и ФДТ является высокоэффективным малоинвазивным методом лечения интраэпителиальных поражений шейки матки, способствующим элиминации вируса папилломы человека.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Организация и дизайн исследования

В исследование, проведенное в Университетской клинической больнице №1 Первого МГМУ им. Сеченова и Лечебно-Реабилитационном центре Минздрава РФ, были включены 94 пациентки в возрасте от 22 до 49 лет с морфологически подтвержденными ВПЧ-ассоциированными интраэпителиальными неоплазиями шейки матки тяжелой степени и преинвазивными раком шейки матки.

При разработке протокола исследования учитывались положения Хельсинкской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (пересмотр 59-й Генеральной ассамблеи WMA, Сеул, Южная Корея, 2008 г.), а также документа «Международные этические рекомендации по проведению биомедицинских исследований с участием людей» (International Ethical Guidelines for Biomedical Research Involving Human Subjects). Протокол был одобрен локальным этическим комитетом института кластерной онкологии имени Л.Л. Левшина на базе Университетской клинической больницы № 1 Сеченовского университета. Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Дизайн исследования: открытое ретроспективно-проспективное рандомизированное сравнительное клиническое исследование в параллельных группах.

Отбор пациенток для исследования производился в соответствии с разработанными критериями, при этом в качестве **критериев включения** рассматривали:

- женщины в возрасте от 18 до 45 лет;
- ВПЧ-ассоциированная тяжелая дисплазия шейки матки (ВПЧ-ассоциированное плоскоклеточное интраэпителиальное поражение шейки матки тяжелой степени- HSIL/CIN III) (N87.2);
- ВПЧ-ассоциированное злокачественное новообразование шейки матки TisN0M0: преинвазивный рак шейки матки (C53.0, C53.1);

– наличие подписанного информированного добровольного согласия на участие в исследовании.

Критерии невключения:

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

В качестве **критериев исключения** пациенток из исследования рассматривали:

- развитие значимых событий, не позволяющих продолжить участие в исследовании;
- невозможность продолжать метод оказания медицинской помощи в рамках клинического исследования по немедицинским причинам;
- развитие значимых событий, не позволяющих продолжить участие в исследовании.

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

- **группа 1** (сравнения) – 49 пациенток, для которых применялись стандартные методы диагностики и лечения рассматриваемой патологии;
- **группа 2** (основная) – 45 пациенток, в лечении которых был использован метод фототераностики: фотодинамической терапии (ФДТ) с одновременным лазерным возбуждением флуоресценции.

Оценку эффективности фототераностики при лечении интраэпителиальных неоплазий шейки матки производили на основании данных расширенной кольпоскопии, цитологического исследования соскобов экзо-, эндоцервикса, PAP-теста или метода жидкостной цитологии, ПЦР в режиме реального времени на носительство ВПЧ через четыре недели после проведения ФДТ, а также по

данным результатов гистологической верификации и иммуногистохимии (ИГХ) биопсийного материала спустя шесть недель после окончания курса ФДТ.

В качестве **первичных критериев эффективности** метода использовали следующие:

1. Наличие/отсутствие лечебного патоморфоза в виде отсутствия морфологической картины CIN/SIL и злокачественных клеток по данным гистологического заключения в ответ на лечение через 6 недель и 3 месяца.

2. Наличие/отсутствие ВПЧ по результатам ПЦР отделяемого цервикального канала через 6 недель, 3, 6, 9, 12 месяцев после проведенной терапии.

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

В качестве **вторичных критериев эффективности** рассматривали:

1. Кольпоскопическую картину по данным результатов расширенной кольпоскопии через 6 недель, через 3, 6, 9, 12 месяцев.

2. Сохранение анатомо-функциональной структуры шейки матки по результатам УЗИ шейки матки (цервикометрии), цервикоскопии и зондирования цервикального канала внутриматочным зондом через 6 недель после проведенного лечения.

3. Уровни экспрессии маркёров Ki-67, p16 и фосфогиостона в биопсийном материале слизистой шейки матки.

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

Этапы проведенного исследования:

1 этап – амбулаторный скрининг. Проводили отбор пациенток в соответствии с критериями включения: осмотр врачом-акушером-гинекологом, врачом-терапевтом, обследование – скрининговые лабораторные тесты: цитологическое исследование соскобов экзо- и эндоцервикса, ПЦР-тест на

наличие ВПЧ, гистологическое исследование биопсийного материала, общий (клинический) и биохимический анализы крови, определяли коагулограмму, группу крови и резус-фактор, RW, анализы на ВИЧ, гепатиты; анализ мочи.

Проводили скрининговые инструментальные тесты: расширенную кольпоскопию, трансвагинальное УЗИ органов малого таза, электрокардиографию (ЭКГ) в 12 отведениях, рентгенографию органов грудной клетки.

2 этап – стационарный: предоперационный период, подготовка к лечению в зависимости от группы, в которую была включена пациентка, – конизация ШМ либо фототераностика шейки матки, затем – послеоперационный период.

В раннем послеоперационном периоде пациенткам второй группы (которым проводилась фототераностика) необходимо было соблюдение светового режима в течение двух суток: пребывание в затемненном помещении, ношение солнцезащитных очков и использование солнцезащитного крема.

3 этап – амбулаторный: контрольное обследование проводили через 5–6 недель после выписки из стационара, в рамках которого выполнялся повторный осмотр врачом-акушером-гинекологом, цитологическое исследование соскобов экзо- и эндоцервикса, ПЦР-тест на наличие ВПЧ, прицельная биопсия под контролем флуоресцентной диагностики с гистологическим исследованием биопсийного материала; расширенная кольпоскопия, цервикометрия, цервикоскопия, зондирование цервикального канала внутриматочным зондом. В случае неполного ответа на проведенное лечение пациентке проводили второй курс фототераностики, период госпитализации при этом составлял также в среднем три дня.

4 этап – амбулаторный: проводились контрольные обследования через 3, 6, 9 и 12 месяцев после выполненных процедур. При этом осуществлялся повторный осмотр врачом-акушером-гинекологом, цитологическое исследование соскобов экзо- и эндоцервикса, ПЦР-тест на наличие ВПЧ, прицельная биопсия с гистологическим исследованием биопсийного материала, расширенная кольпоскопия.

2.2 Методы лечения пациенток

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

Пациенткам основной группы проводили лечение методом фототераностики на области влагалищной порции шейки матки и цервикального канала. За три часа до начала процедуры осуществлялось введение фотосенсибилизатора (на основе хлорина Е6). Использовали ФС хлоринового ряда, производные хлорина е6 (Се6). Максимальный контраст накопления Се6 в измененной ткани наблюдался через 2–3 часа после введения.

Рассчитанную дозу фотосенсибилизатора – 1,0 мг/кг массы тела – растворяли в 100–200 мл 0,9 % раствора натрия хлорида. За 2–3 часа до начала лечения внутривенно капельно в течение 30 минут производили инфузию раствора, приготовленного *ex tempore*, введение осуществляли в затемненном помещении. Пациентки были проинструктированы о важности соблюдения строгого светового режима, что предусматривало исключение воздействия прямых лучей солнечного света, просмотра гаджетов, необходимость снижения яркости экрана телефона до минимума, использование солнцезащитных очков, солнцезащитных санскринов UVA/UVB SPF с момента введения раствора, содержащего ФС, и в дальнейшем в течение 48 часов с момента начала проведения ФДТ.

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

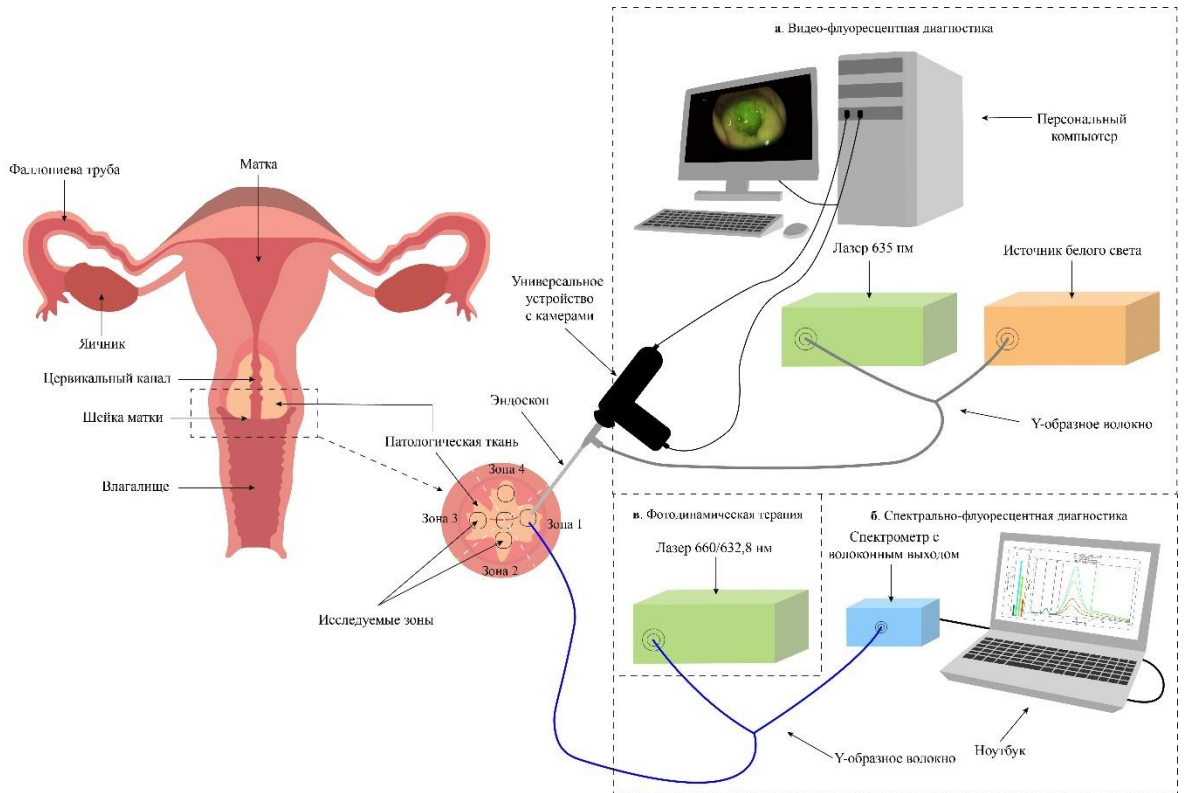


Рисунок 1 – Схема исследования тканей шейки матки

Шейка матки пациента условно делилась на пять исследуемых зон, в каждой из которых проводилась видео- и спектрально-флуоресцентная диагностика и ФДТ (рисунок 2).

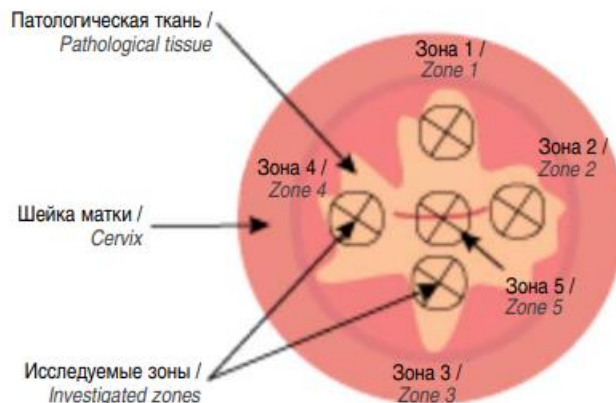


Рисунок 2 – Исследуемые зоны эктоцервикса

Видеофлуоресцентная диагностика. Для видеофлуоресцентной диагностики использовалась двухканальная флуоресцентная видеосистема (ООО «БИОСПЕК, Россия), состоящая из источника белого света, позволяющего

наблюдать исследуемые зоны в режиме цветного изображения; источника лазерного излучения с длиной волны 635 нм, возбуждающего флуоресценцию ФС в биотканях и позволяющего наблюдать зоны интереса в режиме черно-белого (флуоресцентного) изображения; Y-образного волоконного кабеля, обеспечивающего доставку белого света и лазерного излучения к поверхности биоткани; универсального устройства регистрации обратно рассеянного и флуоресцентного излучения, оборудованного высокочувствительной черно-белой цифровой ПЗС-камерой и цифровой цветной навигационной камерой; эндоскопа, необходимого для осмотра исследуемых областей (рисунок 1).

Наложение цветного и черно-белого изображений с выделением флуоресценции в заданном цвете (например, зеленом) позволяло визуально оценить границы новообразований.

При проведении видеофлуоресцентной диагностики накопление ФС в слизистой шейки матки количественно оценивали по **индексу флуоресценции**, измеренному в исследуемой области, который отображался на экране монитора. Индекс контрастности рассчитывается следующим образом: вычисляли среднее значение интенсивности пикселей изображения, полученного с ИК-камеры в области, выделенной диагностическим курсором. Это значение нормируется по параметрам ИК-камеры. Далее рассчитывали среднее значение интенсивности пикселей изображения красного канала цветной камеры в области, выделенной диагностическим курсором, которое нормирует параметры цветной камеры. Затем первое значение нормируется на второе, что позволяет получить индекс контрастности. При оценке индекса контрастности необходимо учитывать, что измерения в центральной зоне подвержены минимальной ошибке менее 10% [Shiryayev A. et al., 2020].

Перед проведением диагностики в каждом случае выполняли нормирование индекса контрастности в области с минимальным флуоресцентным сигналом (нормальной слизистой шейки матки), которой присваивалось значение – 10 отн. ед. Проведение видеофлуоресцентной диагностики в начале исследования позволяло выявить области наибольшего накопления ФС, которые представляли

собой патологически измененную ткань (индекс контрастности > 10 отн.ед.).

Программное обеспечение для работы с видеосистемой было разработано сотрудниками лаборатории «Лазерной биоспектроскопии» ИОФ РАН.

Спектрально-флуоресцентная диагностика.

Для спектрально-флуоресцентной диагностики был использован волоконный спектрометр с возбуждением флуоресценции фотосенсибилизатора полупроводниковым лазером ЛФТ-02-БИОСПЕК (ООО «БИОСПЕК», Россия) ($\lambda = 660$ нм, $P_{\max} = 2$ Вт) (рисунок 1).

ФД проводили с использованием Y-образного оптического волокна (DC-R-1-6), снабженного двумя оптическими коннекторами SMA-905. При проведении спектрально-флуоресцентной диагностики регистрировали спектры флуоресценции нормальной и патологической ткани шейки матки пациенток. Регистрацию проводили до и после ФДТ с применением лазера с длиной волны 660 нм в диапазоне от 640 нм до 810 нм. В каждом случае рассчитывали индекс флуоресценции как отношение площади под кривой спектра флуоресценции фотосенсибилизатора к площади под кривой спектра обратно рассеянного лазерного излучения [Shiryaev A. et al., 2020].

В процессе проведения спектрально- и видеофлуоресцентной диагностики исследуемые зоны периодически промывали от кровяных или сукровичных выделений.

Все процедуры регистрации и обработки спектров флуоресценции были выполнены с помощью программы Uno Momento, разработанной в лаборатории «Лазерной биоспектроскопии» ИОФ РАН.

Лазер с длиной волны 660 нм наиболее удобен для одновременного проведения ФД и ФДТ (для фототераностики). Преимуществом этого лазера является большая мощность генерируемого лазерного излучения ($P = 2$ Вт). ФД и ФДТ с применением лазерного источника с длиной волны 660 нм проводили с использованием разработанного для данного исследования двойного Y-образного оптического волокна, снабженного двумя оптическими волокнами с диаметрами 200 мкм (для приема и регистрации флуоресцентного и рассеянного назад

лазерного излучения) и 400 мкм (для доставки лазерного излучения к поверхности биологической ткани). Таким образом, при проведении ФДТ в режиме реального времени контролировали фотобличинг ФС в облучаемой ткани по изменению интенсивности флуоресцентного сигнала.

Фотодинамическая терапия

ФДТ в рамках комплекса мероприятий фототераностики проводили поэтапно: сначала осуществлялось внутривенное введение в организм пациентки раствора ФС на основе хлорина Е6, затем оценивали накопление ФС в пораженных участках шейки матки с помощью видео- и спектрально-флуоресцентной диагностики (рисунок 1). Исследуемые зоны периодически промывали от кровяных или сукровичных выделений. После этого на опухолевую ткань, накопившую ФС, воздействовали лазерным излучением с длиной волны, соответствующей максимуму спектра поглощения ФС, то есть проводили собственно ФДТ.

Дозы световой энергии при проведении ФДТ слизистой влагалищной порции ШМ составили 250–300 Дж/см², для цилиндрического эпителия цервикального канала – 200 Дж/см². Средняя плотность мощности при воздействии на ткани ШМ составила 0,35 Вт/см², для цервикального канала – 0,25 Вт/см². Время фотодинамического воздействия рассчитывали как отношение плотности энергии лазерного излучения к плотности мощности.

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

ФДТ завершали после регистрации значений фотобличинга ФС на уровнях, которые соответствуют характеристикам нормальной ткани.

2.3 Методы исследования

2.3.1 Общеклинические методы исследования

Обследование начинали со сбора жалоб пациентки и их оценки. Обращали внимание на наследственность, инфекционные и соматические заболевания, аллергическую предрасположенность, операции в анамнезе. Социальный анамнез включал информацию о месте жительства, роде занятий, особенности условий труда и быта, вредных привычках, видах дополнительных нагрузок, профессиональных вредностях.

Изучали менструальную функцию пациенток: возраст наступления менархе, регулярность, продолжительность и характер менструаций; особенности менограмм. Регистрировали сведения о возрасте начала половой жизни, количество половых партнеров, использовании методов контрацепции.

Оценивали репродуктивную функцию обследуемых пациенток: количество беременностей; самостоятельная или индуцированная беременность, течение и исход. Обращали внимание на наличие оперативных вмешательств в анамнезе на органах малого таза, объем операции, течение послеоперационного периода и результаты гистологических исследований [Суханова А.А., 2019].

Объективное обследование. В ходе проведения общего осмотра оценивали тип телосложения, физическое и половое развитие по шкале J. Tanner (1969) [Marshall W.A., Tanner J., 1969]: определение роста, веса, индекса массы тела (ИМТ).

Проводили общее соматическое обследование (термометрию, измерение артериального давления (АД) методом Короткова, аускультацию сердца и легких, пальпацию живота). При необходимости все пациентки получали консультацию врачей-специалистов в зависимости от наличия сопутствующих

экстрагенитальных заболеваний.

Акушерское исследование. Оценивали правильность развития наружных половых органов, характер полового оволосения, состояние промежности, состояние слизистой оболочки влагалища и шейки матки: целостность, форму ШМ и наружного зева ЦК (в зеркалах), характер выделений. При влагалищном исследовании определяли положение, размер, консистенцию и форму матки, ее подвижность, болезненность.

2.3.2 Лабораторные методы исследования

Микроскопическое исследование отделяемого половых путей. Забор отделяемого проводили из цервикального канала, заднего свода влагалища и уретры. Мазки исследуемого материала окрашивали по Граму и оценивали под различными увеличениями (x40, x100) светового микроскопа. Отмечали проявления воспалительной реакции: наличие лейкоцитов, слизи, фибрина, при обнаружении микроорганизмов – степень обсемененности, отношение к окраске по Граму и морфологические особенности. При микроскопии выделяли четыре типа влагалищных мазков: 1+ (<10 микробных клеток и лейкоцитов в поле зрения); 2+ (11-100 микробных клеток и 11–20 лейкоцитов в поле зрения); 3+ (100-1000 микробных клеток и 21–30 лейкоцитов в поле зрения); 4+ (>1000 микробных клеток и >31 лейкоцитов в поле зрения). Обращали внимание на наличие «ключевых клеток» (чувствительность – 95%, специфичность – 90%).

Тестирование на ВПЧ проводили методом двойного гибридного захвата. Тест основан на гибридизации участков ДНК ВПЧ ВКР с РНК-зондами, улавливаемых антителами с флуоресцентной меткой. При позитивном результате указывалась клинически значимая концентрация 21 типа ВПЧ ВКР, в копиях ДНК ВПЧ на 1 мл образца.

Для проведения ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени были использованы реактивы и детектирующие амплификаторы ДТ-96. Исследование включало в себя этап выделения ДНК (пробоподготовка) и

проведения ПЦР в режиме реального времени. Материалом для исследования служил соскоб ЦК и/или зоны трансформации, выполненный цервикальной цитологической щеточкой или универсальным зондом для взятия материала из ЦК. После взятия материала щетку обламывали и сохраняли рабочую часть щетки в транспортной среде до доставки в лабораторию.

Диагностика ДНК ВПЧ проводилась с помощью набора реагентов, который предназначен для выявления, типирования и количественного определения ДНК ВПЧ 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 44, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82 генотипов. Предел обнаружения для генотипов ВПЧ составляет пять копий ДНК на амплификационную пробирку (103 копий/мл препарата ДНК), диагностическая чувствительность – 99,3% (96,7; 100%); диагностическая специфичность – 99,9% (99,8; 99,9%).

Определение вирусной нагрузки (количественное определение) ВПЧ. Количественные значения вирусной нагрузки ВПЧ и их интерпретация проводилась следующим образом: 10^3 копий/ 10^5 клеток – клинически малозначимая вирусная нагрузка с минимальным риском развития РШМ; 10^3 – 10^5 копий/ 10^5 клеток – клинически значимая вирусная нагрузка с высоким риском развития дисплазии и РШМ; $>10^5$ / 10^5 клеток – нагрузка ВПЧ с повышенным риском тяжелой дисплазии и РШМ.

Цитологическое исследование мазков экто- и эндоцервикса. Мазки с ШМ окрашивали по Папаниколау и оценивали по классификации Бетесда (The Bethesda System) [WHO, Geneva, 2012]. Исследуемый материал: соскоб с поверхности эндоцервикса и экзоцервикса.

Протокол стандартизованного цитологического заключения был составлен согласно системе Бетесда, 2001 (The Bethesda System, TBS).

Прицельная биопсия и гистологическое исследование биопсийного материала. Через шесть недель после проведения курса фототерапии выполняли прицельную биопсию пораженных участков слизистой шейки матки под контролем видеофлуоресцентной и спектрально-флуоресцентной диагностики. В качестве материала для исследования использовали биопсийный материал

слизистой шейки матки, который фиксировали в 10%-ном забуференном рН-нейтральном формалине, подвергали стандартной гистологической автоматизированной обработке. Микропрепараты окрашивали гематоксилином-эозином. При световой микроскопии оценивали степень плоскоэпителиального поражения (степень дисплазии) в соответствии с критериями классификации ВОЗ (WHO Classification of Tumours 5th edition Female Genital Tumor).

Определение уровня экспрессии маркёров Ki-67, p16 и фотогистона.

При проведении гистологического и иммуногистохимического методов исследований оценивали уровни экспрессии маркёров Ki-67 и p16. В качестве материала для исследования использовали биопсийный материал слизистой шейки матки, который фиксировали в 10%-ном забуференном рН-нейтральном формалине, подвергали стандартной гистологической автоматизированной обработке. Микропрепараты окрашивали гематоксилином-эозином. При световой микроскопии оценивали степень плоскоэпителиального поражения (степень дисплазии) в соответствии с критериями классификации ВОЗ (WHO Classification of Tumours 5th edition Female Genital Tumor).

Иммуногистохимическое окрашивание выполняли на иммуногистостейнере BENCHMARK XT (Ventana Medical Systems), при этом использовали антитела к CINtec p16 (Histology, Ventana), Ki-67 (30-9, Ventana) и к фосфогистону H3 (Cell Signaling Technology). Экспрессия p16 определялась как положительная, при «блочной», сильной ядерной и цитоплазматической экспрессии в непрерывном сегменте клеток (не менее 10–20 клеток), уровень экспрессии этого маркера использовали в качестве маркера инфицированности ВПЧ. Уровень экспрессии Ki-67 определяли по доле клеток с положительным окрашиванием ядер в эпителиальном пласте. Этот показатель использовали для интерпретации индекса пролиферативной активности.

Фосфогистон является основным гистоновым белком, маркером клеток в поздней G2 и M фазе клеточного цикла. Гистон 3 – это ядерный белок, который вместе с другими гистонами формирует основную часть хроматина эукариотической клетки. Маркер PNH3 специфично выявляет гистон H3 только в

процессе его фосфорилирования в серин 10 или серин 28. Окрашивание этого маркера ядерное. При оценке экспрессии РННЗ оценивали процентное отношение количества митозов к общему числу клеток; 10 соседних полях с объективом 40х, в областях инвазивного эпителия с самым высоким окрашиванием фосфогистоном НЗ.

2.3.3 Инструментальные методы исследования

Кольпоскопию выполняли до проведения бимануального исследования и других манипуляций после удаления слизи с поверхности эктоцервикса ватным тампоном, смоченным в физиологическом растворе. Использовали кольпоскоп Leisigang ISD (Германия).

Для оценки кольпоскопической картины использовали принятую в РФ кольпоскопическую терминологию, предложенную Международной федерацией по патологии шейки матки и кольпоскопии, принятую в 2011 г. (пересмотрена в 2014 г.). Данная классификация позволяет идентифицировать выраженность поражений эктоцервикса и определять их распространённость и локализацию.

2.4 Статистическая обработка полученных данных

Статистический анализ полученных данных осуществляли при помощи пакета программ Statistica for Windows 10.0 (StatSoft® Inc., США). Использованы методы описательной статистики и ряд непараметрических критериев для проверки значимости различий. Количественные показатели представляли в виде $M (SD)$, где M – среднее значение, а SD – среднее квадратичное отклонение, а также в виде $Me (25\%Q - 75\%Q)$, где Me – медианное значение показателя, а $(25\%Q - 75\%Q)$. Закон распределения признаков оценивали при помощи критерия Колмогорова-Смирнова. Для показателей, характеризующих качественные признаки, указывали абсолютное число и относительную величину в процентах.

Поскольку закон распределения большинства количественных показателей отличался от нормального, значимость различий оценивали при помощи

непараметрических критериев. Анализ различий в независимых выборках проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Различия качественных признаков анализировали при помощи критерия χ^2 .

Достоверность различий подтверждалась в случае недостижения p порогового уровня статистической значимости нулевой гипотезы 0,05.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клиническая характеристика пациенток, включенных в исследование

В таблице 1 приведено распределение пациенток по возрасту, как видно, максимальными были доли пациенток в возрастных группах до 25 до 30 лет, при этом достоверных межгрупповых по возрастным показателям отмечено не было.

При этом доли пациенток в этом возрасте в группах 1 и 2 составили соответственно 30,6% (15 женщин) и 28,9% (13 пациенток). На втором месте в возрастной структуре была доля женщин в возрасте 31–35 лет, в первой группе – 22,5% (11 пациенток), во второй группе – 26,7% (12 пациенток). Количество женщин возрастной группы 18–25 лет составило в группах 1 и 2 – 8 (16,3%) и 6 (13,3%) соответственно. В возрасте 36–40 лет было по 5 женщин в обеих группах, в возрастной группе 41–45 лет – 4 (8,2%) и 5 (11,1%) пациенток соответственно в группе сравнения и основной группе. В группе 1 было 6 женщин (12,2%) в возрасте 46–49 лет, в группе 2 было 4 таких пациентки (8,9%).

Таблица 1 – Распределение пациенток по возрасту (абс / %)

Возраст	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
18–25	8	16,3	6	13,3
25–30	15	30,6	13	28,9
31–35	11	22,5	12	26,7
36–40	5	10,2	5	11,1
41–45	4	8,2	5	11,1
46–49	6	12,2	4	8,9

Анализ вредных привычек у обследуемых показал, что в группе 1 было 13 курильщиц (26,5%), в группе 2 курили 12 женщин (26,7%).

Данные о сопутствующих экстрагенитальных заболеваниях у обследованных пациенток представлены в таблице 2. Наиболее распространенными сопутствующими патологиями были заболевания эндокринной системы, аллергические реакции и болезни органов пищеварения. В том числе у 14 (28,6%) пациенток первой группы были выявлены заболевания щитовидной железы аутоиммунной природы с исходом в гипофункцию, эти же заболевания отмечены также у 11 (24,4%) женщин группы 2.

Таблица 2 – Сопутствующая экстрагенитальная патология у обследуемых (абс%)

Заболевания	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
Болезни органов дыхания	2	4,1	2	4,4
Болезни сердечно-сосудистой системы	3	6,1	4	8,8
Заболевания органов пищеварения	5	10,2	5	11,1
Болезни почек и мочевыводящих путей	-	-	1	2,2
Аллергические реакции	6	12,2	4	8,8
Заболевания щитовидной железы	14	28,6	11	24,4
Нарушения жирового обмена	5	10,2	3	6,7

Аллергические реакции были представлены в анамнезе у 6 пациенток (12,2%) группы 1 и у 4 пациенток группы 2 (8,8%). Болезни органов пищеварения были выявлены в 5 случаях в группе 1 (10,2%) и у 5 пациенток второй группы (11,1%).

Реже у обследованных пациенток были диагностированы болезни органов дыхания и сердечно-сосудистой системы, отмечены единичные случаи заболеваний почек и мочевыводящих путей. Нарушения жирового обмена наблюдались у 5 пациенток (10,2%) группы 1 и 3 женщин (6,7%) из второй группы.

Достоверных межгрупповых различий по частоте тех или иных сопутствующих заболеваний выявлено не было.

Об отсутствии нарушений менструальной функции сообщили 40 пациенток первой группы (81,6%), в группе 2 было 36 (80,0%) таких женщин (таблица 3). Статистически значимых межгрупповых различий по наличию нарушений менструальной функции в группах обследованных пациенток выявлено не было.

Таблица 3 – Характеристика менструальной функции

Наличие нарушений	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
Без нарушений	40	81,6	36	80,0
С нарушениями	9	18,4	9	20,0

В таблице 4 представлены данные о распределении обследованных женщин по возрасту менархе.

Таблица 4 – Распределение пациенток по возрасту менархе

Возраст	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
До 13 лет включительно	31	63,3	27	60,0
После 13 лет	18	36,7	18	40,0

В абсолютном большинстве случаев менархе происходило до 13 лет включительно. В группе 1 начало менархе до 13 лет отмечено у 31 пациентки (63,3%), в группе 2 – у 27 (60,0%) женщин, таким образом, по показателю менархе значимых межгрупповых различий выявлено не было.

Оценка среднего возраста менархе и начала половой жизни показала, что достоверных межгрупповых различий по уровням этих показателей отмечено не было (таблица 5).

Таблица 5 – Средний возраст менархе и начала половой жизни, лет

Характеристики	Группа 1 (сравнения) n=49	Группа 2 (основная) n=45
Возраст менархе	14,2±1,1	13,6±1,8
Возраст начала половой жизни	18,9±3,4	17,8±2,6

Данные о количестве половых партнеров свидетельствуют о следующем распределении: по одному партнеру было у 2 пациенток (4,1%) первой группы и 3 женщин (6,7%) второй группы (таблица 6).

Таблица 6 – Распределение пациенток по количеству половых партнеров

Количество половых партнеров	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
1	2	4,1	3	6,7
2	5	10,2	7	15,6
3	14	28,6	13	28,9
4	12	24,5	7	15,6
5 и более	16	32,4	15	33,3

(10,2%) и 7 (15,6%) женщин из групп 1 и 2 соответственно сообщили о двух партнерах. Значительно большими были доли пациенток в обеих группах, сообщивших о 3 и более половых партнерах. Так, о 3 партнерах сообщили 14 (28,6%) и 13 (28,9%) женщин группы сравнения и основной группы соответственно, о 4 – 12 (24,5%) и 7 (15,6%) пациенток, о 5 и более партнерах соответственно 16 (32,4%) и 15 (33,3%) женщин соответственно из первой и второй групп.

Изучение сведений о беременностях и их исходах у обследуемых женщин показало, что в группе 1 хирургическое прерывание беременности было выполнено только одной пациентке (2,0%) из группы 1, во второй группе таких случаев не было (таблица 7).

Таблица 7 – Беременности в анамнезе и их исходы

Характеристики	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
Всего беременностей	14	28,6	11	24,4
Роды	7	14,3	6	13,3
Хирургический аборт	1	2,0	-	-
Медикаментозный аборт	3	6,1	3	6,7
Выкидыши	2	4,1	1	2,2
Замершая беременность	-	-	1	2,2
Внематочная беременность	1	2,0	-	-
Количество беременностей на одну женщину	0,29	0,24		

К медикаментозному аборту прибегали 3 женщины группы 1 (2,0%) и 3 пациентки второй группы 2 (6,7%).

Показатели количества выкидышей в группах обследуемых женщин были сопоставимыми, были единичные случаи замерших и внематочных беременностей.

Родами окончились 7 беременностей (14,3%) у пациенток первой группы, во второй группе значение этого показателя было сопоставимо – 6 случаев (13,3%), таким образом, всего у женщин группы 1 было 14 беременностей, в группе 2–11 беременностей.

На одну пациентку первой группы приходилось 0,29 беременности, в группе 2–0,24 беременности.

В таблице 8 представлены данные о частоте посещений гинеколога пациентками разных групп. В первой группе 16 пациенток (32,7%) проходили скрининг на РШМ ежегодно, тогда как во второй группе их количество составило

13 (28,9%).

Таблица 8 – Посещение гинеколога пациентками

Частота посещения	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
Ежегодный скрининг на РШИМ	16	32,7	13	28,9
1 раз в 2 года	15	30,6	17	37,8
1 раз в 3-5 лет	10	20,4	11	24,4
Не посещали	8	16,3	4	8,9

15 пациенток (30,6%) группы 1 и 17 пациенток (37,8%) группы 2 проходили с осмотрами 1 раз в 2 года, а 10 (20,4%) и 11 (24,4%) соответственно – 1 раз в 3–5 лет. При этом статистически значимых межгрупповых различий по частоте посещений гинеколога выявлено не было.

Среди женщин группы 1 было 8 пациенток (16,3%), которые сообщили о том, что совсем не посещали гинеколога, в группе 2 было 4 таких женщины (8,9%), при этом выявленные различия не достигали статистической значимости.

Данные о перенесенных гинекологических операциях в анамнезе представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Перенесенные гинекологические операции в анамнезе

Операции	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
Удаление полипа эндометрия	2	4,1	5	11,1
Диагностическая лапароскопия	4	8,2	2	4,4
Удаление кисты яичника	2	4,1	1	2,2

Удаление полипа эндометрия отмечено в анамнезе у двух пациенток из группы 1 (4,1%), в группе 2 отмечено несколько больше – 5 таких случаев (11,1%), при этом достоверных межгрупповых различий отмечено не было. Диагностическая лапароскопия выполнялась четырьмя пациенткам группы 1 (8,2%) и двумя женщинами из второй группы (4,4%).

Удаление кисты яичника было выполнено в 2 случаях в группе 1 (4,1%) и одной пациентке из группы 2 (2,2%).

В целом статистически значимых межгрупповых различий по частоте выполнения оперативных вмешательств в анамнезе обследуемых выявлено не было.

Наиболее часто в анамнезе обследуемых из перенесенных заболеваний были отмечены аэробный вагинит, кандидозный вульвовагинит и микоплазменная инфекция (таблица 10).

Таблица 10 – Частота гинекологических заболеваний в анамнезе обследуемых беременных (абс / %)

Заболевания	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
Сальпингоофорит хронический	3	6,1	5	11,1
Сальпингоофорит острый	-	-	3	6,7
Гиперпластические процессы эндометрия	2	4,1	3	6,7
Кисты яичников	2	4,1	1	2,2
Эндометриоз	4	8,2	8	17,8
Аденомиоз	2	4,1	1	2,2
Мастопатия	7	14,3	4	8,9
Трихомониаз	2	4,1	5	11,1
Хламидиоз	2	4,1	2	4,4
Микоплазменная инфекция	6	12,2	4	8,9
Аэробный вагинит	7	14,3	8	17,8
Кандидозный вульвовагинит	9	18,4	9	20,0

Аэробный вагинит был диагностирован у 7 пациенток второй группы (14,3%) и в 8 случаях (17,8%) в группе 1. Кандидозный вульвовагинит был выявлен у 9 женщин из группы 1 (18,4%) и 9 пациенток второй группы (20,0%). Мастопатия была диагностирована у 7 пациенток первой группы (14,3%) и в 4 случаях (8,9%) в группе 2. Частота выявления других заболеваний в анамнезе обследуемых пациенток была ниже, при этом достоверных межгрупповых различий по частоте наличия тех или иных патологий в анамнезе не наблюдалось.

3.2 Результаты видеофлуоресцентной и спектрально-флуоресцентной диагностики

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

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

На рисунке 3 представлены изображения слизистой шейки матки пациентки с CIS, до и после ФДТ в совмещенном режиме.

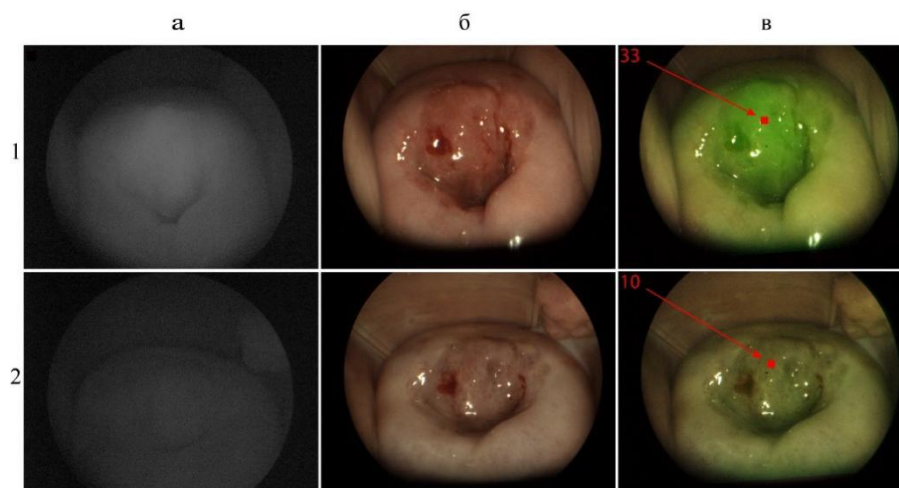


Рисунок 3 – Изображения слизистой шейки матки пациентки с CIS: (1) До ФДТ; (2) После ФДТ; (a) Черно-белый режим; (b) Цветной режим; (c) Совмещенный режим (стрелками обозначена область повышенной флуоресценции фотосенсибилизатора хлорина Е6 в мг/кг массы тела)

В данном случае до проведения ФДТ индекс флуоресценции патологически измененной ткани составил 33 отн. ед., после ФДТ индекс снизился до 10 отн. ед. Это свидетельствует об уменьшении интенсивности флуоресцентного сигнала патологической ткани после проведения ФДТ вследствие фотобликинга ФС до значений, которые соответствуют нормальной ткани (индекс контрастности ≤ 10 отн. ед.).

При проведении видеофлуоресцентной диагностики оптические фильтры, установленные в видеосистеме, позволяли регистрировать лазерно-возбужденную флуоресценцию.

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

На рисунке 4 представлены результаты спектрально-флуоресцентной диагностики слизистой шейки матки одного из пациентов с CIS до и после ФДТ при использовании лазера с длиной волны 660 нм.

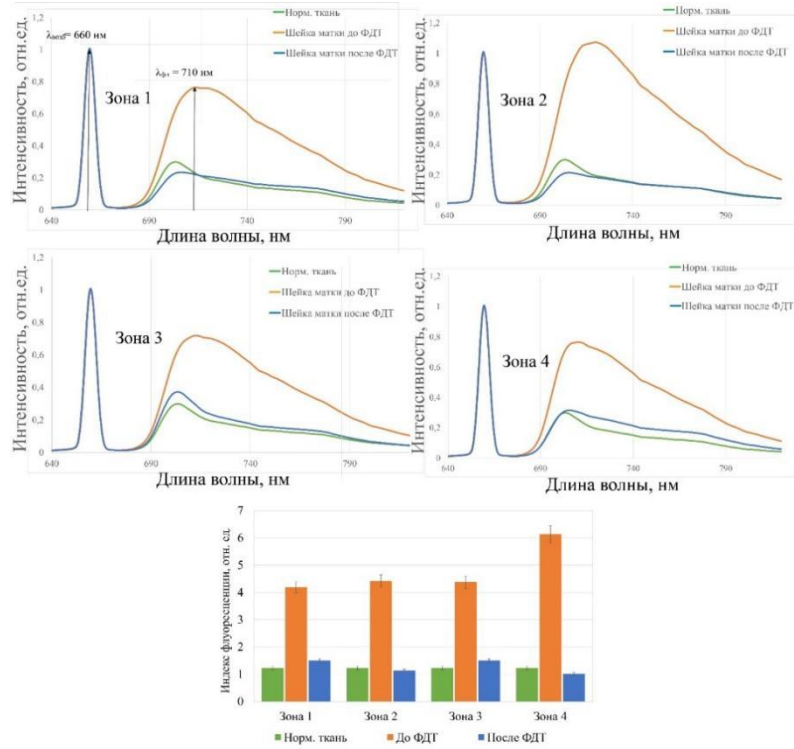


Рисунок 4 – Результаты спектрально-флуоресцентной диагностики пациентки с CIS: а) спектры флуоресценции нормальной и патологической слизистой шейки матки до и после ФДТ, использован лазер с длиной волны 660 нм; б) индексы флуоресценции

Индекс флуоресценции патологически измененной ткани шейки матки до ФДТ в данном случае составлял 7.03 отн. ед., нормальной ткани – 2.05 отн. ед., значение фотоблинга – 70.8 %.

На рисунке 5 представлены изображения слизистой шейки матки пациентки с CIN III, ассоциированной с ВПЧ 6 и 16.

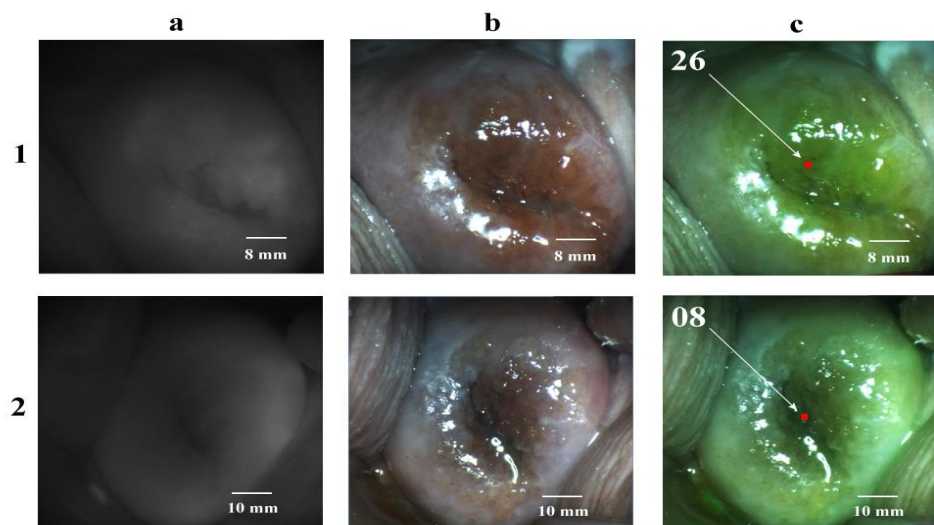


Рисунок 5 – Изображения тканей шейки матки пациента с CIN III, ассоциированной с ВПЧ 6 и 16: 1) до ФДТ; 2) после ФДТ; а) черно-белый режим; б) цветной режим; в) совмещенный режим (в верхнем левом углу изображения приведен индекс контрастности в отн. ед.)

В данном случае до ФДТ индекс контрастности патологически измененной ткани составлял 26 отн.ед., после ФДТ индекс снизился до 08 отн.ед. Это демонстрирует уменьшение интенсивности флуоресцентного сигнала патологической ткани после ФДТ вследствие фотобличинга ФС до значений, которые соответствуют нормальной ткани (индекс контрастности ≤ 10 отн. ед.).

На рисунке 6 представлены результаты спектральной диагностики слизистой шейки матки одного из пациентов с CIN III до и после ФДТ при использовании лазера с длиной волны 660 нм.

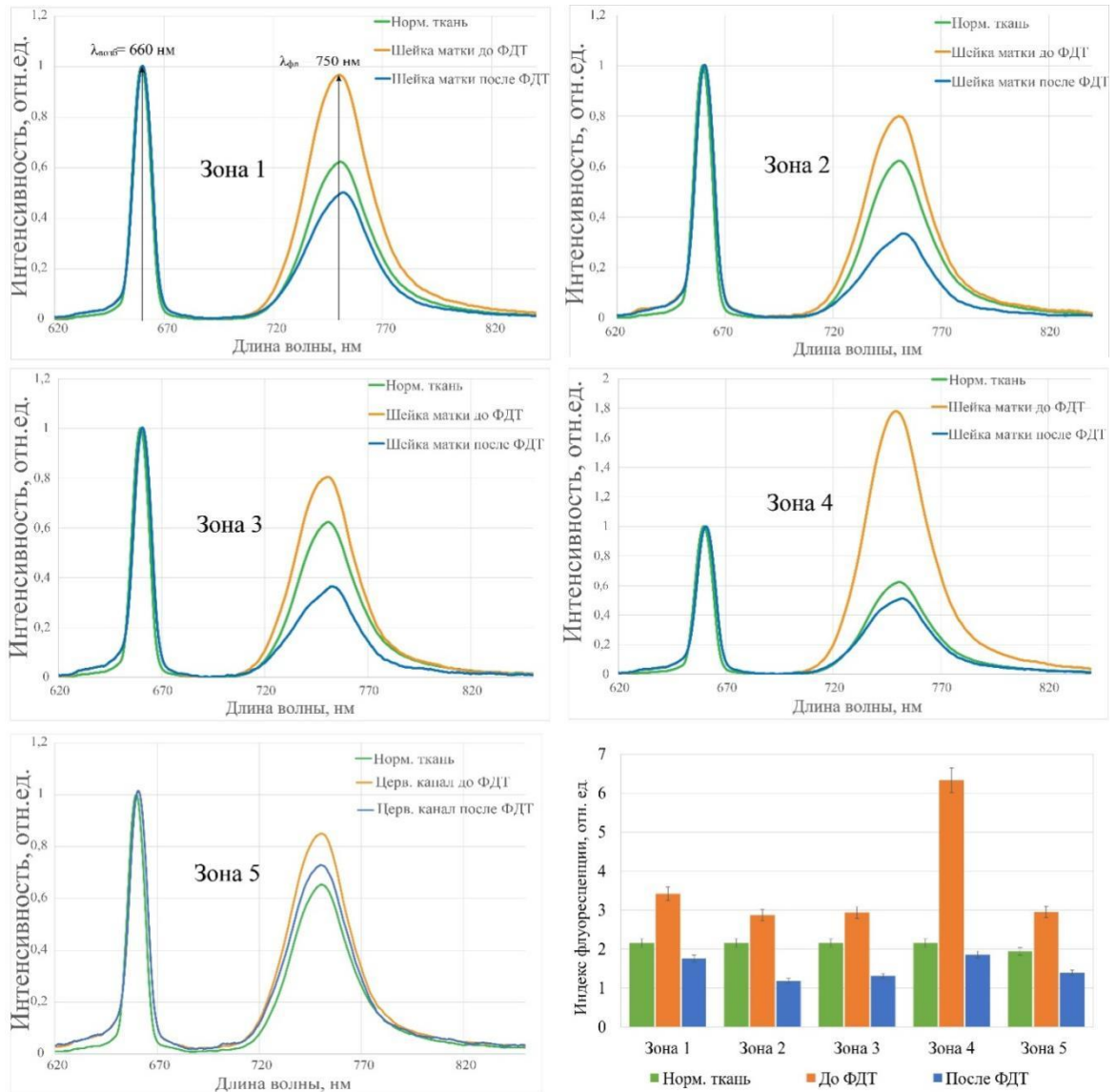


Рисунок 6 – Спектры рассеянного назад лазерного излучения и флуоресценции нормальной и патологической тканей шейки матки пациента с CIN III до и после ФДТ в исследуемых зонах, полученные при возбуждении флуоресценции Себ лазерным излучением 660 нм в исследуемых зонах ШМ: а) 12 часов; б) 3 часа; в) 6 часов; г) 9 часов, д) цервикальный канал; е) диаграмма индексов флуоресценции нормальной ткани до ФДТ и патологических тканей до и после ФДТ

Согласно данным на рисунке 6, интенсивность флуоресценции патологически измененной ткани ШМ уменьшилась после ФДТ, что свидетельствует о фотобликинге ФС. Как следствие, индексы флуоресценции уменьшились до сравнимых с нормой величин, что показывает эффективность проведенной ФДТ.

В данном случае регистрация флуоресценции проводилась в ближнем инфракрасном диапазоне. Работа в этом диапазоне перспективна благодаря более

глубокому проникновению излучения в биологические ткани. В тканях шейки матки глубина проникновения лазерного излучения для длин волн 675 и 780 нм составляет 2.40 ± 0.22 и 2.61 ± 0.25 мм, соответственно [Stolik S. et al., 2000]. При этом использование одного источника лазерного излучения для проведения ФД и ФДТ позволяет проводить фототерапию новообразований шейки матки.

Спектрально-флуоресцентная диагностика в процессе проведения ФДТ в режиме реального времени позволяет контролировать процесс фотоблинка ФС (рисунок 7). В процессе облучения интенсивность флуоресценции снижается.

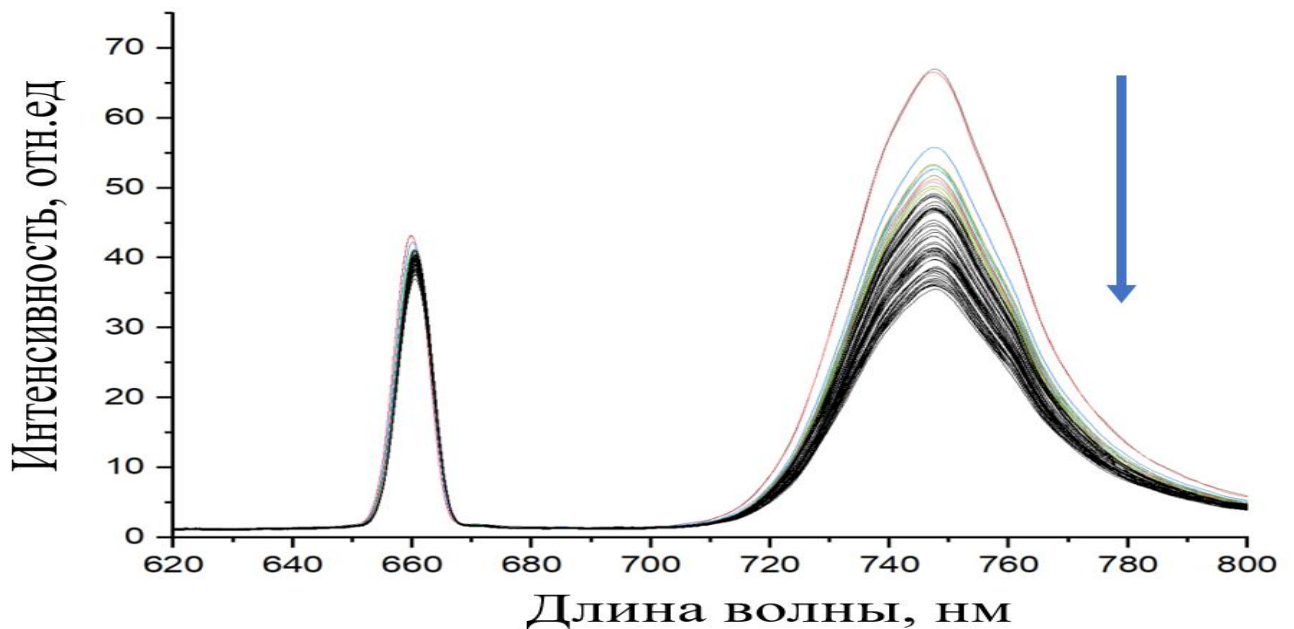


Рисунок 7 – Результаты СФД в процессе ФДТ в режиме реального времени, спектры флуоресценции в облучаемой области ШМ

Каждая кривая спектра соответствует определенному моменту времени. После анализа спектров, приведенных на рисунке 8, была построена зависимость индексов флуоресценции от времени облучения биоткани.

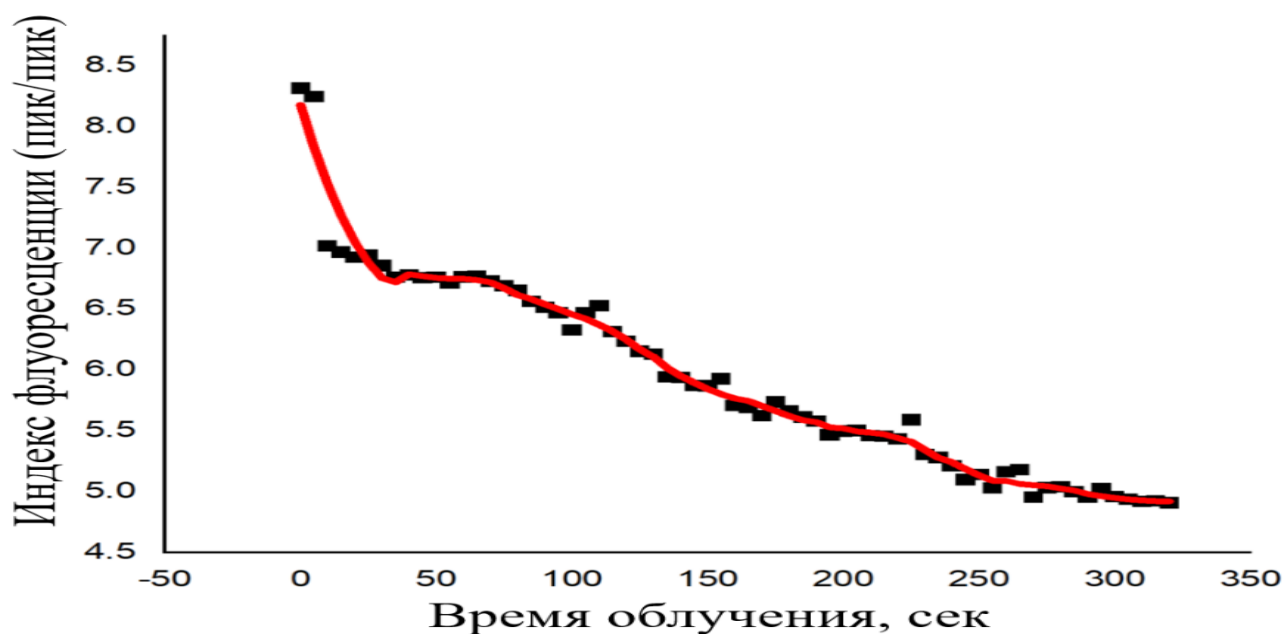


Рисунок 8 – Зависимость индексов флуоресценции от времени облучения биоткани

На рисунке 9 зафиксирована тенденция уменьшения индекса флуоресценции, связанная с уменьшением концентрации накопленного в патологических тканях ФС из-за фотобликинга под воздействием лазерного излучения.

После проведения ФДТ в областях облучения патологической ткани наблюдались отеки и гиперемия.

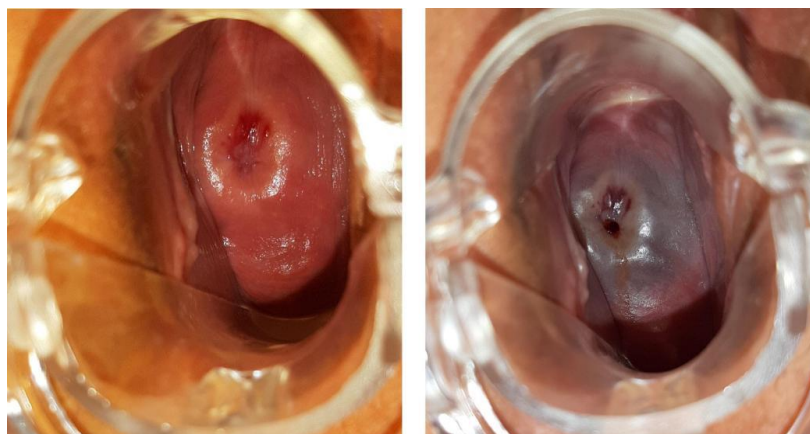


Рисунок 9 – Шейка матки до и сразу после ФДТ

3.3 Результаты цитологического исследования

На этапе установления диагноза всем пациенткам было проведено цитологическое исследование соскобов эндоцервикса, экзоцервикса посредством традиционного цитологического мазка (в 35,5% случаев) и жидкостной цитологии (в 64,5% случаев).

Распределение женщин по характеристике очагов поражения, подтверждённых гистологическим заключением, приведено в таблице 3.11. В группе 1 (сравнения) у 20 пациенток (40,8%) были гистологически диагностированы интраэпителиальные плоскоклеточные поражения тяжелой степени, у 29 женщин (59,2%) – преинвазивный рак шейки матки. В основной группе у 17 (37,8%) женщин были выявлены признаки CIN III/HSIL, у 28 пациенток (62,2%) был диагностирован преинвазивный РШМ.

Таблица 11 – Распределение пациенток по характеристикам очагов поражения шейки матки до лечения

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

Сопоставление данных гистологического и цитологического исследований показало, что из 33 пациенток 2 группы по результатам цитологического исследования у 22 из них (66,7%) гистологически был подтверждён преинвазивный рак, а у 11 (33,3%) – CIN III/HSIL.

У 7 (15,6%) пациенток основной группы по результатам цитологического

исследования была выявлена цервикальная интраэпителиальная неоплазия шейки матки умеренной степени CIN II/HSIL, из которых гистологически у 4 (57,1%) – CIN III/HSIL, а у 3 (42,9%) – преинвазивный рак.

У 3 (6,7%) пациенток группы 2, по данным цитологического заключения, был выявлен преинвазивный рак, подтвержденный гистологическим исследованием биопсийного материала. У 2 (4,4%) женщин был диагностирован ASCUS, при гистологической верификации у всех этих пациенток гистологически верифицирован CIN III/HSIL.

Через 6 недель после проведения первого курса фототерапии у 35 (78,7%) женщин основной группы данные цитологического исследования соответствовали нормальной цитологической картине NILM, подтвержденные данными гистологического заключения. В оставшихся 10 (21,3%) случаях с цитологически верифицированным CIN I этот диагноз был подтвержден у 6 пациенток (60%), которым был проведен повторный курс фототерапии, у оставшихся 4 из 10 пациенток (40%) – при гистологическом исследовании не было выявлено признаков плоскоклеточного поражения. Спустя 6 недель после повторного курса фототерапии у 4 из 6 (66,7%) пациенток определялся NILM, в 2 из 6 (33,3%) случаях – CINI/LSIL, подтвержденный гистологическим заключением.

Через 3 месяца у 2 из 45 пациенток (4,4%) основной группы было отмечено цитологически верифицированное плоскоклеточное интраэпителиальное поражение шейки матки легкой степени, у остальных 43 (95,2 %) женщин – NILM.

Через 6, 9, 12 месяцев у всех пациенток основной группы цитологически верифицирована нормальная цитологическая картина NILM.

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

плоскоклеточного интраэпителиального поражения тяжелой степени CIN III/HSIL.

У 8 (16,3%) пациенток группы сравнения по результатам цитологического исследования – цервикальная интраэпителиальная неоплазия шейки матки умеренной степени CIN II/HSIL, из которых гистологически у 2 (25,0%) – CIN III/HSIL, а у 6 (75,0%) – преинвазивный рак.

У 2 (4,1%) пациенток этой группы по данным цитологического заключения был выявлен преинвазивный рак, подтвержденный гистологическим исследованием биопсийного материала.

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

В 16 (32,7%) случаях цитологически было верифицировано плоскоклеточное интраэпителиальное поражение шейки матки тяжелой степени (CIN III/HSIL), из которых у 6 (12,2%) пациенток при гистологическом исследовании была выявлена цервикальная интраэпителиальная неоплазия умеренной степени, в 5 (7,2%) случаях – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение шейки матки легкой степени (CIN I/LSIL), у 2 (4,1%) пациенток CIN III/HSIL, а у 3 (6,1%) – преинвазивный рак.

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

Через 3 месяца у пациенток 1 группы в 11 (22,5%) случаях – цервикальная интраэпителиальная неоплазия шейки матки умеренной степени, у 5 (10,2%) женщин было выявлено плоскоклеточное интраэпителиальное поражение шейки матки легкой степени. У остальных 33 пациенток, по данным цитологического исследования, обнаружено NILM.

Через 6, 9, 12 месяцев у 38 (77,6%) пациенток группы сравнения при

цитологическом исследовании верифицирована нормальная цитологическая картина, у 4 (8,2%) пациенток сохранялась цервикальная интраэпителиальная неоплазия умеренной степени, у 7 (14,3%) плоскоклеточное интраэпителиальное поражение шейки матки легкой степени – CIN I/LSIL.

3.4 Результаты определения вируса папилломы человека с помощью полимеразной цепной реакции

До проведения ФДТ у всех пациенток с помощью ПЦР были идентифицированы онкогенные типы ВПЧ, частота их представлена в таблице 12. Как видно, статистически значимых различий по этому показателю не наблюдалось. При этом чаще всего выявлялись типы 16 – в 24 (49,0%) и 18 (40,0%) случаях соответственно в группах 1 и 2, а также 18 – в 10 (20,5%) и 14 (31,1%) случаях.

Таблица 12 – Частота выявления онкогенных типов ВПЧ до лечения

Тип ВПЧ	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
16	24	49,0	18	40,0
18	10	20,5	14	31,1
33	4	8,2	6	13,4
11	2	4,1	2	4,4
35	5	10,2	3	6,7
56	-	-	2	4,4
Комбинация 31, 35, 68	1	2,0	-	-
Комбинация 16 и 18	1	2,0	-	-
Комбинация 16 и 45	1	2,0	-	-
Комбинация 45, 16, 33	1	2,0	-	-

Кроме того, в основной группе у 6 пациенток был выявлен 33 тип вируса, у 2 пациенток – 11 тип, у 3 пациенток – 35 тип и у 2 пациенток – 56 тип.

В группе сравнения по данным ПЦР у 4 пациенток был обнаружен 33 тип ВПЧ, у 2 – 11 тип, у 5 пациенток – 35 тип, у одной пациентки была обнаружена комбинация 31, 35 и 68 типов, 3 пациенток комбинация 16 типа с 45, 11, 33, 18 (16 и 18, 16 и 11, 16 и 45, 16 и 33).

По результатам амплификации дезоксирибонуклеиновых кислот спустя 5–6 недель после первого курса фототерапии у 91,1% пациенток основной группы была выявлена элиминация ВПЧ, в 8,9% случаев отмечено сохранение ВПЧ со снижением вирусной нагрузки с $7,8 \pm$ до $2,4 \pm$ (таблица 13). В этот же срок после проведенной конизации у пациенток группы сравнения в 69,4% определялось отсутствие вируса, по данным ПЦР Real time, в отделяемом цервикального канала, в 30,6% случаев определялось наличие ВПЧ со снижением вирусной нагрузки с $7,8 \pm$ до $4,8 \pm$. Таким образом, в группе 2 значение показателя было статистически значимо ниже ($p=0,003$), чем в группе 1.

Таблица 13 – Динамика выявления ВПЧ после проведенного лечения

Сроки исследования	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Через 5-6 недель	15	30,6	4
Через 3 мес	17	34,7	-	-
6	16	32,7	-	-
9	16	32,7	-	-
12	16	32,7	-	-

Примечание: * - $p < 0,05$ (по кр. χ^2) относительно значения в группе сравнения

Через 5–6 недель после проведения повторного курса фототерапии (через 3 месяца от начала исследования) у всех женщин группы 2 была

зафиксирована элиминация ВПЧ, по данным метода амплификации ДНК-ПЦР отделяемого цервикального канала. В дальнейшем через 6, 9 и 12 месяцев также не было выявлено ВПЧ ни у кого из пациенток основной группы.

При этом в группе сравнения через 3 месяца после проведенного лечения ВПЧ был выявлен у 37,5% пациенток, в том числе у 2 пациенток, у которых через 6 недель после конизации вирус обнаружен не был. Через 6, 9 и 12 месяцев ВПЧ был выявлен у 16 пациенток (32,7%) первой группы.

3.5 Результаты гистологического исследования очагов поражения в области шейки матки

Как видно из таблицы 14, у 15 из 17 пациенток с CIN III/HSIL (88,2%) эффект от проведенного лечения с использованием фототераностики был отмечен уже после одной процедуры ФДТ, у 2 женщин (11,8%) – после второго сеанса терапии.

Таблица 14 – Распределение пациенток основной группы по количеству процедур ФДТ, после которых наблюдался эффект лечения (n=45)

Группы пациенток	Количество пациенток, эффект у которых наблюдался после проведения одной процедуры ФДТ		Количество пациенток, эффект у которых наблюдался после проведения двух процедур ФДТ	
	Абс.	%	Абс.	%
CIN III/HSIL (n=17)	15	88,2	2	11,8
Преинвазивный рак шейки матки Cis (n=28)	24	85,7	4	14,4
Всего	39	86,7	6	13,3

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

Сравнение результатов проведенного лечения в группах пациенток показало, что полная регрессия очагов дисплазии наблюдалась у 15 женщин (88,2%) с CIN III основной группы, тогда как в группе сравнения значение этого показателя было ниже – 60,0% (таблица 15).

Таблица 15 – Сравнение эффективности лечения, количество пациенток с полной и частичной регрессией очагов

Результат лечения	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
Полная регрессия				
CIN III/HSIL	12 (из 20)	60,0	15 (из 17)	88,2
Преинвазивный рак шейки матки Cis	21 (из 29)	72,4	24 (из 28)	85,7
Всего	33 (из 49)	67,3	39 (из 45)	86,7*
Частичная регрессия				
CIN III/HSIL	8 (из 20)	40,0	2 (из 17)	11,8*
Преинвазивный рак шейки матки Cis	8 (из 29)	27,6	4 (из 28)	14,3
Всего	16 (из 49)	32,7	6 из (45)	13,3*

Примечание: * - $p < 0,05$ (по кр. χ^2) относительно значения в группе сравнения

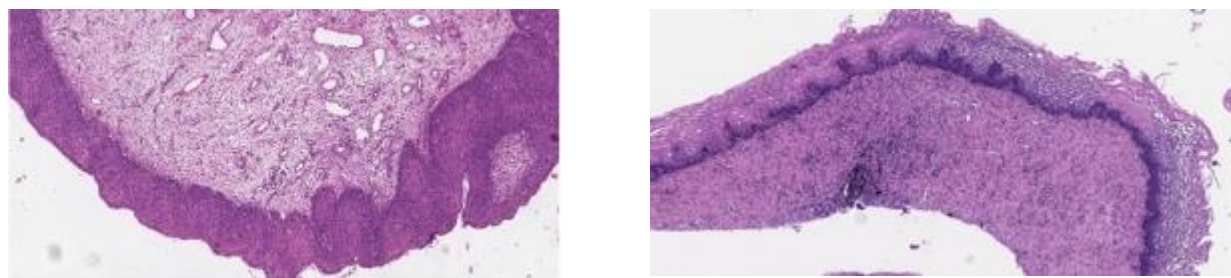
Полный лечебный патоморфоз наблюдался также у 24 пациенток из 28 (85,7%) группы 2 с преинвазивным РШМ, тогда как в группе 1 значение этого показателя было на уровне 72,4%. В целом в основной группе частота полной регрессии составила 86,7% (39 случаев) и была статистически значима выше соответствующего уровня в группе сравнения ($p=0,013$).

В то же время частичная регрессия была отмечена в 2 случаях (11,8%) из 17 во второй группе с интраэпителиальными плоскоклеточными поражениями тяжелой степени, тогда как в первой группе встречалась у 8 из 20 пациенток (40,0%). У пациенток группы 1 с преинвазивным раком шейки матки *Cis* значение этого показателя было на уровне 8 из 29 случаев (27,6%), тогда как во второй группе величина его составила 14,3% (4 из 28 случаев)

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

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

На рисунке 10 представлены гистологические препараты пациентки с поражением *CIN III/HSIL*. Как видно, через 6 недель после проведения фототераностики признаки интраэпителиального плоскоклеточного поражения ШМ отсутствуют.



А

Б

Рисунок 10 – Гистологические препараты пациентки с HSIL/CIN III. окр. Гематоксилин-эозин. ув.х 90: а) до проведения фототерапии; б) через 6 недель после проведения фототерапии

3.6 Результаты расширенной кольпоскопии

По данным расширенной кольпоскопии, проведенной до начала лечения, у пациенток группы 2, включенных в исследование, при проведении пробы с 3,5 % раствором уксусной кислоты наблюдались аномальные кольпоскопические признаки в виде плотного ацетобелого эпителия, грубой пунктации и грубой мозаики – у 15 из 17 пациенток (88,2%) с впоследствии гистологически подтвержденной неоплазией CIN III/HSIL и у 27 из 28 (96,4%) пациенток с преинвазивным РШМ, а также йод-негативные зоны при пробе Шиллера. У 2 пациенток с CIN III/HSIL и у 1 пациентки с преинвазивным раком шейки матки были отмечены слабо выраженные кольпоскопические признаки поражения ШМ в виде нежной мозаики, пунктации и тонкого ацетобелого эпителия.

В группе 1 аномальная кольпоскопическая картина II степени с выраженным поражением (наличие плотного ацетобелого эпителия с четкими контурами, грубой мозаики, грубой пунктации) до лечения была выявлена у 18 из 20 пациенток (90,0%) с CIN III/HSIL и у 29 из 29 пациенток (100%) с преинвазивным раком шейки матки. У 2 пациенток с CIN III/HSIL была отмечена аномальная кольпоскопическая картина I степени со слабовыраженным поражением ШМ в виде нежной мозаики, пунктации и тонкого ацетобелого эпителия с нечеткими краями.

Анализ результатов кольпоскопии через 6 недель после проведенного лечения показал, что в основной группе количество пациенток с аномальными кольпоскопическими картинами I степени в группе CIN III/HSIL составило 2 (11,8%) случая, а среди пациенток с преинвазивным РШМ-- 1 из 28 (3,6%) случаев (таблица 16). Таким образом, общая частота выявления аномальных кольпоскопических признаков во всей выборке составила 6,7% (3 случая), что было статистически значимо меньше ($p < 0,001$) относительно соответствующих значений в группе сравнения.

Аномальные кольпоскопические признаки в группе 1 в аналогичные сроки после лечения были выявлены у 11 из 20 пациенток (55,0%) с тяжелым плоскоклеточным интраэпителиальным поражением шейки матки и у 8 из 29 женщин (27,6%) с преинвазивным РШМ, при чем в 12 случаях была отмечена аномальная кольпоскопическая картина I степени, в 7 случаях – аномальная кольпоскопическая картина II степени.

Таблица 16 – Частота выявления аномальных признаков при кольпоскопии до и через 6 недель после лечения

Результат лечения	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
Пациентки с CIN III/HSIL				
До лечения	20 (из 20)	100,0	17 (из 17)	100,0
После лечения	11 (из 20)	55,0	2 (из 17)	11,8*
Пациентки с преинвазивным раком шейки матки Cis				
До лечения	29 (из 29)	100,0	28 (из 28)	100,0
После лечения	8 (из 29)	27,6	1 (из 28)	3,6*
Всего				

Продолжение Таблицы 16

До лечения	49 (из 49)	100,0	45 (из 45)	100,0
После лечения	19 (из 49)	38,8	3 (из 45)	6,7*

Через 3, 6, 9 и 12 месяцев у всех пациенток основной была диагностирована нормальная кольпоскопическая картина.

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

На рисунке 11 представлена кольпоскопическая картина пациентки до проведения ФДТ, на рисунке 12 – кольпоскопическая картина пациентки через 4 недели после лечения.



Рисунок 11 – Аномальная кольпоскопическая картина у пациентки с преинвазивным раком до проведения ФДТ: 1) нативное изображение, 2) изображение при обработке шейки матки раствором 3.5 % уксусной кислотой; 3, 4) изображения при обработке шейки матки раствором Люголя – проба Шиллера

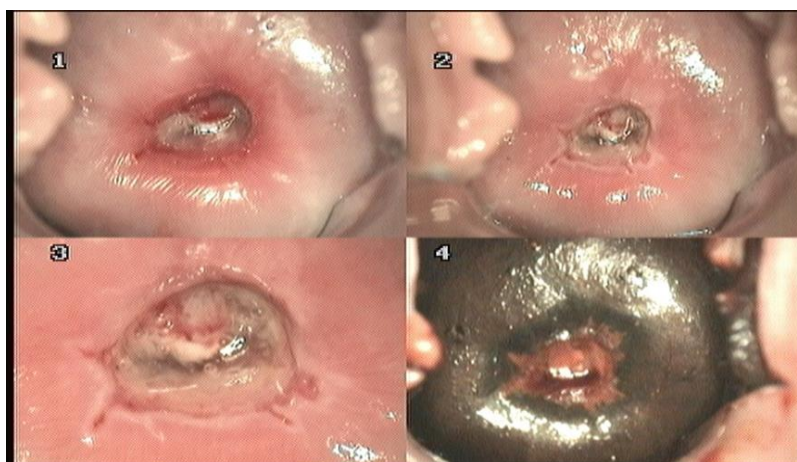


Рисунок 12 – Нормальная кольпоскопическая картина у пациентки с Cis через 4 недели после ФДТ: 1 – нативное изображение, 2, 3 – изображение при обработке шейки матки раствором 3.5 % уксусной кислотой; 4 – изображения при обработке шейки матки раствором Люголя – проба Шиллера

3.7 Исследование уровней экспрессии маркеров пролиферации

Изучение динамики экспрессии Ki-67 у пациенток с CIN III/HSIL показало высокие уровни этого маркера в обеих группах до лечения, медианы показателя составили 86,5 (84,0; 88,5) и 84,0 (83,0; 87,0) % в группах 1 и 2 соответственно (таблица 17).

Таблица 17 – Динамика уровня экспрессии Ki-67 (%) у пациенток с CIN III/HSIL, Me (Q₂₅, Q₇₅)

Группы пациенток	До лечения	После лечения
Группа 1 (сравнения) (n= 20)	86,5 (84,0; 88,5)	53,5 (34,0; 64,0)
Группа 2 (основная) (n=17)	84,0 (83,0; 87,0)	30,0 (27,5; 33,0)*

Примечание: * - $p < 0,05$ (по кр.Манна-Уитни) относительно значения в группе сравнения

После проведенного лечения величины этого показателя статистически

значимо снизились ($p < 0,05$) относительно исходных значений в обеих группах, составив у женщин группы сравнения 53,5 (34,0; 64,0)%, тогда как в основной группе уровень экспрессии этого маркера был статистически значимо ниже ($p = 0,007$) – 30,0 (27,5; 33,0)% .

Оценка уровня экспрессии Ki-67 у пациенток с преинвазивным РШМ показала, что значения данного показателя до лечения практически не различались, медианы составили 85,5 (81,0; 87,5) и 85,0 (82,0; 88,0) % соответственно в первой и второй группах (таблица 18).

В дальнейшем после лечения было выявлено снижение уровней Ki-67 у женщин обеих групп: у пациенток группы сравнения до 62,0 (39,5; 67,0)%, а в основной группе уровень экспрессии этого маркера был достоверно ниже ($p < 0,007$), составив 29,0 (25,5; 31,0)% .

Таблица 18 – Динамика уровня экспрессии Ki-67 (%) у пациенток с преинвазивным раком шейки матки Cis Me (Q_{25} , Q_{75})

Группы пациенток	До лечения	После лечения
Группа 1 (сравнения) (n=29)	85,5 (81,0; 87,5)	62,0 (39,5; 67,0)
Группа 2 (основная) (n=28)	85,0 (82,0; 88,0)	29,0 (25,5; 31,0)*

Примечание: * - $p < 0,05$ (по кр. Манна-Уитни) относительно значения в группе сравнения

Исследование экспрессии маркера пролиферации p16 в клетках слизистой ШМ также свидетельствовало о её значительном уменьшении после проведенного лечения, что было особенно выражено в группе, где проводилась фототераностика. Так, если до о лечения величины данного показателя составили у пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением шейки матки тяжелой степени CIN III/HSIL первой группы 96,5 (92,0; 98,5), во второй группе у

пациенток с плоскоклеточным интраэпителиальным поражением шейки матки тяжелой степени CIN III/HSIL – 97,0 (95,0; 99,0) % (таблица 19). После проведенного лечения было установлено, что у пациенток группы сравнения уровень экспрессии p16 составил 24,5 (19,0; 35,5) %, в то время как в группе, где проводилась фототерапевтика, значение данного показателя было почти в 3 раза ниже ($p < 0,001$) и составило 8,9 (0; 22,5) %

Таблица 19 – Динамика уровня экспрессии p16 (%) у пациенток с CIN III/HSIL, Me (Q₂₅, Q₇₅)

Группы пациенток	До лечения	После лечения
Группа 1 (сравнения) (n= 20)	96,5 (92,0; 98,5)	24,5 (19,0; 35,5)
Группа 2 (основная) (n=17)	97,0 (95,0; 99,0)	8,9 (0; 22,5)*

Примечание: * - $p < 0,05$ (по кр. Манна-Уитни) относительно значения в группе сравнения

Оценка данного показателя у женщин с преинвазивным раком шейки матки Cis показала аналогичную тенденцию. Как видно из таблицы 20, исходные значения экспрессии p16 составили в группе сравнения – 94,0 (92,0; 97,5) %, у пациенток основной группы – 96,0 (94,0; 98,0) %, статистически значимых межгрупповых различий в этот срок исследования выявлено не было.

Однако после проведенного лечения в группе сравнения уровень p16 составил 53,0 (43,0; 61,5) %, в основной группе его величина была почти в 4 раза ниже ($p < 0,001$) – 13,2 (0; 17,5).

Таблица 20 – Динамика уровня экспрессии p16 (%) у пациенток с преинвазивным раком шейки матки Cis Me (Q₂₅, Q₇₅)

Группы пациенток	До лечения	После лечения
Группа 1 (сравнения) (n=29)	94,0 (92,0; 97,5)	53,0 (43,0; 61,5)

Продолжение Таблицы 20

Группа 2 (основная) (n=28)	96,0 (94,0; 98,0)	13,2 (0; 17,5)*
----------------------------	-------------------	-----------------

Примечание: * - $p < 0,05$ (по кр. Манна-Уитни) относительно значения в группе сравнения

Оценка уровней экспрессии фосфогистона у пациенток с CIN III/HSIL показала, что до лечения значения этого показателя не различались, составив в группе 1 – 6,5 (5,0; 8,5) %, в группе 2 – 6,0 (4,5; 9,0) % (таблица 21). После проведенного лечения наблюдалось снижение этого показателя в обеих группах, при этом его значение в группе сравнения составило 3,5 (2,0; 4,5) %, тогда как в основной группе было статистически значимо меньше ($p = 0,012$) – 2,0 (0; 3,0) %.

Таблица 21 – Динамика уровня экспрессии фосфогистона (%) у пациенток с CIN III/HSIL, Me (Q₂₅, Q₇₅)

Группы пациенток	До лечения	После лечения
Группа 1 (сравнения) (n=20)	6,5 (5,0; 8,5)	3,5 (2,0; 4,5)
Группа 2 (основная) (n=17)	6,0 (4,5; 9,0)	2,0 (0; 3,0)*

Примечание: * - $p < 0,05$ (по кр. Манна-Уитни) относительно значения в группе сравнения

Анализ динамики данного параметра у женщин с преинвазивным раком шейки матки C_{is} также свидетельствовал об уменьшении уровня экспрессии фосфогистона после проведенного лечения в обеих группах. При этом до лечения его уровни составили в группе 1 – 7,0 (5,5; 8,5)%, в группе 2 – 7,5 (4,5; 8,0) % (таблица 22). После проведения комплекса лечебно-диагностических мероприятий медиана показателя в группе сравнения снизилась до 5,0 (3,0; 6,5) %, в основной группе его была в 2 раза ниже ($p = 0,009$) – 2,5 (1,0; 3,0).

Таблица 22 – Динамика уровня экспрессии фосфогинона (%) у пациенток с преинвазивным раком шейки матки Cis Me (Q₂₅, Q₇₅)

Группы пациенток	До лечения	После лечения
Группа 1 (сравнения) (n=29)	7,0 (5,5; 8,5)	5,0 (3,0; 6,5)
Группа 2 (основная) (n=28)	7,5 (4,5; 8,0)	2,5 (1,0; 3,0)*

Примечание: * - $p < 0,05$ (по кр. Манна-Уитни) относительно значения в группе сравнения

Результаты иммуногистохимического исследования представлены на рисунке 13.

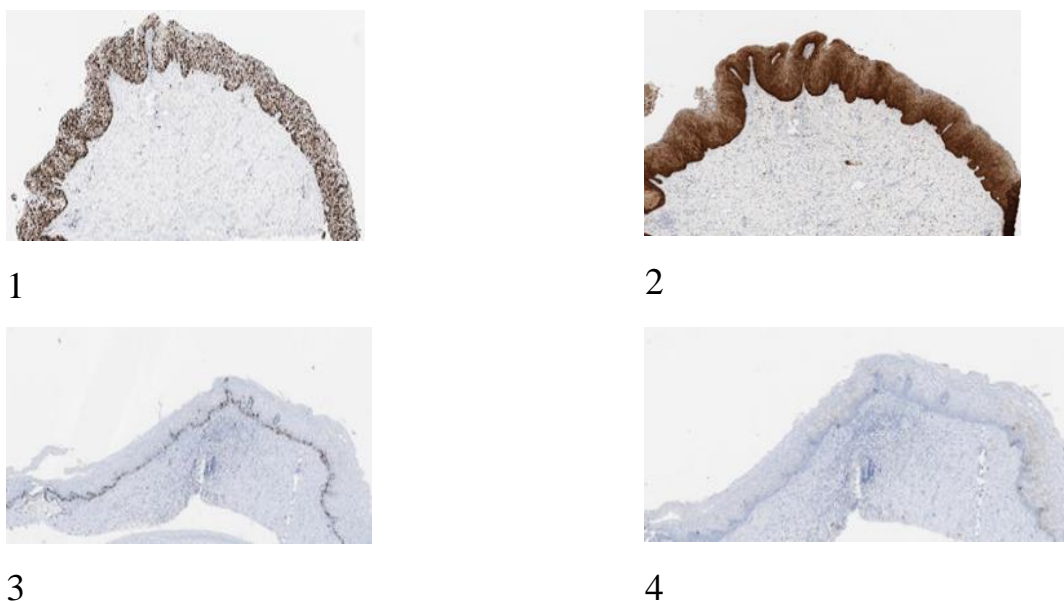


Рисунок 13 – Иммуногистохимическое исследование: 1) экспрессия Ki 67 на уровне 85% у пациентки с CIN III/HSIL до проведения фототераностики; 2) экспрессия Ki 67 на уровне 35% у пациентки с CIN III/HSIL через 5 недель после проведения фототераностики; 3) экспрессия p16 у пациентки с CIN III/HSIL до проведения фототераностики; 4) экспрессия p16 у пациентки с CIN III/HSIL через 5 недель после проведения фототераностики

3.8 Результаты цервикоскопии, цервикометрии и зондирования цервикального канала

У всех пациенток первой и второй группы до и после проведенной терапии были оценены анатомические особенности шейки матки с помощью цервикометрии и цервикоскопии, с помощью которой измеряли длину эндоцервикса и визуально оценивали слизистую эндоцервикса, а также осуществляли зондирование цервикального канала, при этом определялось наличие или отсутствие стеноза цервикального канала.

У 7 пациенток (14,3%) первой группы было отмечено наличие полного стеноза цервикального канала, в то время как у всех пациенток второй группы цервикальный канал визуализировался до области внутреннего зева, слизистая была без визуально определяемых образований.

Данные зондирования цервикального канала были аналогичными данным цервикоскопии.

По данным цервикометрии, было отмечено укорочение длины цервикального канала у всех пациенток второй группы от 13 до 18 мм. У пациенток второй группы не было зафиксировано уменьшения длины эндоцервикса.

3.9 Оценка безопасности применения методов лечения тяжелой дисплазии и преинвазивного рака шейки матки

Частота осложнений, наблюдавшихся после проведенного лечения у пациенток разных групп, представлена в таблице 23. Все пациентки группы 2 хорошо перенесли внутривенное введение ФС хлоринового ряда. У 5 женщин (11,1%) отмечалась легкая фототоксичность кожи в течение суток после инъекции, которая проявлялась легкой гиперемией и незначительным отеком на открытых поверхностях тела. В одном случае (2,2%) в группе 2 была отмечена аллергическая реакция замедленного типа в виде крапивницы, купированная

внутривенной инфузией дексаметазона.

В то же время в группе сравнения у 5 пациенток (10,2%) наблюдалось присоединение вторичной инфекции, зафиксировано 9 случаев (18,4%) кровотечения, в дальнейшем у 7 пациенток (14,3%) отмечены стенозы цервикального канала.

В целом частота осложнений в группе 1 составила 42,0% (21 случай), в то время как в группе 2 значение этого показателя было статистически значимо ниже ($p=0,002$) и составило 13,3 % (6 осложнений).

Таблица 23 – Частота осложнений после проведенного лечения (n/%)

Осложнения	Группа 1 (сравнения) n=49		Группа 2 (основная) n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
Стенозы цервикального канала	7	14,3	-	
Присоединение вторичной инфекции	5	10,2	-	
Кровотечение	9	18,4	-	
Аллергическая реакция	-	-	1	2,2
Фототоксичность кожи	-	-	5	11,1
Всего	21	42,9	6	13,3*

Примечание: * - $p<0,05$ (по кр. χ^2) относительно значения в группе сравнения

3.10 Анализ репродуктивных исходов

На следующем этапе исследования был проведен ретроспективный

анализ репродуктивных исходов у 46 пациенток с морфологически подтвержденными ВПЧ-ассоциированными интраэпителиальными неоплазиями шейки матки тяжелой степени и преинвазивными раком шейки матки, которым проводилось лечение интраэпителиальных поражений, и которые планировали беременность.

Эти пациентки входили в группы 1 и 2, их них

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

Анализ распределения пациенток, обследованных на этом этапе работы, по возрастным характеристикам у показал, что большинство женщин в обеих группах были в возрасте 25–30 лет, при этом в группе 2 было 10 пациенток (45,5%) этой возрастной группы, в группе 1 – 11 женщин (45,9%) (таблица 24).

Таблица 24 – Распределение по возрасту пациенток, планировавших беременность (n/%)

Возраст, лет	Группа 1 (сравнения) n=24		Группа 2 (основная) n=22	
	Абс.	%	Абс.	%
18–25	2	8,3	1	4,5
25–30	11	45,9	10	45,5
31–35	6	25,0	4	18,2
36–40	5	20,8	7	31,8

Старше 35 лет было 5 пациенток (20,8%) из первой группы и 7 женщин (31,8%) из второй группы. В первой группе 6 пациенток (25,0%) составили возрастную группу 31–35 лет, в группе 2 было 4 таких женщины (18,2%).

2 пациентки (8,3%) группы 1 были моложе 25 лет, в группе 2 была одна

такая пациентка (4,5%). Статистически значимых межгрупповых различий по возрастным показателям пациенток, планировавших беременность, отмечено не было.

Оценка распределения пациенток, планировавших беременность, по диагнозам показала отсутствие достоверных межгрупповых различий. У большинства женщин был установлен диагноз CIN III/HSIL – у 14 пациенток (58,3%) в группе 1 и у 15 женщин (68,2%) в группе 2 (таблица 25).

Существенно не различалось количество пациенток с преинвазивным раком шейки матки Cis, этот диагноз при включении в исследования был поставлен 10 женщинам (41,7%) первой группы и 7 пациенткам (31,8%) второй группы.

Таблица 25 – Распределение пациенток, планировавших беременность, по характеристикам очагов поражения шейки матки (n/%)

Диагноз	Группа 1 (сравнения) n=24		Группа 2 (основная) n=22	
	Абс.	%	Абс.	%
CIN III/HSIL (n=17)	14	58,3	15	68,2
Преинвазивный рак шейки матки Cis (n=28)	10	41,7	7	31,8

Анализ репродуктивных исходов беременностей у пациенток, включенных в исследование, показал, что в группе сравнения беременность наступила у 6 пациенток (25,0%), в основной группе значение этого показателя было статистически значимо выше ($p=0,040$) – у 12 женщин (55,5%) (таблица 26). Соответственно в группе 1 беременность не наступила у 18 женщин (75,0%), в то время как в группе 2 статистически значимо реже – только у 10 пациенток (44,5%), планировавших беременность.

Таблица 26 – Репродуктивные исходы у пациенток, планировавших беременность (n/%)

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

Примечание: * - $p < 0,05$ (по кр. χ^2) относительно значения в группе сравнения

Беременность наступила самостоятельно у 4 женщин (16,7%) группы сравнения, в основной группе относительное количество таких случаев выше ($p=0,013$) – 10 (44,4%).

В первой группе беременность наступила в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий у 2 пациенток (8,3%), во второй группе также было 2 таких случая (9,1%).

В группе 1 у одной пациентки беременность окончилась выкидышем, у 5 женщин – родами. Результаты изучения характеристик 5 произошедших родов, которыми окончились беременности пациенток группы 1 и у 12 родов, которыми окончились беременности женщин из группы 2, представлены в таблице 27.

Таблица 27 – Характеристика родов пациенток, планировавших беременность (n/%)

Характеристика	Группа 1 (сравнения) n=5		Группа 2 (основная) n=12	
	Абс.	%	Абс.	%
Самостоятельные	3	60,0	8	66,7
Кесарево сечение	2	40,0	4	33,3

Установлено, что доля самостоятельных родов составила в первой группе 60,0% (3 случая), во второй группе – у 8 пациенток (66,7%). Кесарево сечение было выполнено 2 женщинам (40,0%) группы 1 и 4 пациенткам (33,3%) группы 2.

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

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИМЕРЫ

Клинический пример 1.

Пациентка Х., 27 лет.

Клинический диагноз: ВПЧ-ассоциированное злокачественное новообразование шейки матки TisN0M0, преинвазивный плоскоклеточный рак шейки матки.

Жалобы: на момент осмотра отсутствуют.

Анамнез жизни: начало половой жизни в 17 лет, количество половых партнеров: 3. Беременностей не было.

Анамнез заболевания: в течение последнего года беспокоили контактные кровянистые выделения из половых путей.

Результаты обследования:

Данные гинекологического осмотра. Тело матки: кпереди, не увеличено, подвижное, безболезненное при пальпации. Консистенция матки: плотная. Поверхность: ровная. Шейка матки конической формы, наружный зев точечный, определяется эрозированный участок на 11–12 часах по циферблату, контактно кровоточит. Придатки справа и слева: не увеличены, чувствительные при пальпации, подвижные. Выделения из половых путей слизистые, скудные.

Расширенная кольпоскопия: проба с 3.5 % раствором уксусной кислоты выявила участок плотного ацетобелого эпителия с четкими контурами на 11–12 часах, размером 8x5 мм на расстоянии 2 мм от наружного отверстия цервикального канала, при проведении пробы Шиллера в этом участке определяется йод-негативная зона.

По данным ПЦР обнаружен ВПЧ 16 типа.

Результат цитологического исследования соскобов эндоцервикса и эндометрия: CIN III/HSIL.

В июле 2021 г. была выполнена биопсия шейки матки. По данным заключения гистологического исследования, плоскоклеточное интраэпителиальное поражение шейки матки тяжелой степени CIN III/HSIL.

При пересмотре гистологических препаратов: преинвазивный рак шейки матки (CIN III HSIL/Cis) (рисунок 14 А).

Результаты иммуногистохимического исследования: уровень экспрессии p16 – 95% (рисунок 15 А), уровень экспрессии Ki 67 – 85% (рисунок 16 А).

Проведен онкоконсилиум, рекомендовано проведение фотодинамической терапии с одномоментной флуоресцентной диагностикой.

24 августа 2021 г. проведена фотодинамическая терапия с одномоментной флуоресцентной диагностикой ВПЧ-ассоциированного преинвазивного рака шейки матки с плотностью мощности 0,4 мВт/см², с плотностью потока мощности 300 Дж/см² полипозиционно для экзоцервикса с использованием диффузора с торцевым облучателем, 200 Дж/см² для цервикально канала с использованием цилиндрического диффузора. Максимальное значение ИФ до ФДТ составляло 37 отн. ед., ФДТ завершена при значении ИФ 10 отн.ед., величина фотобликинга при этом составила 73%.

При проведении контрольной биопсии шейки матки через 6 недель после курса фототераностики согласно заключению гистологического исследования обнаружены признаки полного лечебного патоморфоза опухоли без признаков CIN (рисунок 14 Б).

Результаты иммуногистохимического исследования: p16 – негативный (рисунок 15 Б), экспрессия Ki 67 – 35% (рисунок 16 Б).

По данным цитологических исследований от 28 сентября 2021, 1 ноября 2021, 4 января 2022, 12 апреля 2022, 25 августа 2022: NILM.

ПЦР на ВПЧ от 28 сентября 2021, 1 ноября 2021, 4 января 2022, 12 апреля 2022, 25 августа 2022: ВПЧ не выявлено.

По результатам расширенной кольпоскопии, через 6 недель, 3, 9 и 12 месяцев выявлена нормальная кольпоскопическая картина.

01 сентября 2022 (через год после проведения курса фототераностики) проведена контрольная биопсия шейки матки. По результатам гистологического исследования признаков интраэпителиального плоскоклеточного поражения шейки матки не выявлено.

План дальнейшего ведения: необходимо продолжить динамическое наблюдение.

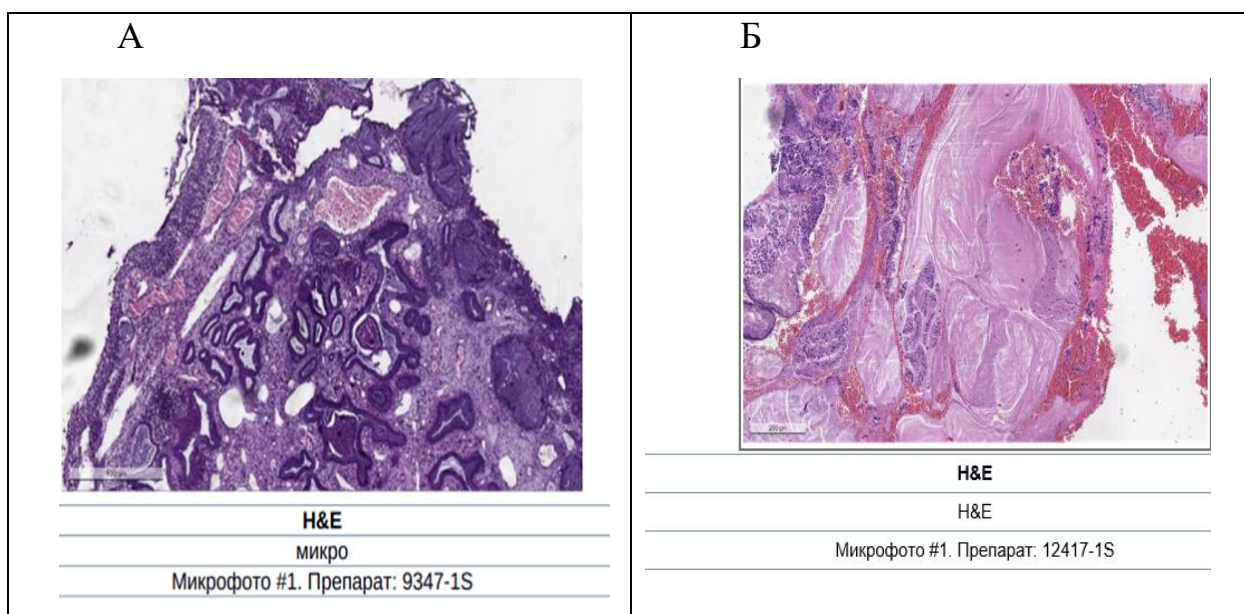


Рисунок 14 – Пациентка X, а) гистологическое исследование до проведения фототерапии. HSIL/CIN III. окр. Г-Э; б) гистологическое исследование через 6 недель после фототерапии. Признаки интраэпителиального плоскоклеточного поражения шейки матки отсутствуют. Окр. Г-Э

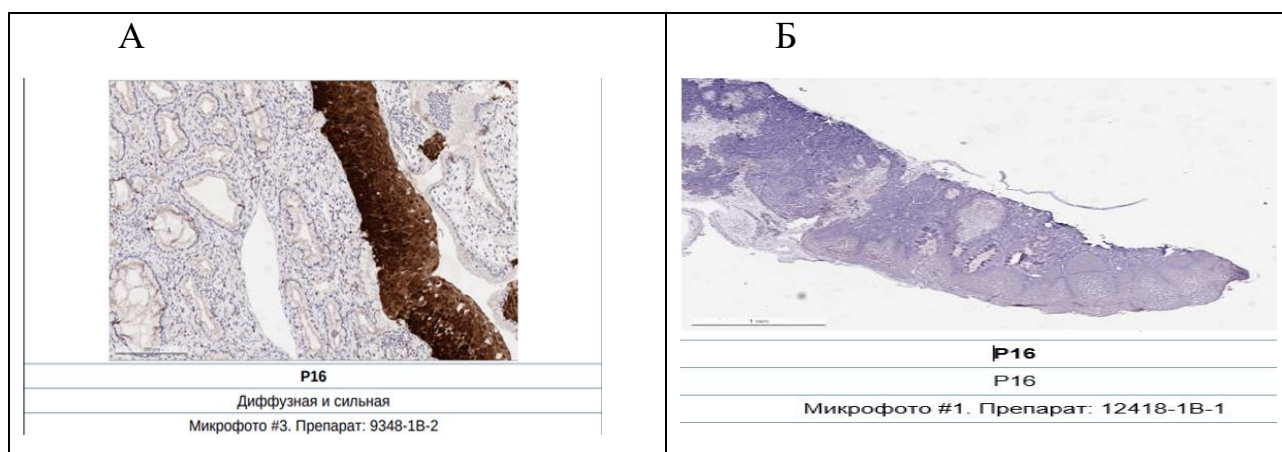


Рисунок 15 – Пациентка X, иммуногистохимическое исследование, экспрессия p16: а) ярко выраженная экспрессия при CIN III/HSIL до проведения фототерапии; б) отсутствие экспрессии p16 через 6 недель после проведения фототерапии

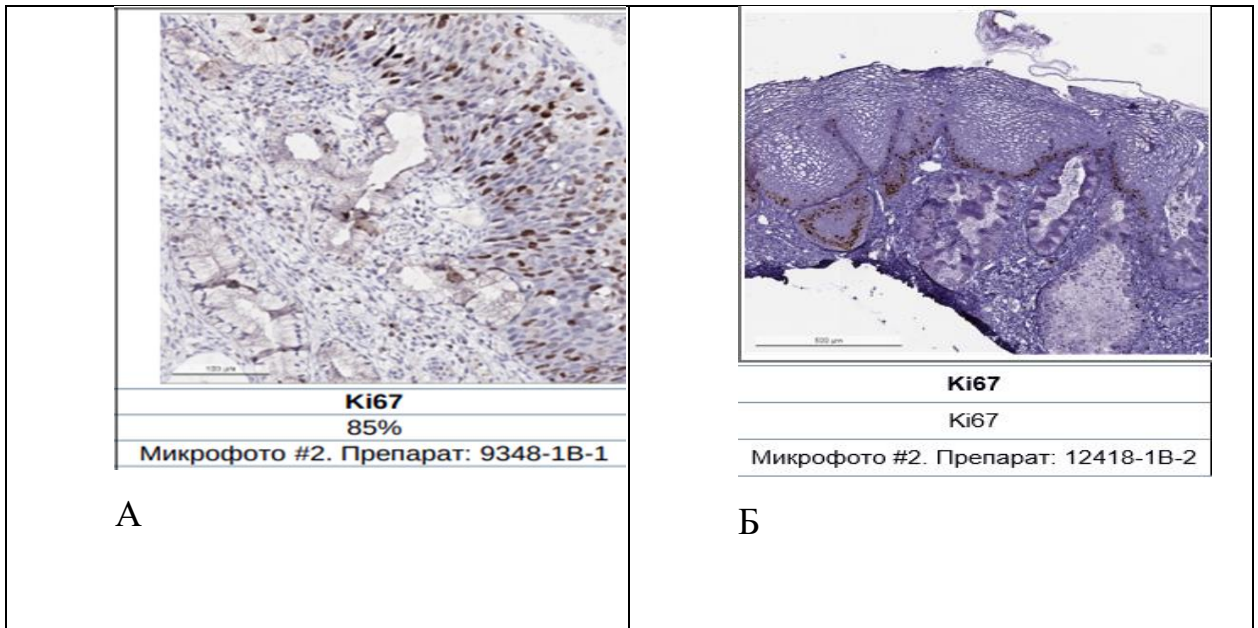


Рисунок 16 – Пациентка Х, иммуногистохимическое исследование, экспрессия Ki67: а) 85% при CIN III/HSIL до проведения фототерапии; б) экспрессия 35% через 5 недель после проведения фототерапии

Клинический пример 2.

Пациентка Б., 40 лет.

Клинический диагноз: преинвазивный рак шейки матки TisN0MM0, плоскоклеточный тип.

Гинекологический анамнез: беременностей не было.

Жалобы: на момент осмотра отсутствуют.

Анамнез заболевания: у пациентки позднего репродуктивного периода при проведении гинекологического осмотра была выполнена жидкостная цитология, по результатам которой выявлен преинвазивный рак шейки матки. Обратилась за консультацией для определения дальнейшей тактики лечения. Проведен онкоконсилиум, рекомендовано проведение ФДТ и одновременной флюоресцентной диагностики с прицельной биопсией шейки матки.

Данные гинекологического осмотра: тело матки кпереди, не увеличено, подвижное, безболезненное при пальпации. Консистенция матки плотная, поверхность ровная. Придатки справа и слева не увеличены, чувствительные при пальпации, подвижные. Выделения из половых путей слизистые, скудные.

Расширенная кольпоскопия: при проведении пробы с 3,5% раствором

уксусной кислоты определяется участок плотного ацетобелого эпителия с четкими контурами, размерами 5x4 мм на 6 часах по циферблату, участок грубой мозаики на 5–7 часах, при проведении пробы Шиллера визуализируется йод-негативная зона на 6 часах.

12 июля 2021 г. проведена прицельная биопсия шейки матки в области максимального значения индекса флюоресценции (ИФ = 40). Проведен 1 курс фототераностики шейки матки с параметрами: плотность потока мощности 0,4 мВт/см², плотность потока энергии 300 Дж/см², полипозиционно для экзоцервикса с использованием диффузора с торцевым облучателем, 200 Дж/см² для цервикально канала с использованием цилиндрического диффузора с фотобличингом – 80%. Значение ИФ до проведения ФДТ составило 40 отн. ед., после проведения курса ФДТ величина ИФ была на уровне 8 отн. ед.).

Согласно заключению гистологического исследования, при выполнении прицельной биопсии ШМ под контролем флуоресцентной диагностики выявлен преинвазивный рак шейки матки.

При пересмотре гистологических препаратов: преинвазивный рак шейки матки (рисунок 17 А), по результатам иммуногистохимического исследования экспрессия p16 – 95% (рисунок 18 А), уровень экспрессии Ki – 85% (рисунок 19 А).

По данным цитологического исследования от 10 августа 2021 г.: CIN I/LSIL.

Результат ПЦР на ВПЧ от 10 августа 2021 г.: не выявлено ВПЧ.

26 августа 2021 г. в плановом порядке произведены: контрольная биопсия шейки матки из участка с максимальным значением индекса флюоресценции (ИФ=29) с выскабливанием цервикального канала. По результатам гистологического исследования: CIN I.

29 августа 2021 г. проведен второй курс фототераностики с параметрами: плотность потока мощности 0,4 мВт/см², с плотностью потока энергии 250 Дж/см², полипозиционно для экзоцервикса с использованием диффузора с торцевым облучателем, 180 Дж/см² для цервикально канала с использованием цилиндрического диффузора с уровнем фотобличинга 80%.

При контрольной биопсии шейки матки от 01 октября 2021 г. (через 3 месяца после одного курса фототераностики): признаки полного лечебного патоморфоза опухоли без признаков CIN (рисунок 17 Б), по результатам иммуногистохимического исследования: Ki 67–35 % (рисунок 18 Б), p16 – негативный (рисунок 19 Б).

План ведения пациентки: плановое динамическое наблюдение.

Через 3 месяца после второго курса фототераностики наступила самопроизвольная беременность, протекающая без осложнений, закончившаяся родоразрешением путем выполнения плановой операции кесарево сечение на сроке гестации 38 недель и 2 дня, без осложнений.

При проведении цитологического исследования от 28 сентября 2021, 6 ноября 2021, 12 февраля 2022, 25 мая 2022 – NILM.

ПЦР на ВПЧ от 28 сентября 2021, 6 ноября 2021, 12 февраля 2022, 25 мая 2022 г. не выявлено ВПЧ. При проведении расширенной кольпоскопии через 6 недель, 3, 9 и 12 месяцев: нормальная кольпоскопическая картина.

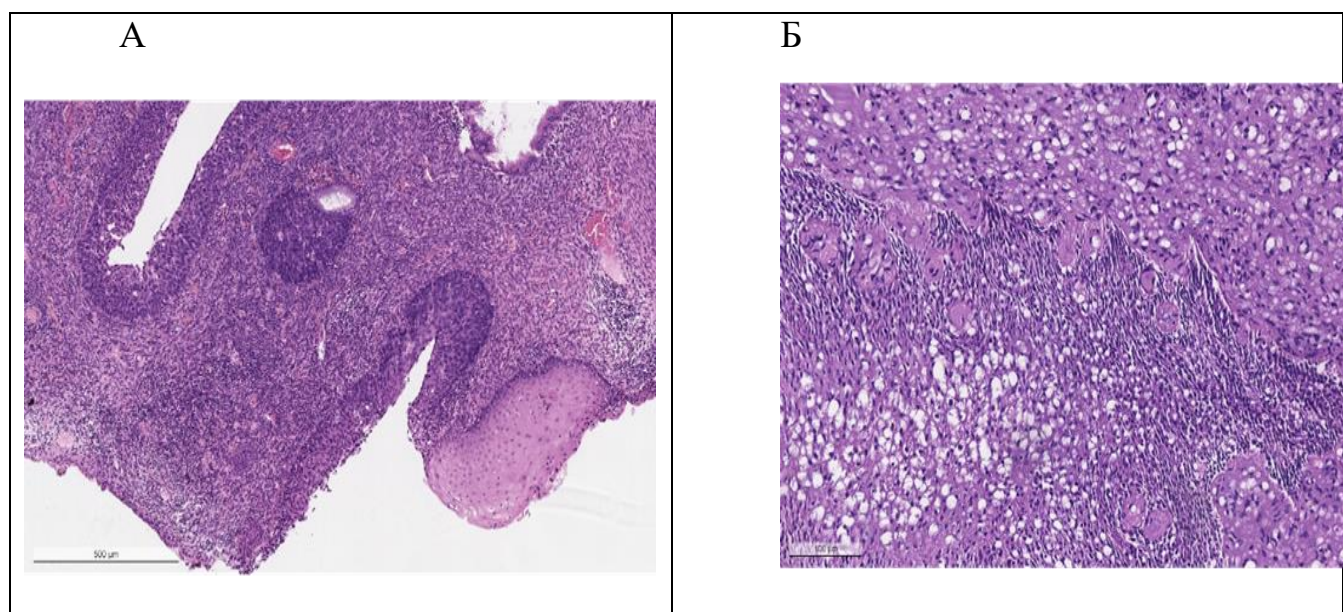


Рисунок 17 – Пациентка Б: а) гистологическое исследование до проведения фототераностики: преинвазивный рак шейки матки, Окр. Г-Э; б) гистологическое исследование после 2-х курсов фототераностики: без признаков интраэпителиального плоскоклеточного поражения шейки матки, Окр. Г-Э

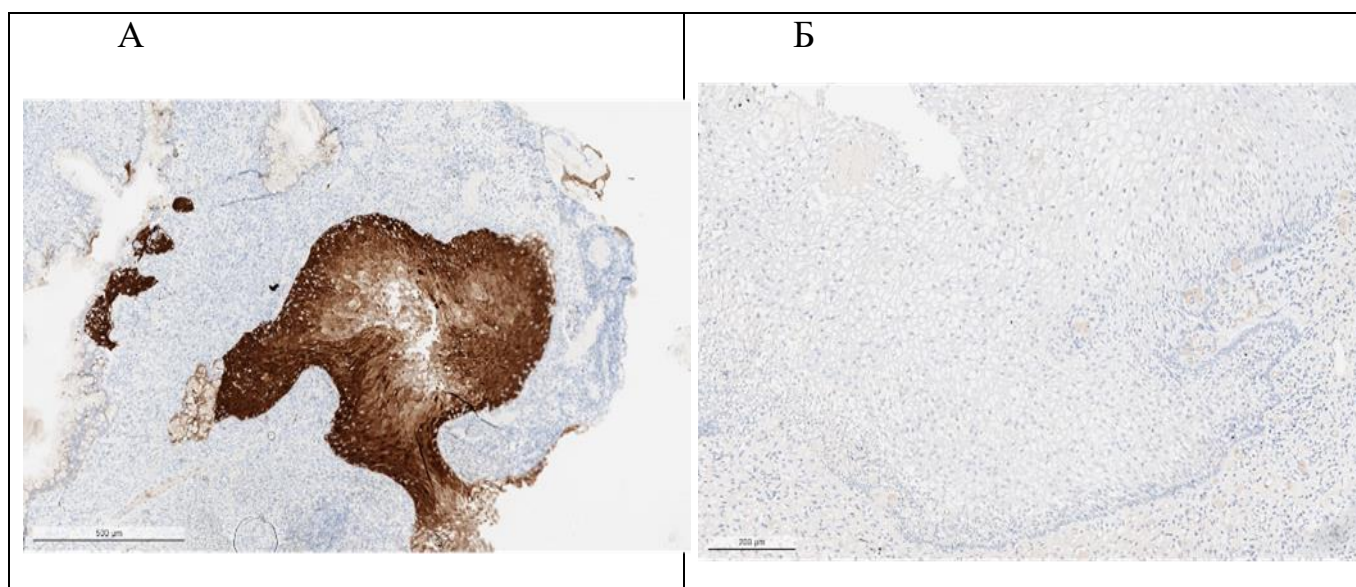


Рисунок 18 – Пациентка Б, иммуногистохимическое исследование, экспрессия p16: а) сильная положительная экспрессия у пациентки с преинвазивным раком шейки матки до проведения фототераностики; б) отсутствие экспрессии p16 после проведения 2 курсов фототераностики

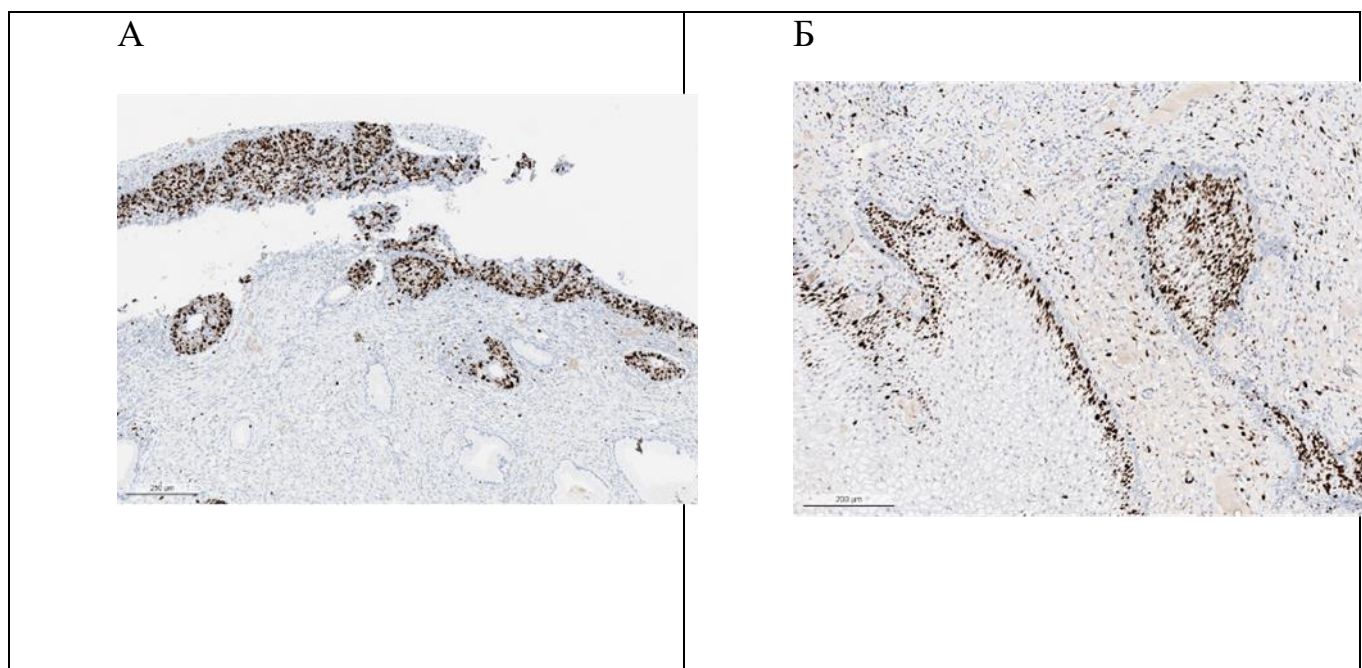


Рисунок 19 – Пациентка Б, иммуногистохимическое исследование, экспрессия Ki 67: а) 85% у пациентки с преинвазивным раком шейки матки до проведения фототераностики; б) 67–35 % после проведения 2-х курсов фототераностики

Клинический пример 3.

Пациентка С., 48 лет.

Клинический диагноз: ВПЧ-ассоциированное злокачественное новообразование шейки матки Tis N0 M0.

Жалобы: на момент осмотра не предъявляет.

Анамнез заболевания: при прохождении планового осмотра у гинеколога, по данным цитологического исследования, выявлена дисплазия шейки матки тяжелой степени CIN III (HSIL). По результатам амплификации ДНК от 24 декабря 2020, выявлен ВПЧ 16 типа.

Гинекологический анамнез: начало половой жизни с 20 лет. Беременности: одни роды, самопроизвольные срочные роды, без осложнений.

Гинекологические заболевания: миома матки малых размеров (с 2021 г.).

Заболевания молочных желез: фиброзно-кистозная мастопатия (произведена пункция, заключение цитологического исследования – без атипии), динамическое наблюдение.

Гинекологический статус: наружные половые органы развиты правильно, оволосение по женскому типу. Шейка матки цилиндрической формы, наружный зев щелевидный, определяется эрозированный участок на 10 часах по циферблату. Тело матки несколько больше нормы, плотное, подвижное, безболезненное, гладкое. Придатки справа не увеличены, безболезненные. Придатки слева не увеличены, чувствительные при пальпации, мягко-эластической консистенции. Своды свободные, безболезненные. Параметрии не инфильтрированы, безболезненные. Выделений из половых путей нет.

Расширенная кольпоскопия: при проведении пробы с 3,5% раствором уксусной кислоты определяется участок грубой мозаики и грубой пунктации, размерами 7x4 мм на 10–11 часах, при проведении пробы Шиллера визуализируется йод-негативная зона в вышеописанном участке.

16 марта 2021 г. проведена радиоволновая конизация шейки матки, выскабливание слизистой оставшегося цервикального канала.

По результатам гистологического исследования: HSIL.

При пересмотре готовых гистологических препаратов: преинвазивный рак: carcinoma in situ (рисунок 20 А), в краях резекции имеются фокусы HSIL. Результаты иммуногистохимического исследования: p16 – 95% (рисунок 21 А), Ki 67–85% (рисунок 22 А).

При проведении цитологического соскоба экзо-, эндоцервикса от 16 апреля 2021: HSIL, по данным ПРЦ от 16 апреля 2021: ВПЧ 16 типа.

21 апреля 2021 г. произведена эксцизионная биопсия шейки матки, выскабливание эндоцервикса.

По данным гистологического исследования: LSIL/CIN I.

При проведении цитологического соскоба экзо-, эндоцервикса от 10 июля 2021: HSIL.

По данным ПРЦ от 10 июля 2022: обнаружен ВПЧ 16 типа.

При проведении расширенной кольпоскопии: на 11–12 ч на расстоянии 0,5 см от наружного отверстия цервикального канала при пробе с 3,5% раствором уксусной кислоты определяется участок грубой мозаики, проба Шиллера в данном участке с йод-негативной зоной.

14 июля 2021 проведена реконизация шейки матки, в заключении гистологического исследования HSIL. При пересмотре готовых гистологических препаратов: HSIL/CIN II (рисунок 20 Б). По результатам иммуногистохимического исследования: p16 – в 50% эпителиоцитов многослойного плоского эпителия с HSIL, выявлена диффузная блочная ядерно-цитоплазматическая экспрессия p16 (рисунок 21 Б), уровень Ki 67–70 % (рисунок 22 Б), РННЗ-ядерная позитивная реакция обнаружена в 3% эпителиоцитов.

План ведения: показано динамическое наблюдение в плановом порядке.

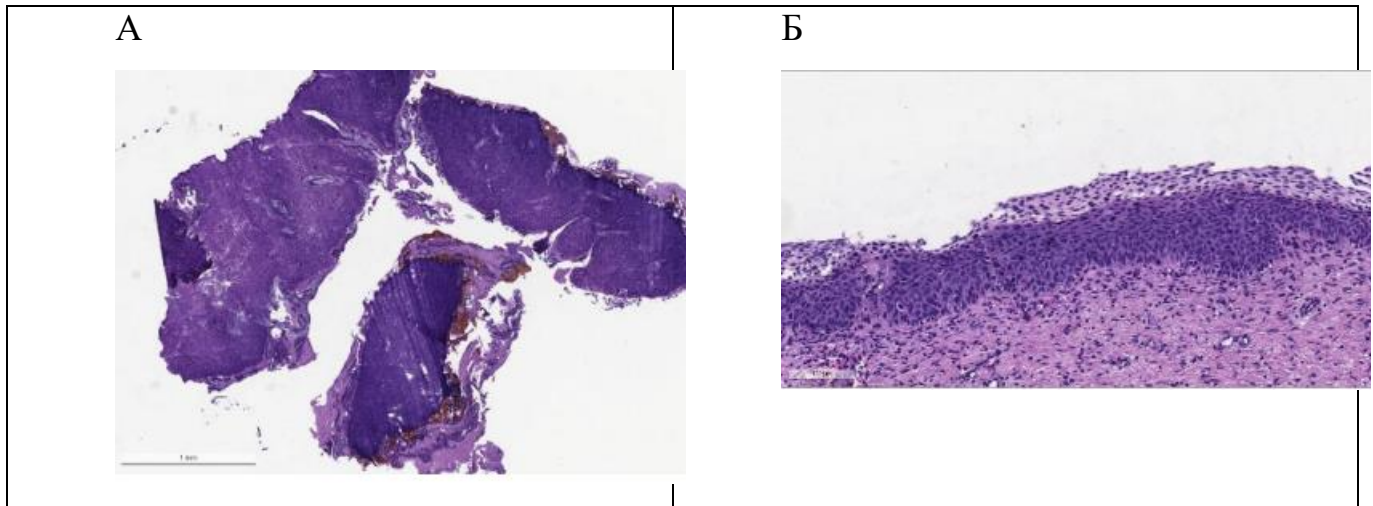


Рисунок 20 – Пациентка С: а) гистологическое исследование до лечения (конизации): преинвазивный рак при конизации, Окр. Г-Э; б) гистологическое исследование через 4 месяца после конизации при выполнении реконизации: HSIL/CIN II шейки матки, Окр. Г-Э

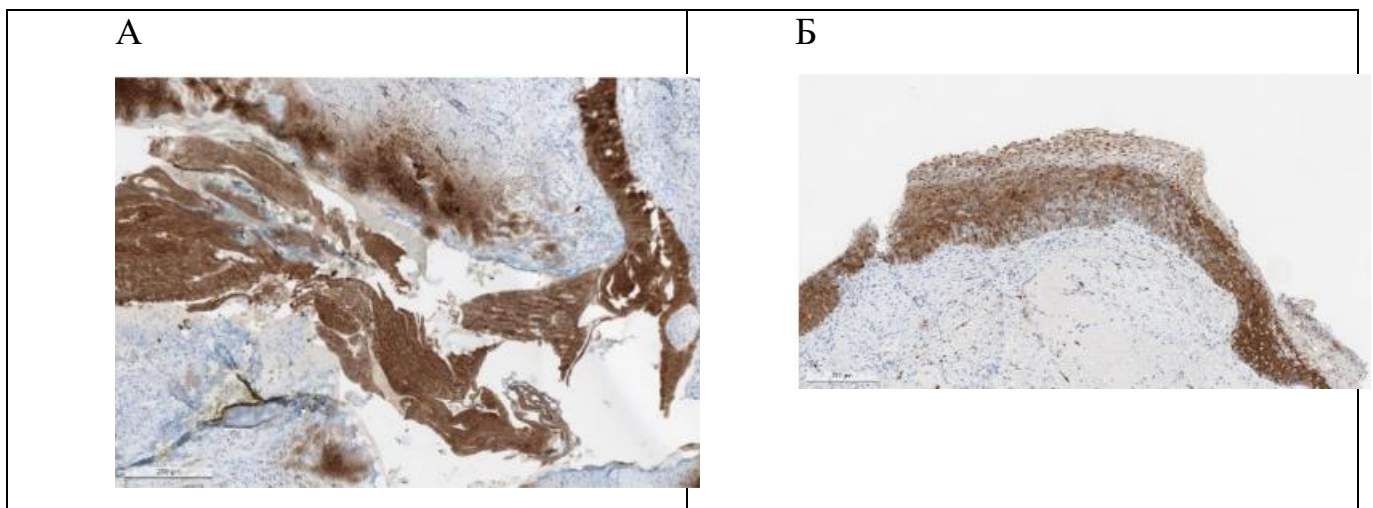


Рисунок 21 – Пациентка С, иммуногистохимическое исследование, экспрессия p16: а) ярко выраженная экспрессия – 95% у пациентки с преинвазивным раком при выполнении конизации; б) экспрессия 50% через 4 месяца после конизации при выполнении реконизации

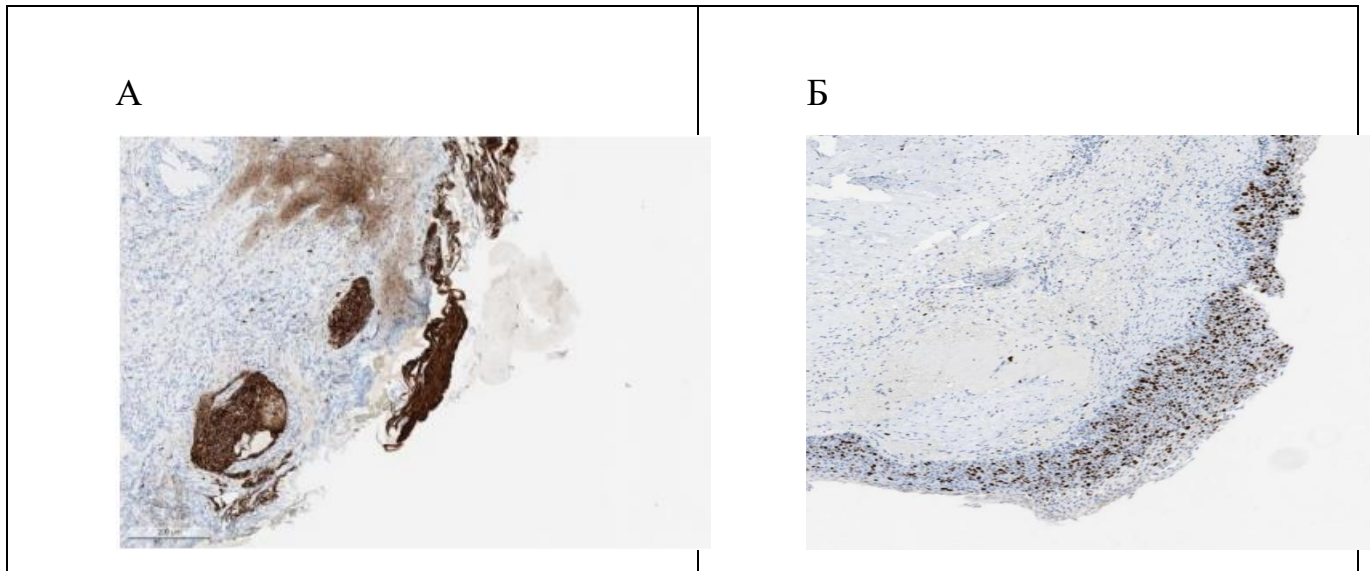


Рисунок 22 – Пациентка С, иммуногистохимическое исследование, экспрессия Ki 67: а) 85% у пациентки с у пациентки с преинвазивным раком при выполнении конизации; б) 67–70% через 4 месяца после конизации, при выполнении реконизации

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рак шейки матки (РШМ) является четвертым по частоте выявления видом рака у женщин во всем мире [Sung H. et al., 2021]. В 2020 г. в мире было зарегистрировано 604 127 новых случаев РШМ, 341 831 из них закончился летальным исходом [Sung H. et al., 2021].

К настоящему времени установлено, что персистирующая инфекция ВПЧ у женщин старше 35 лет отвечает примерно за 70% всех диагностированных РШМ случаев в странах с низким и средним уровнем дохода [Hull R. et al., 2020]. Ожидается, что в ближайшие 10–20 лет у 11 миллионов женщин во всем мире будет диагностирован РШМ.

Поскольку РШМ доминирует в структуре злокачественных опухолей у женщин в возрасте от 15 до 39 лет, актуальным является совершенствование методов лечения предраковых заболеваний ШМ и раннего инвазивного РШМ [Siegel R.L. et al., 2020; Sung H. et al. 2021]. Эта опухоль является одной из наиболее успешно поддающихся лечению форм рака при выявлении заболевания на ранней стадии. В то же время традиционные методы лечения рассматриваемых заболеваний, такие как хирургическое иссечение, химио- и лучевая терапия, инвазивны и вызывают нежелательные побочные эффекты [Yang L. et al., 2020]. Следовательно, одним из направлений научного поиска является разработка и апробация методов лечения ВПЧ-ассоциированных плоскоклеточных интраэпителиальных поражений ШМ и преинвазивного РШМ, применение которых не наносит ущерба фертильности и обеспечивает сохранение репродуктивных возможностей данного контингента пациенток.

В последние годы оптическая фототераностика привлекает все большее внимание исследователей, поскольку ее применение характеризуется минимальной инвазивностью и уменьшает сопутствующее повреждение нормальных окружающих тканей [Yang Z.S. et al., 2020]. Эта концепция доказала свою эффективность, которая основана на оценке флуоресценции фотосенсибилизаторов и сочетает диагностику и терапию. Флуоресцентная

визуализация, которая осуществляется при проведении ФДТ, также позволяет проводить одновременно диагностику, дозиметрию, мониторинг лечения и корректировать проводимую терапию [Celli J.P. et al., 2010; Cheng P., Pu K., 2020; Zhang J. et al., 2020]. Свойства современных ФС позволили улучшить визуализацию опухолевых поражений благодаря их повышенным способностям к проникновению в ткани, чувствительности и специфичности при их определении с помощью оптических методов [Wang C. et al., 2018].

В связи с вышеизложенным **целью нашего исследования** было улучшение результатов лечения плоскоклеточной дисплазии тяжелой степени и преинвазивного рака шейки матки на основе применения метода фототераностики.

В рамках нашей работы проведено обследование, лечение и дальнейшее наблюдение 94 пациенток в возрасте от 18 до 49 лет с морфологически подтвержденными ВПЧ-ассоциированными интраэпителиальными неоплазиями шейки матки тяжелой степени и преинвазивными раком шейки матки.

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

- **группа 1** (сравнения) – 49 пациенток, в лечении которых применялись стандартные методы диагностики и лечения рассматриваемой патологии;
- **группа 2** (основная) – 45 пациенток, в лечении которых был использован метод фототераностики: фотодинамической терапии (ФДТ) с одновременным лазерным возбуждением флуоресценции.

ФДТ является альтернативным терапевтическим методом, который позволяет осуществлять эрадикацию ВПЧ, а также воздействовать на очаги неоплазии и РШМ, ограничивая таким образом их дальнейшее распространение [Chizenga E.P. et al., 2019].

По результатам исследований *in vitro*, проведенных Eichele K. et al. (2009) и Lukhele S.T., Motadi L.R. (2016), было отмечено, что ФДТ способна активировать определенные иммунные реакции, что может способствовать регрессии очагов РШМ. Кроме того, ФДТ может рассматриваться как альтернативный метод

лечения, так как способствует сохранению фертильности, в отличие от использования стандартных методов лечения, что может вызывать бесплодие у пациенток [Chizenga E.P. et al., 2019; Higgins L.J., Pomper M.G., 2011].

Мультимодальная визуализация в сочетании с ФДТ, применяемой в рамках фототерапии, может способствовать разработке индивидуальных методов лечения пациенток с неоплазиями и РШМ [Higgins L.J., Pomper M.G., 2011], при этом исследователи считают, что метод мультимодальной визуализации при использовании двух или более методов визуализации позволяет преодолеть внутренние ограничения каждой модальности. Кроме того, такой подход приводит к получению взаимодополняющих точных сведений о структурно-функциональных особенностях проявлений патологии [Rieffel J. et al., 2015].

В рамках нашего исследования было установлено отсутствие статистически значимых межгрупповых различий по анамнестическим и клиническим характеристикам.

После проведения первого курса фототерапии у абсолютного большинства женщин основной группы данные цитологического исследования соответствовали нормальной цитологической картине NILM, что было подтверждено результатами гистологического заключения спустя 6, 9, 12 месяцев у всех пациенток основной группы.

Также через 3, 6, 9 и 12 месяцев после проведения фототерапии у всех пациенток была диагностирована нормальная кольпоскопическая картина, тогда как в группе сравнения у части пациенток в эти сроки были выявлены признаки поражения ШМ.

До проведения ФДТ у всех пациенток обеих групп с помощью ПЦР были идентифицированы онкогенные типы ВПЧ, в то же время спустя 5–6 недель после первого курса фототерапии у 91,1% пациенток основной группы была выявлена элиминация ВПЧ. В этот же срок после проведенной конизации у пациенток группы сравнения в 69,4% определялось отсутствие вируса, по данным ПЦР Real time в отделяемом цервикальном канале, в 30,6% случаях определялось наличие ВПЧ. В группе 2 значение показателя было статистически значимо ниже

($p=0,003$), чем в группе 1. Через 5–6 недель после проведения повторного курса фототераностики (через 3 месяца от начала исследования) у всех женщин группы 2 была зафиксирована элиминация ВПЧ, по данным метода амплификации ДНК-ПЦР отделяемого цервикального канала. В дальнейшем через 6, 9 и 12 месяцев также не было выявлено ВПЧ ни у кого из пациенток основной группы.

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

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

Сравнение результатов проведенного лечения в группах пациенток показало, что полная регрессия очагов дисплазии наблюдалась у 15 женщин (88,2%) с интраэпителиальными плоскоклеточными поражениями тяжелой степени основной группы, тогда как в группе сравнения значение этого показателя было ниже – 60,0% .

Изучение динамики экспрессии Ki-67 и p16 у пациенток с CIN III/HSIL показало высокие уровни этих маркеров в обеих группах до лечения. После проведенного лечения величины этого показателя статистически значимо снизились относительно исходных значений в обеих группах, при этом в основной группе уровень экспрессии этого маркера был статистически значимо ниже.

Оценка уровней экспрессии фосфогинона у пациенток с CIN III/HSIL и РШМ показала снижение этого показателя в обеих группах, аналогичной была динамика экспрессии фосфогинона после проведенного лечения в обеих группах.

Выявленная элиминация ВПЧ и нормализация пролиферативной активности эпителиального пласта при проведении метода фототераностики является

морфологическим подтверждением завершеного лечебного эффекта.

Исследование безопасности применения методов лечения тяжелой дисплазии и преинвазивного рака шейки матки показало, что все пациентки группы 2 хорошо перенесли внутривенное введение ФС хлоринового ряда. Частота осложнений в группе 1 составила 42,0% (21 случай), в то время как в группе 2 значение этого показателя было статистически значимо ниже ($p=0,002$) и составило 13,3% (6 осложнений). Продемонстрированная безопасность применения метода фототераностики обусловлена тем, что при его реализации отмечено минимальное количество нежелательных явлений и побочных реакций в виде незначительного количества аллергических реакций замедленного типа. При этом не наблюдалось аллергических реакций немедленного типа, случаев гиперсенсibilизации при парентеральном введении фотосенсибилизатора и воздействии лазерного излучения на ткани, зафиксировано отсутствие кровотечений и случаев вторичной инфекции в раннем и отдаленном (позднем) послеоперационных периодах.

На заключительном этапе исследования был проведен ретроспективный анализ репродуктивных исходов у 46 пациенток из общей выборки исследования, которые планировали беременность. Из них в лечении 24 женщин применялись стандартные методы диагностики и лечения рассматриваемой патологии, а в процессе ведения 22 пациенток был использован метод фототераностики. У большинства из этих женщин был установлен диагноз CIN III/HSIL – у 14 пациенток (58,3%) в группе 1 и у 15 женщин (68,2%) в группе 2. Диагноз преинвазивный рак шейки матки C_{is} при включении в исследования был поставлен 10 женщинам (41,7%) первой группы и 7 пациенткам (31,8%) второй группы, которые планировали беременность.

Анализ репродуктивных исходов беременностей у пациенток, включенных в исследование, показал, что в группе сравнения беременность наступила у 6 пациенток (25,0%), в основной группе значение этого показателя было статистически значимо выше ($p=0,040$) несколько чаще – у 12 женщин (55,5%).

Результаты, полученные в ходе выполнения представленной работы,

свидетельствуют о высокой эффективности фототераностики с внутривенным введением ФС хлоринового ряда при лечении интраэпителиальных поражений ШМ и преинвазивного РШМ. Установлено, что у 85–88% пациенток наблюдается полный эффект уже после первого сеанса фототераностики, после второй процедуры 100% случаев достигается полный регресс очагов поражения на слизистой ШМ.

Полученные нами данные в значительной степени согласуются с результатами других авторов. Так, выполненные к настоящему времени систематические обзоры показывают, что частота полной ремиссии при проведении ФДТ CIN и цервикальной ВПЧ-инфекции составляют 81,0% (от 31,3 до 100%) и 80,4% (диапазон 53,4–94,4%) соответственно [Park Y.K., Park C.H., 2016; Efendiev K.T. et al., 2022]. В одной из таких работ приводятся данные о частоте полной ремиссии CIN до 100 % случаев, при этом эрадикации ВПЧ наблюдалась в 53,4–80,0 % случаев [Chang C.J. et al., 1999].

В исследовании Su Y. et al. (2021) была выполнена оценка клинической эффективности и безопасности ФДТ с 5-АЛК при цервикальной интраэпителиальной неоплазии и вагинальной интраэпителиальной неоплазией (CIN и VAIN). Был проведен ретроспективный анализ данных 48 пациентов с диагнозом CIN и VAIN, которым проводилась ФДТ с 5-АЛК. Было установлено, что частота полной ремиссии у пациенток после проведенного лечения составила 88,64% (39 из 44) через 3–6 месяцев после лечения, в то время как общая частота клиренса ВПЧ составила 46,34 и 60,98% через 3 и 12 месяцев наблюдения соответственно. Примечательно, что атипичные поражения сосудов и эндоцервикального канала значительно влияли на эффективность ФДТ с 5-АЛК. Кроме того, у 5 пациенток были отмечены остаточные поражения (11,36%) во время наблюдения, у одной пациентки был рецидив (2,56%).

Таким образом, наши данные, как и данные литературы, подтверждают, что высокая селективность воздействия на пораженные ткани шейки матки, низкий риск развития серьезных побочных реакций и осложнений, короткий период системной фоточувствительности и высокая терапевтическая эффективность

выгодно отличают метод ФДТ с Себ от традиционных методов лечения CIN III/HSIL и CIS, в основе которых – локальная деструкция пораженных тканей. Фототераностика с использованием Себ является эффективным, относительно безопасным и малоинвазивным методом лечения.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что метод фототераностики представляет собой клинически эффективный и безопасный комплексный подход к диагностике и лечению предраковых изменений эпителия шейки матки и преинвазивного РШМ. Выполнение спектральной и видеофлуоресцентной диагностикой и одновременное проведение ФДТ способствуют успешному излечению очагов неоплазии на слизистой ШМ и элиминации этиологического фактора – ВПЧ. При этом осуществляется избирательное воздействие на патологически измененные участки тканей этой области, которое не вызывает повреждений нормальных окружающих тканей, грубого рубцевания и стеноза цервикального канала.

Проведенное исследование показало, что применение ФДТ позволяет сохранить нормальные анатомо-функциональные характеристики ШМ, что обеспечивает сохранение фертильности у рассматриваемого контингента пациенток и подтверждает ряд преимуществ использованного в представленной работе лечебно-диагностического подхода при тяжелых интраэпителиальных неоплазиях ШМ и РШМ по сравнению с альтернативными методами лечения: абляционными, эксцизионными и конизацией шейки матки.

ВЫВОДЫ

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

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

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

4. Оценка динамики экспрессии молекулярных маркеров пролиферации в клетках очагов интраэпителиальных плоскоклеточных поражений и преинвазивного рака шейки матки в процессе лечения свидетельствует о

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

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

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

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

2. Через 6 недель после лечения следует проводить предварительный цитологический и по показаниям биопсийный контроль с последующим гистологическим исследованием, динамическое цитологическое исследование, ПЦР-исследование на вирус папилломы человека, а в течение года каждые 3 месяца выполнять кольпоскопию.

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

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

5. Для равномерного распределения энергии воздействия по всей поверхности цервикального канала облучение эндоцервикса следует проводить с помощью оптического волокна с цилиндрическим рассеиванием на дистальном конце длиной 4 см, фотодинамическую терапию влагалищной порции шейки

матки следует проводить полипозиционно с диаметром пятна лазерного излучения от 1 до 1,5 см.

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

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

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АФК – активные формы кислорода
- ВПЧ – вирус папилломы человека
- ВПЧ-ВКР – высокий канцерогенный риск
- ДИ – доверительный интервал
- ИГХ – иммуногистохимическое (исследование)
- ИК – инфракрасное (излучение)
- ИППП – инфекционные заболевания, передаваемые половым путем
- ИФ – индекс флуоресценции
- ОШ – отношение шансов
- ПВИ – папилломавирусная инфекция
- ППХ – протопорфирин IX
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РШМ – рак шейки матки
- РЭА – раковый эмбриональный антиген
- ФС – фотосенсибилизатор
- ФД – флуоресцентная диагностика
- ФДТ – фотодинамическая терапия
- ХФДТ – химио-фотодинамическая терапия
- ШМ – шейка матки
- 5- (ALA-PDT) – 5-аминокетовалерат
- CIN – цервикальная интраэпителиальная неоплазия
- DHA – дигидроартемизинин
- DRS – оптическая спектроскопия диффузного отражения
- HAL – гексоаминолевулинат
- HSIL – интраэпителиальное поражение высокой степени
- LEEP – петлевая электрохирургическая эксцизия
- LLETZ – электрохирургическая петлевая эксцизия зоны трансформации
- LSIL – интраэпителиальное поражение низкой степени

NILM – интраэпителиальная неоплазия

VEGF – сосудистый фактор роста

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аминодова И.П., Аминодов С.А. Оптимизация параметров лечения при фотодинамической терапии предрака и рака шейки матки // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2015. – № 2. – С. 17–21.
2. Аминодова И.П., Посисеева Л.В. Рецидивирующая дисплазия шейки матки: факторы риска, коррекция лечебной тактики, реабилитация // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2017. – Т. 17, № 6. – С. 67–72.
3. Амирханян А.С., Байрамова Г.Р., Киселев В.И. и др. Хронический цервицит, ассоциированный с вирусом папилломы человека и маркеры воспаления у женщин репродуктивного возраста // Акушерство и гинекология. – 2019. – № 4. – С. 49–57.
4. Андосова Л.Д., Конторщикова К.Н., Шахова К.А. и др. Качественные и количественные характеристики папилломавирусной инфекции у женщин с воспалительными и неопластическими процессами шейки матки // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2019. – № 6. – С. 80–86.
5. Андосова Л.Д., Конторщикова К.Н., Шахова К.А. и др. Состав микробиоценоза урогенитального тракта и количественные особенности папилломавирусной инфекции в зависимости от тяжести ВПЧ-ассоциированного цервикального поражения // Медицинский альманах. – 2018. – № 2 (53). – С. 23–26.
6. Ануфриева В.Г., Лебеденко Е.Ю., Магомедова У.М., Михельсон А.Ф. Подходы к ведению пациенток с CIN в рутинной клинической практике // Медицинский вестник Юга России. – 2020. – Т. 11, № 4. – С. 92–98.
7. Аристова А.С., Гуляева И.Л. Современные представления об этиологии, патогенезе, основных направлениях диагностики, лечения и профилактики рака шейки матки // European Journal of Natural History. – 2021. – № 2. – С. 52–57.
8. Артемьева Т.П., Церковский Д.А. Фотодинамическая терапия цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ЦИН) II–III степени // Российский биотерапевтический журнал. – 2017. – Т. 16. – С. 5–7.
9. Аттоева Д.И., Асатурова А.В., Прилепская В.Н. и др. Сопоставление результатов

- клинических и морфологических методов исследований при ВПЧ-ассоциированных заболеваниях шейки матки (ретроспективное исследование) // Гинекология. – 2021. – Т. 23, № 1. – С. 78–82.
10. Байрамова Г.Р., Баранов И.И., Арсланян К.Н. и др. Заболевания нижних отделов гениталий, ассоциированные с папилломавирусной инфекцией: радикальное лечение или иммунотерапия? // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2017. – № 4 (18). – С. 13–19.
11. Байрамова Г.Р., Баранов И.И., Ежова Л.В. и др. Плоскоклеточные интраэпителиальные поражения шейки матки: возможности ранней диагностики и тактики ведения пациенток // Доктор.Ру. – 2019. – № 11 (166). – С. 61–67.
12. Баширова Л.К. Оптимизация метода скрининга рака шейки матки: Дис... канд. мед. наук. – М. – 2021. – 135 с.
13. Бокач О.М., Ниаури Д.А., Тишков А.В., Сельков С.А. Особенности экспрессии иммуногистохимических маркеров p16 и Ki67 у женщин с хроническим цервицитом, ассоциированным с бактериально-вирусной инфекцией // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 9. – С. 85–90.
14. Боровкова Л.В., Ионова Е.В., Игнатъев А.А. Ранняя диагностика заболеваний шейки матки // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2019. – № 18(4). – С. 28–34.
15. Гилядова А.В., Ищенко А.А., Решетов И.В. Совершенствование диагностики и лечения интраэпителиальных неоплазий шейки матки, ассоциированных с носительством вируса папилломы человека, путем применения фотодинамической терапии с лазерным возбуждением флуоресценции // Сборник тез. докл. XXII Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и дитя». – М. – 2021. – С. 99–100.
16. Гилядова А.В., Ищенко А.А., Решетов И.В. Фототераностика – современный подход к диагностике и лечению интраэпителиальных неоплазий шейки матки и преинвазивного рака шейки матки // Сборник тез. докл. XXII Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и дитя». – М. – 2021. – С. 100–101.
17. Гилядова А.В., Романко Ю.С., Ищенко А.А. и др. Фотодинамическая терапия

- предраковых заболеваний и рака шейки матки (обзор литературы) // *Biomedical Photonics. Biomedical Photonics.* – 2022. – Т. 10, №. 4. – С. 59–67.
18. Гилядова А.В., Ищенко А.А., Аполихина И.А. и др. Возможности применения фотодинамической терапии в лечении предраковых заболеваний и рака шейки матки // *Акушерство и гинекология (Q4 scopus IF 0,813).* – 2022. – № 5. – С. 35–44.
19. Гребёнкина Е.В., Гамаюнов С.В., Кузнецов С.С. и др. Фотодинамическая терапия заболеваний шейки матки // *Фотодинамическая терапия и фотодиагностика.* – 2014. – № 2. – С. 12–14.
20. Гудзь О.В., Камилова И.К., Миклин О.П. ВПЧ-инфекция шейки матки: перспективы комплексного лечения // *Российский вестник акушера-гинеколога.* – 2016. – Т. 16, № 2. – С. 99–103.
21. Давыдов А.И., Шахламова М.Н., Лебедев В.А. Риски рецидивов папилломавирусной инфекции и методы их профилактики // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.* – 2020. – № 19 (3). – С. 101–106.
22. Доброхотова Ю.Э., Венедиктова М.Г., Гришин И.И. и др. Комплексный подход к лечению вирусиндуцированного истинного предрака шейки матки // *Эффективная фармакотерапия.* – 2016. – № 22. – С. 10–15.
23. Дорош Т.Н. Влияние оперативного лечения опущений и выпадений внутренних половых органов на качество жизни женщины : автореферат дис. ... кандидата медицинских наук: Дис. ... канд. мед. наук. – Томск, 2009. – 165 с.
24. Дуванский Р.А., Торчинов А/М. ФДТ неопухолевых заболеваний шейки матки с препаратом радагель // *Biomedical Photonics.* – 2015. – № 4. – С. 58–59.
25. Дуванский Р.А., Странадко Е.Ф., Ковалев М.И. и др. Фотодинамическая терапия как метод лечения фоновых заболеваний шейки матки // *Российский биотерапевтический журнал.* – 2018. – Т. 17. – С. 28–29.
26. Ершов В.А., Лисянская А.С., Ронжина Е.А., Рахминова Е.Р. Значение белков L1 вируса папилломы человека и NUMA1 в прогнозе цервикальной интраэпителиальной неоплазии, ассоциированной с вирусом папилломы человека высокого канцерогенного риска // *Акушерство и гинекология.* – 2017. – № 11. – С. 63–68.

27. Зароченцева Н.В., Джиджихия Л.К. Инновационные возможности кольпоскопии в диагностике предраковых заболеваний шейки матки у женщин репродуктивного возраста // *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение.* – 2018. – № 1 (19). – С. 77–89.
28. Зароченцева Н.В., Филоненко Е.В., Баранов И.И. и др. Флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия: перспективность применения в гинекологической и онкогинекологической практике // *Российский вестник акушера-гинеколога.* – 2021. – Т. 21, № 3. – С. 37–45.
29. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. – 252 с.
30. Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Карабут И.В. и др. Интегративная и эписомальная формы генотипа 16 вируса папилломы человека при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях и раке шейки матки // *Вопросы вирусологии.* – 2016. – Т. 61, № 6. – С. 270–274.
31. Иванова Л.В., Алиева М.Т., Джигкаев М.А. Опыт применения фотодинамической терапии в лечении ВПЧ-ассоциированной цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ca in situ) // *Известия Российской Военно-медицинской академии.* – 2021. – Т. 40, № 1–2. – С. 75–81.
32. Иванова Л.В., Шмидт А.А., Алиева М.Т., Джигкаев М.А. Анализ применения фотодинамической терапии вирус-ассоциированной цервикальной интраэпителиальной неоплазии in situ в условиях многопрофильного стационара // *Вестник Российской Военно-медицинской академии.* – 2019. – № 3 (67). – С. 62–64.
33. Каландарова А.Н. Современное представление о цервикальной интраэпителиальной неоплазии // *Новый день в медицине.* – 2019. – № 2 (26). – С. 178–182.
34. Короленкова Л.И. Влияние морфологических особенностей цервикального канцерогенеза на эффективность диагностики и лечения CIN III и

- микроинвазивного рака шейки матки // *Opinion Leader*. – 2018. – № 1. – С. 80–85.
35. Короленкова Л.И., Завольская Ж.А., Лешкина Г.В. Новые возможности молекулярного тестирования в цервикальном скрининге и ранней диагностике предрака и рака шейки матки (по материалам клинических рекомендаций «Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки» Минздрава России от 2020 года) // *Медицинский оппонент*. – 2020. – № 3 (11). – С. 12–18.
36. Косенко И.А., Костевич Г.В., Артемьева Т.П. и др. К вопросу о патогенезе, диагностике и лечении вирус-ассоциированной патологии шейки матки // *Медицинские новости*. – 2016. – № 2 (257). – С. 17–21.
37. Краснопольский В.И., Зароченцева Н.В., Байрамова Г.Р. и др. Мировой опыт применения динамической спектральной визуализации шейки матки – DYSIS-кольпоскопии // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2017. – Т. 17, № 5. – С. 81–87.
38. Кузнецова Л.Э. Доброкачественные, фоновые и предраковые заболевания шейки матки // *Медицинские новости*. – 2016. – № 4 (259). – С. 47–51.
39. Леваков С.А., Шешукова Н.А., Дабагян Л.С. Современные методы лечения цервикальных интраэпителиальных неоплазий у женщин в репродуктивном возрасте // *Проблемы репродукции*. – 2017. – Т. 23, № 3. – С. 45–49.
40. Левшин В.Ф., Завельская А.Я. Факторы риска и профилактика рака шейки матки // *Вопросы онкологии*. – 2017. – Т. 63, № 3. – С. 506–516.
41. Лукьянец Е.А. Поиск новых фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии // *Фотодинамическая терапия и фотодиагностика*. – 2013. – № 3. – С. 3–16.
42. Макарова Е.В. Совершенствование программы медицинской реабилитации пациентов с компрессионными переломами тел позвонков на фоне остеопороза: Дисс. ... канд. мед. наук. – М., 2020. – 125 с.
43. Марочко К.В. Чувствительность методов исследования в выявлении цервикальной интраэпителиальной неоплазии 3 степени и рак шейки матки // *Фундаментальная и клиническая медицина*. – 2016. – Т. 1, № 2. – С. 51–55.

44. Мингалева Н.В., Дегтярева О.Г., Абрамашвили Ю.Г. и др. Тяжесть цервикальных поражений по данным цитологии и их взаимосвязь с выявлением вируса папилломы человека высокоонкогенного риска у женщин до 30 лет и старше // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – № 1 (156). – С. 88–94.
45. Михалева Л.В., Рябов М.В., Странадко Е.Ф., Дуванский Р.А. Фотодинамическая терапия заболеваний шейки матки и вульвы с системным введением фотосенсибилизатора // Лазерная медицина. – 2021. – Т. 25, № 3. – С. 34–35.
46. Никонов С.Д., Пасман Н.М., Коротин Д.А. Фотодинамическая терапия ВПЧ-ассоциированной цервикальной интраэпителиальной неоплазии III степени (CIN III) — альтернатива при отказе нерожавших женщин от конизации шейки матки // Лазерная медицина. – 2019. – Т. 23, № 3. – С. 39.
47. Новикова Е.Г., Трушина О.И. Фотодинамическая терапия в профилактике ВПЧ-ассоциированных рецидивов начального рака шейки матки // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2018. – Т. 1 (19). – С. 345.
48. Пестрикова Т.Ю., Юрасова Е.А., Воронова Ю.В. и др. Хронический цервицит, ассоциированный с ВПЧ. Обоснование тактики лечения // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2019. – Т. 18, № 5. – С. 22–28.
49. Полонская Н.Ю., Кирьянов Н.А., Суханов С.А. Жидкостная цитология в цервикальном скрининге // Здоровье, демография, экология финно-угорских народов. – 2017. – № 3. – С. 95–96.
50. Полянская И.Б., Савельева И.В., Кошкина О.Н. и др. Оптимизация терапии хронического цервицита, ассоциированного с условно-патогенной флорой // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2020. – Т. 19, № 4. – С. 22–27.
51. Прилепская В.Н., Байрамова Г.Р., Коган Е.А. и др. Новые возможности ранней диагностики и профилактики ВПЧ-ассоциированных поражений шейки матки // Медицинский совет. – 2015. – № 20. – С. 72–77.
52. Рачковская В.В., Горбунов А.П., Анохова В.Д. и др. Некоторые вопросы патогенеза предраковых поражений шейки матки // Сибирское медицинское

обозрение. – 2021. – № 3 (129). – С. 26–34.

53. Решетов И.В., Гилядова А.В., Ищенко А.А. и др. Опыт применения фотодинамической терапии предраковых заболеваний шейки матки и рака шейки матки с лазерным возбуждением флуоресценции с эффектом фотобликинга // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2022. – Т. 21 (4). – С. 40–52.
54. Роговская С.И., Полонская Н.Ю., Гайдарова А.Ж., Манжосова М.И. Вторичная профилактика рака шейки матки // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. – 2016. – № 1 (15). – С. 70–76.
55. Садуллаева ЭТ. Современные технологии в комплексном обследовании и лечении патологии шейки матки // АГ-инфо. – 2010. – № 4. – С. 12–19.
56. Сафарова Р.И., Казиев А.Ю. Особенности клинического течения папилломавирусной инфекции у женщин // Медицинские новости. – 2019. – № 8 (299). – С. 58–60.
57. Странадко Е.Ф. Фотодинамическая терапия. Современное состояние проблемы // Лазерная медицина. – 2021. – Т. 25, № 3. – С. 36.
58. Сычева Е.Г., Назарова Н.М., Прилепская В.Н., Бурменская О.В. «Малые» формы поражения шейки матки, ассоциированные с вирусом папилломы человека: диагностика, мониторинг, прогноз // Акушерство и гинекология. – 2017. – № 9. – С. 34–39.
59. Суханова А.А. Консервативные методы профилактики дисфункции тазового дна в послеродовом периоде: Дис. ... канд. мед. наук. – Челябинск, 2019. – 122 с.
60. Токтаналиева А.Н., Султангазиева Б.Б., Макимбетов Э.К. Рак шейки матки: скрининг и диагностика // Вестник Кыргызско-Российского Славянского университета. – 2020. – Т. – 20, № 5. – С. 85–88.
61. Торчинов А.М., Умаханова М.М., Дуванский Р.А. и др. Фотодинамическая терапия фоновых заболеваний шейки матки // Лазерная медицина. – 2013. – № 4. – С. 8–11.
62. Ульянова И.О., Макаренко Т.А., Никифорова Д.Е., Домрачева М.Я. Кольпоскопия как экспертный метод диагностики патологии шейки матки //

Сибирское медицинское обозрение. – 2016. – № 6 (102). – С. 99–106.

63. Фаррахова Д.С., Макаров В.И., Лощенов В.Б. Методы лазерной фототераностики для оценки и улучшения приживления кожных трансплантатов при перекрестной трансплантации мелких лабораторных животных // В книге: Современные проблемы физики и технологий. VII Международная молодежная научная школа-конференция. Тезисы докладов. – М., 2018. – С. 140–141.
64. Филоненко Е.В., Серова Л.Г., Иванова-Радкевич В.И. Результаты III фазы клинических исследований препарата радахлорин для фотодинамической терапии предрака и начального рака шейки матки // Biomedical photonics. – 2015. – № 3. – С. 36–42.
65. Филоненко Е.В., Трушина О.И., Новикова Е.Г. и др. Фотодинамическая терапия в лечении интраэпителиальных неоплазий шейки матки, вульвы и влагалища // Biomedical Photonics. – 2020. – Т. 9, № 4. – С. 31–39.
66. Филоненко Е.В., Чулкова О.В., Серова Л.Г. Возможности фотодинамической терапии в лечении дистрофических заболеваний, интраэпителиальных неоплазий и рака вульвы // Российский биотерапевтический журнал. – 2016. – Т. 15, № 1. – С. 110–111.
67. Филоненко Е.В., Чулкова О.В., Серова Л.Г. Фотодинамическая терапия в лечении интраэпителиальных неоплазий и рака вульвы, ассоциированных с вирусом папилломы человека // Biomedical Photonics. – 2016. – Т. 5, № 1. – С. 48.
68. Церковский Д.А., Дунаевская В.В. Лазерные технологии в лечении цервикальной интраэпителиальной неоплазии (обзор литературы) // Biomedical Photonics. – 2020. – Т. 9, № 3. – С. 30–39.
69. Шрамова Е.И., Котляр А.Б., Лебеденко Е.Н. и др. Цианиновые красители, активируемые в ближнем инфракрасном диапазоне, как агенты для фототермической терапии и диагностики опухолевых новообразований // Acta Naturae (русскаяязычная версия). – 2020. – Т. 12. – № 3 (46). – С. 102–113.
70. Юлдашева Д.Ю., Аскарлова У.Ж., Ахмедова Г.А. Отягощающие факторы, способствующие персистенции ВПЧ у женщин с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями // Биология и интегративная медицина. –

2017. – № 2. – С. 55–63.

71. Abrahamse H., Hamblin M.R. New photosensitizers for photodynamic therapy // *Biochem. J.* – 2016. – Vol. 473 (4). – P. 347–364.
72. Agostinis P., Berg K., Cengel K.A. et al. Photodynamic therapy of cancer: an update // *CA Cancer J. Clin.* – 2011. – Vol. 61. – P. 250–281.
73. Ahmed H.G., Bensumaidea S.H., Alshammari F.D. et al. Prevalence of Human Papillomavirus subtypes 16 and 18 among Yemeni Patients with Cervical Cancer // *Asian Pac J Cancer Prev.* – 2017. – Vol. 18 (6). – P. 1543–1548.
74. Ahn T.G., Han S.J. The clinical experiences of Concurrent Chemo-Photodynamic Therapy (CCPDT) in the uterine cervical cancer staged 1B1 and 1B2, especially young women desiring fertility // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* – 2011. – Vol. 8. – P. 217.
75. Al Yousef A., Boccara O., Moyal-Barracco M. et al. Incomplete efficacy of 5-aminolevulinic acid (5 ALA) photodynamic therapy in the treatment of widespread extramammary Paget's disease // *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine.* – 2012. – Vol. 28. – P. 53–55.
76. Alekseeva P.M., Efendiev K.T., Loshchenov M.V. et al. Combined spectral- and video-fluorescent diagnostics of cervical neoplasms for photodynamic therapy // *Laser Physics Letters.* – 2020. – Vol. 17 (10). – P. 10560.
77. Alekseeva P.M., Efendiev K.T., Yakovlev D.V. et al. Precise fluorescent diagnostics of cervical neoplasms for photodynamic therapy // *Physics, Engineering and Technologies for Biomedicine. The 4th International Symposium and International School for Young Scientists. Book of Abstracts.* – Moscow. – 2019. – P. 98–99.
78. Ambreen G., Duse L., Tariq I. et al. Sensitivity of Papilloma Virus-Associated Cell Lines to Photodynamic Therapy with Curcumin-Loaded Liposomes // *Cancers (Basel).* – 2020. – Vol. 12 (11). – P. 3278.
79. Arbyn M., Rezhake R., Yuill S., Canfell K. Triage of HPV-positive women in Norway using cytology, HPV16/18 genotyping and HPV persistence // *Br. J. Cancer.* – 2020. – Vol. 122 (11). – P. 1577–1579.
80. Balas C. Review of biomedical optical imaging—a powerful, non-invasive, non-ionizing technology for improving in vivo diagnosis // *Meas Sci Technol.* – 2009. –

Vol. 20. – P. 104020.

81. Balasubramaniam S.D., Balakrishnan V., Oon C.E., Kaur G. Key Molecular Events in Cervical Cancer Development. *Medicina (Kaunas)*. – 2019. – Vol. 55 (7). – P. 384.
82. Basu P., Taghavi K., Hu S.Y. et al. Management of cervical premalignant lesions // *Curr Probl Cancer*. – 2018. – Vol. 42 (2). – P. 129–136.
83. Benevolo M., Allia E., Gustinucci D. et al. Interobserver reproducibility of cytologic p16INK4a/Ki-67 dual immunostaining in human papillomaviruspositive women // *Cancer. Cytopathol.* – 2017. – Vol. 125 (3). – P. 212–220.
84. Bilici K., Cetin S., Aydindogan E. et al. Recent Advances in Cyanine-Based Phototherapy Agents // *Front. Chem.* – 2021.
85. Blanco K.C., Moriyama L.T., Inada N.M. et al. Fluorescence guided PDT for optimization of the outcome of skin cancer treatment // *Front. Phys.* – 2015. – Vol. 3, P. 7.
86. Byun S.W., Lee A., Kim S. et al. Immunostaining of p16(INK4a)/Ki-67 and L1 capsid protein on liquid-based cytology specimens obtained from ASC-H and LSIL-H cases // *Int. J. Med. Sci.* – 2013. – Vol. 10 (12). – P. 1602–1607.
87. Cai H., Ma T., Che Y. et al. Application of 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy for vaginal intraepithelial neoplasia, a report of six cases // *Photodiagnosis Photodyn Ther.* – 2020.
88. Calil L.N., Edelweiss M.I., Meurer L. et al. p16 INK4a and Ki67 expression in normal, dysplastic and neoplastic uterine cervical epithelium and human papillomavirus (HPV) infection // *Pathol. Res. Pract.* – 2014. – Vol. 210. – P. 482–487.
89. Calis P.P., Yuce K., Basaran D., Salman C. Assessment of cervicovaginal cancer antigen 125 levels: a preliminary study for endometrial cancer screening // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2016. – Vol. 81 (6). – P. 518–522.
90. Campbell C.L., Brown C.T.A., Wood K. et al. A quantitative study of in vivo protoporphyrin IX fluorescence build up during occlusive treatment phases // *Photodiagn. Photodyn. Ther.* – 2017. – Vol. 18. – P. 204–207.
91. Cancer today, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. – Lyon, 1965. – URL: <http://gco.iarc.fr/> (дата обращения 26.06.2022).

92. Cang W., Gu L., Hong Z. et al. Effectiveness of photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid on HPV clearance in women without cervical lesions // *Photodiagnosis Photodyn Ther.* – 2021.
93. Celli J.P., Spring B.Q., Rizvi I. et al. Imaging and photodynamic therapy: mechanisms, monitoring, and optimization // *Chem Rev.* – 2010. – Vol. 110. – P. 2795–2838.
94. Chabeda A., Yanez R.J.R., Lamprecht R. et al. Therapeutic vaccines for high-risk HPV-associated diseases // *Papillomavirus Res.* – 2018. – Vol. 5. – P. 46–58.
95. Chalooob M.K., Hussein A.G., Qasim B.J. Correlation of P16 (Ink4a) and CK17 to HPV (16E6+18E6) in Premalignant and Malignant Lesions of Uterine Cervix: A Clinicopathologic Study // *Iran J Pathol.* – 2016. – Vol. 11 (4). – P. 377–390.
96. Chang C.J., Sun C.H., Liaw L.H. et al. In vitro and in vivo photosensitizing capabilities of 5-ALA versus Photofrin® in vascular endothelial cells // *Lasers in Surgery and Medicine.* – 1999. – Vol. 24 (3). – P. 178–186.
97. Chen C.C., Huang L.W., Bai C.H., Lee C.C. Predictive value of p16/Ki-67 immunocytochemistry for triage of women with abnormal Papanicolaou test in cervical cancer screening: a systematic review and meta-analysis // *Ann Saudi Med.* – 2016. – Vol. 36 (4). – P. 245–251.
98. Chen C., Ou H., Liu R., Ding D. Regulating the Photophysical Property of Organic/Polymer Optical Agents for Promoted Cancer Phototheranostics // *Adv Mater.* – 2020. – Vol. 32 (3).
99. Cheng P., Pu K. Activatable Phototheranostic Materials for Imaging-Guided Cancer Therapy // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* – 2020. – Vol. 12 (5). – P. 5286–5299.
100. Chiantore M.V., Mangino G., Iuliano M. Human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins affect the expression of cancer-related microRNAs: additional evidence in HPV-induced tumorigenesis // *J. Cancer Res Clin Oncol.* – 2016. – Vol. 142 (8). – P. 1751–1763.
101. Chin W.W., Heng P.W., Bhuvaneshwari R. et al. The potential application of chlorin e6-polyvinylpyrrolidone formulation in photodynamic therapy // *Photochem. Photobiol. Sci.* – 2006. – Vol. 5 (11). – P. 1031–1037.

102. Chizenga E.P., Chandran R., Abrahamse H. Photodynamic therapy of cervical cancer by eradication of cervical cancer cells and cervical cancer stem cells // *Oncotarget*. – 2019. – Vol. 10. – P. 4380–4396.
103. Choi M.C., Jung S.G., Park H. et al. Photodynamic therapy for management of cervical intraepithelial neoplasia II and III in young patients and obstetric outcomes // *Lasers Surg. Med.* – 2013. – Vol. 45. – P. 564–572.
104. Ciavattini A.A., Sopracordevole F., Di Giuseppe J. et al. Cervical intraepithelial neoplasia in pregnancy: Interference of pregnancy status with p16 and Ki-67 protein expression // *Oncol. Lett.* – 2017. – Vol. 13 (1). – P. 301–306.
105. Cibula D., Pötter R., Planchamp F. et al. The European Society of Gynaecological Oncology/European Society for Radiotherapy and Oncology/European Society of Pathology Guidelines for the Management of Patients with Cervical Cancer // *Virchows Arch.* – 2018. – Vol. 472 (6). – P. 919–936.
106. Cicinelli E., De Ziegler D., Nicoletti R. et al. Poor reliability of vaginal and endocervical cultures for evaluating microbiology of endometrial cavity in women with chronic endometritis // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2009. – Vol. 68 (2). – P. 108–115.
107. Cohen P.A., Jhingran A., Oaknin A. et al. Cervical cancer // *Lancet*. – Vol. 393 (10167). – 2019. – P. 169–182.
108. D'arc M., Moreira F.R., Dias C.A. et al. The characterization of two novel neotropical primate papillomaviruses supports the ancient within-species diversity model // *Virus Evol.* – 2020. – Vol. 6 (1).
109. De Jesus S.P., Costa A.C., Barcellos R.B. et al. A high prevalence of human papillomavirus 16 and 18 co-infections in cervical biopsies from southern Brazil // *Braz J Microbiol.* – 2018. – Vol. 49, Supp 1.1. – P. 220–223.
110. De Thurah L., Bonde J., Lam J.U., Rebolj M. Concordant testing results between various human papillomavirus assays in primary cervical cancer screening: systematic review // *Clin Microbiol Infect.* – 2018. – Vol. 24 (1). – P. 29–36.
111. Deng X., Shao Z., Zhao Y. Solutions to the drawbacks of photothermal and photodynamic cancer therapy // *Adv. Sci (Weinh)*. – 2021. – Vol. 8. – P. 2002504.
112. Ding L., Chen Q., Fan W., Zou X. Application of a time-resolved

- fluoroimmunoassay for detection of p16INK4a in cervix // *Ann Diagn Pathol.* – 2017. – P. 7–10.
113. Dudea-Simon M., Dudea S.M., Ciortea R. et al. Elastography of the uterine cervix in gynecology: normal appearance, cervical intraepithelial neoplasia and cancer. A systematic review // *Med. Ultrason.* – 2021. – Vol. 23 (1). – P. 74–82.
114. Ebisch R.M., Siebers A.G., Bosgraaf R.P. et al. Triage of high-risk HPV positive women in cervical cancer screening // *Expert Rev Anticancer Ther.* – 2016. – Vol. 16 (10). – P. 1073–1085.
115. Efendiev K.T., Alekseeva P.M., Shiryayev A.A. et al. Preliminary low-dose photodynamic exposure to skin cancer with chlorin e6 photosensitizer // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.* – 2022.
116. Eichele K., Ramer R., Hinz B. R(+)-methanandamide-induced apoptosis of human cervical carcinoma cells involves a cyclooxygenase-2-dependent pathway / *Pharm Res.* – 2009. – Vol. 26. – P. 346–355.
117. El-Nashar S.A., Shazly S.A., Hopkins M.R. et al. Loop electrosurgical excision procedure instead of cold-knife conization for cervical intraepithelial neoplasia in women with unsatisfactory colposcopic examinations: a systematic review and meta-analysis // *J. Low Genit. Tract Dis.* – 2017. – Vol. 21 (2). – P. 129–136.
118. Ermakov A.V., Verkhovskii R.A., Babushkina I.V. et al. In Vitro Bioeffects of Polyelectrolyte Multilayer Microcapsules Post-Loaded with Water-Soluble Cationic Photosensitizer // *Pharmaceutics.* – 2020. – № 12(7). – P. 610.
119. ESGO. Cervical Cancer Guidelines. Geneva, IL: 2017.
120. Frega A., Verrone A., Manzara F. et al. Expression of E6/E7 HPV-DNA, HPV-mRNA and colposcopic features in management of CIN2/3 during pregnancy // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2016. – Vol. 20 (20). – P. 4236–4242.
121. Fu Y., Bao Y., Hui Y. et al. Topical photodynamic therapy with 5- aminolevulinic acid for cervical high-risk HPV infection // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* – 2016. – Vol. 13. – P. 29–33.
122. Gao D., Guo X., Zhang X. et al. Multifunctional phototheranostic nanomedicine for

- cancer imaging and treatment // *Mater. Today Bio.* – 2019.
123. Gilyadova A., Ishchenko A., Shiryaev A. et al. Phototheranostics of Cervical Neoplasms with Chlorin e6 Photosensitizer // *Cancers.* – 2022. – Vol. 14 (1). – P. 211.
124. Gilyadova A., Ishchenko A., Ishenko A. Analysis of the Results of Severe Intraepithelial Squamous Cell Lesions and Preinvasive Cervical Cancer Phototheranostics in Women of Reproductive Age // *Biomedicines.* – 2022. – Vol. 10 (10). – P. 2521.
125. Goebel E.A., Vidal A., Matias-Guiu X., Blake G.C. The evolution of endometrial carcinoma classification through application of immunohistochemistry and molecular diagnostics: past, present and future// *Virchows Arch.* – 2017. – Vol. 472 (6). – P. 885–896.
126. Gomes A.T., Fernandes R., Ribeiro C.F. et al. Synthesis, Characterization and Photodynamic Activity against Bladder Cancer Cells of Novel Triazole-Porphyrin Derivatives // *Molecules.* – 2020. – Vol. 25 (7). – P.1607.
127. Graham S.V. The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review // *Clin. Sci (Lond).* – 2017. – Vol. 131. – P. 2201–2221.
128. Gu L., Cheng M., Hong Z. et al. The effect of local photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid for the treatment of cervical low-grade squamous intraepithelial lesions with high-risk HPV infection: A retrospective study // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.* – 2021. – Vol. 33. – P. 102–172.
129. Guerrero-Preston R., Valle B.L., Jedlicka A. et al. Molecular triage of premalignant lesions in liquid-based cervical cytology and circulating cell-free DNA from urine, using a panel of methylated human papilloma virus and host genes // *Cancer Prev. Res (Phila).* – 2016. – Vol. 9(12). – P. 915–924.
130. Gunaydin G., Gedik M.E., Ayan S. Photodynamic therapy for the treatment and diagnosis of Cancer-A review of the current clinical status // *Front Chem.* – 2021. – Vol. 9. – P. 686303.
131. Ha J.H., Kim Y.J. Photodynamic and Cold Atmospheric Plasma Combination Therapy Using Polymeric Nanoparticles for the Synergistic Treatment of Cervical

- Cancer // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22 (3). – P. 1172.
132. Hagiya Y., Fukuhara H., Matsumoto K. et al. Expression levels of PEPT1 and ABCG2 play key roles in 5-aminolevulinic acid (ALA)-induced tumor-specific protoporphyrin IX (PpIX) accumulation in bladder cancer // *Photodiagnosis and photodynamic therapy.* – 2013. – Vol.10. – P. 288–295.
133. Hanley T., Vankayala R., Lee C.H. et al. Phototheranostics Using Erythrocyte-Based Particles // *Biomolecules.* – 2021. – Vol. 11 (5). – P. 729.
134. He J., Yang L., Yi W. et al. Combination of fluorescence-guided surgery with photodynamic therapy for the treatment of cancer // *Mol. Imaging.* – 2017. – Vol. 1 (6).
135. He Y., Zhao Q., Geng Y.N. et al. Clinical analysis of cervical intraepithelial neoplasia with vaginal intraepithelial neoplasia // *Medicine (Baltimore).* – 2017. – Vol. 96 (17). – P. 6700.
136. Hellman K., Lindquist D., Ranhem C. et al. Human papillomavirus, p16(INK4A), and Ki-67 in relation to clinicopathological variables and survival in primary carcinoma of the vagina // *Br. J. Cancer.* – 2014. – Vol. 110 (6) – P. 1561–1570.
137. Henderson T.A., Morris L.D. Near-infrared photonic energy penetration: can infrared phototherapy effectively reach the human brain? // *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* – 2015. – Vol. 11. – P. 2191–208.
138. Higgins L.J., Pomper M.G. The evolution of imaging in cancer: current state and future challenges // *Semin. Oncol.* – 2011. – Vol. 38. – P. 3–15.
139. Hillemanns P., Soergel P. HAL/MAL photodynamic therapy for CIN // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* – 2011. – Vol. 8. – P. 169–169.
140. Hillemanns P., Garcia F., Petry K.U. et al. A randomized study of hexaminolevulinate photodynamic therapy in patients with cervical intraepithelial neoplasia 1/2 // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2015. – Vol. 212 (465). – P. 461–467.
141. Hillemanns P., Einstein M.H., Iversen O.E. Topical hexaminolevulinate photodynamic therapy for the treatment of persistent human papilloma virus infections and cervical intraepithelial neoplasia // *Expert Opin. Investig. Drugs.* – 2015. – Vol. 24. – P. 273–281.
142. Hoffman S.R., Le T., Lockhart A. et al. Patterns of persistent HPV infection after

- treatment for cervical intraepithelial neoplasia (CIN): A systematic review // *Int. J. Cancer*. – 2017. – Vol. 141 (1). – P. 8–23.
143. Huang A.J., Zhao Y., Zou X.L. et al. Study on clinical management of HPV(+)/Pap(-) during cervical cancer screening // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. – 2017. – Vol. 52 (11). – P. 745–750.
144. Huang P, Lin J, Wang S, Zhou Z, Li Z, Wang Z, et al. Photosensitizer-conjugated silica-coated gold nanoclusters for fluorescence imaging-guided photodynamic therapy. *Biomaterials*. – 2013. – № 34. – P. 4643–4654.
145. Huang P, Lin J, Wang X, Wang Z, Zhang C, He M, et al. Light-triggered theranostics based on photosensitizer-conjugated carbon dots for simultaneous enhanced-fluorescence imaging and photodynamic therapy. *Adv Mater*. 2012; 24: 5104–10.
146. Hull R, Mbele M, Makhafola T, et al. Cervical cancer in low and middle-income countries. *Oncol Lett*. – 2020. – № 20. – P. 2058–2074.
147. Hurtado-Roca Y., Becerra-Chauca N., Malca M. Efficacy and safety of cryotherapy, cold cone or thermocoagulation compared to LEEP as a therapy for cervical intraepithelial neoplasia: Systematic review // *Rev. Saude Publica*. – 2020. – Vol. 16 (54). – P.27.
148. Inada N.M., Buzzá H.H., Leite M.F. et al. Long Term Effectiveness of Photodynamic Therapy for CIN Treatment // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2019. – Vol. 12(3). – P. 107.
149. Iqbal Z., Hanack M., Ziegler T. Spectral, photophysical and photochemical properties of tetra- and octaglycosylated zinc phthalocyanines // *Photochem Photobiol Sci*. – 2012. – Vol. 11 (4). – P. 679–686.
150. Istomin Y.P., Lapzevich T.P., Chalau V.N. et al. Photodynamic therapy of cervical intraepithelial neoplasia grades II and III with Photolon // *Photodiagnosis Photodyn. Ther*. – 2010. – Vol. 7. – P.144–151.
151. Istomin Y.P., Kaplanb M.A., Shliakhtsin S.V. et al. Immediate and long-term efficacy and safety of photodynamic therapy with Photolon (Fotolon): a seven-year clinical experience. *Progress in biomedical optics and imaging – proceedings of spie 12th World Congress of the International Photodynamic Association – Photodynamic*

- Therapy: Back to the Future // Cep. International Photodynamic Association (IPA), Ondine Biopharma Corporation. – Seattle, 2009.
152. Ivanova VA, Verenikina EV, Nikitina VP, et al. Photodynamic therapy for preinvasive cervical cancer // *J Clin Oncol.* – 2020. – Vol. 38. – P. 6035–6035.
153. Izadi-Mood N.N., Asadi K., Shojaei H. et al. Potential diagnostic value of P16 expression in premalignant and malignant cervical lesions // *J Res Med Sci.* – 2012. – Vol. 17 (5). – P. 428–433.
154. Jain M.A., Limaiem E. Cervical Intraepithelial Squamous Cell Lesion // Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. – 2021.
155. Jenni S., Sour A. Molecular theranostic agents for photodynamic therapy (PDT) and magnetic resonance imaging (MRI) // *Inorganics (Basel).* – 2019. – Vol. 7 (10).
156. Jin J., Li L., Zhang F. Meta-analysis of high risk factors of residue or relapse of cervical intraepithelial neoplasia after conization // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* – 2015. – Vol. 29 (2). – P. 451–458.
157. Juarranz A., Jaén P., Sanz-Rodríguez F. et al. Photodynamic therapy of cancer. Basic principles and applications. // *Clin Transl Oncol.* – 2008. – Vol. 10 (3). – P. 148–154.
158. Kelly H., Mayaud P., Segondy M. et al. A systematic review and meta-analysis of studies evaluating the performance of point-of-care tests for human papillomavirus screening // *Sex Transm Infect.* – 2017. – Vol. 93 (4). – P. 36–45.
159. Kelkar SS, Reineke TM. Theranostics: combining imaging and therapy // *Bioconjug Chem.* – 2011. – Vol. 22. – P. 1879–1903.
160. Kishi K., Fujiwara Y., Yano M. et al. Diagnostic laparoscopy with 5-aminolevulinic-acid-mediated photodynamic diagnosis enhances the detection of peritoneal micrometastases in advanced gastric cancer // *Oncology.* – 2014. – Vol. 87. – P. 257–265.
161. Kocken M., Uijterwaal M.H., de Vries A.L. et al. High-risk human papillomavirus testing versus cytology in predicting post-treatment disease in women treated for high-grade cervical disease: a systematic review and meta-analysis // *Gynecol. Oncol.* – 2012. – Vol. 125 (2). – P. 500–507.
162. Koeneman M.M., Essers B.A., Gerestein C.G. et al. Treatment of Cervical

- Intraepithelial Neoplasia: Patients Preferences for Surgery or Immunotherapy with Imiquimod // *J. Immunother.* – 2017. – Vol. 40. – P. 148–153.
163. Koshiol J., Lindsay L., Pimenta J.M. et al. Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia: a systematic review and meta-analysis // *Am. J. Epidemiol.* – 2008. – Vol. 168. – P. 123–137.
164. Kyrgiou M., Athanasiou A., Kalliala I.E. et al. Obstetric outcomes after conservative treatment for cervical intraepithelial lesions and early invasive disease // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2017. – Vol. 11.
165. Kyrgiou M., Kalliala I., Mitra A. et al. Immediate referral to colposcopy versus cytological surveillance for low-grade cervical cytological abnormalities in the absence of HPV test: A systematic review and a meta-analysis of the literature // *Int J Cancer.* – 2017. – Vol. 140 (1). – P. 216–223.
166. Kyrgiou M., Mitra A., Arbyn M. et al. Fertility and early pregnancy outcomes after treatment for cervical intraepithelial neoplasia: systematic review and meta-analysis // *BMJ.* – 2014.
167. Li D., Zhang F., Shi L. et al. Treatment of HPV Infection-Associated Low Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia with 5-Aminolevulinic Acid-Mediated Photodynamic Therapy // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* – 2020. – Vol. 21. – P. 101974.
168. Li Z., Teng M., Wang Y. et al. The mechanism of 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy in promoting endoplasmic reticulum stress in the treatment of HR-HPV-infected HeLa cells // *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* – 2021. – Vol. 37 (4). – P. 348–359.
169. Li Z., Teng M., Wang Y. et al. Dihydroartemisinin administration improves the effectiveness of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy for the treatment of high-risk human papillomavirus infection // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* – 2021. – Vol. 33. – P. 102078.
170. Li Z., Xiao Z., Feng Y. et al. Mechanism of a new photosensitizer (TBZPy) in the treatment of high-risk human papillomavirus-related diseases // *Photodiagnosis Photodyn Ther.* – 2021. – P. 102591.
171. Lili E., Chatzistamatiou K., Kalpaktsidou-Vakiani A. et al. Low recurrence rate of

- high-grade cervical intraepithelial neoplasia after successful excision and routine colposcopy during follow-up // *Medicine*. – 2018. – Vol. 97. – P. 3–8.
172. Lim M.E., Lee Y.L., Zhang Y., Chu J.J. Photodynamic inactivation of viruses using upconversion nanoparticles // *Biomaterials*. – 2012. – Vol. 33. – P. 1912–1920.
173. Liu J., Sun H., Wang X. et al. Increased exosomal microRNA-21 and microRNA-146a levels in the cervicovaginal lavage specimens of patients with cervical cancer // *Int. J. Mol. Sci.* – 2014. – Vol. 15 (1). – P. 758–773.
174. Liu S., Feng G., Tang B.Z., Liu B. Recent advances of AIE light-up probes for photodynamic therapy // *Chem. Sci.* – 2021. – Vol. 12 (19). – P. 6488–6506.
175. Liu Y., Rong X., Zhou Y.Q. et al. A prospective study on natural history of low-grade cervical intraepithelial neoplasia // *China Cancer*. – 2010. – Vol. 19. – P. 372–276.
176. Liu Z., Zheng H., Chen X. et al. Comparison of the efficacy of ALA and high-frequency electric ion operating on cervical intraepithelial neoplasia grade I // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2016. – Vol. 9. - P.16782–16786.
177. Loopik D.L., IntHout J., Melchers W.J.G. et al. Oral contraceptive and intrauterine device use and the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade III or worse: a population-based study // *Eur. J. Cancer*. - 2020. - Vol.124. - P.102-109.
178. Louvanto K., Aro K., Nedjai B. et al. Methylation in Predicting Progression of Untreated High-grade Cervical Intraepithelial Neoplasia // *Clin. Infect. Dis.* – 2020. – Vol. 70 (12). – P. 2582–2590.
179. Louvanto K., Rintala M.A., Syrjänen K.J. et al. Genotype-Specific Persistence of Genital Human Papillomavirus (HPV) Infections in Women Followed for 6 Years in the Finnish Family HPV Study // *J. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 202. – P. 436–444.
180. Lovell JF, Liu TWB, Chen J, Zheng G. Activatable photosensitizers for imaging and therapy // *Chem Rev.* – 2010. – Vol. 110. – P. 2839–2857.
181. Lukhele ST, Motadi LR. Cannabidiol rather than Cannabis sativa extracts inhibit cell growth and induce apoptosis in cervical cancer cells // *BMC Complement Altern Med.* – 2016. – Vol. 16. – P. 335.
182. Luttmer R., De Strooper L.M., Steenbergen R.D. et al. Management of high-risk

- HPV-positive women for detection of cervical (pre)cancer // *Expert Rev. Mol. Diagn.* – 2016. – Vol. 16(9). – P. 961–974.
183. Lyu Z., Feng X., Li N. et al. Human papillomavirus in semen and the risk for male infertility: A systematic review and meta-analysis // *BMC Infect. Dis.* – 2017. – Vol.17. – P. 714.
184. Ma L., Gao X., Geng L. et al. Efficacy and safety of photodynamic therapy mediated by 5-aminolevulinic acid for the treatment of cervical intraepithelial neoplasia 2: a single-center, prospective, cohort Study // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* – 2021. – P. 102472.
185. Mahmoudi K., Garvey K.L., Bouras A. et al. 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy for the treatment of high-grade gliomas // *J. Neurooncology.* – 2019. – Vol. 141. – P. 595–607.
186. Major A.L., Dvořák V., Schwarzová J. et al. Efficacy and safety of an adsorbent and anti-oxidative vaginal gel on CIN1 and 2, on high-risk HPV, and on p16/Ki-67: a randomized controlled trial // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2021. – Vol. 303 (2). – P. 501–511.
187. Mallidi S, Spring BQ, Chang S, Vakoc B, Hasan T. Optical imaging, photodynamic therapy and optically triggered combination treatments // *Cancer J.* – 2015. – Vol. 21. – P. 194–205.
188. Martin-Hirsch P.P., Paraskevaidis E., Bryant A., Dickinson H. Surgery for cervical intraepithelial neoplasia // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2013. – Vol. 12. – P. 1318.
189. Massad L.S., Einstein M.H., Huh W.K. et al. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors // *Obstet. Gynecol.* – 2013. – Vol. 121. – P. 829–846.
190. McCredie M.R., Sharples K.J., Paul C. et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study // *Lancet Oncol.* – 2008. – Vol. 9 (5). – P. 425–434.
191. Mello V., Sundstrom R.K. *Cervical Intraepithelial Neoplasia.* – Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020.
192. Michalski M.H., Chen X. Molecular imaging in cancer treatment // *Eur J Nucl Med*

- Mol Imaging. – 2011. – Vol. 38. P. 358–377.
193. Miralpeix E., Sole-Sedeno J.M., Mancebo G. et al. Value of p16(INK4a) and Ki-67 immunohistochemical staining in cervical intraepithelial neoplasia grade 2 biopsies as biomarkers for cervical intraepithelial neoplasia grade 3 in cone results // *Anal. Quant. Cytopathol. Histopathol.* – 2016. – Vol. 38 (1). – P. 1–8.
194. Mitrea M., Dmour A., Hurjui L. et al. Polymorphism of clinical manifestation of HPV infection in the genital mucosa — 3-year retrospective study // *Rom. J. Morphol. Embryol.* – 2019. – Vol. 60 (4). – P. 1233–1241.
195. Mittal S., Basu P., Muwonge R. et al. Risk of high-grade precancerous lesions and invasive cancers in high-risk HPV-positive women with normal cervix or CIN at baseline-A population-based cohort study // *Int. J. Cancer.* – 2017. – Vol. 140 (8). – P. 1850–1859.
196. Mizuno M., Mitsui H., Kajiyama H. et al. Efficacy of 5-aminolevulinic acid and LED photodynamic therapy in cervical intraepithelial neoplasia: A clinical trial // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.* – 2020. – Vol. 32. – P. 102004.
197. Montagna E.E., Bagnardi V., Viale G. et al. Changes in PgR and Ki-67 in residual tumour and outcome of breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy // *Ann. Oncol.* – 2015. – Vol. 26 (2). – P. 307–313
198. Mühr L.S.A., Eklund C., Dillner J. Towards quality and order in human papillomavirus research // *Virology.* – 2018. – Vol. 519. – P. 74–76.
199. Nanbu Y. Y., Fujii S., Konishi I. et al. Immunohistochemical localization of CA130 in fetal tissues, and in normal and neoplastic tissues of the female genital tract // *Asia Oceania J. Obstet. Gynaecol.* – 1990. – Vol. 16 (4). – P. 379–387.
200. Ndifon C.O., Al-Eyd G. Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance. – StatPearls. 2021.
201. Ng K.K., Zheng G. Molecular Interactions in Organic Nanoparticles for Phototheranostic Applications // *Chem. Rev.* — 2015. — Vol. 115 (19). — P. 11012-11042.
202. Novikova T. Optical techniques for cervical neoplasia detection // *Beilstein J. Nanotechnol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 1844–1862.

203. Park Y.K., Park C.H. Clinical efficacy of photodynamic therapy // *Obstet. Gynecol. Sci.* – 2016. – Vol. 59(6). – P. 479–488.
204. Peng L., Yin L., Dai Y. et al. Human papillomavirus infection and follow-up on positive results in 7222 female samples obtained from 2016 to 2019 in Hefei, China // *Peer J.* – 2020. – Vol. 8. – P. 10179.
205. Peres A.L., Paz E.S., de Araujo R.F. et al. Immunocytochemical study of TOP2A and Ki-67 in cervical smears from women under routine gynecological care // *J. Biomed. Sci.* – 2016. – Vol. 23 (1). – P. 42.
206. Piterskova L.S., Alekseeva P.M., Efendiev K.T. et al. Fluorescence diagnostics and photodynamic therapy of cervical neoplasms // *Physics, Engineering and Technologies for BioMedicine // The 5th International Symposium and International School for Young Scientists on.* – M., 2020. – P. 133–134.
207. Placidi A., P. Capparucci P., Di Luzio A. et al. Team Reading (Peer Review) of Suspicious/Positive Slides for Continuous Quality Improvement in Cervical-Vaginal Cytology: A Comparison between Methods and Indicators // *Acta Cytol.* – 2016. – Vol. 60 (5). – P. 458–464.
208. Pola M., Kolarova H., Ruzicka J. et al. Effects of zinc porphyrin and zinc phthalocyanine derivatives in photodynamic anticancer therapy under different partial pressures of oxygen in vitro // *Invest New Drugs.* – 2021. – Vol. 39(1). – P. 89–97.
209. Polman N.J., Uijterwaal M.H., Witte B.I. et al. Good performance of p16/ki-67 dual-stained cytology for surveillance of women treated for high-grade CIN // *Int. J. Cancer.* – 2017. – Vol. 140 (2). – P. 423–430.
210. Rieffel J., Chitgupi U., Lovell J.F. Recent advances in higher-Order, multimodal, biomedical imaging // *Agents. Small.* – 2015. – Vol. 11. – P. 4445–4461.
211. Rieffel J, Chen F, Kim J, Chen G, Shao W, Shao S, et al. Hexamodal imaging with porphyrin-phospholipid-coated upconversion nanoparticles // *Adv Mater.* – 2015. – Vol. 27. – P. 1785–1790.
212. Saraiya M., Unger E.R., Thompson T.D. et al. US assessment of HPV Types in cancers: Implications for current and 9-valent HPV vaccines // *J. Natl. Cancer Inst.* - 2015. - Vol. 107. - P. 1–12.

213. Sayed S.A., Naugler C., Chen G., Dickinson J.A. Cervical Screening Practices and Outcomes for Young Women in Response to Changed Guidelines in Calgary, Canada, 2007–2016 // *J. Low Genit. Tract Dis.* – 2021. – Vol. 25 (1). – P. 1–8.
214. Shaki O.O., Chakrabarty B.K., Nagaraja N. A study on cervical cancer screening in asymptomatic women using Papanicolaou smear in a tertiary care hospital in an urban area of Mumbai, India // *J. Family Med. Prim. Care.* – 2018. – Vol. 7(4). – P. 652–657.
215. Shi N., Lu Q., Zhang J. et al. Analysis of risk factors for persistent infection of asymptomatic women with high-risk human papilloma virus // *Hum. Vaccin. Immunother.* – 2017. – Vol. 13 (6). – P. 1–7.
216. Shiryaev A., Alekseeva P., Efendiev K et al., Investigated spectral-fluorescent properties of endogenous porphyrins of the wild boar hepatobiliary system optimize the diagnostics and treatment of cholangiocarcinoma with FD and PDT // *Optical. Engineering.* – 2020. – Vol. 59(6). – P. 61615-1–12.
217. Shramova E.I., Kotlyar A.B., Lebedenko E.N. et al. Near-Infrared Activated Cyanine Dyes As Agents for Photothermal Therapy and Diagnosis of Tumors // *Acta Naturae.* – 2020. – Vol. 12 (3). – P. 102–113.
218. Shukla S.S., Dass J., Pujani M. p53 and bcl2 expression in malignant and premalignant lesions of uterine cervix and their correlation with human papilloma virus 16 and 18 // *South Asian J. Cancer.* – 2014. – Vol. 3 (1). – P. 48–53.
219. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2020 // *CA Cancer J. Clin.* – 2020. – Vol. 70 (1). – P. 7–30.
220. Skoczyński M.M., Goździcka-Józefiak A., Kwaśniewska A. Co-occurrence of human papillomavirus (HPV) in newborns and their parents // *BMC Infect Dis.* – 2019. – Vol. 19 (1). – P. 930.
221. Sodhani P., Gupta S., Gupta R., Mehrotra R. Bacterial Vaginosis and Cervical Intraepithelial Neoplasia: Is there an Association or is Co-Existence Incidental? // *Asian Pac J Cancer Prev.* – 2017. – Vol. 18(5). – P. 1289–1292.
222. Soergel P., Makowski L., Makowski E. et al. Treatment of high grade cervical intraepithelial neoplasia by photodynamic therapy using hexylaminolevulinate may be cost-effective compared to conization procedures due to decreased pregnancy-related

- morbidity // *Lasers Surg. Med.* – 2011. – Vol. 43 (7). – P. 713–720.
223. Soergel P., Dahl G.F., Onsrud M., Hillemanns P. Photodynamic therapy of cervical intraepithelial neoplasia 1-3 and human papilloma virus (HMPV) infection with methylaminolevulinate and hexaminolevulinate--a double-blind, dose-finding study // *Lasers Surg. Med.* – 2012. – Vol. 44. – P. 468–474.
224. Song F.B., Du H., Xiao A.M. et al. Clinical value of p16INK4a immunocytochemistry in cervical cancer screening // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* – 2020. – Vol. 55 (11). – P. 784–790.
225. Stolik S., Delgado J.A., Pérez A. et al. Measurement of the penetration depths of red and near infrared light in human “ex vivo” tissues // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* – 2000. – Vol. 57 (2-3). – P. 90–93.
226. Su Y., Zhang Y., Tong Y. et al. Effect and rational application of topical photodynamic therapy (PDT) with 5-aminolevulinic acid (5-ALA) for treatment of cervical intraepithelial neoplasia with vaginal intraepithelial neoplasia // *Photodiagnosis Photodyn Ther.* – 2022. – Vol. 37. – P. 102634.
227. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries // *CA Cancer J. Clin.* – 2021. – Vol. 71 (3). – P. 209–249.
228. Szpringer E., Lutnicki K., Marciniak A. Photodynamic therapy: mechanism and employment // *Ann. Univ. Mariae Curie Sklodowska Med.* – 2004. – Vol. 59. – P. 498–502.
229. Tachezy R., Mikysková I., Ludvíková V. et al. Longitudinal study of patients after surgical treatment for cervical lesions: detection of HPV DNA and prevalence of HPV-specific antibodies // *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* – 2006. – Vol. 25 (8). – P. 492–500.
230. Tao X.H., Guan Y., Shao D. et al. Efficacy and safety of photodynamic therapy for cervical intraepithelial neoplasia: A systemic review // *Photodiagn. Photodyn. Ther.* – 2014. – Vol. 11. – P. 104–112.
231. Teshigawara T., Mizuno M., Ishii T. et al. Novel potential photodynamic therapy strategy using 5-Aminolevulinic acid for ovarian clear-cell carcinoma // *Photodiagnosis*

- and Photodynamic Therapy. – 2018. – Vol. 21. – P. 121–127.
232. Thangudu S., Kaur N., Korupalli C. et al. Recent advances in near infrared light responsive multi-functional nanostructures for phototheranostic applications // *Biomater. Sci.* – 2021. – Vol. 9 (16). – P. 5472–5483.
233. Tjiong M.Y., Zumbach K., Schegget J.T. et al. Antibodies against human papillomavirus type 16 and 18 E6 and E7 proteins in cervicovaginal washings and serum of patients with cervical neoplasia // *Viral Immunol.* – 2001. – Vol. 14 (4). – P. 415–424.
234. Tota J.E., Ramana-Kumar A.V., El-Khatib Z. et al. The road ahead for cervical cancer prevention and control // *Curr. Oncol.* – 2014. – Vol. 21 (2). – P. 255–264.
235. Uijterwaal M.H., Polman N.J., Witte B.I. et al. Triaging HPV-positive women with normal cytology by p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: baseline and longitudinal data // *Int. J. Cancer.* – 2015. – Vol. 136 (10). – P. 2361–2368.
236. Vankayala R., Hwang K.C. Near-Infrared-Light-Activatable Nanomaterial-Mediated Phototheranostic Nanomedicines: An Emerging Paradigm for Cancer Treatment // *Adv. Mater.* – 2018. – Vol. 30 (23). – P. 706320.
237. Van Straten D., Mashayekhi V., de Bruijn H.S. et al. Oncologic Photodynamic Therapy: Basic Principles, Current Clinical Status and Future Directions // *Cancers (Basel)*. – 2017. – Vol. 9(2). – P. 19.
238. Vendette A., Piva H., Muehlmann A. et al. Clinical treatment of intra-epithelial cervical neoplasia with photodynamic therapy // *Int. J. Hyperthermia.* – 2020. – Vol. 37(3). – P. 50–58.
239. Wang C., Wang Z., Zhao T., Li Y., Huang G., Sumer B.D., et al. Optical molecular imaging for tumor detection and image-guided surgery // *Biomaterials.* – 2018. – Vol. 157. – P. 62–75.
240. Wang J.J., Dong J., Deng Z. et al. HPV E6 and E7 mRNA combined with HPV 16 and 18 or 45 genotyping testing as a means of cervical cancer opportunistic screening // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* – 2019. – Vol. 54 (5). – P. 301–306.
241. Wentzensen N. N., Silver M. Biomarkers for cervical cancer prevention programs: the long and winding road from discovery to clinical use // *J. Low Genit Tract Di.* –

2016. – Vol. 20 (3). – P. 191–194.
242. Xiang L., Li J., Yang W. et al. Conization Using an Electrosurgical Knife for Cervical Intraepithelial Neoplasia and Microinvasive Carcinoma // *PLoS ONE*. – 2015. – Vol. 10 (7). – P. 131790.
243. Xie J., Wang S., Li Z. et al. 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy reduces HPV viral load via autophagy and apoptosis by modulating Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/AKT pathways in HeLa cells // *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* – 2019. – Vol. 194. – P. 46–55.
244. Xu J., Zhao J., Dong Y. et al. Photodetection and Safety of 5-Aminolevulinic Acid-Induced Porphyrin in Patients With Cervical Intraepithelial Neoplasia // *Lasers Surg. Med.* – 2021. – Vol. 53(5). – P. 654–663.
245. Yan X., Niu G., Lin J. et al. Enhanced fluorescence imaging guided photodynamic therapy of sinoporphyrin sodium loaded graphene oxide // *Biomaterials*. – 2015. – Vol. 42. – P. 94–102.
246. Yang L., Shi P., Zhao G. et al. Targeting cancer stem cell pathways for cancer therapy // *Signal Transduct Target Ther.* – 2020. – Vol. 5 (8).
247. Yang M, Yang T, Mao C. Enhancement of Photodynamic Cancer Therapy by Physical and Chemical Factors // *Angew Chem Int Ed Engl.* – 2019. – Vol. 58. – P. 14066–14080.
248. Yang Z.S., Yao Y., Sedgwick A.C. et al. Rational design of an ‘all-in-one’ phototheranostic // *Chem Sci*. – 2020. – Vol. 11. – P. 8204–8213.
249. Yu L.L., Guo H., Lei X.Q. et al. p16/Ki-67 co-expression associates high risk human papillomavirus persistence and cervical histopathology: a 3-year cohort study in China // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7 (40). – P. 64810–64819.
250. Yuan H., Jiang A., Fang H., et al. Optical properties of natural small molecules and their applications in imaging and nanomedicine // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2021.
251. Zhang J., Ning L., Huang J., Zhang C., Pu K. Activatable molecular agents for cancer theranostics // *Chem. Sci*. – 2020. – Vol. 11. – P. 618–630.
252. Zhang Q.Z., Zhao K.Q., Wu Y. et al. 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy and its strain-dependent combined effect with antibiotics on *Staphylococcus*

- aureus biofilm // PloS one. – 2017. – Vol. 12. – P. 174627.
253. Zhang W., Zhang A., Sun W. et al. Efficacy and safety of photodynamic therapy for cervical intraepithelial neoplasia and human papilloma virus infection: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials // *Medicine (Baltimore)*. – 2018. – Vol. 97 (21). – P. 10864.
254. Zhang Y., Wan Y., Chen Y. et al. Ultrasound-enhanced chemo-photodynamic combination therapy by using albumin "nanoglue"-based nanotheranostics // *ACS Nano*. – 2020. – Vol. 14. – P. 5560–5569.
255. Zhu M., He Y., Baak J.P. et al. Factors that influence persistence or recurrence of high-grade squamous intraepithelial lesion with positive margins after the loop electrosurgical excision procedure: A retrospective study // *BMC Cancer*. – 2015. – Vol. 15. – P. 744.