

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ПРИВОЛЖСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

на правах рукописи

ИОНОВА ЕВГЕНИЯ ВЛАДИМИРОВНА

ИНФРАКРАСНАЯ СПЕКТРОМЕТРИЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ В  
ДИАГНОСТИКЕ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ И ПРЕДРАКОВЫХ  
ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ.

14.01.01 – акушерство и гинекология

Диссертация

на соискание учёной степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель профессор, д.м.н. Л.В. БОРОВКОВА

Нижний Новгород 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Оглавление	2
Введение	3
Глава I. Современные методы диагностики заболеваний шейки матки (обзор литературы)	16
Глава II. Клиническая характеристика обследованных женщин	30
Глава III. Результаты лабораторных и инструментальных методов исследования	42
3.1. Характеристика биоценоза влагалища и результаты обследования на инфекции, передаваемые половым путём, определение вирусной нагрузки методом ПЦР «Real-time»	42
3.2. Характеристика цитологического исследования мазков- соскобов с шейки матки	46
3.3. Характеристика кольпоскопического исследования при заболеваниях шейки матки	50
3.4. Характеристика результатов гистологического исследования биоптатов шейки матки	54
Глава IV. Инфракрасная Фурье спектроскопия сыворотки крови в диагностике заболеваний шейки матки	57
Глава V. Обсуждение полученных результатов	69
Выводы	84
Алгоритм обследования женщин с заболеваниями	86
Практические рекомендации	87
Список сокращений	88
Список использованной литературы	90

## Введение

### Актуальность проблемы

В настоящее время рост заболеваний шейки матки является одной из наиболее серьезных медицинских и социальных проблем здравоохранения в связи с высокой частотой малигнизации доброкачественных поражений шейки матки [43, 44, 90, 93, 131]. По данным разных авторов, чтобы на месте доброкачественных изменений шейки матки появились признаки злокачественной трансформации требуется от 7 до 12 лет, частота перехода CIN в рак *in situ* варьирует от 40 до 64% [43, 44, 61, 81, 83, 93, 99, 119, 129, 135].

Несмотря на хорошо изученные аспекты этиологии и патогенеза, а также разработку новых методов диагностики и лечения, в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями у женского населения рак шейки матки занимает 6 место и составляет 4,8% [25]. В период с 2006 года по 2018 год в России абсолютное число впервые в жизни установленных диагнозов злокачественного новообразования шейки матки выросло с 12814 до 17766 новых случаев, каждый второй заканчивается смертью пациентки [25]. Частота выявления запущенных стадий рака шейки матки среди женщин репродуктивного возраста увеличилась на 32,9% [135].

Актуальность проблемы связана не только с ростом заболеваемости раком шейки матки, но и существенным «омоложением», то есть каждый пятый рак шейки матки диагностируется в возрастной группе от 15 до 39 лет, а 42,4% выявленных CIN II - CIN III приходятся на ранний репродуктивный возраст - до 35 лет [37, 40, 44, 82, 90, 119, 136].

Основной профилактикой злокачественной трансформации доброкачественных заболеваний шейки матки является их раннее выявление [60], однако именно на этом этапе рутинные методы диагностики проявляют недостаточную эффективность [2, 14, 67, 129]. В настоящее время в практическом здравоохранении для диагностики заболеваний шейки матки

используют цитологическое исследование мазков с влагалищной части шейки матки и из цервикального канала (чувствительность 55%-74%, специфичность - 65-70%), расширенную кольпоскопию (чувствительность 60-80%, специфичность 40-50%), ВПЧ - тестирование (чувствительность 68%-88%, специфичность - 68-97%) [1, 5, 7, 18, 20, 21, 37, 39, 66, 70, 81, 85, 106, 109, 137, 140, 142]. Несмотря на их высокую информационную значимость, частота раннего выявления рака не увеличивается.

Очевидно, что внедрение дополнительных диагностических методик, отличающихся простотой применения, высокой чувствительностью и специфичностью, позволит повысить эффективность выявления потенциально обратимых эпителиальных изменений, снизить количество необоснованных инвазивных лечебно - диагностических манипуляций.

Цель исследования: дать научное обоснование возможности включения метода инфракрасной спектроскопии сыворотки крови в комплексную раннюю диагностику доброкачественных и предраковых заболеваний шейки матки.

**Задачи исследования:**

1. Выявить клинически значимые факторы, влияющие на развитие доброкачественных и предраковых заболеваний шейки матки.
2. Определить диагностические комплексы характеристических спектров поглощения сыворотки крови методом ИК-спектроскопии для диагностики доброкачественных и предраковых заболеваний шейки матки (CIN I, CIN II, CIN III, верифицированных морфологически).
3. Сравнить чувствительность и специфичность инфракрасной спектроскопии сыворотки крови, жидкостного цитологического исследования мазков с поверхности шейки матки и расширенной кольпоскопии для ранней диагностики доброкачественных и предраковых заболеваний шейки матки (CIN I, CIN II, CIN III, верифицированных морфологически).

4. Определить зависимость значений комплексов характеристических спектров поглощения сыворотки крови при доброкачественных и предраковых заболеваниях шейки матки (CIN I, CIN II, CIN III, верифицированных морфологически) от наличия бактериально-вирусных агентов.
5. Разработать алгоритм ранней диагностики доброкачественных и предраковых заболеваний шейки матки (CIN I, CIN II, CIN III, верифицированных морфологически).

#### **Научная новизна:**

1. Впервые для диагностики доброкачественных и предраковых заболеваний шейки матки (CIN I, CIN II, CIN III, верифицированных морфологически) применялся метод ИК – спектрометрии сыворотки крови.
2. Впервые установлены диагностические комплексы характеристических частот инфракрасного спектра поглощения сыворотки крови при заболеваниях шейки матки.
3. Впервые установлено, что инфракрасный спектр поглощения сыворотки крови обладает самостоятельной диагностической ценностью в ранней дифференциальной диагностике заболеваний шейки матки.
4. Впервые предложен способ ранней диагностики заболеваний шейки матки, как малоинвазивный метод, позволяющий определить показания для радиоволновой эксцизии.

#### **Теоретическая и практическая значимость результатов исследования:**

Дополнены и расширены существующие теоретические представления о применении метода ИК – спектрометрии в медицине: установлены диагностические комплексы характеристических частот инфракрасного спектра поглощения сыворотки крови при заболеваниях шейки матки.

В клиническую практику предложен новый способ ранней диагностики заболеваний шейки матки (CIN I, CIN II, CIN III, верифицированных морфологически) методом ИК-спектрометрии сыворотки крови.

Применение разработанного способа позволяет значительно сократить гипердиагностику заболеваний шейки матки. Получить значительный экономический эффект за счёт сокращения объёма обследования.

Разработан алгоритм ранней диагностики заболеваний шейки матки в женских консультациях и гинекологических стационарах.

### **Методология и методы исследования:**

Работа выполнена в 2010-2017 гг. на клинической базе кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО "Приволжский исследовательский медицинский университет" Минздрава России во II гинекологическом отделении ГБУЗ НО «Нижегородской областной клинической больницы им. Н. А. Семашко» г. Нижнего Новгорода (главный врач Миронов Н.Н.), женской консультации №10 в структуре ГБУЗ НО "Родильный дом № 4 им. А.Ф.Доброотиной " г. Нижнего Новгорода (главный врач Биткина Э.Н.).

В настоящей работе представлен ретроспективный анализ результатов обследования 170 женщин, наблюдавшихся в рамках данного исследования.

Пациенткам проводили сбор жалоб, анамнеза, общеклинические, гинекологические и специальные методы исследования: жидкостная цитология с иммуноцитохимическим исследованием онкомаркера p16, расширенная кольпоскопия, ИК-спектрометрия сыворотки крови; «Фемофлор-13»; обследование на ВПЧ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), в том числе типирование ВПЧ, определение вирусной нагрузки, уровня белков E6 и E7 цервикальной слизи.

На основе полученных результатов пациентки были разделены на две группы.

В I группу (группа контроля) вошли 50 женщин с отсутствием гинекологических заболеваний.

Во II группу (основная группа) – 120 пациенток доброкачественными и предраковыми заболеваниями шейки матки, носителей ВПЧ 16, 18 типов. На основании гистологического исследования биоптата шейки матки и

наличия белка p16 в иммуноцитохимическом исследовании пациентки группы II были разделены на следующие подгруппы: IIА – CIN I (n= 40), группа IIВ – CIN II p16-негативных (n= 40), группа IIС – CIN II p16-позитивных и CIN III (n= 40).

Таблица 1 – Распределение пациенток по группам

Группа I (n= 50)	Контрольная группа
Подгруппа IIА (n= 40)	CIN I
Подгруппа IIВ (n= 40)	CIN II p16-негативные
Подгруппа IIС (n= 40)	CIN II p16-позитивные и CIN III

Критерием включения пациенток в группу контроля было отсутствие заболеваний шейки матки, подтвержденное при обследовании.

Основным критерием включения пациенток в группу с заболеваниями шейки матки являлось выявление гистологически верифицированных CIN I, CIN II или CIN III и носительство ВПЧ 16 и 18 типов.

Критериями исключения – отказ женщин проходить все этапы обследования, беременность и лактация, злокачественные новообразования шейки матки.

При сборе анамнеза у обследуемых женщин обращалось внимание на особенности преморбидного фона, сопутствующие гинекологические и экстрагенитальные заболевания, перенесённые детские инфекции. Оценивался средний возраст наступления менархе, особенности менструального цикла и его нарушения, возраст начала половой жизни, количество половых партнёров, наличие в анамнезе инфекций, передаваемых половым путём, особенности репродуктивной функции: число беременностей, их течение и исход.

При объективном обследовании оценивались телосложение (антропометрические показатели женщин, индекс массы тела), окраска кожных покровов и видимых слизистых.

Для определения гинекологического статуса проводился осмотр наружных половых органов, исследование шейки матки с помощью зеркал, бимануальное исследование.

Бактериоскопическое и молекулярно-биологическое исследования выполнялись в диагностической лаборатории ГБУЗ НО «Нижегородской областной клинической больницы им. Н.А.Семашко» (заведующая службой Серопян М. Ю.).

Для исследования биоценоза влагалища применяли метод ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени с использованием реагентов «Фемофлор» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Материал для исследования собирался в пробирку типа «Эппендорф», содержащую транспортную среду. Количество эпителиальных клеток во взятом материале оценивали по результатам анализа геномной ДНК человека в каждом образце. Количество общей бактериальной массы, лактобацилл и различных групп условно-патогенных микроорганизмов (факультативно- и облигатно-анаэробных микроорганизмов, микоплазм и дрожжеподобных грибов) рассчитывали с помощью специально программного обеспечения, измеряли в геном-эквивалентах/мл (гэ/мл). Долю нормофлоры, факультативно-анаэробных микроорганизмов и анаэробных микроорганизмов оценивали в процентах среди всех выявленных бактерий [4, 74, 75]. Виды биоценозов классифицировались по Е.Ф. Кира с дополнением М.А. Гомберга, 2019 [33].

Всем пациенткам забирался материал для цитологического исследования мазков с эктоцервикса и из эндоцервикса. Мазок брали не ранее 48 ч после полового контакта, расширенной кольпоскопии, гинекологического осмотра и в период лечения воспалительных заболеваний.

Материал для традиционного мазка на онкоцитологию забирался цитощеткой «Юнона» (Simurg, РБ) с поверхности влагалищной части шейки



матки и цервикального канала, полученный материал тонким слоем наносился на сухое обезжиренное предметное стекло. После аэрозольной фиксации 95% этиловым спиртом окраска препарата осуществлялась по методике Паппенгейма: фиксация - окраска 3 минуты в эозине метиленовом синем, затем дистиллированной водой смывали краску, в течение 10 минут препараты докрашивали азур-эозиновой смесью (2:1). После этого краску смывали, стёкла высушивали. Микроскопию проводили на световом микроскопе (NIKON Eclipse E400, Южная Корея).

Материал для жидкостной цитологии с иммуноцитохимическим исследованием онкомаркера p16 забирался комбинированной цервикальной щеточкой «Rovers Cervex-Brush Combi» (Роверс Медикал Девайсез Б.В., Нидерланды) с поверхности влажной части шейки матки и цервикального канала. Материал вместе с щеткой помещался в транспортную среду. Для приготовления и окраски мазков использовалось оборудование BD SurePath™ Liquid-based Pap Test (Роверс Медикал Девайсез Б.В., Нидерланды).

Исследование проводилось в диагностической лаборатории ГБУЗ НО «Нижегородской областной клинической больницы им. Н.А.Семашко» (заведующая службой Серопян М. Ю.) с оценкой результатов согласно классификационной системе Папаниколау в соотношении с классификацией Бетесда с дополнением 2015г. [65, 124].

Обследование пациенток на ВПЧ высокоонкогенного типа проводилось методом ПЦР (АмплиСенс ВПЧ-скрин ЕР, Интерлабсервис, Россия). При обнаружении вируса этим пациенткам дополнительно определяли количественную концентрацию ДНК ВПЧ методом двойной генной ловушки – Digene Hybrid Capture System II (НС II) (Digene, Silver Springs, США).

Результаты количественного определения ДНК ВПЧ выражались в логарифмах копий вирусной ДНК на  $10^5$  клеток человека. Концентрация вируса менее  $10^3$  копий ДНК ВПЧ на  $10^5$  клеток расценивалась как клинически малозначимая, более  $10^3$  копий ДНК ВПЧ на  $10^5$  клеток – как

клинически значимая, более  $10^5$  копий ДНК ВПЧ на  $10^5$  клеток при установленном факте персистентного течения инфекции (ВПЧ выявляется более 1 года) – повышенная вирусная нагрузка. Снижение вирусной нагрузки в 10 раз за 6 месяцев – транзиторная инфекция. Рост вирусной нагрузки через 6 и более месяцев после лечения указывает на возможность рецидива [18, 26, 27, 29, 36, 47, 49].

Пациенткам с ВПЧ 16 и 18-го типов в цервикальных пробах определяли онкобелок E7. После удаления слизистой пробки забирались образцы цервикальных проб объемом не менее 150 мкл в пробирку «Эпандорф», содержащую 1 мл раствора натрия хлорида. Содержимое пробирки центрифугировалось в течение 10 минут. Из надосадочной жидкости извлекались пробы на исследование. Иммуноферментный анализ осуществлялся с применением тест – системы "E7-ВПЧ-16/18-ДИАГНОСТ" (ОАО "Биомед", Россия) согласно инструкции производителя [3, 4].

Всем пациенткам проводилась расширенная кольпоскопия на «CARL ZEISS 150FC» (Carl Zeiss Group, Германия) при 15-30 кратном увеличении с применением 3% раствора уксусной кислоты и раствора Люголя. При оценке кольпоскопической картины использовали классификацию, предложенную Номенклатурным Комитетом Международной Федерации по кольпоскопии и патологии шейки матки (IFCPC), одобренную на 14 Всемирном Конгрессе IFCPC (Рио-де-Жанейро, 2011г.) [65, 68].

Всем группам обследуемых выполнялось спектрометрическое исследование сыворотки крови. Утром (строго натощак) забиралась кровь из вены (8 мл) и подвергалась центрифугированию.

После высушивания полученные образцы сыворотки крови измельчались, готовилась суспензия в вазелиновом масле (рисунок 1) для уменьшения фона, возникающего из-за рассеяния при снятии спектров поглощения в твердых порошках, а также убирались трудности, связанные с сильным поглощением ИК-излучения диоксидом углерода и парами воды воздуха. Затем проводилась спектрометрия на инфракрасном Фурье-спектрометре

(ФМС1201, Россия) с фотометрической погрешностью 0,2%, что обеспечивает высокую точность и объективность ИК-спектрометрии (рисунок 2).



Рисунок 1. Готовый препарат.



Рисунок 2. Инфракрасный  
Фурье-спектрометре

Изменения количественных соотношений веществ в метаболизме ткани шейки матки, регистрируемые при ИК-спектрометрии сыворотки крови, служили параметрами для формирования трехмерного диагностического критерия. Инфракрасные спектры подвергались математическому анализу. Данные спектрограммы оцифровывались в полосах поглощения 1170, 1165, 1150, 1140, 1100, 1070, 1040, 1025  $\text{см}^{-1}$ . После многовариантных расчетов ИК-параметров и сопоставления полученных результатов с верифицированными диагнозами были получены трехмерные диагностические ИК-спектрометрические критерии в виде многогранников в ортогональной системе координат (X, Y, Z) для женщин с отсутствием гинекологических заболеваний и CIN I, CIN II p16-негативных, CIN II p16-позитивных и CIN III). По координатным осям (X, Y, Z) откладывались величины трех ИК-параметров, определенных в результате многовариантных расчетов методом дискриминантного анализа, основанного на определении канонических направлений в исходном пространстве признаков (ИК-параметров), удовлетворяющих критерию максимального отношения дисперсии распределений ИК-параметров между образцами к дисперсии внутри образцов и дающих оптимальное разделение дифференцируемых

заболеваний. За ИК-параметр принималось отношение высоты одного пика ( $A(J)$ ) полосы поглощения, соответствующей частоте ( $J$ ), к высоте другого пика ( $A(I)$ ) полосы поглощения, соответствующей частоте ( $I$ ). Анализ проводился на базе ООО «Медицинская диагностика» (директор Игнатъев А.А.).

Завершающим этапом было гистологическое исследование биоптатов шейки матки проводилось в патологоанатомическом отделении ГБУЗ НО «Нижегородской областной клинической больницы им. Н.А.Семашко» (заведующий отделением Кузнецов С.С.) Участки шейки матки для гистологического исследования получали методом радиоволновой эксцизии на аппарате "Surgitron Dual EMC 90" (Ellman International, Inc., США). Поражённые участки удалялись от 0,5 до 2,5 см в пределах здоровых тканей и на глубину до 0,8 см. Полученный биоптат фиксировали 10% раствором формалина в соотношении 1:10, затем весь материал заливали парафином. Готовые блоки нарезали с помощью микротомы на тонкие пластинки, окрашивали гематоксилин - эозином и переносили на предметное стекло. Трактовка гистологических заключений осуществлялась в соответствии с гистологической классификации опухолей женских половых органов (ГКО, 1994) [1, 20].

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы Statistica 6.0 (Stat Soft, США) согласно О. Ю. Ребровой [64]. Принадлежность к нормальному распределению проверялась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Для нормально распределённых величин данные представлялись в виде  $M \pm \sigma$  (где  $M$  – среднее значение, а  $\sigma$  – стандартное отклонение), при отлличие распределения от нормального данные представлялись в виде Медиана [Межквартильный интервал], качественные данные в виде  $p \pm \sigma\%$  (где  $p$  - процентная доля,  $\sigma$  - стандартное отклонение процентной доли). Для исследования различий нормально распределённых величин использовался критерий Стьюдента, при отличии распределения от нормального – Манна-Уитни. Для сравнения качественных признаков

использовался критерий Хи-квадрат или точного критерия Фишера (при количестве наблюдений менее 5). Различия между группами считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Инфракрасная спектрометрия сыворотки крови является более информативным методом дифференциальной диагностики заболеваний шейки матки в сравнении с ранее применяемыми методами исследования (цитологическое исследование, расширенная кольпоскопия, ВПЧ - тестирование). Чувствительность ИК – спектрометрии (95%) в диагностике заболеваний шейки матки превосходит данный показатель при цитологическом (67%) и кольпоскопическом (63%) методах исследования. Диагностическая точность инфракрасной спектрометрии сыворотки крови - 90 %, специфичность - 92 %.

2. Применение метода инфракрасной спектрометрии сыворотки крови на этапе обследования женщин в женской консультации позволит минимизировать инвазивные лечебно - диагностические вмешательства на 25 %.

#### **Личное участие автора:**

Анализ современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме проведен лично диссертантом. Автор принимал участие на всех этапах диссертационного исследования. Планирование научной работы, основная идея, включая формирование рабочей гипотезы, обоснование методов исследования, определение целей, задач и общей концепции диссертационного исследования проводились совместно с научным руководителем д.м.н., профессором Боровковой Людмилой Васильевной. Сбор клинико-anamnestических данных проводился лично автором на базе II гинекологического отделения ГБУЗ НО «Нижегородской областной клинической больницы им. Н. А. Семашко» города Нижнего Новгорода; лабораторные исследования – совместно с диагностической лабораторией ГБУЗ НО «Нижегородской областной клинической больницы

им. Н.А.Семашко» (заведующая службой Серопян М. Ю.); исследование сыворотки крови методом инфракрасной спектрометрии – на базе ООО «Медицинская диагностика» (директор Игнатъев А.А.). Диссертант лично курировал пациенток на стационарном и амбулаторном этапе в гинекологическом отделении и женской консультации. Для анализа была разработана и создана электронная база данных, включающая результаты обследования пациенток. На основании полученных результатов проведена статистическая обработка данных и разработан алгоритм ведения пациенток. Оформление текста научных публикаций, рукописи диссертации выполнялись лично автором.

Результаты работы доложены на XVII Нижегородской сессии молодых учёных (г. Дзержинск, 2012 г.), на Международной научной конференции «Современная клиническая медицина: изучение этиологии патогенеза заболеваний, разработка методов их профилактики, диагностики и лечения» (г. Москва, 2013 г.), на II Международной научной конференции «Теоретические и практические аспекты современной науки» (г. Белгород, 2014 г.), на Международной конференции «Репродуктивная медицина: взгляд молодых – 2017» (г. Санкт –Петербург, 2017 г.). Получен диплом за лучший доклад на VII международной научной конференции молодых учёных-медиков (г. Курск, 2013 г.), диплом победителя I Всероссийской XII Ежегодной научной сессии молодых учёных и студентов с международным участием «Современные решения актуальных научных проблем в медицине» (г. Нижний Новгород, 2013 г.), диплом за лучший постерный доклад на Общероссийской конференции с международным участием «Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству» (г.Санкт-Петербург, 2014 г.), диплом за II место в конкурсе «М.Е.Д.И.К.- Онкология» (г. Нижний Новгород, 2013 г.).

По теме диссертации опубликовано 17 печатных работ, из них 7 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикаций научных результатов диссертаций.

### **Объем и структура диссертации:**

Диссертация изложена на 108 страницах машинописного текста, состоит из введения с описанием материалов и методов исследования, обзора литературы, 3 глав, представляющих собственные результаты, осуждения результатов, выводов и практических рекомендаций, списка литературы, включающего 146 источников, из них 63 - зарубежных. Работа иллюстрирована 12 рисунками и 23 таблицами.

## **Глава I. Современные методы диагностики заболеваний шейки матки (обзор литературы)**

В настоящее время в практическом здравоохранении для диагностики заболеваний шейки матки используются цитологическое исследование мазков с влажной части шейки матки и из цервикального канала, расширенная кольпоскопия, ВПЧ–тестирование. Из них к скрининговым относится только цитологическое исследование [1,101].

Ценность цитологического метода состоит в том, что он позволяет обнаружить начальные этапы малигнизации слизистой оболочки шейки матки до появления выраженных визуальных изменений. По данным разных авторов чувствительность цитологического метода исследования составляет 55-65%, специфичность – 65-70% [7, 41, 42, 55, 94,115].

Тем не менее, существует мнение, что его применение даёт от 6 до 55% ложноотрицательных результатов [4, 17, 22, 23, 28, 41, 42, 68, 96] в связи с некачественным забором материала для исследования или с ошибочной интерпретацией цитологических данных [8].

По данным других авторов, цитологическое обследование в 5-70 % даёт ложноположительные результаты при вирусной пролиферации и в 5-50 % ложноотрицательные в случаях неопластических заболеваний шейки матки [7, 93, 123]. Также частое ошибочное цитологическое исследование бывает на фоне вагинита и цервицита [2, 37, 67, 93, 117, 118, 135].

Многие авторы рекомендуют комбинировать цитологическое исследование соскоба с шейки матки и ВПЧ-тест. По их данным чувствительность и прогностическая значимость при сочетании обоих методов в ряде случаев приближается к 100% [37, 51, 84, 86, 97, 101, 106].

На сегодняшний день известно, что важную роль в возникновении предраковых состояний шейки матки принадлежит инфекционным агентам, среди которых первое место занимает вирус папилломы человека (ВПЧ). Большинство случаев инфицирования ВПЧ заканчивается спонтанным



выздоровлением, однако в некоторых случаях развивается персистирующая инфекция, которая способна запускать процессы клеточной трансформации. Более 50 % сексуально активного населения в мире в течение жизни инфицируется ВПЧ, что является «первичным» событием в патогенезе РШМ [6, 13, 15, 18, 26, 27, 29,36, 47, 49, 78 87, 91,99, 103, 104, 119, 121, 122, 143]

Показатели вирусной нагрузки также не характеризуют тяжесть цервикальной неоплазии [ 6, 13, 15, 18, 26, 27, 29,36, 47, 49, 78, 105, 126, 145 ]. По данным В.С. Чирского (2014) и соавторов при утяжелении поражения цервикального эпителия частота выявления клинически значимых показателей вирусной нагрузки коррелировала с увеличением средних значений периметра ядер клеток, ассоциированных с ВПЧ [78]. В то же время исследования Е. В. Бахидзе (2014) показали уменьшение количества копий ДНК ВПЧ 16 и 18 типов по мере прогрессирования заболеваний шейки матки [6].

При встраивании ДНК ВПЧ в геном эпителиальной клетки происходит синтез ранних онкобелков ВПЧ — E6 и E7 [3, 31, 32, 95, 102, 110, 111, 129, 131, 133, 134, 141], при этом усиливается экспрессия гена INK4a. Таким образом, продолжительная продукция этих белков часто сопутствует переходу LSIL и HSIL в инвазивный цервикальный рак. Поэтому определение белков E6 и E7 в цервикальной слизи становится наиболее привлекательными для определения риска развития РШМ. Однако ген INK4a может регулироваться и другими факторами, не связанными с папилломавирусной инфекцией [31, 32, 102, 105, 128, 129, 142].

Также для диагностики заболеваний шейки матки активно используется расширенная кольпоскопия. Целью метода является оценка состояния эктоцервикса, выявление патологических очагов и определение места прицельной биопсии.

Строгое соответствие кольпоскопических и гистологических картин отсутствует. Под любой кольпоскопической картиной атипического эпителия может скрываться вся гамма морфологических признаков эпителиальных неоплазий и преклинического рака [5, 7, 65, 116]. Также аномальные

кольпоскопические признаки выявляются при активной метаплазии в зоне превращения, которая чаще наблюдается у молодых женщин [66, 70]. Данные факты часто приводят к диагностическим ошибкам. [5, 60].

Кольпоскопическое исследование обладает чувствительностью 60-80%, специфичностью 40-50%, прогностической ценностью 60-70%. Наиболее специфичными признаками являются ацетобелый эпителий (прогностическая ценность 70-90%), мозаика и пунктуация (прогностическая ценность 60-80%), атипичная зона трансформации (прогностическая ценность 60-77%) [66, 70].

Таким образом, кольпоскопический метод исследования является малоспецифичным методом диагностики, в известной мере субъективным, и требует квалифицированной подготовки специалистов. В связи с чем, возрастает риск гипердиагностики и, следовательно, проведение необоснованного агрессивного лечения. В этой связи в соответствии с международными стандартами он не отнесён к скрининговым методам исследования.

Наиболее достоверным методом диагностики заболеваний шейки матки является гистологическое исследование. Оно позволяет проследить изменения в эпителиальном пласте и его взаимоотношения с подлежащей тканью (стромой). С помощью этого метода решаются задачи дифференциальной диагностики и поэтапной злокачественной трансформации МПЭ и ЦЭ.

Многие авторы считают, что поражения шейки матки редко бывают однородными, и неоплазии различной степени тяжести могут располагаться по соседству с раковой опухолью, что приводит к ложноотрицательным результатам в 56% случаев [34, 68]. Поэтому для дифференциальной диагностики имеет большое значение площадь исследуемого объекта.

Гистологический метод исследования мог бы служить «золотым стандартом» диагностики заболеваний шейки матки, однако высокая стоимость, невозможность использовать многократно, не всегда точный

прицельный забор материала ограничивают его использование. Гистологический метод не относится к скрининговым, используется в клинической практике на этапе окончательной постановки диагноза [14, 17, 37, 68].

С 40-х годов XX века ведутся исследования в химии и физической химии с помощью спектрометрического анализа. В последнее десятилетие оптические методы широко изучаются в медицине для диагностики рака, так как вместо определения морфологических изменений, как в гистологических исследованиях, анализ опирается на выявление биохимических изменений, которые происходят в опухоли. Одним из оптических методов, который может эффективно предоставить информацию о структуре и химическом составе биологических материалов на молекулярном уровне, является инфракрасная спектрометрия.

Инфракрасная спектрометрия является методом анализа сложных химических сред и основана на регистрации характеристик полос поглощения в ИК-области спектра.

Спектр биологического образца - суммарный спектр, в котором происходит наложение полос поглощения различных функциональных групп органических веществ, что значительно усложняет его расшифровку из-за взаимодействия отдельных видов колебаний указанных групп, при этом происходит искажение формы полос поглощения и смещение их максимумов

В ИК-спектре различают четыре области: 1) видимая, 2) близкая, 3) фундаментальная и 4) далекая. Для исследования органических веществ наибольшее значение имеет фундаментальная инфракрасная область, лежащая в диапазоне от 200 до 5000  $\text{см}^{-1}$ . Полосы поглощения в области 600—1300  $\text{см}^{-1}$  отличны и специфичны даже для родственных молекул, поэтому его называют областью «отпечатков пальцев» молекулы. В эту область попадают валентные колебания одинарных связей C-O, C-N, N-O,

Р-О. Напротив, частоты поглощения двойных связей  $C=C$ ,  $C=O$ ,  $N=O$  являются характеристичными, т.е. мало отличаются для разных молекул и лежат в диапазоне  $1500\text{—}1950\text{ см}^{-1}$ . Поглощение тройных связей находится в еще более коротковолновой области (для  $C\equiv C$  в диапазоне  $2100\text{—}2250\text{ см}^{-1}$ ). ИК- спектр является абсолютно специфическим свойством каждого химического соединения, поэтому даже изомеры положения, геометрические изомеры и молекулы, содержащие протоны, обладают различными спектрами. Таким образом, ИК-спектр каждого вещества имеет отчетливую индивидуальность [10, 11, 12, 19, 45, 46, 50, 52, 54, 56, 73, 144]

Существование характеристических частот связано с тем, что в колебании принимает активное участие не вся молекула, а только группа атомов, хотя меняются длины связей и величины углов между ними при каждом колебании. Колебания молекул могут заключаться в изменении длин связей (валентные колебания,  $\nu$ ) либо углов между связями (деформационные колебания,  $\delta$ ). Валентные колебания могут быть симметричными и антисимметричными, а деформационные колебания подразделяются на ножничные, маятниковые, веерные и крутильные. Для более сложных молекул, в которых одна из деформационно колеблющихся частей гораздо массивнее другой, деформационные колебания чаще описывают как плоскостные и внеплоскостные. Колебания, которые заключаются в одновременном изменении нескольких длин связей или валентных углов, называются скелетными [10, 11, 12, 144].

Согласно теории молекулярных колебаний для асимметричных молекул, состоящих из  $N$ -атомов возможны  $3N-6$  нормальных колебаний, из которых  $2N-5$  приводят к деформации связей. При этом колебания сопровождаются изменением дипольного момента, т.е. смещением заряда, и наблюдаются в инфракрасной области. Важно подчеркнуть, что анализ ИК-спектров не является тривиальной задачей. Так, для молекулы, содержащей всего 50 атомов, уже имеется 144 частоты нормальных колебаний. Кроме этого, поглощение ИК излучения группами атомов в молекуле зависит от их

окружения, поэтому частоты колебаний смещаются в ту или иную сторону. Это приводит к тому, что все органические вещества или смеси веществ имеют индивидуальные неповторимые ИК-спектры, которые можно интерпретировать качественно и количественно [19, 45, 46, 50, 52, 54].

Все биологические жидкости относятся к ассоциированным, т.е. сыворотка крови представляет собой сложную биологическую жидкость, подчиняющуюся единым физико-химическим принципам и отражающая все процессы, протекающие в организме [10, 11, 12, 19, 52, 54, 73, 144]. Молекулы растворенных в ней веществ находятся в различных формах взаимосвязи, они сравнительно равномерно рассеяны по всему объему и находятся в сложном высокодинамичном перераспределительном процессе. При дегидратации молекулы и молекулярные комплексы претерпевают пространственные перемещения, локализуясь в строго определенном месте в форме фиксированной волны. При этом каждая волна соответствует градиенту концентрации определенной группы ассоциированных молекул, близких по своей физико-химической структуре. В сыворотке крови подавляющее большинство молекул находится в виде надмолекулярных комплексов. Организационная аутоволновая структура дегидрированной сыворотки отражает спектр этих комплексов. Фазовый переход биологической жидкости из неупорядоченного жидкого состояния в твердое путем высушивания организует определенный статистический порядок, который становится наблюдаемым даже на макроскопическом уровне/ Волновые ритмы различного характера и качества являются одной из форм самоорганизации живой материи и ее взаимосвязи как с внутренней, так и с внешней средой [10, 11, 12]. В организме человека постоянно или временно действуют множество волновых ауторитмов, различных по своему характеру, интенсивности и длине волны [35, 51]. Метаболические и волновые процессы в организме тесно связаны между собой, взаимозависимы и взаимоопределяют характер друг друга [34]. Таким образом, высушенная сыворотка крови представляет собой комплекс стабилизированной и

структурированной информации о функциональных процессах, протекающих в организме.

Метод спектрального анализа сыворотки крови основан на наличии в ней пиков полос поглощения высоко специфичных для определённых заболеваний. В ходе спектрометрии в области  $400\text{--}7800\text{ см}^{-1}$  определяют пики полос поглощения с максимумами 1320, 1308, 1271, 1241, 1200, 1177, 1169, 1158, 1136, 1117, 1100, 1080, 1035, 982, 973, 943, 935, 891, после чего определяют наличие характерных комплексов пиков полос поглощения образца сыворотки крови. Эти частоты и составляют инфракрасный спектр. Инфракрасный свет имеет тот же частотный диапазон, что и колебательно-вращательный спектр молекул. Поэтому, при попадании инфракрасного излучения на молекулу, она поглощает излучение соответствующей частоты этого света, которое совпадает с частотами собственных гармонических колебаний молекулы. После поглощения этого света молекулярные осцилляторы будут продолжать колебаться на тех же частотах, но амплитуда их колебаний увеличится. Оставшийся свет, который не поглотится ни одним из осцилляторов молекулы, проходит через образец на детектор. Компьютер анализирует прошедший свет и определяет, какие частоты поглощены [52, 54].

Существуют табличные спектральные данные для тысяч органических веществ, которые могут быть использованы как эталоны для идентификации нужных соединений в любых массах веществ, например, в крови. В процессе исследований был создан банк фоновых значений колебательного спектра при различных патологических состояниях. Любые отличия от фона в каждом случае здоровья или болезни легко фиксируются и количественно характеризуются. В результате суммарное математическое выражение инфракрасного спектра крови пациента превращается в одну точку в двух-, трех- или n-мерном пространстве. При попадании этой точки в графически выраженную группу здоровья и регистрации её в виде многогранника (разработки выполнены с помощью компьютерной программы DS924),

делается вывод о том, что болезнь отсутствует. При вхождении показателя пациента в плоский или пространственный «образ болезни» делается вывод о патологическом состоянии и степени его тяжести [52].

В таблице 2 представлены основные частоты полос поглощения наиболее важных характеристических групп веществ в сыворотке крови здорового человека.

Таблица 2. Частоты полос поглощения наиболее важных характеристических групп веществ в сыворотке крови здорового человека

группы веществ	частоты полос ( $\text{см}^{-1}$ )
симметричные валентные колебания (-CH <sub>3</sub> ); сложные эфиры холестерина; триглицериды; глицерол.	2880-2860
симметричные валентные колебания (-CH <sub>2</sub> ); жирные кислоты; фосфолипиды.	2870-2830
антисимметричные валентные колебания (-CH <sub>3</sub> ); антисимметричные валентные колебания (-CH <sub>2</sub> ); симметричные валентные колебания (-CH <sub>3</sub> ); симметричные валентные колебания (-CH <sub>2</sub> ); жирные кислоты; фосфолипиды; триглицерид.	2996-2819
валентные колебания (-C=O); липиды; сложные эфиры холестерина; триглицериды.	1739-1732
валентные колебания свободных -ОН и -NH	3462
валентные колебания свободных транс - NH	3417
валентные колебания связанных транс - NH	3228
валентные колебания связанных транс - NH	3228
валентные колебания связанных -ОН и -NH	3207 (3192 )
валентные колебания (-CH); ненасыщенные жирные кислоты, сложные эфиры холестерина	3020-3000

антисимметричные валентные колебания (-CH <sub>3</sub> ); сложные эфиры холестерина; триглицериды	2990-2950
антисимметричные валентные колебания (-CH <sub>2</sub> ); жирные кислоты; фосфолипиды	2950-2880
Амид 1(валентные колебания (-C=O) деформационные колебания спирали белков)	1720-1600
деформационные колебания (- NH <sub>2</sub> ); аминокислоты	1630-1560
Амид 2; деформационные колебания (-N-H), деформационные колебания спирали белков	1600-1480
Деформационные колебания антисимметричные валентные колебания (-CH <sub>3</sub> ); деформационные колебания антисимметричные валентные колебания (-CH <sub>2</sub> ); деформационные колебания симметричные валентные колебания (-CH <sub>3</sub> ); деформационные колебания симметричные валентные колебания(-CH <sub>2</sub> ); жирные кислоты; фосфолипиды; триглицериды	1480-1430
валентные колебания (-COO-); аминокислоты	1430-1360
валентные колебания (-C-N-) связанных с ароматическими кольцами	1342 (1339)
Амид 3; валентные колебания (-C-N-), деформационные колебания (-NH) и деформационные колебания (-CH <sub>2</sub> )	1330-1200
деформационные колебания (-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	1311 (1300)
валентные колебания (-C-OH), ацетатные группы, валентные колебания (-C-O-), антисимметричные валентные колебания (O-P=O)	1244 (1241)
валентные колебания (-CH <sub>2</sub> -O-P- ); фосфолипиды	1170
антисимметричные валентные колебания (-CO-O-C) , валентные колебания(-C-OH); жирные кислоты	1165



валентные колебания (-C-O-), деформационные колебания (-C-OH) углеводов	1152
маятниковые колебания -CH <sub>3</sub> ароматических систем	
валентные колебания (-C-O-C-) 5,6- членных циклов сахаров	1104
симметричные валентные колебания (-C-P=O) (PO <sub>3</sub> -) и деформационные колебания симметричные валентные колебания (-C-OH)	1084 (1076)
симметричные валентные колебания (-CO-O-C); фосфолипиды	1063
симметричные валентные колебания (-C-O-)	1057
скелетные колебания -C-C-N-	1034 (1030)

В ряде исследований показано, что тонкие нарушения в структуре белково-липидных комплексов, соотношение фосфорсодержащих продуктов клеточного метаболизма (фосфолипиды, фосфорилированные белки, макроэрги и производные их расщепления), и других составных частей крови можно выявлять методом инфракрасной спектроскопии, что даст новую информацию при изучении патогенеза различных заболеваний [10, 11, 12, 19, 45, 46, 52, 54, 71, 73].

В литературе последних лет существуют публикации о положительных результатах применения ИК-спектромерии в диагностике различных групп заболеваний [10, 11, 12, 19, 45, 46, 52, 54, 71, 73, 88, 92, 93, 100, 107, 108, 112, 124, 127, 144]. Например, описаны исследования, связанные с применением инфракрасной спектрометрии для дифференциации нормальных и злокачественных клеток при заболеваниях кожи [93], пищевода [127], желудка [98, 100], толстой кишки [124], легких [88], костей [45,46].

В работах А.Н. Николаенко и соавторов (2015) на основе теории о повышении содержания карбонильных групп (C=O) белков в плазме и в эритроцитах крови при онкологических заболеваниях рассмотрена

возможность анализа этих групп белков как биомаркера в дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных опухолей костей. В ходе исследования определяли коэффициент поглощения ИК-излучения сывороткой крови на длине волны карбонильной группы ( $1650 \text{ см}^{-1}$ ): для доброкачественных опухолей он соответствует  $0,07595 \pm 0,0076$ , для злокачественных опухолей -  $0,09431 \pm 0,0082$  [45,46].

Применение нового метода на амбулаторном этапе обследования с целью предварительной дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных опухолей костей позволило снизить долю ложноположительных результатов за счет повышения специфичности с 81,3 до 84,8%; долю ложноотрицательных результатов за счет повышения чувствительности с 79,6 до 89,1% ( $p=0,006$ ) [45,46].

Jusman Y. и соавторы (2012) исследовали методом ИК-спектromетрии образцы ткани шейки матки, полученные при биопсии. На основании спектральных данных разработали алгоритм для оценки клеток шейки матки методом инфракрасной спектromетрии, который может классифицировать эти клетки как нормальные, LSIL и HSIL. Анализ показывает чувствительность – 97,4%, специфичность – 100%, ложноотрицательных 0,0% и ложноположительных 4,8% значений. По мнению авторов, хотя эти результаты обнадеживают, необходимы дальнейшие исследования, прежде чем он может быть использован в качестве инструмента для скрининга рака шейки матки [113].

Нижегородские ученые впервые применили метод инфракрасной спектromетрии сыворотки крови для диагностики гинекологических заболеваний. Получен патент на изобретение «Способ дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований внутренних женских половых органов» № 2323439 от 27.04.2008 г. [19, 52, 54].

Д.В. Першин (2008) выявил комплексы характеристических спектров поглощения сыворотки крови для диагностики эндометриоидных кист

яичников (1080/940, 1230/1140, 1040/1180, 1070/1010, 1040/1010  $\text{см}^{-1}$ ), истинных доброкачественных опухолей яичников и ретенционных образований яичников невоспалительной природы (1070/940, 1040/1180, 1120/1010, 1040/940, 1250/1190, 1040/1090  $\text{см}^{-1}$ ), злокачественных опухолей яичников (1070/940, 1040/1180, 1120/1010, 1040/940, 1250/1190, 1040/1190  $\text{см}^{-1}$ ) [54].

В.О. Ершова (2009) в своих исследованиях определила комплексы характеристических спектров поглощения сыворотки крови при диагностике заболеваний эндометрия: при гиперплазии эндометрия (1090/940, 1040/1190, 1040/940  $\text{см}^{-1}$ ), при раке эндометрия (1070/1090, 1230/1140, 1290/1190  $\text{см}^{-1}$ ) [19].

Работы авторов показали, что диагностические показатели инфракрасной спектроскопии колеблются в следующих пределах: диагностическая точность 86-93%, чувствительность 81-93%, специфичность 95-100%. Также было выявлено отсутствие зависимости данных спектрального анализа от фазы менструального цикла и состояния репродуктивной функции женщин, то есть гормональные изменения не оказывают влияния на результаты исследования [19, 52, 54].

### **Резюме:**

Обобщая данные литературы о применении инфракрасной спектроскопии сыворотки крови в медицине, следует отметить, что метод обладает высокой чувствительностью и специфичностью, прост в применении, малоинвазивный.

Проведённый обзор литературы подтверждает необходимость научных исследований, направленных на поиск новых методов диагностики заболеваний шейки матки, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью, легко реализуемых в практической медицине. На сегодняшний день традиционные методы диагностики заболеваний шейки матки не дают полной картины. Цитологическое исследование, несмотря на высокую чувствительность и специфичность, даёт большой процент

ложноотрицательных и ложноположительных результатов, не является окончательным, дополняется кольпоскопическим и гистологическим исследованиями. Кольпоскопический метод исследования является малоспецифичным методом диагностики, в известной мере субъективным, и требует квалифицированной подготовки специалистов. В связи с чем, возрастает риск гипердиагностики и, следовательно, проведение необоснованного агрессивного лечения. В этой связи в соответствии с международными стандартами он не отнесён к скрининговым методам исследования. Гистологический метод исследования мог бы служить «золотым стандартом» диагностики заболеваний шейки матки, однако высокая стоимость, невозможность использовать многократно, не всегда точный прицельный забор материала ограничивают его использование. Гистологический метод не относится к скрининговым, используется в клинической практике на этапе окончательной постановки диагноза.

Применение молекулярно-биологических методов исследования заболеваний шейки матки также не однозначно. ВПЧ-тестирование у молодых женщин имеет низкую специфичность, что приводит к значительной гипердиагностике и к проведению необоснованной терапии [34, 114, 120, 139 ]. При выявлении белка E7 в клеточном материале, полученном из шейки матки, можно уверенно говорить о начале, или «инициации», процессов клеточной трансформации [13, 14]. В настоящее время можно считать доказанным тот факт, что онкобелок E7 ВПЧ 16-го типа является важным фактором канцерогенеза [15].

Весьма перспективным в этом направлении является метод ИК-спектрометрии сыворотки крови, на основе которого возможна разработка нового информативного способа ранней диагностики заболеваний шейки матки.

Метод позволяет выявить заболевания практически в любой, в том числе и самой ранней, стадии развития, когда патологические изменения еще не улавливаются большинством методов инструментальной диагностики.

Спектральный анализ сыворотки крови может использоваться не только в дифференциальной диагностике заболеваний, но и наблюдать динамику развития и процесс выздоровления [9, 10, 11, 52, 56, 71, 73].

## Глава II. Клиническая характеристика обследованных женщин

Нами проведено комплексное обследование 170 женщин в возрасте от 17 до 56 лет. По возрастному показателю пациентки во всех группах распределились следующим образом: средний возраст женщин контрольной группы составил  $36,9 \pm 1,87$  (от 18 до 55 лет), в подгруппе CIN I –  $36,77 \pm 1,89$  года (от 18 до 55 лет), в подгруппе CIN II p16-негативных –  $36,72 \pm 1,45$  (от 19 до 56 лет), в подгруппе с CIN II p16-позитивных и CIN III –  $36,95 \pm 1,83$  года (от 19 до 56 лет). В каждой исследуемой группе преобладали пациентки в возрасте от 22 до 45 лет. При сравнении между группами статистически значимой разницы в среднем возрасте женщин выявлено не было ( $p \geq 0,05$ ).

Во всех группах профессиональной трудовой деятельностью занимались 44,7% женщин (таблица 3). Каждая третья была студенткой (33%), каждая четвертая – не работала (18,2% домохозяйки, 4,1% пенсионерки). По данному показателю статистически значимых различий между группами выявлено не было ( $p \geq 0,05$ ).

Таблица 3 – Социальный статус обследованных женщин

Социальный статус Группа	Студентки	Служащие	Рабочие	Не работают	Пенсионерки
Контрольная (n= 50)	15(30%)	17(34%)	6(12%)	10(20%)	2(4%)
CIN I (n=40)	16(40%)	10(25%)	5(12,5%)	8(20%)	1(2,5%)
CIN II p16- негативные (n=40)	12(30%)	15(37,5%)	5(12,5%)	6(15%)	2(5%)
CIN II p16- позитивные и CIN III	13(32,5%)	13(32,5%)	5(12,5%)	7(17,5%)	2(5%)

(n=40)					
--------	--	--	--	--	--

Примечание: статистически значимых различий между группами нет ( $p>0,05$ )

В ходе исследования проанализированы антропометрические показатели женщин (рост, масса тела, индекс массы тела) (таблица 4).

Таблица 4 – Антропометрические показатели обследованных женщин

Антропометрические показатели Группы	Рост (см)	Вес (кг)	Индекс массы тела
Контрольная (n= 50)	165,3±5,3	67,4±11,9	24,7±5,2
CIN I (n=40)	163,4±6,7	69,7±9,2	26,1±6,1
CIN II p16- негативные (n=40)	165,3±8,2	67,8±9,7	24,8±6,4
CIN II p16- позитивные и CIN III (n=40)	164,1±7,2	68,4±8,3	25,4±5,5

Примечание: статистически значимых различий между группами нет ( $p>0,05$ )

Как видно из таблицы 4, индекс массы тела находился в диапазоне от 24 до 26. Только у 8 (4,7 %) женщин диагностировано ожирение I степени (индекс массы тела 30,4 - 31,2). Статистически значимых различий между группами выявлено не было, но чаще заболевание встречалось в контрольной группе (3 пациентки (1,7%)), реже – в подгруппе CIN II p16-позитивных и CIN III (1 пациентка (0,6%)). В то же время, в группах наблюдается статистически значимое увеличение числа пациенток с дефицитом массы тела. Из 170 обследованных у 27 (15,8 %) индекс массы тела находился в диапазоне 16-18,49, большее количество пациенток было в подгруппе с CIN II p16-позитивных и CIN III – 10 (5,8%), меньшее – в контрольной группе 7 пациенток (4,1%), достоверных различий распределения по группам не выявлено.

Экстрагенитальных заболеваний у женщин с заболеваниями шейки матки и в контрольной группе были идентичной (таблица 5). Во всех группах преобладали болезни органов пищеварения (язвенная болезнь желудка и/или 12-перстной кишки, хронический гастрит, хронический холецистит, хронический колит, геморрой) (48,8%) и сердечно-сосудистой системы (артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца) (11,7%). Достоверных различий нами не было выявлено.



Таблица 5 – Структура экстрагенитальных заболеваний среди обследованных женщин

Диагнозы	Группа									
	Е02 Субклинический гипотиреоз вследствие йодной недостаточности	Е01.0 Диффузный (эндемический) зоб, связанный с йодной недостаточностью	Е01.1 Многоузловой (эндемический) зоб, связанный с йодной недостаточностью	Узловой зоб, связанный с недостаточностью йода	Е66.0 Ожирение, обусловленное избыточным поступлением энергетических ресурсов	Е11.9 Сахарный диабет II типа без осложнений	Ј42 Хронический бронхит не уточненный	І25 Хроническая ишемическая болезнь сердца	І10 Эссенциальная [первичная] гипертония	
Контрольная n=50	1 (2%)	-	1 (2%)	3 (6%)	1 (2%)	1 (2%)	1 (2%)	1 (2%)	4 (8%)	
CIN I n=40	1 (2,5%)	1 (2,5%)	-	2 (5%)	2 (5%)	1 (2,5%)	2 (5%)	2 (5%)	4 (10%)	
CIN II p16- негативные n=40	1 (2,5%)	-	-	1 (2,5%)	1 (2,5%)	-	1 (2,5%)	1 (2,5%)	4 (10%)	
CIN II p16- позитивные и CIN III n=40	-	1 (2,5%)	1 (2,5%)	2 (5%)	1 (2,5%)	-	1 (2,5%)	1 (2,5%)	3 (7,5%)	

Примечание: статистически значимых различий между группами нет (p>0,05)

Таблица 5 – Структура экстрагенитальных заболеваний среди обследованных женщин (продолжение)

Диагнозы	К81.1 Хронический холецистит	К29.3 Хронический поверхностный гастрит	К29.9 Гастродуоденит неуточненный	К25.7 Хроническая язва желудка без кровотечения или прободения	К26.7 Хроническая язва двенадцатиперстной кишки без кровотечения или прободения	К64.0 Геморрой первой степени	Н20.0 Камни почки	Н11.0 Необструктивный хронический пиелонефрит, связанный с рефлюксом
Контрольная n=50	6 (12%)	10 (20%)	1 (2%)	4 (8%)	2 (4%)	-	-	-
CIN I n=40	5 (12,5%)	12 (30%)	-	5 (12,5%)	2 (5%)	2 (5%)	-	1 (2,5%)
CIN II p16-негативные n=40	5 (12,5%)	8 (20%)	-	3 (7,5%)	-	1 (2,5%)	1 (2,5%)	-
CIN II p16- позитивные и CIN III n=40	3 (7,5%)	10 (25%)	1 (2,5%)	-	3 (7,5%)	-	-	1 (2,5%)

Примечание: статистически значимых различий между группами нет (p>0,05)

Изучение анамнеза по перенесённым детским инфекциям в исследуемых группах позволило определить, что частота ветряной оспы была выше во всех группах, встречалась у каждой второй женщины. Достоверных различий во всех группах по заболеваемости ветряной оспой не получено ( $p>0,05$ ). В основной группе число пациенток, болевших краснухой достоверно выше (от 17,5% до 22,5%), чем в контрольной группе (10%) ( $p<0,05$ ).

Таблица 6 – Частота перенесённых детских инфекций в анамнезе обследованных женщин

Детские инфекции Группы	Корь	Краснуха	Ветряная оспа
Контрольная (n= 50)	4(8%)	5(10%)*	27(54%)
CIN I (n= 40)	4(10%)	7(17,5%)	23(57,5)
CIN II p16- негативные (n= 40)	4(10%)	7(17,5%)	25(62,5%)
CIN II p16- позитивные и CIN III (n= 40)	3(7,5%)	9(22,5%)*	25(62,5%)

Примечание: \* - разница между показателями в контрольной группе и группе с заболеваниями шейки матки статистически значима ( $p<0,05$ )

При оценке среднего возраста наступления менархе всех пациенток нами не выявлено статистически значимых различий ( $p=0,48$ ), а именно, средний возраст наступления менархе у женщин контрольной группы составил  $12,9\pm 0,22$  лет, у пациенток подгруппы CIN I –  $12,9 \pm 0,17$  лет, подгруппы CIN II p16-негативных –  $13,0 \pm 0,30$  лет, подгруппы CIN II p16-позитивных и CIN III –  $13,0 \pm 0,31$  лет.

Среди обследованных женщин 17 (10%) находились в постменопаузе (в контрольной группе 5 (10%), в подгруппе CIN I – 4 (10%), в подгруппе CIN II p16-негативных – 4 (10%), в подгруппе с CIN II p16-позитивных и CIN III – 4 (10%)), статистически значимых различий между группами не выявлено. У менструирующих женщин продолжительность менструального цикла

составила 25-33 дня, статистически значимых различий между группами не выявлено. Средняя длительность менструации составила 4-6 дней, статистически значимых различий между группами также не выявлено.

Средний возраст начала половой жизни выявил, что у каждой второй (53,3%) обследованной женщины в основной группе первый сексуальный опыт был в возрасте до 17 лет, статистически значимые различия между группами I и II. Половой дебют в возрасте от 18 до 24 лет указывает от 30% до 46 % женщин в каждой группе, в возрасте 25 лет и старше от 15% в подгруппе CIN II p16-негативных и CIN II p16-позитивных и CIN III до 24% в контрольной группе. (таблица 7), статистически значимых различий между группами I и II.

Таблица 7 – Возраст начала половой жизни

Группа \ Коитархе	до 17 лет	18-24 лет	25 и старше
контрольная (n= 50)	15(30%)*	23(46%)**	12(24%)***
CIN I (n=40)	21(52,5%)	12(30%)	7(17,5%)
CIN II p16-негативные (n=40)	22(55%)	12(30%)	6(15%)
CIN II p16-позитивные и CIN III (n=40)	21(52,5%)	13(32,5%)	6(15%)

Примечание: \*,\*\*,\*\*\* статистически значимые различия между показателями при сравнении группы I с подгруппами IIА,IIIВ и IIIС (p<0,05)

Нами проведена оценка количества имевшихся ранее половых партнёров у пациенток (таблица 8). У каждой второй пациентки основной группы было три и более половых партнёров (62,5%, 57,5% и 67,5% соответственно), в то же время в контрольной группе преобладала моногамность половой жизни в два раза.

Нами получена статистически значимая разница между показателями количества половых партнеров при сравнении контрольной группы с подгруппами CIN I, CIN II p16-негативных, CIN II p16-позитивных и CIN III ( $p < 0,05$ ).

Таблица 8 – Сексуальный опыт в анамнезе обследованных женщин

Группа	число половых партнеров		
	1	2	3 и более
Контрольная (n= 50)	20(56%)*	18(20%)	12 (24%)**
CIN I (n=40)	4(10%)	11(27,5%)	25(62,5%)
CIN II p16-негативные (n=40)	7(17,5%)	10(25%)	23(57,5%)
CIN II p16-позитивные и CIN III (n=40)	5(12,5%)	8(20%)	27(67,5%)

Примечание: \*, \*\*статистически значимые различия между показателями при сравнении группы I с подгруппами IIА, IIВ и IIС ( $p < 0,05$ )

При оценке используемых методов контрацепции мы получили, что каждая третья женщина на момент осмотра использовала барьерный метод (презерватив) (40,5%), каждая четвертая - комбинированные оральные контрацептивы (16,4%). Не использовали контрацепцию 49 женщины (28.8%), так как 5 (3%) пациенток планировали беременность, у 17 (10%) – период постменопаузы.

Таблица 9 – Виды используемой контрацепции обследованных женщин

Метод контрацепции / Группа	Не использовали контрацепцию	Барьерный метод контрацепции	КОК	ВМС	Спермициды
контрольная (n= 50)	4 (8%)	35* (70%)	10 (20%)	1 (2%)	0
CIN I (n=40)	18** (45%)	10 (25%)	6 (15%)	4 (10%)	2 (5%)
CIN II p16-негативные (n=40)	14 (35%)	12 (30%)	7 (17,5%)	4 (10%)	3 (7,5%)
CIN II p16-положительные и CIN III (n=40)	13 (32,5%)	12 (30%)	5 (12,5%)	6 (15%)	4 (10%)

Примечание: \*статистически значимые различия между показателями при сравнении группы I с группами IIА, IIВ и IIС (p<0,05)

\*\*статистически значимые различия между показателями при сравнении подгруппы IIА с группой I, подгруппами IIВ и IIС (p<0,05)

Нами изучены особенности репродуктивной функции обследованных женщин (таблица 10)

Таблица 10 – Репродуктивная функция обследованных женщин

Группа	Отсутствие беременности	Искусственный медицинский аборт в сроке беременности до 12 нед.			Роды через естественные родовые пути	Самопроизвольный аборт в сроке беременности до 22 нед.	Внематочная беременность
		1	2	3 и более			
Контрольная (n= 50)	10 (10%)	2* (4%)	2* (4%)	1* (2%)	44** (88%)	7 (14%)	-
CIN I (n=40)	7 (17,5%)	11 (27,5%)	11 (27,5%)	9 (22,5%)	30 (75%)	6 (15%)	2 (5%)

CIN II p16- негативные (n=40)	8 (20%)	10 (25%)	12 (30%)	12 (30%)	32 (80%)	6 (15%)	1 (2,5%)
CIN II p16- позитивные и CIN III (n=40)	9 (22,5%)	13 (32,5%)	10 (25%)	11 (27,5%)	32 (80%)	5 (12,5%)	-

Примечание: \*,\*\*статистически значимые различия между показателями при сравнении группы I с подгруппами IIА, IIВ и IIС (p<0,05).

Как видно из таблицы 10, во всех группах преобладают роды через естественные родовые пути. Искусственные аборты в сроке беременности до 12 недель в анамнезе чаще проводились в подгруппах IIА, IIВ и IIС. Анализ особенностей репродуктивной функции пациенток выявил статистически значимые различия между показателями при сравнении группы I с подгруппами IIА, IIВ и IIС (p<0,05).

Гинекологические заболевания в анамнезе чаще встречались в группе с заболеваниями шейки матки. В структуре гинекологических заболеваний (таблица 11) хронические сальпингиты и оофориты в анамнезе встречались практически у каждой четвертой женщины (22,5-25%) в основной группе, выявлены статистически значимые различия между показателями при сравнении подгруппы II с группой I, при сравнении подгруппы IIА с IIВ и IIС (p<0,05).

Таблица 11 – Заболевания женских половых органов у обследованных женщин в анамнезе

Диагнозы Группы	Миома матки	Функциональные кисты яичников	Сальпингит и оофорит	Послеродовый эндометрит
	Контрольная (n=50)	1* (2%)	2 (4%)	2 (4%)

CIN I (n=40)	8 (20%)	2 (5%)	10 <sup>**</sup> (25%)	2 <sup>***</sup> (5%)
CIN II p16- негативные (n=40)	6 (15%)	2 (5%)	8 (20%)	1 (2,5%)
CIN II p16- позитивные и CIN III (n=40)	8 (20%)	1 (2,5%)	9 (22,5%)	1 (2,5%)

Примечание:

\*статистически значимые различия между показателями при сравнении группы I с подгруппами ПА, ПВ и ПС ( $p < 0,05$ )

\*\* , \*\*\*статистически значимые различия между показателями при сравнении группы ПА с группой I, с подгруппами ПВ и ПС ( $p < 0,05$ )

Ранее лечение по поводу заболеваний шейки матки в контрольной группе получали 3 пациентки по поводу LSIL в объеме противовирусной терапии. В подгруппах CIN I, CIN II p16-негативных, CIN II p16-позитивных и CIN III женщины лечения по поводу заболеваний шейки матки ранее не получали.

Среди обследованных женщин жалобы распределились следующим образом:

Таблица 12 – Распределение жалоб обследованных женщин на момент осмотра

Жалобы Группа	Жалоб нет	Обильные слизистые выделений из половых путей	«Контактные» кровянистые выделения из половых путей
контрольная (n=50)	50 <sup>*</sup> (100%)	-	-
CIN I (n=40)	14 (35%)	26 <sup>**</sup> (65%)	-
CIN II p16- негативные (n=40)	23 (57,5%)	17 (42,5%)	-
CIN II p16- позитивные и CIN III (n=40)	21 (52,5%)	13 (32,5%)	6 <sup>***</sup> (15%)

Примечание: \*статистически значимые различия между показателями при сравнении группы I с подгруппами ПА, ПВ и ПС ( $p < 0,05$ )



\*\*статистически значимые различия между показателями при сравнении подгруппы ПА с группой I, подгруппами ПВ и ПС ( $p < 0,05$ )

\*\*\*статистически значимые различия между показателями при сравнении подгруппы ПС с группой I, подгруппами ПА и ПВ ( $p < 0,05$ )

Как видно из таблицы 12, чаще женщины жалоб не предъявляли (108 (63,5%) женщин). Жалобы на обильные слизистые выделения из половых путей были выявлены только у 56 (33%) пациенток. Выделения носили различный характер: бели у 30 человек (17,6%), гомогенные, с запахом у 26 женщин (15,2%). Статистически значимые различия выявлены при сравнении подгруппы ПА с группой I, подгруппами ПВ и ПС ( $p < 0,05$ ). В подгруппе с CIN II р16-позитивных и CIN III у 6 (3,5%) появляются жалобы на «контактные» кровянистые выделения из половых путей (статистически значимые различия между показателями при сравнении подгруппы ПС с группой I, подгруппами ПА и ПВ ( $p < 0,05$ )).

#### **Резюме:**

Проведенное исследование не позволило определить закономерностей по возрасту обследованных женщин, социальному статусу, антропометрическим показателям, возрасту наступления менархе и особенностям менструальной функции, экстрагенитальных заболеваний в анамнезе.

Статистически значимые различия определены по частоте перенесенных ранее ветряной оспе, коревой краснухе. Также в группе пациенток с заболеваниями шейки матки количество половых партнеров, частота гинекологических воспалительных заболеваний половых органов в анамнезе значительно выше, чем в контрольной группе. Отмечается более раннее начало половой жизни.

У большинства женщин заболевания шейки матки протекали бессимптомно.

## Глава III. Результаты лабораторных и инструментальных методов исследования

### 3.1. Характеристика биоценоза влагалища и результаты обследования на инфекции, передаваемые половым путём, определение вирусной нагрузки методом ПЦР «Real-time»

Исследование биоценоза влагалища проводили методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени с использованием реагентов «Фемофлор - 16».

Таблица 13 – Результаты исследования биоценоза влагалища у женщин с заболеваниями шейки матки

Показатели Группа	Нормоценоз	Промежуточный тип мазка	Дисбиоз влагалища	Вагинит (воспалительный тип мазка)
Контрольная группа (n= 50)	50* (100%)	-	-	-
CIN I (n= 40)	2 (5%)	3 (7,5%)	15 (37,5%)	20** (50%)
CIN II p16- негативные (n= 40)	3 (7,5%)	10 (25%)	16 (40%)	11 (27,5%)
CIN II p16- позитивные и CIN III (n= 40)	3 (7,5%)	7 (17,5%)	15 (37,5%)	15 (37,5%)

Примечание: \*статистически значимые различия между показателями при сравнении группы I с группой II ( $p < 0,05$ )

\*\*статистически значимые различия между показателями при сравнении подгруппы IIА с подгруппами IIВ и IIС ( $p < 0,05$ )

Проведённые исследования показали, что нарушение биоценоза влагалища определяется у 112 (93,3%) женщин. Практически у каждой второй женщины (76,6%) выявлен дисбиоз влагалища, в группе с CIN I он встречается в два раза чаще, чем в других. При оценке аэробной и анаэробной условно-патогенной микробиоты анаэробный дисбиоз (*Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Porphyromonas spp.*, *Eubacterium spp.*,

Sneathia spp., Leptotrihia spp., Fusobacterium spp., Megasphaera spp., Veillonella spp., Dialister spp., Lachnobacterium spp., Clostridium spp., Mobiluncus spp., Corynebacterium spp., Peptostreptococcus spp., Atopobium vaginae) выявлен у 45 женщин (50%), смешанный (аэробно-анаэробный) – у 30 пациенток (33,3%), аэробный дисбиоз (Enterobacteriaceae, Streptococcus spp., Staphylococcus spp.) – 15 человек (16,7%).

В структуре нарушений биоценозов влагалища кроме аэробных и анаэробных микроорганизмов, важную роль играют Candida albicans, Ureaplasma urealiticum и Mycoplasma genitalium. Анализ этиологической структуры выявленного дисбаланса продемонстрировал преобладание Ureaplasma urealiticum у 29 человек (24%) и Candida albicans – у 21 женщины (17,5%), Mycoplasma genitalium – 9 пациенток (7,5%). Смешанные формы регистрируются значительно реже: Ureaplasma urealiticum и Candida albicans у 9 обследованных (7,5%), Mycoplasma genitalium и Candida albicans у 6 (5%), Mycoplasma genitalium и Ureaplasma urealiticum у 4 (3,3%) (таблица 14).

Таблица 14 – условно – патогенная флора, выявленные у женщин с заболеваниями шейки матки

Генитальная инфекция Группа	Mycoplasma genitalium ≥10 <sup>4</sup> КОЕ/мл	Ureaplasma urealiticum ≥10 <sup>4</sup> КОЕ/мл	Candida albicans
CIN I (n= 40)	7(17,5%)	15(37,5%)	14(35%)
CIN II p16- негативные (n= 40)	6(15%)	12(30%)	12(30%)
CIN II p16- позитивные и CIN III (n= 40)	6(15%)	15(37,5%)	10(25%)

Примечание: статистически значимых различий между подгруппами нет (p>0,05)

У 120 (100%) обследованных женщин с заболеваниями шейки матки был выявлен ВПЧ методом полимеразной цепной реакции. Полученные данные представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Результаты обследования женщин на ВПЧ

ВПЧ Группы	16 тип	18 тип
CIN I (n=40)	24 (60%)	28 (70%)
CIN II p16-негативные (n=40)	24 (60%)	26 (57,5%)
CIN II p16-позитивные и CIN III (n=40)	26 (65%)	30 (75%)

Примечание: статистически значимых различий между подгруппами нет ( $p > 0,05$ )

Анализ данных по ВПЧ типированию показал, что серотипы высокоонкогенных типов вируса 16 и 18 определялись у всех пациенток в основной группе. Сочетание различных типов вирусов отмечено у каждой третьей пациентки (31,6%).

Также у каждой третьей женщины ВПЧ сочетался с *Ureaplasma urealyticum*  $\geq 10^4$  КОЕ/мл – у 32,5% больных, с *Mycoplasma genitalium*  $\geq 10^4$  КОЕ/мл – у 16,5% пациенток. Статистически значимых различий в подгруппах не выявлено ( $p \geq 0,05$ ).

При выявлении вируса папилломы человека пациенткам проводили определение количественной концентрации ДНК ВПЧ методом двойной генной ловушки – Digene Hybrid Capture System II (НСII). Вирусная нагрузка в клинически значимой концентрации определена у 34 (28,3%) обследованных, клинически малозначимые концентрации ( $\lg < 3$ ) – у 27

(22,5%) женщин, у 25 (20,8 %) пациенток результат исследования был ниже линейного диапазона измерения (таблица 16).

Таблица 16 – Количественное определение ВПЧ у женщин с заболеваниями шейки матки

Вирусная нагрузка метод Real-time Группы	Ниже линейного диапазона (0-1000)	lg<3	lg 3-5	lg>5
CIN I (n=40)	10(25%)*	7(17,5%)	5(12,5%)	2(5%)
CIN II p16- негативные (n=40)	7(17,5%)	10(25%)	10(25%)	2(5%)
CIN II p16- позитивные и CIN III (n=40)	8(20%)	10(25%)	12(30%)**	3(7,5%)

Примечание: \*\* - разница между показателями в сравниваемых подгруппах статистически значима при сравнении подгрупп CIN I и с CIN II p16-позитивных и CIN III ( $p < 0,05$ ).

Число женщин с клинически значимой вирусной нагрузкой преобладает в подгруппе пациенток CIN II p16-позитивных и CIN III, а в подгруппе пациенток с CIN I - с показателем ниже линейного диапазона.

Таким образом, в исследуемых подгруппах количество женщин, инфицированных ВПЧ, и уровень значений вирусной нагрузки прямо коррелирует со степенью гистологической тяжести заболевания.

Пациенткам, инфицированным ВПЧ, проводилось определение белков Е6 и Е7 в цервикальных пробах. Е6- и Е7-положительные пациентки преобладали в подгруппе CIN II p16-позитивных и CIN III (66,6%), в подгруппе пациенток CIN II p16-негативных данный показатель значительно ниже (48,4 %). У женщин с CIN I в цервикальных пробах онкобелки не выявлены.

У 40,1% пациенток онкобелки E6 и E7 16-го и 18-го типов ВПЧ были отрицательными. Это может свидетельствовать о том, что ВПЧ находился в клетке в эписомальной форме либо заболевание шейки матки развилось на фоне других высокоонкогенных типов ВПЧ

Таблица 17 – Определение белков E6 и E7 в цервикальных пробах ВПЧ – инфицированных женщин

Количество ВПЧ-инфицированных женщин	Положительный белок E7	Отрицательный белок E7
CIN I (n=24)	-	24* (100%)
CIN II p16-негативные (n=29)	13 (48,4%)	16 (51,6%)
CIN II p16-позитивные и CIN III (n=33)	22 (66,6%)	11 (33,3%)

Примечание: \* статистически значимые различия между подгруппой CIN I и CIN II p16-негативных и CIN II p16-позитивных и CIN III ( $p < 0,05$ ),

### **3.2. Характеристика цитологического исследования мазков-соскобов с шейки матки с иммуноцитохимическим исследованием онкомаркера p16**

Материал для цитологического исследования забирался из цервикального канала и экзоцервикса. В результате проведённого исследования мы получили несколько типов мазков-соскобов.

1. Скопление клеток плоского эпителия, высокого цилиндрического эпителия, отдельно расположенные ядра (голые ядра), эритроциты и лейкоциты.

2. Дистрофические изменения клеточных элементов: укрупнение и бледность ядер, вакуолизация цитоплазмы, многоядерность, многочисленные лейкоциты, гистициты и лимфоциты.

3. Среди неизменённого плоского эпителия определялись зрелые клетки с крупными ядрами, лежащие разрозненно или скоплениями. Сохранены признаки дифференцировки цитоплазмы, характерные для поверхностных слоёв. Ядра слабогиперхромные, ядрышки отсутствуют.

4. Форма и размер клеток по типу незрелой плоскоклеточной метаплазии, но с более крупными ядрами. Цитоплазма с чёткими контурами, ядра гиперхромные с зернистой структурой хроматина, ядрышки отсутствуют.

5. Клетки с чёткими контурами цитоплазмы, резко увеличенным ядром – плацентарным отношением. Единичные ядра имеют грубозернистый хроматин, ядрышки отсутствуют. Определялась выраженная атипия парабазальных клеток.

6. p16-негативный или p16-позитивный результат.

Результаты исследования оценивались по классификационной системе Папаниколау в соотношении с классификацией Бетесда (2011г.).

Таблица 18 – Результаты цитологического исследования мазков-соскобов с шейки матки обследованных женщин

Цитологическое исследование		Подгруппа IA (n= 40)	Подгруппа IB (n= 40)	Подгруппа IC (n= 40)
Система Папаниколау	Система Бетесда			
I Class Норма	Норма	4 (10%)*	2 (5%)	1 (2,5%)
II Class Воспаление, доброкачественные и реактивные изменения	Негативные в отношении интраэпителиально го поражения или злокачественности (независимо от воспаления,	14 (35%)*	4 (10%)	2 (5%)

	доброкачественных и реактивных изменений)			
III a Class Атипичные клетки неопределённого значения: • плоскоклеточные; • железистые.	ASCUS (вероятные реактивные изменения) ASCH (вероятные диспластические изменения) AGC	15 (37,5%) *	4 (10%)	3 (7,5%)
III b Class Дискариоз лёгкой степени  Дискариоз средней степени	LSIL (CIN I)  HSIL (CIN II), AGC	5 (12,5%)  2(5%)	26 (55%)*  2 (5%)	5 (12,5%)  11 (27,5%) *
IV Class Дискариоз тяжёлой степени	HSIL (CIN III), AIS	-	2 (5%)	18 (45%)*

Примечание: \* - статистически значимые различия между подгруппами с CIN I и CIN II p16-позитивных и CIN III ( $p < 0,05$ ).

В подгруппе пациенток с CIN I ( $n=40$ ) патологические цитологические изменения были выявлены у 36 пациенток (90%). Среди них воспалительные изменения определялись у 14 (35%) пациенток, LSIL или HSIL были установлены 7 (17,5%) пациенткам.

Как видно из таблицы 18, большее число мазков расценивалось как Class II (воспаление, доброкачественные и реактивные изменения) у 14 пациенток



(35%) и Class III a (атипичные клетки неопределённого значения) у 15 (37,5%) женщин.

Чувствительность цитологического исследования в выявлении CIN I 72,5%.

В подгруппе пациенток CIN II p16-негативных патологические цитологические изменения на шейке матки были выявлены у 38 (95%) пациенток. При этом воспаление, доброкачественные и реактивные изменения определялись у 4 (10%) женщин, атипичные клетки неопределённого значения у 4 (10%) пациенток, дискариоз средней и тяжёлой степени у 4 (10%) обследованных.

В нашем исследовании чувствительность цитологического исследования в выявлении CIN II p16-негативных составила 55%.

При цитологическом исследовании подгруппы пациенток с CIN II p16-позитивных и CIN III патологических изменений не было выявлено у 1 женщины (2,5%). Цитограмма воспаления доброкачественных и реактивных изменений описывалась у 2 (5%) пациенток. Атипичные клетки неопределённого значения определяли у 3 (7,5%) обследованных. Предварительный диагноз LSIL был поставлен 5 (12,5%) женщинам.

Чувствительность цитологического метода исследования для диагностики CIN II p16-позитивных и CIN III составила 72,5%.

Белок p16 был выявлен у 36 (30%) женщин: в подгруппе с CIN II p16-позитивных и CIN III ( у 19 пациенток с CIN II, у 17 – с CIN III).

Таким образом, скрининговое цитологическое исследование показало низкую чувствительность в подгруппе с гистологически верифицированными изменениями CIN I и CIN II p16-негативных (55%), а в подгруппе CIN II p16-позитивных и CIN III была значительно выше – 72,5%.

### **3.3. Характеристика кольпоскопического исследования при заболеваниях шейки матки**

Пациенткам всех групп проводилась расширенная кольпоскопия.

При оценке кольпоскопической картины использовали классификацию, предложенную Номенклатурным Комитетом Международной Федерации по кольпоскопии и патологии шейки матки (IFSCPC), одобренную на 14 Всемирном Конгрессе IFSCPC (июль 2011, Рио де Жанейро, Бразилия).

Таблица 19 – Результаты кольпоскопического исследования у женщин с заболеваниями шейки матки

Кольпоскопический признак	CIN I (n= 40)	CIN II p16- негативные (n= 40)	CIN II p16- позитивные и CIN III (n= 40)
<b>Нормальная к/с картин</b>			
Нормальная зона трансформации:	22 (55%)*	12 (30%)	5 (12,5%)*
Эктопия цилиндрического эпителия	14 (35%)	7 (17,5%)	2 (5%)*
Многослойный плоский эпителий	-	-	-
Метапластический эпителий	8 (20%)	5 (12,5%)	3 (7,5%)*
<b>Аномальная к/с картина</b>			
Аномальный эпителий в зоне трансформации	18 (45%)*	28 (70%)	35 (87,5%)*
<b>Степень I (слабовыраженные поражения)</b>			
Тонкий ацетобелый эпителий (неровные границы)	15 (37,5%)	21 (52,5%)**	10 (25%)
Нежная мозаика	7 (17,5%)	8 (20%)	6 (15%)
<b>Степень II (выраженные изменения)</b>			
Плотный ацетобелый эпителий	3 (7,5%)	5 (12,5%)	23 (57,5%)*
Грубая мозаика	2 (5%)	4 (10%)	13 (32,5%)*
<b>Неспецифические изменения</b>			
Лейкоплакия	-	1 (2,5%)	-
Йод-негативная зона	24 (60%)	26 (65%)	24 (60%)
<b>Разное</b>			
Воспаление (Цервицит)	22 (55%)	25 (62,5%)	27 (67,5%)

Врожденная зона трансформации	1 (2,5%)	2 (5%)	2 (5%)
Экзофитная кондилома	-	-	1 (2,5%)

Примечание: \* - статистически значимые различия при сравнении групп с CIN I и с CIN II p16-положительных и CIN III ( $p < 0,05$ )

\*\* - статистически значимые различия при сравнении групп с CIN II p16-негативных с CIN II p16-положительных и CIN III ( $p < 0,05$ )

При кольпоскопическом исследовании у одной пациентки можно было наблюдать от одной до нескольких характерных кольпоскопических картин.

Как видно из таблицы 19, при обследовании подгруппы с CIN I нормальная кольпоскопическая картина была выявлена у 22 (55%) женщин. Аномальная кольпоскопическая картина встречалась у 18 (45%) пациенток, где преобладали слабовыраженные изменения I степени у 15 (37,5%) обследованных. Признаки воспаления определялись у 22 (55%) женщин. Чувствительность метода расширенной кольпоскопии для диагностики заболеваний шейки матки подгруппы с CIN I 45%.

В подгруппе пациенток с CIN II p16-негативных нормальная кольпоскопическая картина была выявлена у 12 (30%). При аномальной кольпоскопической картине чаще встречались слабовыраженные изменения I степени у 21 (52,5%) женщин. У 2 (5%) обследованных определялись неспецифические изменения в виде лейкоплакии и йод-негативной зоны на многослойном плоском эпителии, который не реагировал на раствор 3% уксусной кислоты. Чувствительность метода расширенной кольпоскопии для диагностики CIN II p16-негативных составила 70%.

В подгруппе пациенток с CIN II p16-позитивных и CIN III нормальная кольпоскопическая картина была выявлена у 5 (12,5%) пациенток. При аномальной кольпоскопической картине чаще встречались выраженные изменения II степени у 23 (57,5%) обследованных. У 1 (2,5%) пациентки выявлена плоская кондилома на шейке матки, которая выглядела розовым возвышением, очаговая, при пробе с 3% раствором уксусной кислоты резко белела, определялся симптом «жемчужины».

Чувствительность кольпоскопического исследования в подгруппе пациенток с CIN II p16-позитивных и CIN III составила 87,5%.

У каждой второй женщины во всех подгруппах (55%, 62,5% и 67,5% соответственно) встречались другие кольпоскопические картины в виде воспаления (неровный рельеф поверхности шейки матки, незначительная гиперемия вокруг наружного зева, участки ацетобелого эпителия с нежной

пунктацией и мозаикой, чётко ограниченными или расплывчатыми йод-негативными участками) [67, 70, 92].

Анализ данных показывает, что наибольшую чувствительность метод кольпоскопического исследования шейки матки показал в подгруппе пациенток с CIN II p16-позитивных и CIN III (87,5%). Также необходимо отметить, что в исследуемых подгруппах степень выраженности кольпоскопических признаков изменений эпителия прямо коррелирует со степенью гистологической тяжести заболевания.

### **3.4. Характеристика результатов гистологического исследования биоптатов шейки матки**

Гистологическое исследование участков шейки матки проводилось 120 женщинам с заболеваниями шейки матки, выявленными при гинекологическом осмотре, цитологическом и кольпоскопическом исследовании шейки матки. Данный этап обследования был завершающим в диагностике заболеваний шейки матки, на его основании проводилась верификация диагнозов и деление пациенток на группы.

Результаты гистологических исследований биоптатов шейки матки трактовались согласно гистологической классификации опухолей женских половых органов, 1994 г. (таблица 20):

Таблица 20 – Результаты гистологического исследования биоптатов шейки матки обследованных женщин

Морфологические формы	Количество пациенток
CIN I	40(23,5%)
CIN II	59 (34,7%)
CIN III	21 (12,3%)
Эктропион	19 (15,8%)
Эктопия	41 (34,2%)

Хронический цервицит	39 (32,5%)
Плоская кондилома	1 (0,8%)

Как видно из таблицы 20, в результате исследования у 40(23,5%) пациенток выявлены CIN I, у 59 (34,7%) - CIN II, у 21 (12,3%) - CIN III.

Анализ результатов гистологических исследований биоптатов шейки матки позволил выявить у пациенток сочетание различных морфологических форм. Так эктопия сочеталась с хроническим цервицитом у 32 (26,7%) обследованных, с CIN I – у 16 (13,3%), с CIN II – у 12 (10%), CIN III – у 7(5,8%). На фоне эктропиона у 22 (18,3%) выявлен хронический цервицит, у 8(6,6%) – CIN I, у 4(3,3%) – CIN II, у 3 (2,5%) – CIN III. У 1 (0,8%) пациентки в подгруппе CIN II p16-положительных и CIN III выявлено сочетание эктопии, хронического цервицита, CIN III и плоской кондиломы. В подгруппе с CIN I и CIN II p16-негативных у 1 (0,8%) обследованной выявлены хронический цервицит, эктопия, CIN I. Полученные нами результаты подтверждают данные о том, что цилиндрический эпителий шейки матки наиболее чувствителен к инфекционным агентам и является фоном для развития заболеваний шейки матки.

### **Резюме:**

Оценка результатов лабораторных методов исследования показала, что нами получены статистически значимые различия между подгруппами при определении видов ИППП и условно-патогенной флоры, выявленных у женщин с заболеваниями шейки матки. Наибольшее число инфицированных женщин встречалось в подгруппе CIN II p16-положительных и CIN III, чаще в виде микст-инфекции.

Чувствительность цитологического исследования в подгруппе больных с CIN I – 72,5%, в подгруппе больных с CIN II p16-негативных – 55 %, в подгруппе больных с CIN II p16-положительных и CIN III – 72,5%.

Чувствительность кольпоскопического метода в подгруппе с CIN I 45%, в подгруппе пациенток с CIN II p16-негативных – 70%, в подгруппе пациенток с CIN II p16-позитивных и CIN III – 87,5%.

#### **Глава IV. Инфракрасная Фурье спектроскопия сыворотки крови в диагностике заболеваний шейки матки**

Теоретическим обоснованием исследования является гипотеза о наличии в сыворотке крови количественно-качественных соотношений веществ, несущих информацию о нарушении метаболических соотношений при реактивных изменениях клеток. Сюда могут быть отнесены как уже установленные в ранее выполненных работах изменения соотношений фосфоросодержащих продуктов клеточного метаболизма (фосфолипидов, фосфорилированных белков, макроэргов), повышение содержания карбонильных групп белков в плазме и в эритроцитах крови при онкологических заболеваниях, так и изменения соотношений других химических элементов метаболизма, нарушенных в результате деструктивных процессов в тканях [10, 11, 12, 19, 45, 46, 52, 54, 113].

В ходе проведённой работы исследовано 120 образцов сыворотки крови пациенток с заболеваниями шейки матки и 50 образцов сыворотки крови женщин с отсутствием заболеваний шейки матки методом ИК-спектроскопии.

Ранее в исследованиях Д.В. Першина (2008) были получены данные, что у женщин репродуктивного возраста фаза менструального цикла не влияет на показатели ИК-спектроскопии [52, 54], поэтому у пациенток кровь забиралась однократно в момент обращения. Инфракрасные спектры сыворотки крови снимались и исследовались в диапазоне от 770 до 2950 см<sup>-1</sup>. В каждом из 170 спектров (120 спектров сыворотки крови пациенток с заболеваниями шейки матки и 50 спектров сыворотки крови женщин



контрольной группы) было проанализировано 617526 возможных комбинаций инфракрасных параметров.

В группе женщин с отсутствием заболеваний шейки матки получены следующие показатели спектрального анализа сыворотки крови:

1120  $\text{cm}^{-1}$  / 1010  $\text{cm}^{-1}$

1580  $\text{cm}^{-1}$  / 2821  $\text{cm}^{-1}$

1250  $\text{cm}^{-1}$  / 1190  $\text{cm}^{-1}$

1560  $\text{cm}^{-1}$  / 3250  $\text{cm}^{-1}$

1080  $\text{cm}^{-1}$  / 1010  $\text{cm}^{-1}$

1592  $\text{cm}^{-1}$  / 3003  $\text{cm}^{-1}$

1480  $\text{cm}^{-1}$  / 2846  $\text{cm}^{-1}$

1718  $\text{cm}^{-1}$  / 2962  $\text{cm}^{-1}$

1040  $\text{cm}^{-1}$  / 1010  $\text{cm}^{-1}$

1650  $\text{cm}^{-1}$  / 3000  $\text{cm}^{-1}$

1040  $\text{cm}^{-1}$  / 1180  $\text{cm}^{-1}$

1120  $\text{cm}^{-1}$  / 1010  $\text{cm}^{-1}$

1040  $\text{cm}^{-1}$  / 940  $\text{cm}^{-1}$

1250  $\text{cm}^{-1}$  / 1190  $\text{cm}^{-1}$

1662  $\text{cm}^{-1}$  / 2967  $\text{cm}^{-1}$

При первичном анализе данных спектрального исследования сыворотки крови женщин с заболеваниями шейки матки нами было получено новое облако пиков полос поглощения, отличающееся от существующих в накопленной базе данных, созданной исследователями ФГБОУ ВО "ПИМУ" Минздрава России, занимающимися применением ИК – спектрометрией в диагностике заболеваний различных органов и систем (рисунок 3).

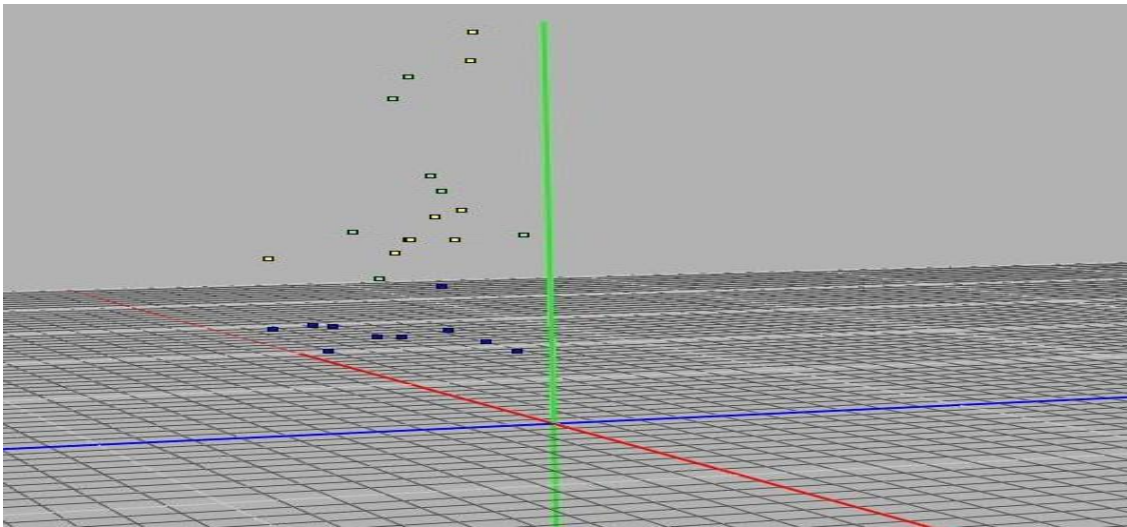


Рисунок 3: Облако пиков полос поглощения сыворотки крови женщин с заболеваниями шейки матки.

При дальнейшей оценке возможных вариантов комбинаций инфракрасных параметров удалось выделить в первоначальном облаке комплексов пиков полос поглощения образцов сыворотки крови 3 компонента.

Сопоставив данные инфракрасной спектроскопии и заключения гистологических исследований биоптатов шейки матки, мы получили, что первое облако включает в себя результаты исследования пациенток с CIN II и CIN III, второе – с CIN II, третье – с CIN I. Для наглядности каждое соответствие выделили цветом: I облако – синий, II облако – зелёный, III Облако – жёлтый.

Сопоставление полученных результатов с данными лабораторных и инструментальных методов исследования показало, что у пациенток с CIN II, попавших в облако с женщинами с CIN III, при обследовании был позитивный белок p16. Таким образом, в первое облако попали комплексы характеристических спектров поглощения сыворотки крови женщин с CIN II p16-позитивных и CIN III, второе – CIN II p16-негативных, третье – с CIN I.

Дальнейшая оценка результатов в различных вариациях систем координат дала нам возможность получить наиболее наглядное изображение и определить показатели спектрального анализа, характерные для каждой группы заболеваний.

На частоте  $X=1662/875$ ,  $Y=1415/1160$ ,  $Z=760/1265$  мы получили два облака (рисунок 4), где удалось дифференцировать CIN II p16-положительных и CIN III с CIN II p16-отрицательных.

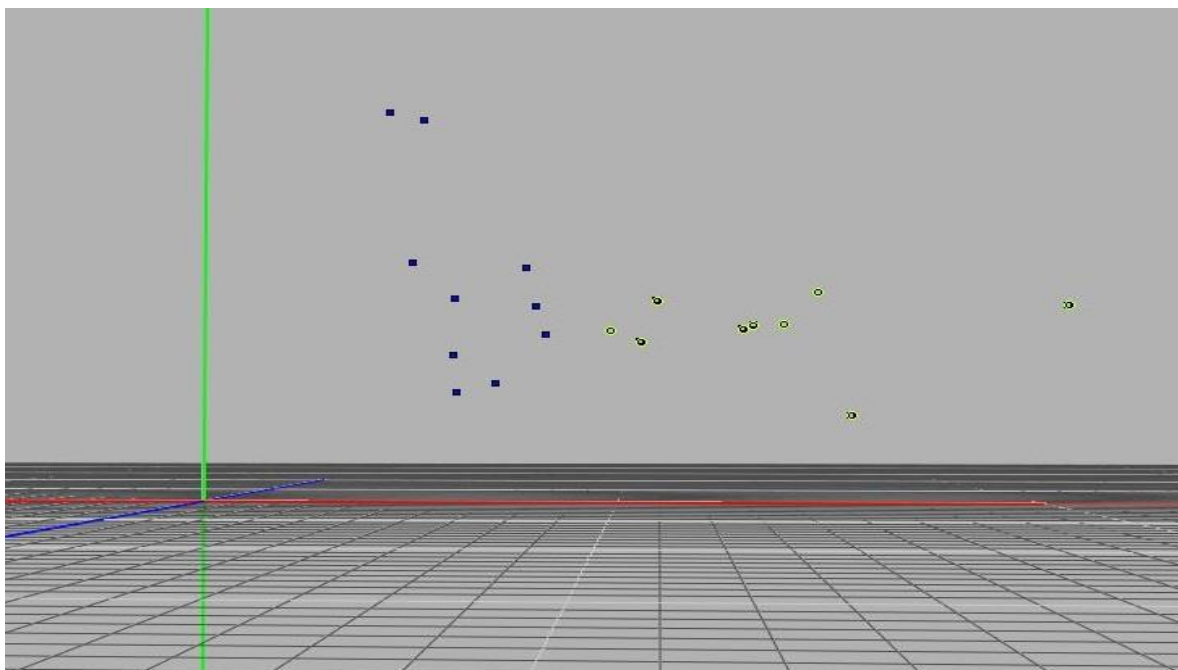


Рисунок 4. Синие точки - CIN II p16-положительные и CIN III, зелёные - CIN II p16-отрицательные.

На частоте  $X=1592/1230$ ,  $Y=1580/875$ ,  $Z=1560/1230$  удалось разделить CIN II p16-положительных и CIN III с CIN I (рисунок 5).

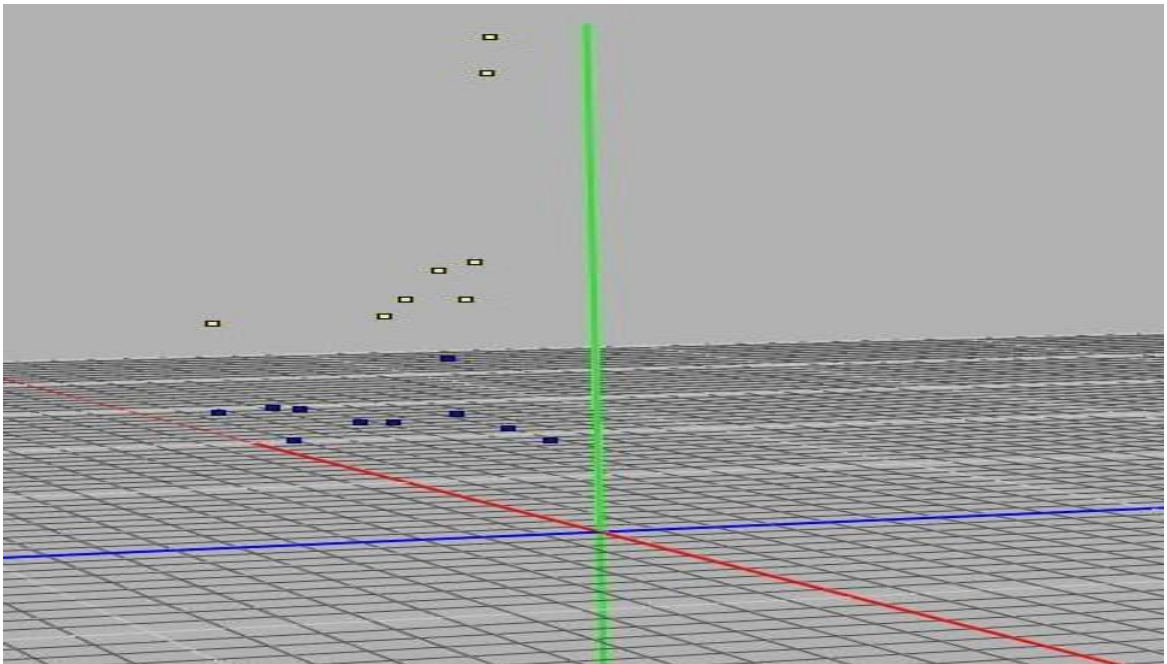


Рисунок 5. Синие точки - CIN II p16-положительные и CIN III, жёлтые - CIN I.

На частоте  $X=1592/1230$ ,  $Y=1580/1353$ ,  $Z=770/982$  CIN I с CIN II p16-негативных (рисунок 6).

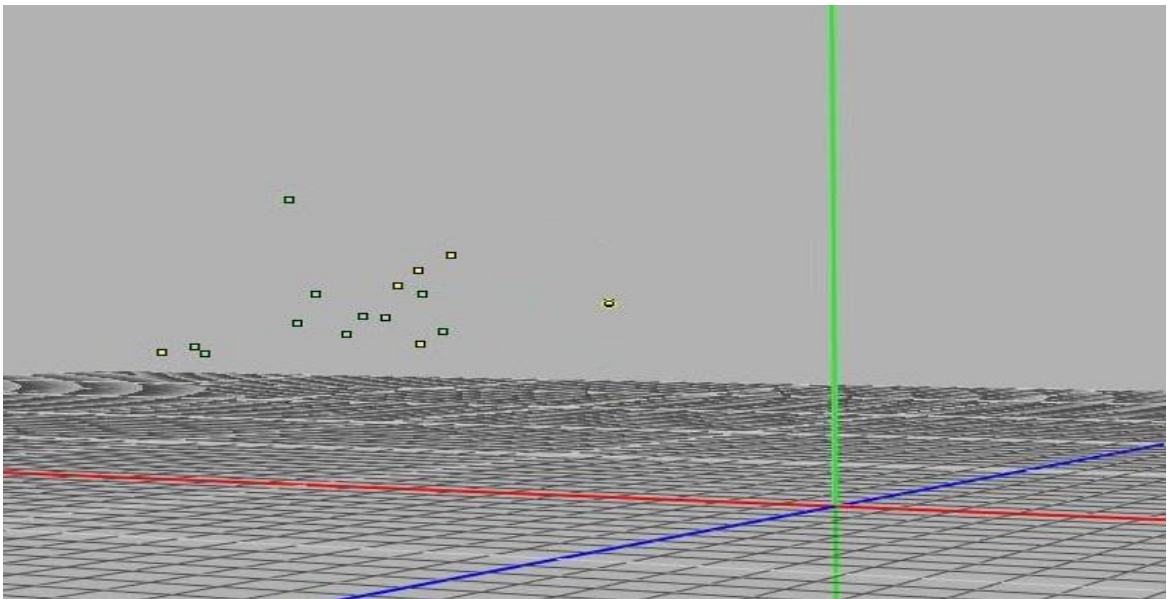


Рисунок 6. Жёлтые точки - CIN I, зелёные - CIN II p16-негативные.

С целью подтверждения специфичности полученных результатов, мы сравнили их с имеющейся накопленной базой спектральных характеристик сыворотки крови при злокачественных заболеваниях шейки матки.

При сравнении данных инфракрасной спектроскопии при раке шейки матки с полученными нами результатами при CIN I, CIN II p16-негативных,

CIN II p16-позитивных и CIN III мы получили отличия комплексов пиков полос поглощения сыворотки крови (рисунки 7, 8, 9, 10, 11).

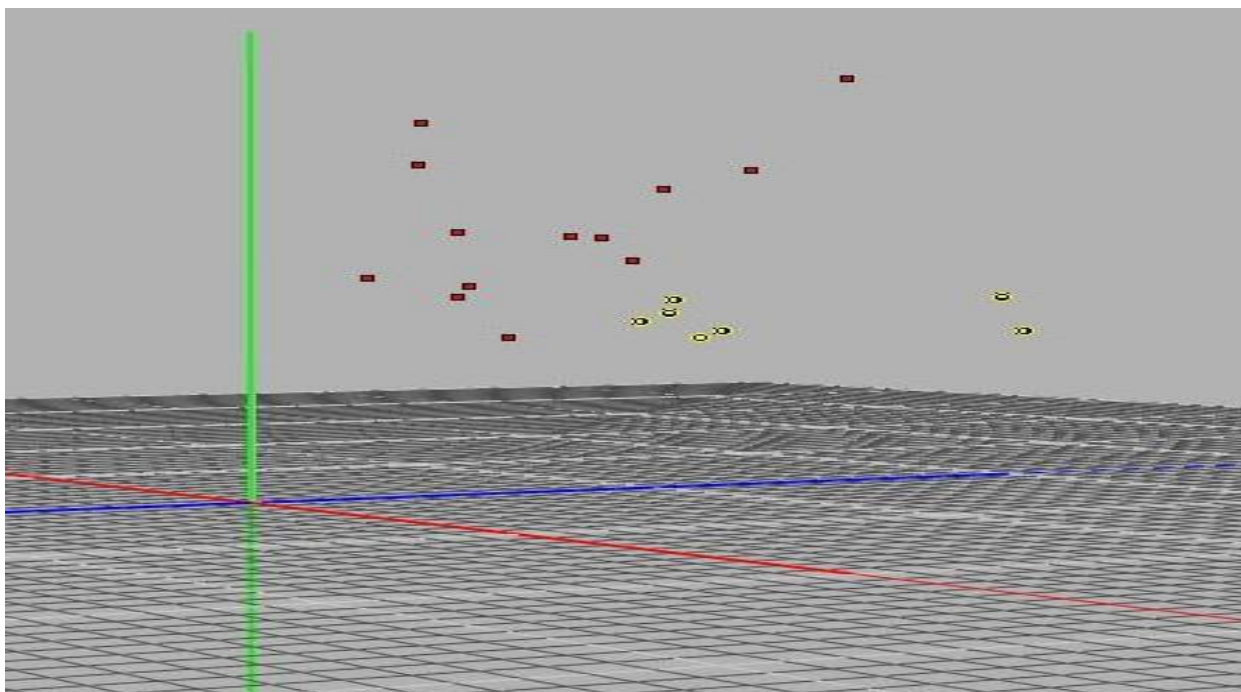


Рисунок 7. Красные точки рак шейки матки, жёлтые – CIN I.

Частота X=1662/926, Y=2924/1170, Z=1560/1353

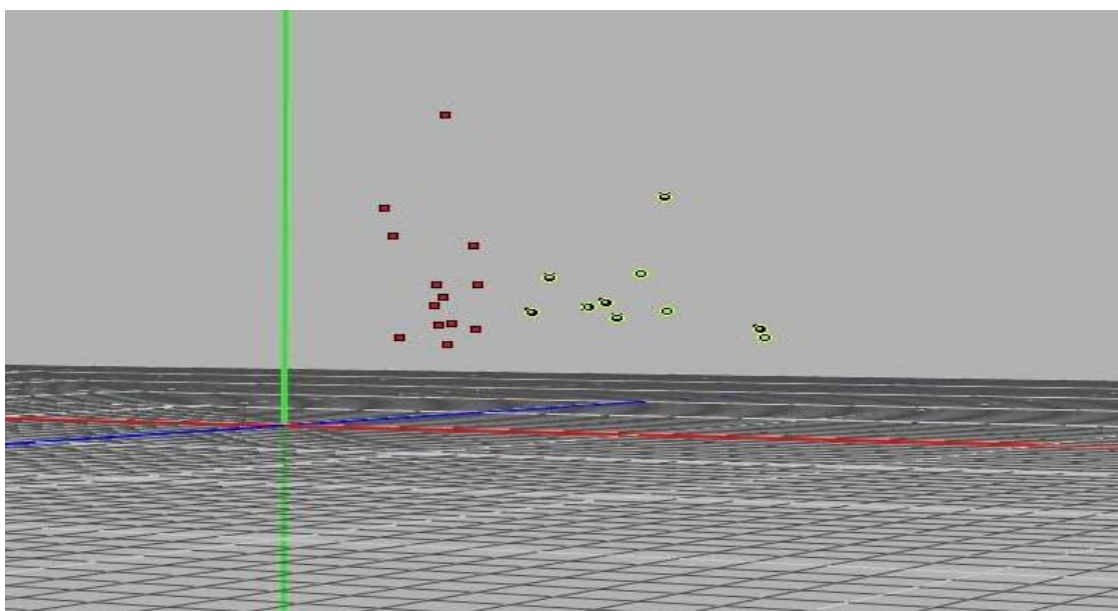


Рисунок 8. Красные точки рак шейки матки, зелёные - CIN II p16-негативные,

Частота X=1592/1230, Y=1592/1353, Z=760/982.

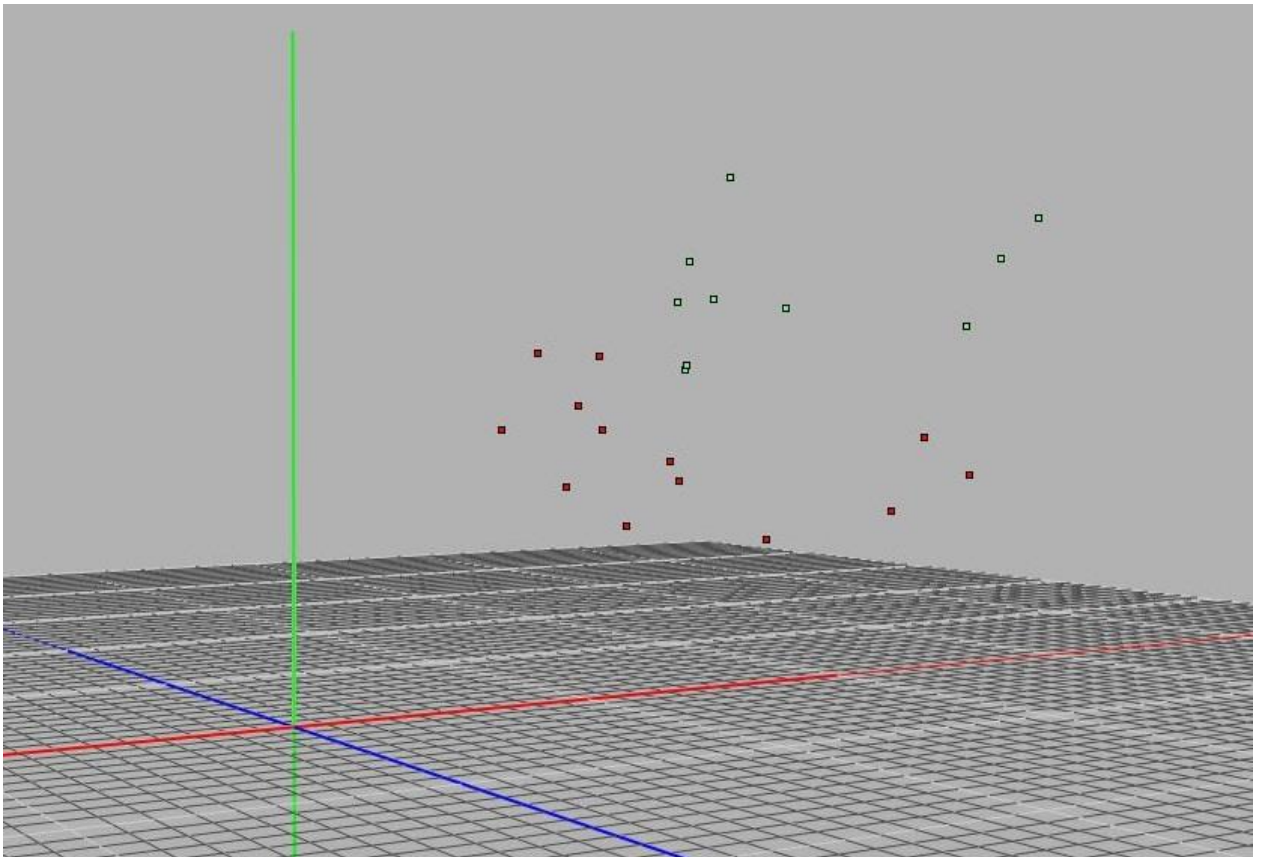


Рисунок 9. Красные точки рак шейки матки, зелёные - CIN I и CIN II p16-негативные  
 Частота  $X=1592/865$ ,  $Y=1592/1230$ ,  $Z=2924/865$ .

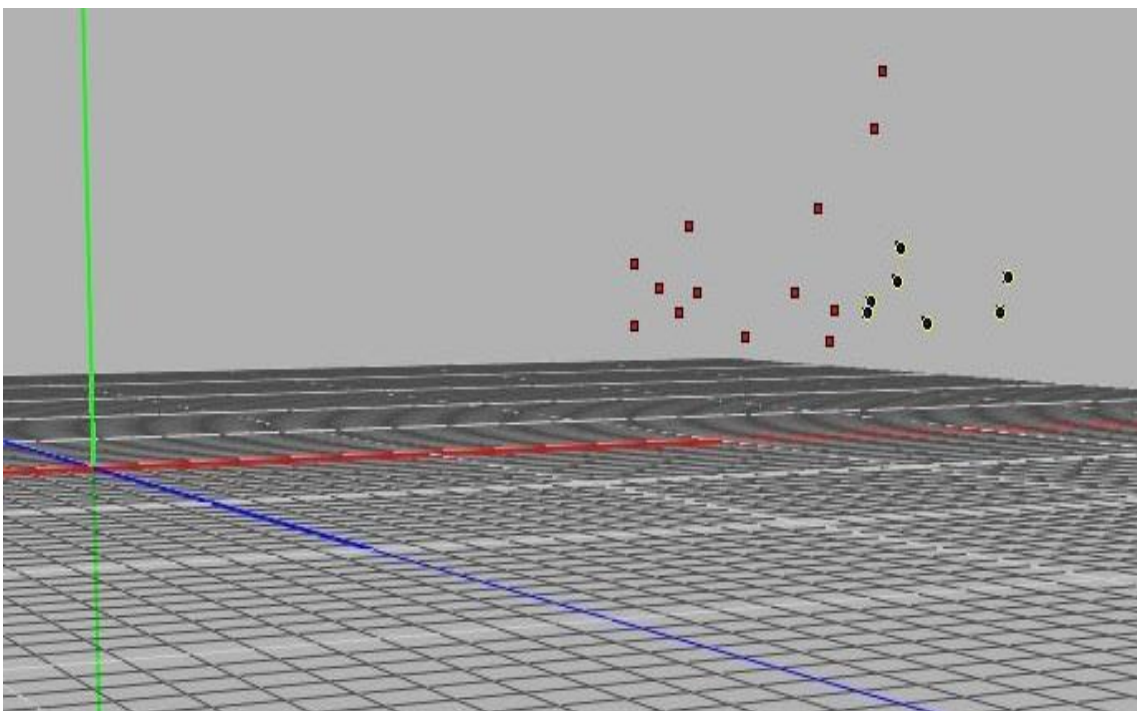


Рисунок 10. Красные точки рак шейки матки, синие - CIN II p16-позитивные и CIN III  
 Частота  $X=1592/926$ ,  $Y=1087/875$ ,  $Z=1446/982$ .

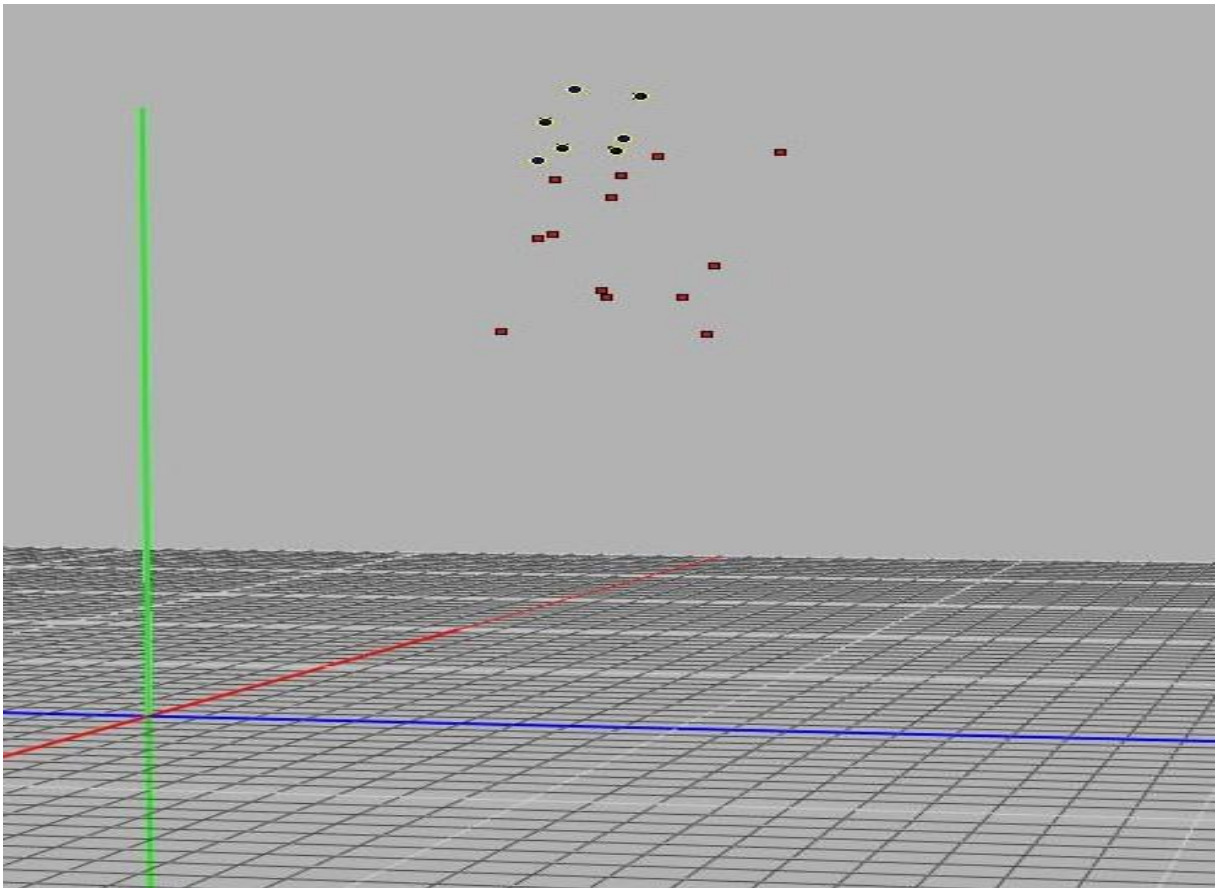


Рисунок 11. Красные точки рак шейки матки, синие - CIN II p16-положительные и CIN III  
Частота X=1592/875, Y=1580/926, Z=1050/1170.

Таким образом, в ходе исследования мы выделили комплексы пиков полос поглощения образцов сыворотки крови при заболеваниях шейки матки. Для диагностики CIN II p16-положительных и CIN III с другими заболеваниями шейки матки они составили:

- 1662  $\text{cm}^{-1}$  / 903  $\text{cm}^{-1}$ ,
- 1718  $\text{cm}^{-1}$  / 908  $\text{cm}^{-1}$ ,
- 1650  $\text{cm}^{-1}$  / 906  $\text{cm}^{-1}$ ,
- 1415  $\text{cm}^{-1}$  / 1160  $\text{cm}^{-1}$ ,
- 760  $\text{cm}^{-1}$  / 1265  $\text{cm}^{-1}$ ,
- 1592  $\text{cm}^{-1}$  / 884  $\text{cm}^{-1}$ ,
- 1580  $\text{cm}^{-1}$  / 882  $\text{cm}^{-1}$ ,
- 1560  $\text{cm}^{-1}$  / 917  $\text{cm}^{-1}$ ,
- 1592  $\text{cm}^{-1}$  / 926  $\text{cm}^{-1}$ ,

1087  $\text{cm}^{-1}$  / 875  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1446  $\text{cm}^{-1}$  / 982  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1050  $\text{cm}^{-1}$  / 1170  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1480  $\text{cm}^{-1}$  / 936  $\text{cm}^{-1}$ .

Нами впервые установлены комплексы характеристических соотношений частот инфракрасного спектра поглощения сыворотки крови для проведения диагностики CIN II р16-негативных:

1415  $\text{cm}^{-1}$  / 1160  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1718  $\text{cm}^{-1}$  / 1168  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1662  $\text{cm}^{-1}$  / 1288  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1650  $\text{cm}^{-1}$  / 1309  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1560  $\text{cm}^{-1}$  / 1887  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1480  $\text{cm}^{-1}$  / 1776  $\text{cm}^{-1}$   
760  $\text{cm}^{-1}$  / 1265  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1580  $\text{cm}^{-1}$  / 1295  $\text{cm}^{-1}$ ,  
770  $\text{cm}^{-1}$  / 982  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1592  $\text{cm}^{-1}$  / 1283  $\text{cm}^{-1}$ ,  
760  $\text{cm}^{-1}$  / 982  $\text{cm}^{-1}$ ,  
2924  $\text{cm}^{-1}$  / 865  $\text{cm}^{-1}$ .

Нами также впервые установлены комплексы характеристических соотношений частот инфракрасного спектра поглощения сыворотки крови для диагностики CIN I.

1592  $\text{cm}^{-1}$  / 1788  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1580  $\text{cm}^{-1}$  / 2025  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1560  $\text{cm}^{-1}$  / 2025  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1580  $\text{cm}^{-1}$  / 1353  $\text{cm}^{-1}$ ,  
770  $\text{cm}^{-1}$  / 982  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1662  $\text{cm}^{-1}$  / 1432  $\text{cm}^{-1}$ ,  
2924  $\text{cm}^{-1}$  / 1170  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1718  $\text{cm}^{-1}$  / 1468  $\text{cm}^{-1}$ ,



1650 см<sup>-1</sup>/1434 см<sup>-1</sup>,

1480 см<sup>-1</sup>/2466 см<sup>-1</sup>.

В процессе анализа результатов инфракрасной спектроскопии при заболеваниях шейки матки, нами не установлено влияние на них инфекционных агентов (ВПЧ, хламидий, микоплазм и т.д.).

В работе А.Н. Николаенко (2014) доказано, что сыворотка крови при доброкачественных и злокачественных опухолях костей отличаются друг от друга по уровню поглощения инфракрасного излучения на длине волны карбонильной группы белков (1650 см<sup>-1</sup>). Авторами регистрировались ИК – спектры сыворотки крови пациентов с заболеваниями костей, затем на длине волны карбонильной группы белков 1650 см<sup>-1</sup> определялся коэффициент поглощения [45,46].

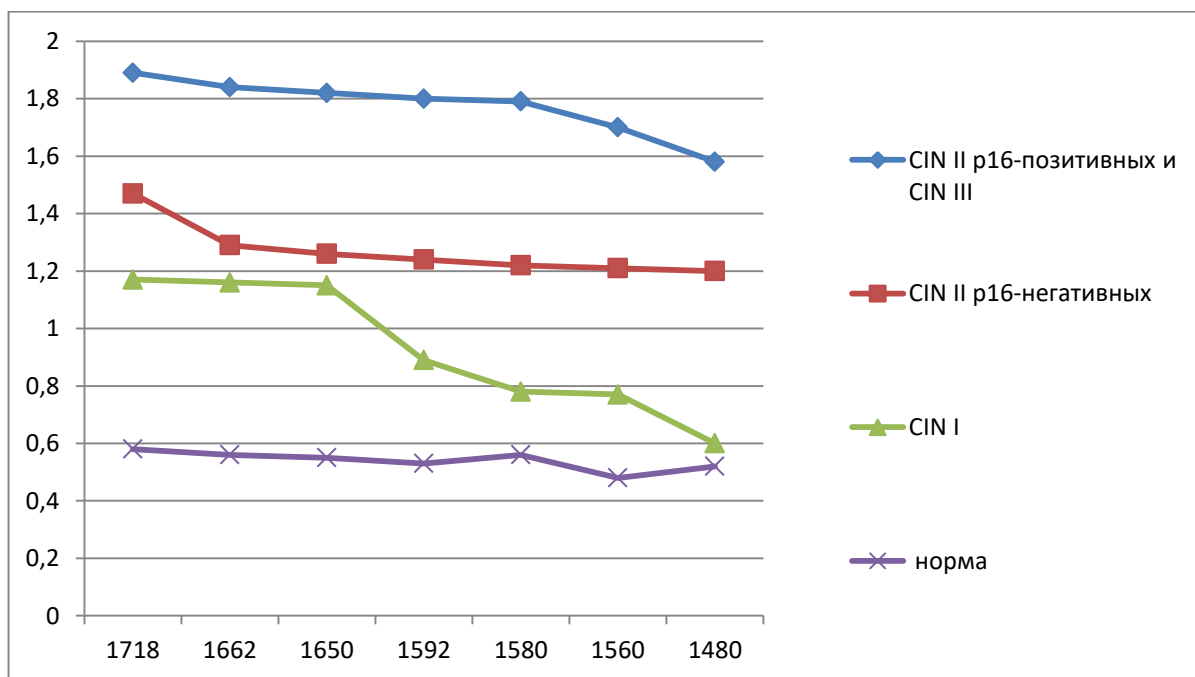
В диссертации Н.Ю. Бутавина (2014) приводится информация о спектрах отдельных компонентов, входящих в состав крови. Биохимические показатели крови являются величиной постоянной на протяжении продолжительных промежутков времени, поэтому нарушения в структуре белково-липидных комплексов и других составных частей крови можно выявлять методом инфракрасной спектроскопии, который с известным приближением позволяет судить об интенсивности водородных связей в молекулах. В белковых молекулах это проявляется частичным сдвигом в диапазонах поглощения групп -NH, -OH (1600-1480 см<sup>-1</sup>), -C=O (1750 - 1710, 1650 см<sup>-1</sup>). Свободные -C=O - группы дают линии поглощения в области 1670-1700 см<sup>-1</sup>, при взаимодействии с водородом - в диапазоне - 1630-1680 см<sup>-1</sup>. По интенсивности указанных полос можно судить о вторичной структуре белка и изменению количества водородных связей в биологических системах [9, 10, 11].

Учитывая приведенные выше данные, при дальнейшем анализе полученных комплексов пиков полос поглощения образцов сыворотки крови при заболеваниях шейки матки дополнительно были оценены изменения в области 1720-1480 см<sup>-1</sup>, где могут проявляться, по нашему мнению,

изменения в структуре белков сыворотки крови при заболеваниях шейки матки, проявляющиеся изменением коэффициента поглощения в данной области.

Для женщин с отсутствием заболеваний шейки матки в исследуемой области находятся комплексы пики полос поглощения образцов сыворотки крови 1718/2962, 1662/2967, 1650/3000, 1592/3003, 1580/2821, 1560/3250, 1480/2846  $\text{см}^{-1}$ , для подгруппы с CIN I находятся комплексы пики полос поглощения образцов сыворотки крови 1718/1468, 1662/1432, 1650/1434, 1592/1788, 1580/2025, 1560/2025, 1480/2466  $\text{см}^{-1}$ , для подгруппы CIN II p16-негативных - 1718/1168, 1662/1288, 1650/1309, 1592/1283, 1580/1295, 1560/1887, 1480/1776  $\text{см}^{-1}$ , для подгруппы CIN II p16-позитивных и CIN III - 1718/908, 1662/903, 1650/906, 1592/884, 1580/882, 1560/917, 1480/936  $\text{см}^{-1}$ .

Рисунок 12 - Коэффициент соотношения комплексов пиков полос поглощения сыворотки крови исследованных образцов в области 1720-1480  $\text{см}^{-1}$



Как видно из рисунка 12, коэффициент поглощения в заданной области для женщин с отсутствием заболеваний шейки матки составил 0,48- 0,58 , для пациенток с CIN I находился в пределах 0,6 -1,17; для пациенток с CIN II

p16-негативных – в пределах 1,2- 1,47, для пациенток с CIN II p16-позитивных и CIN III – в пределах 1,58-1,89.

Таким образом, интенсивность поглощения ИК- спектра в области 1720-1480 см<sup>-1</sup> у пациенток с CIN II p16-позитивных и CIN III значительно выше, чем у пациенток с с воспалительными заболеваниями шейки матки, что может свидетельствовать о более выраженных изменениях в структуре белков сыворотки крови при более интенсивном поражении эпителия шейки матки.

При сравнении коэффициента поглощения ИК – спектров в заданной области и экспрессии онкобелков E6 и E7 в цервикальных пробах пациенток, инфицированных ВПЧ, обнаружено, что у женщин с CIN II p16-позитивных и CIN III (66,6%), в подгруппе пациенток с CIN II p16-негативных данный показатель значительно ниже (48,4 %). В подгруппе пациенток с CIN I в цервикальных пробах онкобелки E6 и E7 16-го и 18-го типов были отрицательными. Это может свидетельствовать о большей чувствительности ИК – спектрометрии к изменениям в структуре белков при поражениях эпителия шейки матки.

Чувствительность спектрального анализа сыворотки крови в диагностике заболеваний данной группы составила 95%.

Для полного обследования женщины с заболеванием шейки матки в медицинском центре необходимо провести цитологическое исследование соскоба с шейки матки (стоимость сухой цитологии соскобов составляет 500 - 600 рублей, жидкостной цитологии с определением онкобелков – 2000 – 5000 рублей), расширенную кольпоскопию (стоимость 1300 – 1500 рублей), определение ВПЧ высокого онкогенного риска с генотипированием и количественным определением 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59 типов (стоимость 1500 – 2500 рублей), определение биоценозов влагалища (стоимость от 400 – 2500 рублей). Таким образом, пациентке необходимо потратить от 5700 до 12100 рублей. Стоимость инфракрасной спектрометрии

сыворотки крови в диагностических лабораториях стоит 2000 -2500 рублей. Следовательно, мы получаем экономическую выгоду более 50%.

### **Резюме:**

Найденные нами в работе комплексы пиков полос поглощения образцов сыворотки крови при с CIN I, CIN II p16-негативных, CIN II p16-позитивных и CIN III показывают существенное их различие между собой и раком шейки матки, не зависят от влияния инфекционных агентов, а также позволяют выделить группу здоровых женщин.

Таким образом, ИК-спектрометрия показала высокую чувствительность в диагностике заболеваний шейки матки. Учитывая малую инвазивность метода, низкую стоимость, высокую чувствительность, метод ИК-спектрометрии подходит для скринингового исследования заболеваний шейки матки в повседневной практике врача акушера-гинеколога.

## Глава V. Обсуждение полученных результатов

Проблеме ранней дифференциальной диагностики заболеваний шейки матки посвящено большое количество научных работ. Многие авторы для повышения эффективности скрининговой диагностики рекомендуют включать эфферентные методы (жидкостное цитологическое исследование соскоба с шейки матки, молекулярно-генетический, Digene-тест, TruScreen, морфологическое, иммуноцитохимическое и иммуногистохимическое исследование маркеров p16, Ki67, E6, E7, оптическая когерентная томография) [7, 9, 14, 48, 60, 142], однако они являются трудоёмкими и дорогостоящими. Поэтому в практической медицине в течение многих десятилетий основными методами диагностики данной группы заболеваний являются цитологическое исследование соскоба с шейки матки, расширенная кольпоскопия и биопсия шейки матки.

В то же время при применении всех перечисленных методов исследования у 8-10% больных не удаётся выявить патологические процессы на шейке матки. В связи с чем растёт частота запущенных форм злокачественных новообразований шейки матки [28, 61, 69, 77, 79]. Особенно выражена эта тенденция у молодых женщин в возрастной группе до 29 лет. Данный контингент представляет самую трудоспособную и репродуктивно активную часть населения, что имеет большое социальное значение [66, 70].

На основании традиционных методов диагностики заболеваний шейки матки 20-30% женщин ставится ложноположительный диагноз инвазивного рака шейки матки, что ведёт к гипердиагностике и необоснованным хирургическим вмешательствам [27, 47].

В настоящее время в России скрининговым методом диагностики заболеваний шейки матки является цитологическое исследование соскоба с шейки матки. При применении данного метода исследования получают удовлетворительные результаты в диагностике инвазивного рака шейки матки, так как разночтения в интерпретации высоких степеней поражения

минимальны. В ряде исследований показана недостаточная информативность цитологического скрининга в диагностике доброкачественных заболеваний шейки матки. Многие авторы считают, что точность диагноза при определении минимальных цитологических изменений оказывается низкой, так как степень цитологической атипии оценивается субъективно [14, 131]. В связи с чем, при дисплазии и преинвазивном раке метод даёт ложноотрицательный результат от 5 до 40% [8, 22, 23, 131]. Поэтому недопустимо высокие показатели запущенности отмечены при диагностике новообразований шейки матки.

В нашем исследовании чувствительность цитологического метода исследования в подгруппе больных с CIN I составила 72,5%, в подгруппе больных с CIN II p16-негативных – 55 %, в подгруппе больных с CIN II p16-позитивных и CIN III – 72,5%.

Кольпоскопический метод исследования является малоспецифичным методом диагностики, так как под любой кольпоскопической картиной атипического эпителия может скрываться вся гамма морфологических признаков эпителиальных неоплазий и преклинического рака [5]. Воспалительный процесс любого генеза затрудняет трактовку кольпоскопических картин, маскируя или имитируя предрак [7]. При кольпоскопическом исследовании незрелая метаплазия и дисплазия имеют одинаковые признаки, с целью их различия за последние 40 лет в литературе предлагались дополнительные кольпоскопические признаки дисплазий, но не один из этих признаков не обладает 100 % специфичностью, и не является в достаточной степени воспроизводимым [7, 66, 70, 77]. Также из-за невысокой специфичности индекс малигнизации варьирует в широких пределах от 1,3 до 52,2% [39]. В этой связи в соответствии с международными стандартами он не отнесён к скрининговым методам исследования.

Чувствительность кольпоскопического метода исследования в подгруппе с CIN I составила 45%, в подгруппе пациенток с CIN II p16-негативных – 70%, в подгруппе пациенток с CIN II p16-позитивных и CIN III – 87,5%.

Таким образом, весь комплекс используемых на сегодняшний день методов диагностики заболеваний шейки матки не может с достаточной степенью информативности провести дифференциальный диагноз между заболеваниями шейки матки, особенно на ранней стадии процесса.

Целью проводимой нами работы является дать научное обоснование возможности включения метода инфракрасной спектроскопии сыворотки крови в комплексную раннюю диагностику доброкачественных и предраковых заболеваний шейки матки.

Для решения поставленных цели и задач нами обследовано 170 женщин (50 женщин с отсутствием заболеваний шейки матки, 120 с заболеваниями шейки матки). Всем пациенткам проводилось углублённое изучение жалоб, анамнеза жизни и заболевания, общеклинические, гинекологические и специальные методы исследования. Кроме клинических методов обследования пациенток, применялись дополнительные: цитологическое исследование соскоба с шейки матки, расширенная кольпоскопия, ИК-спектроскопия и радиоволновая эксцизия шейки матки; обследование на ИППП; обследование на ВПЧ методом полимеразной цепной реакции, при выявлении вируса определялась вирусная нагрузка и уровень белков p16, E6 и E7.

В зависимости от результатов обследования пациентки были разделены на группы: в контрольную группу (группа I) вошли 50 женщин с отсутствием заболеваний шейки матки на момент обследования, в группу II – 120 женщин с заболеваниями шейки матки (подгруппа IIА – с CIN I (n=40), в подгруппу IIВ – с CIN II p16-негативных(n=40), подгруппу IIС – с CIN II p16-позитивных и CIN III(n=40).

Оценка социального статуса, антропометрических показателей женщин статистически значимых различий между группами не показала.

При изучении анамнеза обследованных, нами выявлено, что средний возраст женщин контрольной группы составил  $36,9 \pm 1,87$ , в подгруппе с CIN I –  $36,77 \pm 1,89$  года, в подгруппе с CIN II p16-негативных –  $36,72 \pm 1,45$ , в группе с CIN II p16-позитивных и CIN III –  $36,95 \pm 1,83$ . В каждой исследуемой группе преобладали пациентки в возрасте от 22 до 45 лет. Полученные данные согласуются с результатами исследования К. В. Марочко (2017) и других авторов, что заболевания шейки матки чаще встречаются и прогрессируют у женщин в возрасте до 40 лет [18, 37, 38, 40, 77, 79, 82].

При оценке менструальной функции женщин, обращалось внимание на возраст наступления менархе, регулярность и продолжительность менструального цикла. Средний возраст наступления менархе составил  $12,95 \pm 0,25$  лет. Среди обследованных женщин 17 (10%) находились в постменопаузе, статистически значимых различий между группами не выявлено. Характер менструального цикла у обследованных женщин был без нарушений, статистически значимых различий между группами также не выявлено.

Анализ репродуктивной функции обследованных показал, что в каждой группе преобладало наличие родов через естественные родовые пути и искусственных абортов в сроке беременности до 12 недель, что свидетельствует о травматизации шейки матки. Ранее многими авторами было установлено, что у каждой седьмой женщины заболевания шейки матки возникают на фоне выраженной деформации шейки матки, т.к. нарушается трофика и иннервация тканей [16, 30, 146].

По возрасту начала половой жизни женщин статистически значимые различия между группами I и II. Ранний половой дебют до 17 лет отмечается чаще (52,5%-55% случаев) у пациенток с заболеваниями шейки матки, чем в контрольной группе (30%). В то же время число женщин, отмечавших более позднее начало половой жизни (после 25 лет) в контрольной группы выше (24%), чем в основных (15% - 17,5%). Полученные результаты сопоставимы с



данными А.В. Шаргородской (2013 г.), Л. И. Линаск (2014 г.), К. В. Марочко (2017), когда возраст сексуального дебюта до 18 лет преобладает над более поздним началом половой жизни [37, 38, 80]. Авторы отмечают связь между физиологическими особенностями строения цервикального эпителия молодых женщин и чувствительностью к повреждающему действию инфекционных агентов [9,37, 38, 80, 146].

Также нами установлено, что число половых партнёров у женщин с заболеваниями шейки матки значительно выше, чем в контрольной группе. В основной группе у каждой второй пациентки было три и более половых партнёров (62,5%, 57,5% и 67,5% соответственно), в то же время в контрольной группе преобладала моногамность половой жизни (56%). Полученные результаты, которые согласуются с данными многих авторов, подтверждают, что раннее начало половой жизни и смена половых партнёров (три и более) являются факторами риска развития заболеваний шейки матки [9, 22, 37, 89].

В структуре гинекологических заболеваний преобладали хронические воспалительные заболевания матки и придатков в анамнезе, которые встречались практически у каждой четвёртой женщины (22,5-25%). Отмечалась тенденция к увеличению частоты гинекологических заболеваний в подгруппе CIN II p16-позитивных и CIN III.

Таким образом, полигамность половых связей, гинекологические воспалительные заболевания половых органов в анамнезе являются способствующими факторами к возникновению заболеваний шейки матки.

Частота выявления экстрагенитальных заболеваний у пациенток заболеваниями шейки матки была идентичной, достоверных различий нами не было выявлено. Преобладали болезни органов пищеварения (язвенная болезнь желудка и/или 12-перстной кишки, хронический гастрит, хронический холецистит, хронический колит, геморрой) (45,8%) и сердечно-сосудистой системы (артериальная гипертензия, ишемическая болезнь

сердца) (13%). Статистически значимых различий между группами не выявлено ( $p > 0,05$ ).

Анализ данных показывает, что специфическая клиническая картина заболеваний шейки матки практически отсутствует, жалобы не предъявляли 108 (63,5%) женщин. Как показывают исследования В. П. Козаченко и других авторов, клиническая триада признаков (боли, бели, кровотечения) появляется при распространённом опухолевом процессе, доброкачественные заболевания шейки матки чаще протекают бессимптомно [16].

В ходе исследования нарушение биоценоза влагалища определяется у 112 (93,3%) женщин. Практически у каждой второй женщины (76,6%) выявлен дисбиоз влагалища, в группе с CIN I он встречается в два раза чаще, чем в других. При оценке дисбиоза чаще встречался анаэробный (50%), что сопоставимо с данными Л. Д. Андосовой (2014 г.) [4].

При обследовании женщин на условно - патогенную флору и инфекции, передаваемые половым путём, доминирующее положение занимают *Ureaplasma urealyticum* (35%) и *Candida albicans* (30%), смешанные формы регистрировались значительно реже. Полученные результаты согласуются с результатами исследований Л. Д. Андосовой (2014), Л. И. Линаск (2014) [4, 37].

Все группы пациенток были обследованы на ВПЧ высокоонкогенных типов методом полимеразной цепной реакции. При обнаружении вируса этим пациенткам проводили определение количественной концентрации ДНК ВПЧ методом двойной генной ловушки – DigeneHybridCaptureSystem II (НСII). При сравнении подгрупп основной группы попарно нет статистически значимой разницы в наличии ВПЧ-инфекции ( $p \geq 0,05$  во всех вариантах сравнения). Полученные нами данные отличаются от результатов исследования Качалиной О.В. (2015) и Елисеевой Д.Д. (2015), которые выявляют ДНК высокоонкогенных вирусов у 70-78% женщин с дисплазией шейки матки I степени, у 83-89% – с дисплазией III степени и

внутриэпителиальным раком и у 95-100% больных с инвазивными формами рака [18, 26, 27].

Серотипы высокоонкогенных типов вируса 16 и 18 занимают доминирующее положение во всех подгруппах обследованных (29% и 36,6% соответственно). У каждой третьей пациентки (32,3%) определяется сочетание различных типов вирусов. Наибольшее число инфицированных женщин встречалось в подгруппе с CIN II p16-позитивных и CIN III (у 33 пациенток (82,5%)), что совпадает с результатами исследований многих авторов [6, 37, 53, 62, 63, 139, 140].

При определении белков E6 и E7 в цервикальных пробах пациенток, инфицированных ВПЧ, количество E6- и E7-положительных проб преобладало в подгруппе с CIN II p16-позитивных и CIN III (45%), в подгруппе пациенток с CIN I данный показатель значительно ниже (25%). Полученные результаты согласуются с данными многих авторов о том, что уровень экспрессии белков E6 и E7 прямо коррелирует со степенью гистологической тяжести заболевания [57, 76, 141]. Но наши показатели значительно ниже, чем в исследованиях И. А. Косенко (2017) и Л. Д. Андосовой (2017), где у женщин с CIN III экспрессия онкобелков E6 и E7 обнаружена в 91% случаев [3, 31].

В виде микст-инфекции ВПЧ встречается у каждой третьей женщины: сочетание с *Ureaplasma urealyticum*  $\geq 10^4$  КОЕ/мл – у 32,5% больных, с *Mycoplasma genitalium*  $\geq 10^4$  КОЕ/мл – у 16,5%. Полученные нами данные находятся в прямом соответствии с результатами Л. И. Линаск (2014) [37], но отличаются от данных Андосовой Л.Д. (2011), что ПВИ в 78% случаях сочетается с вульвовагинальным кандидозом [4].

Выявленные нами нарушения биоценоза влагалища и высокая частота ИППП, подтверждают данные многих авторов о том, что эти изменения являются факторами риска развития заболеваний шейки матки [3, 4, 37, 98].

При проведении цитологического исследования соскоба с шейки матки нами получено, что чувствительность цитологического метода исследования в выявлении заболеваний шейки матки составила 67 %.

Чувствительность цитологического исследования в подгруппе больных с CIN I 72,5%, в подгруппе больных с CIN II p16-негативных – 55 %, в подгруппе больных с CIN II p16-позитивных и CIN III – 72,5%.

Полученные нами значения чувствительности цитологического исследования соскоба с шейки матки во всех подгруппах пациенток соответствует среднему значению 40-83%, приведённому в исследованиях последних лет [7, 68, 90, 97, 135].

Также нами установлено, что среди всех обследованных пациенток чувствительность кольпоскопического метода исследования в диагностике заболеваний шейки матки составила 63%. Чувствительность метода в подгруппе с CIN I 45%, в подгруппе пациенток с CIN II p16-негативных – 70%, в подгруппе пациенток с CIN II p16-позитивных и CIN III – 87,5%. Также необходимо отметить, что в исследуемых подгруппах степень выраженности кольпоскопических признаков изменений эпителия прямо коррелирует со степенью гистологической тяжести заболевания, что согласуется с данными С.И. Роговской и соавторов (2014) [68].

У каждой второй женщины в основной группе (55%, 62,5% и 67,5% соответственно) встречались другие кольпоскопические картины в виде воспаления (неровный рельеф поверхности шейки матки, незначительная гиперемия вокруг наружного зева, участки ацетобелого эпителия с нежной пунктацией и мозаикой, чётко ограниченными или расплывчатыми йод - негативными участками) [58, 66, 68, 70], это свидетельствует о том, что цилиндрический эпителий, зона трансформации или метаплазии более чувствительны к действию ИППП, в том числе ВПЧ, поэтому являются фоном для развития неоплазий [37, 43, 4, 459, 66, 68, 70, 72, 99].

Полученные нами результаты чувствительности расширенной кольпоскопии при диагностике заболеваний шейки матки согласуются с

результатами исследований С. И. Роговской (2016), Т. Н. Бебневой (2014) [7, 67,68].

Большинство аномальных кольпоскопических признаков неспецифичны. При кольпоскопическом исследовании очень сложно провести дифференциальную диагностику заболеваний шейки матки, так как на фоне более лёгкого поражения могут встречаться небольшие фрагменты ткани с более тяжёлыми поражениями эпителия и наоборот. Изолированное использование кольпоскопического метода исследования не позволяет провести дифференциальную диагностику заболеваний шейки матки.

Учитывая, что методы скрининговой диагностики заболеваний шейки матки, применяемые в практическом здравоохранении, не обладают высокой чувствительностью и специфичностью, а частота выявления запущенных форм заболеваний шейки матки возрастает, необходим поиск новых методов диагностики, простых в применении, малоинвазивных и экономически выгодных. Поэтому метод инфракрасной спектроскопии сыворотки крови для диагностики заболеваний шейки матки представляет значительный научный и практический интерес.

Проведённые ранее исследования применения метода ИК-спектроскопии в медицине показывают его большие перспективы [10, 11, 12, 52, 54, 56, 71, 73]. Возможность различать в ИК-диапазоне изомеры положения одинаковых биомолекул и регистрировать отдельные атомные группировки в составе практически любых биомолекул, делает ИК-спектроскопию незаменимой для исследования сыворотки крови. Теоретическим обоснованием исследования является гипотеза о наличии в сыворотке крови количественно-качественных соотношений веществ, несущих информацию о нарушении метаболических соотношений в тканях шейки матки. Сюда могут быть отнесены как уже установленные в ранее выполненных работах изменения соотношений фосфоросодержащих продуктов клеточного метаболизма (фосфолипидов, фосфорилированных белков, макроэргов), повышение содержания карбонильных групп белков в плазме и в эритроцитах крови при

онкологических заболеваниях, так и изменения соотношений других химических элементов метаболизма, нарушенных в результате деструктивных процессов в тканях [10, 11, 12, 19, 45, 46, 50, 52, 54, 56, 71, 73, 144].

В ходе исследования при оценке возможных вариантов комбинаций инфракрасных параметров удалось выделить 3 компонента, отличающихся от существующих в накопленной базе данных. Сопоставив результаты обследования женщин, мы получили, что первое облако соответствует CIN II p16-положительных и CIN III, второе – CIN II p16-отрицательных, третье – с CIN I.

Комплекс характеристических соотношений частот инфракрасного спектра поглощения сыворотки крови для проведения дифференциальной диагностики CIN II p16-положительных и CIN III с другими заболеваниями:

1662 см<sup>-1</sup> / 903 см<sup>-1</sup>,  
1718 см<sup>-1</sup> / 908 см<sup>-1</sup>,  
1650 см<sup>-1</sup> / 906 см<sup>-1</sup>,  
1415 см<sup>-1</sup> / 1160 см<sup>-1</sup>,  
760 см<sup>-1</sup> / 1265 см<sup>-1</sup>,  
1592 см<sup>-1</sup> / 884 см<sup>-1</sup>,  
1580 см<sup>-1</sup> / 882 см<sup>-1</sup>,  
1560 см<sup>-1</sup> / 917 см<sup>-1</sup>,  
1592 см<sup>-1</sup> / 926 см<sup>-1</sup>,  
1087 см<sup>-1</sup> / 875 см<sup>-1</sup>,  
1446 см<sup>-1</sup> / 982 см<sup>-1</sup>,  
1050 см<sup>-1</sup> / 1170 см<sup>-1</sup>,  
1480 см<sup>-1</sup> / 936 см<sup>-1</sup>.

Комплекс характеристических соотношений частот инфракрасного спектра поглощения сыворотки крови для проведения дифференциальной диагностики CIN II p16-отрицательных с другими заболеваниями:

1415 см<sup>-1</sup> / 1160 см<sup>-1</sup>,  
1718 см<sup>-1</sup> / 1168 см<sup>-1</sup>,

1662  $\text{cm}^{-1}$  / 1288  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1650  $\text{cm}^{-1}$  / 1309  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1560  $\text{cm}^{-1}$  / 1887  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1480  $\text{cm}^{-1}$  / 1776  $\text{cm}^{-1}$   
760  $\text{cm}^{-1}$  / 1265  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1580  $\text{cm}^{-1}$  / 1295  $\text{cm}^{-1}$ ,  
770  $\text{cm}^{-1}$  / 982  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1592  $\text{cm}^{-1}$  / 1283  $\text{cm}^{-1}$ ,  
760  $\text{cm}^{-1}$  / 982  $\text{cm}^{-1}$ ,  
2924  $\text{cm}^{-1}$  / 865  $\text{cm}^{-1}$ .

Комплекс характеристических соотношений частот инфракрасного спектра поглощения сыворотки крови для проведения дифференциальной диагностики CIN I с другими заболеваниями:

1592  $\text{cm}^{-1}$  / 1788  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1580  $\text{cm}^{-1}$  / 2025  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1560  $\text{cm}^{-1}$  / 2025  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1580  $\text{cm}^{-1}$  / 1353  $\text{cm}^{-1}$ ,  
770  $\text{cm}^{-1}$  / 982  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1662  $\text{cm}^{-1}$  / 1432  $\text{cm}^{-1}$ ,  
2924  $\text{cm}^{-1}$  / 1170  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1718  $\text{cm}^{-1}$  / 1468  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1650  $\text{cm}^{-1}$  / 1434  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1480  $\text{cm}^{-1}$  / 2466  $\text{cm}^{-1}$ .

В процессе анализа результатов инфракрасной спектроскопии при заболеваниях шейки матки, нами не получено данных о влиянии на них инфекционных факторов (ВПЧ, уреаплазм, микоплазм и т.д.).

Таблица 21 – Результаты ИК-спектрометрии при заболеваниях шейки матки у женщин с отсутствием и наличием инфекционных агентов

Группы	Ureaplasma urealiticum ≥104КОЕ/мл		Mycoplasma genitalium ≥104 КОЕ/мл		ВПЧ высокоонкогенных типов ( Ig 3-5 и более)	Candida albicans
	+	-	+	-		
CIN I	1592 / 1788	1592 / 1788	1592 / 1788	1592 / 1788	1592 / 1788	1592 / 1788
	1580 / 2025	1580 / 2025	1580 / 2025	1580 / 2025	1580 / 2025	1580 / 2025
	1560 / 2025	1560 / 2025	1560 / 2025	1560 / 2025	1560 / 2025	1560 / 2025
	1580 / 1353	1580 / 1353	1580 / 1353	1580 / 1353	1580 / 1353	1580 / 1353
	770 / 982	770 / 982	770 / 982	770 / 982	770 / 982	770 / 982
	1662 / 1432	1662 / 1432	1662 / 1432	1662 / 1432	1662 / 1432	1662 / 1432
	2924 / 1170	2924 / 1170	2924 / 1170	2924 / 1170	2924 / 1170	2924 / 1170
	1718 / 1468	1718 / 1468	1718 / 1468	1718 / 1468	1718 / 1468	1718 / 1468
	1650 / 1434	1650 / 1434	1650 / 1434	1650 / 1434	1650 / 1434	1650 / 1434
	1480 / 2466	1480 / 2466	1480 / 2466	1480 / 2466	1480 / 2466	1480 / 2466
CIN II p16-негативные	1415 / 1160	1415 / 1160	1415 / 1160	1415 / 1160	1415 / 1160	1415 / 1160
	1718 / 1168	1718 / 1168	1718 / 1168	1718 / 1168	1718 / 1168	1718 / 1168
	1662 / 1288	1662 / 1288	1662 / 1288	1662 / 1288	1662 / 1288	1662 / 1288
	1650 / 1309	1650 / 1309	1650 / 1309	1650 / 1309	1650 / 1309	1650 / 1309
	1560 / 1887	1560 / 1887	1560 / 1887	1560 / 1887	1560 / 1887	1560 / 1887
	1480 / 1776	1480 / 1776	1480 / 1776	1480 / 1776	1480 / 1776	1480 / 1776
	760 / 1265	760 / 1265	760 / 1265	760 / 1265	760 / 1265	760 / 1265
	1580 / 1295	1580 / 1295	1580 / 1295	1580 / 1295	1580 / 1295	1580 / 1295
	770 / 982	770 / 982	770 / 982	770 / 982	770 / 982	770 / 982
	1592 / 1283	1592 / 1283	1592 / 1283	1592 / 1283	1592 / 1283	1592 / 1283
	760 / 982	760 / 982	760 / 982	760 / 982	760 / 982	760 / 982
	2924 / 865	2924 / 865	2924 / 865	2924 / 865	2924 / 865	2924 / 865
	CIN II p16-позитивные и CIN III	1662 / 903	1662 / 903	1662 / 903	1662 / 903	1662 / 903
1718 / 908		1718 / 908	1718 / 908	1718 / 908	1718 / 908	1718 / 908
1650 / 906		1650 / 906	1650 / 906	1650 / 906	1650 / 906	1650 / 906
1415 / 1160		1415 / 1160	1415 / 1160	1415 / 1160	1415 / 1160	1415 / 1160
1592 / 884		1592 / 884	1592 / 884	1592 / 884	1592 / 884	1592 / 884
1580 / 882		1580 / 882	1580 / 882	1580 / 882	1580 / 882	1580 / 882
1560 / 917		1560 / 917	1560 / 917	1560 / 917	1560 / 917	1560 / 917
1592 / 926		1592 / 926	1592 / 926	1592 / 926	1592 / 926	1592 / 926
1087 / 875		1087 / 875	1087 / 875	1087 / 875	1087 / 875	1087 / 875
1446 / 982		1446 / 982	1446 / 982	1446 / 982	1446 / 982	1446 / 982
1050 / 1170		1050 / 1170	1050 / 1170	1050 / 1170	1050 / 1170	1050 / 1170
1480 / 936	1480 / 936	1480 / 936	1480 / 936	1480 / 936	1480 / 936	

Примечание: статистически значимых различий между группами нет

Чувствительность спектрального анализа сыворотки крови в диагностике заболеваний данной группы составила 95%.

Полученные нами комплексы характеристических соотношений частот инфракрасного спектра поглощения сыворотки крови при заболеваниях



шейки матки отличаются от характеристических спектров поглощения сыворотки крови для диагностики заболеваний эндометрия ( $p < 0,05$ ) (таблица 21), полученных в работе В. О. Ершовой (2009): между нормальным эндометрием и доброкачественной гиперплазией эндометрия:  $1090/940 \text{ см}^{-1}$ ,  $1040/1190 \text{ см}^{-1}$ ,  $1040/940 \text{ см}^{-1}$ , между нормальным эндометрием и раком эндометрия:  $1070/1090 \text{ см}^{-1}$ ,  $1230/1140 \text{ см}^{-1}$ ,  $1290/1190 \text{ см}^{-1}$ ; между доброкачественной гиперплазией эндометрия и раком эндометрия:  $1070/1310 \text{ см}^{-1}$ ,  $1100/1150 \text{ см}^{-1}$ ,  $1280/940 \text{ см}^{-1}$  [19].

Также полученные нами данные отличаются от результатов исследования Д. В. Першина (2008). Автором установлены характеристические комплексы пиков полос поглощения образца сыворотки крови для диагностики доброкачественных новообразований яичников ( $1080/1180 \text{ см}^{-1}$ ,  $1290/1190 \text{ см}^{-1}$ ,  $1120/940 \text{ см}^{-1}$ ,  $1060/1180 \text{ см}^{-1}$ ,  $1230/1180 \text{ см}^{-1}$ ,  $1290/1010 \text{ см}^{-1}$ ) и рака яичников –  $1070/930 \text{ см}^{-1}$ ,  $1230/1140 \text{ см}^{-1}$ ,  $1270/1010 \text{ см}^{-1}$ ,  $1250/1140 \text{ см}^{-1}$ ,  $1020/940 \text{ см}^{-1}$ ,  $1310/1010 \text{ см}^{-1}$  ( $p < 0,05$ ) (таблица 22) [54].

В диссертации Н. Ю. Бутавина (2014) приводится информация о спектрах отдельных компонентов, входящих в состав крови. Биохимические показатели крови являются величиной постоянной на протяжении продолжительных промежутков времени, поэтому нарушения в структуре белково-липидных комплексов и других составных частей крови можно выявлять методом инфракрасной спектроскопии, который с известным приближением позволяет судить об интенсивности водородных связей в молекулах. В белковых молекулах это проявляется частичным сдвигом в диапазонах поглощения групп  $\text{-NH}$ ,  $\text{-OH}$  ( $1600\text{-}1480 \text{ см}^{-1}$ ),  $\text{-C=O}$  ( $1750 - 1710$ ,  $1650 \text{ см}^{-1}$ ). Свободные  $\text{-C=O}$  - группы дают линии поглощения в области  $1670\text{-}1700 \text{ см}^{-1}$ , при взаимодействии с водородом - в диапазоне -  $1630\text{-}1680 \text{ см}^{-1}$ . По интенсивности указанных полос можно судить о вторичной структуре белка и изменению количества водородных связей в биологических системах [10, 11, 12].

Таблица 22 - Сравнение характеристических комплексов пиков полос поглощения образцов сыворотки крови для диагностики заболелая эндометрия и шейки матки.

Заболелая	доброкачественная гиперплазия эндометрия	рак эндометрия	CIN II p16-позитивные и CIN III	CIN II p16-негативные	CIN I
характеристические комплексы пиков полос поглощения образцов сыворотки крови	1090/940 см <sup>-1</sup>	1070/1090 см <sup>-1</sup>	1662/903 см <sup>-1</sup>	1415/1160 см <sup>-1</sup>	1592/1788 см <sup>-1</sup>
	1040/1190 см <sup>-1</sup>	1230/1140 см <sup>-1</sup>	1718/908 см <sup>-1</sup>	1718/1168 см <sup>-1</sup>	1580/2025 см <sup>-1</sup>
	1040/940 см <sup>-1</sup>	1290/1190 см <sup>-1</sup>	1650/906 см <sup>-1</sup>	1662/1288 см <sup>-1</sup>	1560/2025 см <sup>-1</sup>
			1415/1160 см <sup>-1</sup>	1650/1309 см <sup>-1</sup>	1580/1353 см <sup>-1</sup>
			1592/884 см <sup>-1</sup>	1560/1887 см <sup>-1</sup>	770/982 см <sup>-1</sup>
			1580/882 см <sup>-1</sup>	1480/1776 см <sup>-1</sup>	1662/1432 см <sup>-1</sup>
			1560/917 см <sup>-1</sup>	760/1265 см <sup>-1</sup>	2924/1170 см <sup>-1</sup>
			1592/926 см <sup>-1</sup>	1580/1295 см <sup>-1</sup>	1718/1468 см <sup>-1</sup>
			1087/875 см <sup>-1</sup>	770/ 982 см <sup>-1</sup>	1650/1434 см <sup>-1</sup>
			1446/982 см <sup>-1</sup>	1592/ 1283 см <sup>-1</sup>	1480/2466 см <sup>-1</sup>
		1050/1170 см <sup>-1</sup>	760/ 982 см <sup>-1</sup>		
		1480/936 см <sup>-1</sup>	2924/ 865 см <sup>-1</sup>		

Таблица 23 - Сравнение характеристических комплексов пиков полос поглощения образцов сыворотки крови для диагностики злокачественной яичников и шейки матки.

Злокачественные заболевания	доброкачественные новообразования яичников	рак яичников	CIN II p16-положительные и CIN III	CIN I и CIN II p16-отрицательные	воспалительные заболевания шейки матки
Характеристические комплексы пиков полос поглощения образцов сыворотки крови	1080/1180 см <sup>-1</sup>	1070/930 см <sup>-1</sup>	1662/903 см <sup>-1</sup>	1415/1160 см <sup>-1</sup>	1592/1788 см <sup>-1</sup>
	1290/1190 см <sup>-1</sup>	1230/1140 см <sup>-1</sup>	1718/908 см <sup>-1</sup>	1718/1168 см <sup>-1</sup>	1580/2025 см <sup>-1</sup>
	1120/940 см <sup>-1</sup>	1270/1010 см <sup>-1</sup>	1650/906 см <sup>-1</sup>	1662/1288 см <sup>-1</sup>	1560/2025 см <sup>-1</sup>
	1060/1180 см <sup>-1</sup>	1250/1140 см <sup>-1</sup>	1415/1160 см <sup>-1</sup>	1650/1309 см <sup>-1</sup>	1580/1353 см <sup>-1</sup>
	1230/1180 см <sup>-1</sup>	1020/940 см <sup>-1</sup>	760/1265 см <sup>-1</sup>	1560/1887 см <sup>-1</sup>	770/982 см <sup>-1</sup>
	1290/1010 см <sup>-1</sup>	1310/1010 см <sup>-1</sup>	1592/884 см <sup>-1</sup>	1480/1776 см <sup>-1</sup>	1662/1432 см <sup>-1</sup>
			1580/882 см <sup>-1</sup>	760/1265 см <sup>-1</sup>	2924/1170 см <sup>-1</sup>
			1560/917 см <sup>-1</sup>	1580/1295 см <sup>-1</sup>	1718/1468 см <sup>-1</sup>
			1592/926 см <sup>-1</sup>	770/ 982 см <sup>-1</sup>	1650/1434 см <sup>-1</sup>
			1087/875 см <sup>-1</sup>	1592/ 1283 см <sup>-1</sup>	1480/2466 см <sup>-1</sup>
		1446/982 см <sup>-1</sup>	760/ 982 см <sup>-1</sup>		
		1050/1170 см <sup>-1</sup>	2924/ 865 см <sup>-1</sup>		
		1480/936 см <sup>-1</sup>			

При оценке изменений полученных в работе комплексов пиков полос поглощения образцов сыворотки крови при заболеваниях шейки матки в области 1720-1480 см<sup>-1</sup>, нами установлено, что коэффициент поглощения в заданной области для пациенток с CIN I находился в пределах 0,6-1,17; для пациенток с CIN II p16-негативных – в пределах 1,2-1,47, для пациенток с CIN II p16-позитивных и CIN III – в пределах 1,58-1,89. По нашему мнению, таким образом могут проявляться изменения в структуре белков сыворотки крови при заболеваниях шейки матки.

При сравнении метода ИК – спектрометрии сыворотки крови в области изменения связей в структуре белка и экспрессии онкобелков E6 и E7 в цервикальных пробах мы получили, что коэффициент поглощения в заданной области находится на уровне максимальных значений у всех пациенток с CIN II p16-позитивных и CIN III, а положительные пробы онкобелков E6- и E7 были только у 45% обследованных. Данный факт может свидетельствовать о большей чувствительности ИК – спектрометрии к изменениям в структуре белков при поражениях эпителия шейки матки.

Также нами впервые установлено, что на пики полос поглощения образцов сыворотки крови не влияют вирусные агенты (тип ВПЧ, уровень вирусной нагрузки), а экспрессия онкобелков E6 и E7 характерна только для вируса папилломы человека высокого онкогенного риска и является предиктором персистирующей инфекции [50, 59].

Таким образом, метод ИК-спектрометрии сыворотки крови, являясь малоинвазивным, простым в применении и экономически выгодным методом, показал высокую чувствительность и специфичность для диагностики заболеваний шейки матки. Высокая специфичность (92%) и диагностическая точность (90%) позволяет применять его в качестве скринингового исследования в условиях женских консультаций и в гинекологических стационарах

## Выводы

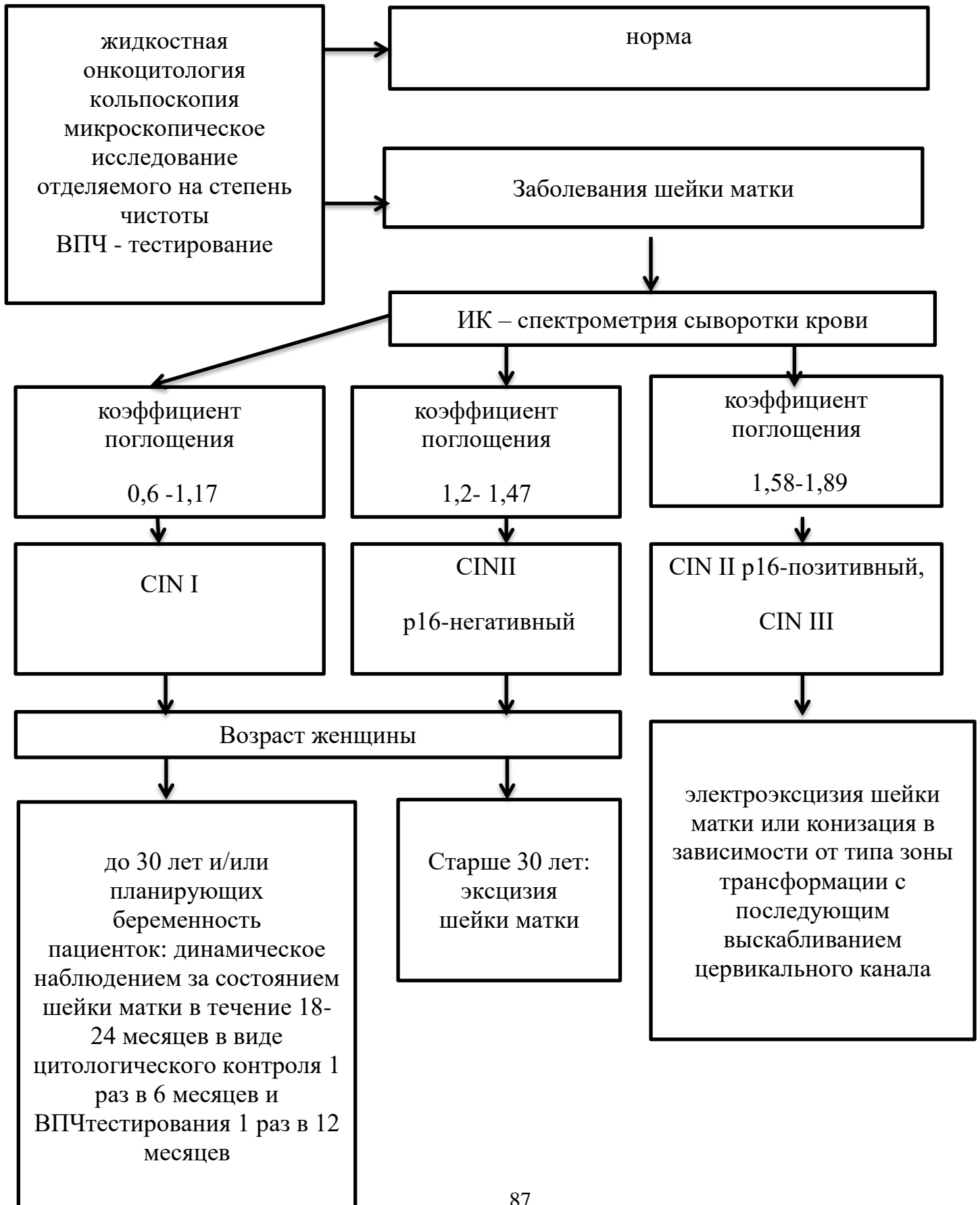
1. Выявлены факторы риска по возникновению доброкачественных и предраковых заболеваний шейки матки: инфицирование ВПЧ высокоонкогенных типов, наличие ко-факторов (рецидивирующий бактериальный вагиноз, уреоплазменная инфекция, микоплазменная инфекция), количество половых партнеров больше 3, отсутствие барьерного метода контрацепции.
2. Определены комплексы характеристических спектров поглощения сыворотки крови в диагностике заболеваний шейки матки:  
CIN I (1592  $\text{cm}^{-1}$  / 1788  $\text{cm}^{-1}$ , 1580  $\text{cm}^{-1}$  / 2025  $\text{cm}^{-1}$ , 1560  $\text{cm}^{-1}$  / 2025  $\text{cm}^{-1}$ , 1580  $\text{cm}^{-1}$  / 1353  $\text{cm}^{-1}$ , 770  $\text{cm}^{-1}$  / 982  $\text{cm}^{-1}$ , 1662  $\text{cm}^{-1}$  / 1432  $\text{cm}^{-1}$ , 2924  $\text{cm}^{-1}$  / 1170  $\text{cm}^{-1}$ , 1718  $\text{cm}^{-1}$  / 1468  $\text{cm}^{-1}$ , 1650  $\text{cm}^{-1}$  / 1434  $\text{cm}^{-1}$ , 1480  $\text{cm}^{-1}$  / 2466  $\text{cm}^{-1}$ ),  
в диагностике CIN II p16-негативных (1415  $\text{cm}^{-1}$  / 1160  $\text{cm}^{-1}$ , 1718  $\text{cm}^{-1}$  / 1168  $\text{cm}^{-1}$ , 1662  $\text{cm}^{-1}$  / 1288  $\text{cm}^{-1}$ , 1650  $\text{cm}^{-1}$  / 1309  $\text{cm}^{-1}$ , 1560  $\text{cm}^{-1}$  / 1887  $\text{cm}^{-1}$ , 1480  $\text{cm}^{-1}$  / 1776  $\text{cm}^{-1}$ , 760  $\text{cm}^{-1}$  / 1265  $\text{cm}^{-1}$ , 1580  $\text{cm}^{-1}$  / 1295  $\text{cm}^{-1}$ , 770  $\text{cm}^{-1}$  / 982  $\text{cm}^{-1}$ , 1592  $\text{cm}^{-1}$  / 1283  $\text{cm}^{-1}$ , 760  $\text{cm}^{-1}$  / 982  $\text{cm}^{-1}$ , 2924  $\text{cm}^{-1}$  / 865  $\text{cm}^{-1}$ ),  
в диагностике CIN II p16-позитивных и CIN III (1662  $\text{cm}^{-1}$  / 903  $\text{cm}^{-1}$ , 1718  $\text{cm}^{-1}$  / 908  $\text{cm}^{-1}$ , 1650  $\text{cm}^{-1}$  / 906  $\text{cm}^{-1}$ , 1415  $\text{cm}^{-1}$  / 1160  $\text{cm}^{-1}$ , 760  $\text{cm}^{-1}$  / 1265  $\text{cm}^{-1}$ , 1592  $\text{cm}^{-1}$  / 884  $\text{cm}^{-1}$ , 1580  $\text{cm}^{-1}$  / 882  $\text{cm}^{-1}$ , 1560  $\text{cm}^{-1}$  / 917  $\text{cm}^{-1}$ , 1592  $\text{cm}^{-1}$  / 926  $\text{cm}^{-1}$ , 1087  $\text{cm}^{-1}$  / 875  $\text{cm}^{-1}$ , 1446  $\text{cm}^{-1}$  / 982  $\text{cm}^{-1}$ , 1050  $\text{cm}^{-1}$  / 1170  $\text{cm}^{-1}$ , 1480  $\text{cm}^{-1}$  / 936  $\text{cm}^{-1}$ ).
3. Установлена чувствительность (95%) и специфичность (92%) ИК-спектрометрии в ранней диагностике доброкачественных и предраковых заболеваний шейки матки, что статистически значимо выше данных показателей при жидкостном цитологическом исследовании мазков с поверхности шейки матки (67% и 60% соответственно), расширенной кольпоскопии (63% и 45 % соответственно), сопоставима с уровнем белков p16 и наличием онкомаркеров E6 и E7. Получены статистически значимые различия

характеристических спектров поглощения сыворотки крови у пациенток с CIN II p16-позитивных и CIN III по сравнению с группой контроля и CIN I, CIN II p16-негативными.

4. Результаты спектрального анализа сыворотки крови при доброкачественных и предраковых заболеваниях шейки матки не зависят от наличия бактериально – вирусных агентов.
5. Применение метода ИК-спектрометрии для диагностики доброкачественных и предраковых заболеваний шейки матки позволяет своевременно выявить предраковые заболевания шейки матки, определить показания для эксцизии шейки матки: при коэффициенте соотношения комплексов пиков полос поглощения сыворотки крови от 0,6 до 1,47 (CIN I, CIN II p16 – негативные) пациенткам в возрасте до 30 лет и/или планирующих беременность показано динамическое наблюдение, старше 30 лет - эксцизия шейки матки; при коэффициенте выше 1,58 (CIN II p16 – позитивные, CIN III) – электроэксцизия шейки матки или конизация в зависимости от типа зоны трансформации с последующим выскабливанием цервикального канала.

## Алгоритм обследования женщин с заболеваниями шейки матки

и положительным ВПЧ-тестом:



## Практические рекомендации

На основании проведенного исследования метод ИК-спектрометрия сыворотки крови может быть включен в обследование женщин для ранней диагностики доброкачественных и предраковых заболеваний шейки матки.

При выявлении изменений шейки матки во время первичного приема пациентки проводится ИК-спектрометрия сыворотки крови совместно с поэтапным обследованием женщин согласно клиническим рекомендациям «Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки» (2020г.).

По результатам ИК-спектрометрия вычисляется коэффициент соотношения комплексов пиков полос поглощения сыворотки крови.

Если коэффициент соотношения комплексов пиков полос поглощения сыворотки крови от 0,6 до 1,47, что соответствует гистологическим заключениям CIN I, CIN II p16 – негативным, пациенткам в возрасте до 30 лет и/или планирующих беременность показано активное динамическое наблюдение с использованием цитологического исследования, кольпоскопии и ВПЧ-тестирования с контролем через 6 и 12 месяцев. Рекомендуется деструктивное или эксцизионное лечение (в зависимости от типа ЗТ) при сохранении поражений, соответствующих CIN I, CIN II p16 – негативным более 18-24 месяцев с целью профилактики прогрессирования. Женщинам старше 30 лет проводится эксцизия шейки матки.

При коэффициенте соотношения комплексов пиков полос поглощения сыворотки крови выше 1,58, что соответствует гистологическим заключениям CIN II p16 – позитивные, CIN III), проводится электроэксцизия шейки матки или конизация в зависимости от типа ЗТ с последующим выскабливанием цервикального канала.

Учитывая, что результаты спектрального анализа сыворотки крови не зависят от дня менструального цикла, наличия бактериально-вирусных агентов, забор материала для исследования можно проводить в любой день обследования.



## Список сокращений

- АПНЗ - атипия плоскоклеточная неопределенной значимости
- В-ПИП - плоскоклеточное интраэпителиальное поражение высокой степени выраженности
- ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения
- ВПЧ - вирус папилломы человека
- ВПГ - вирус простого герпеса
- ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота
- ЗТ - зона трансформации
- ИК - инфракрасный
- ИППП - инфекции, передаваемые половым путем
- МПЭ - многослойный плоский эпителий
- Н-ПИП - плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени выраженности
- ПВИ - папилломавирусная инфекция
- ПЦР - полимеразная цепная реакция
- РНК - рибонуклеиновая кислота
- РШМ - рак шейки матки
- ЦЭ - цилиндрический эпителий
- AIS - adenocarcinoma in situ, аденокарцинома in situ
- ASCUS - atypical squamous cells of undetermined significance, атипичные клетки плоского эпителия неопределенной значимости
- ASCH - atypical squamous cells cannot exclude HSIL, атипичные клетки плоского эпителия, не позволяющие исключить HSIL
- AGC - atypical glandular cells, атипичные железистые клетки
- CIN - cervical intraepithelial neoplasia, цервикальная интраэпителиальная неоплазия
- HSIL - high-grade squamous intraepithelial lesions, плоскоклеточные интраэпителиальные поражения высокой степени тяжести

HC II - Digene Corporation's Hybrid Capture II - система двойной геновой ловушки

IFCPC - International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy, Международная Федерация цервикальной патологии и кольпоскопии

LSIL - low-grade squamous intraepithelial lesions, плоскоклеточные интраэпителиальные поражения низкой степени тяжести

SIL - squamous intraepithelial lesion, плоскоклеточное интраэпителиальное поражение

## Список использованной литературы

1. Акушерство и гинекология. Клинические рекомендации / под ред. Г. М. Савельевой, Г.Т. Сухих, В.Н. Серова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 1024 с.
2. Алиева Т.М. Скрининг рака шейки матки. Ошибки в диагностике и пути их предупреждения // Вестник АГИУВ: материалы международного конгресса «Международный Конгресс «Здоровье для всех: Хронические заболевания. Проблемы. Решения», май 2013. – С. 24-27.
3. Андосова, Л.Д., Многофакторный регрессионный анализ в прогнозе развития цервикальных поражений инфекционного генеза / Л.Д. Андосова, К.Н. Конторщикова, К.А. Шахова // Медицинский альманах. - 2017. - №2 (47). - С. 111-113.
4. Андосова, Л.Д. Клинико-лабораторные аспекты в оценке заболеваний шейки матки при папилломавирусной инфекции: автореф. дис. ... доктора медицинских наук : 14.03.10 / Андосова Лариса Дмитриевна. - Нижний Новгород, 2014. - 46 с.
5. Бауэр, Г. Цветной атлас по кольпоскопии / Г. Бауэр. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 288 с.
6. Бахидзе, Е. В. Роль цитологического и вирусологического исследований при вторичной профилактике рака шейки матки / Е.В. Бахидзе, П.И. Ковчур, А.В. Ястребова // Инфекция и иммунитет. – 2014. – Т. 4. – №. 2. – С.148-154.
7. Бебнева, Т.Н. Кольпоскопия в диагностике цервикальной патологии: как практикующему врачу получить максимальную информацию? / Т.Н. Бебнева, С.И. Роговская, Н.М. Подзолкова // Доктор. Ру. - 2014. - №1(5). - С. 42-45.
8. Бебнева, Т.Н. Шейка матки в эпицентре контрверсий. Безальтернативность профилактического пути в снижении распространённости заболеваний шейки матки / Т.Н. Бебнева, С. И. Роговская, К. В. Минкевич // StatusPraesens.- 2013.- № 1 [12].- С. 24-30.

9. Белоцерковцева, Л. Д. Состояние локального иммунитета у женщин с изменениями архитектоники шейки матки и носительством ВПЧ /Л.Д. Белоцерковцева, Л.В. Коваленко, А.Э. Каспарова, И.Г. Конарева // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2017. – Т. 14. – №. 1. – С. 67-74.

10. Бутавин, Н.Ю. Влияние эндо - и экзогенных факторов на инфракрасный спектр сыворотки крови подростков: автореф.дис. ... канд. биологических наук : 03.01.04 / Бутавин Никита Юрьевич. – Тверь, 2014. -133 с.

11. Бутавин, Н.Ю. ИК-спектметрия в изучении влияния глицина, аланина и их смесей на водный компонент модельных растворов / Н.Ю. Бутавин, Г.М. Зубарева // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2014.- № 1.- С. 54-54.

12. Бутавин, Н.Ю. Влияние кислых аминокислот и их смесей на водный компонент модельных растворов / Н.Ю. Бутавин, Г.М. Зубарева, Л.Р. Волкова // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2014.- № 1.- С. 54-55.

13. Вирусная нагрузка ДНК ВПЧ как прогностический фактор злокачественной прогрессии ПВИ / О.И. Трушина [ и др.] // Молекулярная диагностика-2014: сб. тр. VIII Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием / Под ред. В. И. Покровского. - М., 2014. - Т. 1. - С. 207.

14. Возможности диагностики и лечения ВПЧ-ассоциированных преинвазивных цервикальных неоплазий у женщин репродуктивного возраста в современных условиях / Т. С. Качалина, Н. М. Шахова, О. В. Качалина [и др.] // Русский медицинский журнал. – 2014. – № 14. – С. 1024-1027.

15. Выявление вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска и оценка физического статуса вирусной ДНК методом ПЦР при поражении цервикального эпителия / А.А. Вязовая, Д. А. Куевда, О. Б. Трофимова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. - 2013. - № 8 - С. 24-26.

16. Гинекология. Национальное руководство. Краткое издание / Под ред. Г.М. Савельевой, Г.Т. Сухих, В.Н. Серова, И.Б. Манухина, В.Е. Радзинского - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. - 1048 с.

17. Дисплазия шейки матки – этиопатогенез, диагностика, оптимальная тактика лечения: учебное пособие / А. Э. Протасова, Т. И. Дзюбий, Г. А. Раскин [ и др.] – СПб.: 2014. – 22 с.

18. Елисеева, Д.Д. Новые подходы к диагностике и оценке риска доброкачественной ВПЧ-ассоциированной патологии шейки матки в репродуктивном возрасте: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.01./ Елисеева Дарья Дмитриевна. — Казань, 2015. - 21 с.

19. Ершова, В. О. Инфракрасная Фурье спектроскопия сыворотки крови в дифференциальной диагностике доброкачественной и злокачественной гиперплазии эндометрия: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01. / Ершова Вера Олеговна . — Москва, 2009. - 24 с.

20. Заболевания шейки матки. Клиника, диагностика, лечение: учебное пособие для врачей / Т.В. Овсянникова, И.О. Макаров, Н.А. Шешукова, И.А.Куликов. – М. : МЕДпресс-информ, 2013. – 64 с.

21. Зароченцева, Н.В., Цервикальные интраэпителиальные неоплазии: современный взгляд на проблему и пути решения / Н.В. Зароченцева, Л.К. Джиджихия // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. - 2016. - №4 (14). - С.92-101.

22. Значение морфологических методов исследования в диагностике патологии шейки матки / В. А. Кулавский, С. Ф. Насырова, В. Н. Ткаченко [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана . - 2014. - №5.- С.76-79.

23. Значение современных методов лабораторной диагностики в скрининге рака шейки матки / Е. А. Олейник, Е. П. Завадецкая, А. Г. Лунева [и др.] // Сборник научных трудов сотрудников НМАПО им. П. Л. Шупика . - 2014. - № 23(3). - С. 642-648.

24. Инфекции, передаваемые половым путем. Протоколы ведения больных / под ред. В. И. Кисиной. - М.: НЬЮДИАМЕД, 2014. - 264 с

25. Каприн, А.Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова - М.: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» МЗ России, 2019. - 236 с.

26. Качалина, О.В. Выбор рациональной тактики ведения пациенток при ВПЧ – ассоциированном цервиците в репродуктивном возрасте // Медицинский альманах. – 2013. - №5(24). – С.81-84.

27. Качалина, О.В. ВПЧ-ассоциированные заболевания шейки матки в репродуктивном возрасте. Диагностика и лечение: автореф. дис. ... доктора медицинских наук: 14.01.01 / Качалина Ольга Владимировна. – Москва, 2015. - 304 с.

28. Кедрова, А.Г. Оптимизация медикаментозной терапии начальных повреждений эпителия шейки матки, ассоциированных с вирусом папилломы человека / А. Г. Кедрова, С. А. Леваков, Н. Н. Челнокова // Акушерство и гинекология. – 2014. - № 8. С. 88-93.

29. Конфаундинг-факторы папилломавирусной инфекции и цервикальной дисплазии у молодых женщин / Т. Е. Белокрыницкая, Н. И. Фролова, Д. А. Тарбаева Д.А. [и др.] // Доктор Ру. – 2015. - №14(115). – С. 7-11.

30. Короленкова Л.И. Беременность при преинвазивном и микроинвазивном раке шейки матки – возможности донашивания, особенности диагностики, течения заболевания, исходы и прогноз / Акушерство и гинекология. - 2015. - № 6. – С.53-58.

31. Косенко, И.А. К вопросу о патогенезе, диагностике и лечении вирус-ассоциированной патологии шейки матки / И.А. Косенко, Г.В. Костевич, Т.П. Артемьева [и др] // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. - 2017. - №1. - С.7-18.

32. Косенко, И.А. К вопросу о патогенезе, диагностике и лечении вирус-ассоциированной патологии шейки матки / И.А. Косенко, Г.В. Костевич, Т.П. Артемьева [и др] // Медицинские новости. 2016. №2 (257). С.17-21.

33. Клинические рекомендации по диагностике и лечению заболеваний, сопровождающихся патологическими выделениями из половых путей

женщин / В.Н. Прилепская, Е.Ф. Кира [и др] // Клинические рекомендации по диагностике и лечению заболеваний, сопровождающихся патологическими выделениями из половых путей женщин. 2-е изд., испр. и доп.– Москва, 2019. – 56 с.

34. Кузьмицкая, Е.В. Оптимизация прогнозирования и тактики ведения пациенток с плоскоклеточной цервикальной интраэпителиальной неоплазией легкой степени : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.01/ Кузьмицкая Екатерина Владимировна.— Волгоград, 2015. – 98 с.

35. Кулаков, В. И. Руководство по амбулаторно-поликлинической помощи в акушерстве и гинекологии: практическое руководство / В.И. Кулаков, В.Н. Прилепская, В.Е. Радзинский – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2018. - 1136 с.

36. Лабораторная диагностика инфекционных болезней: справочник / под редакцией: В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина. - М.: БИНОМ, 2013. – 648 с.

37. Линаск, Л.И. Диагностика и лечение болезней шейки матки при персистенции папилломавирусной инфекции: дис. ... канд. Мед. наук : 14.01.01 / Линаск Лариса Ивановна. – Москва, 2014. - 154 с.

38. Марочко, К.В. Оптимизация вторичной профилактики предрака и рака шейки матки: дис. ... канд. мед. наук : 14.01.01 / Марочко Кристина Владимировна. – Кемерово, 2017. - 154 с.

39. Маршетта, Ж. Кольпоскопия. Метод и диагностика / Ж. Маршетта, Ф. Декамп. — М.: МЕДпресс-информ, 2014. — 200 с.

40. Мерабишвили, В.М. Распространенность гинекологического рака и выживаемость больных / В. М. Мерабишвили, Е.В. Бахидзе, Э. И. Лалианци // Вопросы онкологии. - 2014. - № 3. - С. 288-297.

41. Минкина, Г.Н. Цитологический скрининг рака шейки матки: от традиционного ПАП-теста к компьютерным технологиям / Г.Н. Минкина // Акушерство, гинекология и репродукция. - 2017. - №1. - С.56-63.

42. Молекулярные маркеры цервикагинальной жидкости: новое в диагностике и прогнозировании заболеваний, ассоциированных с вирусом папилломы человека / М.Д. Зардиашвили, Н.М. Назарова, Н.Л. Стародубцева [и др] // Акушерство и гинекология. – 2016. - № 1. — С. 16 - 21.

43. Мотовилова, Т. М. Приверженность режиму лечения ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки – залог клинического успеха / Т. М. Мотовилова // Русский медицинский журнал. - 2016. - №15. - С. 982-987.

44. Мотовилова, Т. М. Патология шейки матки на фоне папилломавирусной инфекции: реально ли справиться с рецидивами? Клинический опыт использования технологии аблации и инозина пранобекса в комплексном лечении пациенток репродуктивного возраста / Т. М. Мотовилова // Русский медицинский журнал. – 2015. - № 1. – С. 20-24.

45. Николаенко, А. Н. Оптимизация дифференциальной диагностики опухолей костей / А.Н. Николаенко, С.В. Козлов, В.В.Иванов [и др] // Известия Самарского научного центра РАН. - 2015. - №2-3. – С. 597-602.

46. Николаенко, А.Н. Оптимизация дифференциальной диагностики опухолей костей: дис. ... канд. мед. наук : 14.01.12; 14.01.15./ Николаенко Андрей Николаевич – Москва, 2014. - 136 с.

47. Новикова, Е. Г. Взгляд онкогинеколога на скрининг рака шейки матки / Е. Г. Новикова, А. Д. Каприн, О. И. Трушина // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2014. - № 14(5). С. 39-43.

48. Новые возможности диагностики и лечения ВПЧ-ассоциированных преинвазивных неоплазий в репродуктивном возрасте / Т. С. Качалина, Н. М. Шахова, О. В. Качалина [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2013. - № 11. — С. 48-52.

49. Новые факторы риска развития легкой ВПЧ-ассоциированной интраэпителиальной неоплазии шейки матки / В.А. Сазонова, Е. В. Кузьмицкая, А. Ф. Михельсон, Л. Е. Лебедеенко // Евразийский Союз Ученых. - 2015. - №8-2 (17). - С.47-49.



50. Орехова, Е.К. Современные возможности диагностики папилломавирусной инфекции: обзор мировых исследований / Е.К. Орехова, А.Р. Хачатурян // Журнал акушерства и женских болезней. – 2014. – Т. 63. – № 3. – С 89-82.

51. Папилломавирусная инфекция: новые взгляды на диагностику и лечение (обзор литературы) / Н. В. Бестаева, Н. М. Назарова, В. Н. Прилепская [и др.] // Гинекология.- 2013. - №15(3). С. 4-7.

52. Патент 2232391 Российская Федерация МПК7 G01N33/48, G01N33/49 Способ дифференциальной диагностики злокачественных новообразований и соматических незлокачественных заболеваний / Игнатъев А. А. ; заявители и патентообладатели ООО "Медицинская диагностика", Игнатъев Александр Арсентьевич. - № 2002123653/15 ; заявл. 05.09.2002 ; опубл. 10.07.2004.

53. Патогенетическое лечение неопластических процессов шейки матки: новые подходы / Т. Н. Бебнева, Е. Л. Муйжнек, С.И. Роговская [и др.] // Доктор.Ру. – 2016. - № 3. – С. 9-14.

54. Першин, Д.В. Инфракрасная Фурье спектроскопия сыворотки крови в дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных опухолей яичников : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01/ Першин Дмитрий Владимирович. — Москва, 2008. – 98 с.

55. Пестрикова, Т. Ю. Оценка эффективности комплексной терапии патологии шейки матки, ассоциированной с папилломавирусной инфекцией / Т. Ю. Пестрикова, В. А. Пушкаръ // Гинекология. - 2015. - №17. – С. 50-53.

56. Петрова, И. А. Использование инфракрасной спектроскопии сыворотки крови при диагностике нарушений, вызванных воздействием вибрации / И. А. Петрова, А. С. Гордцев // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2014. – № 2. – С. 94-94.

57. Потенциальные прогностические факторы в канцерогенезе / И. В. Рева, Т. Ямамото, Г. В. Рева [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 12 (5). – С. 517-520.

58. Прилепская, В. Н. Современные возможности кольпоскопии в комплексной диагностике плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки / В. Н. Прилепская, Г.Р. Байрамова, Н.В. Зароченцева [и др.] // *Акушерство и гинекология*. - 2018. - № 3. - С. 146-149.

59. Прилепская, В.Н. Новые возможности ранней диагностики и профилактики ВПЧ-ассоциированных поражений шейки матки / В.Н. Прилепская, Г.Р. Байрамова, Е.А. Коган, В.Ф. Чернова, А.Н. Окушко // *Медицинский совет*. - 2015. - №XX. - С.72-77.

60. Прилепская, В. Н. Возможности диагностики и лечения заболеваний шейки матки / В. Н. Прилепская, Е. А. Коган, Д. Ю. Трофимов // *Акушерство и гинекология*. - 2013. - №9. - С. 90-96.

61. Радзинский, В. Е. Радиочастотная электрохирургия — безальтернативная технология профилактики рака шейки матки / В. Е. Радзинский, Р. Ю. Еремичев // *Медицинский совет*. - 2013. - № 8. - С. 81-83.

62. Распространенность типов вируса папилломы человека у пациенток с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями различной степени тяжести / Г.М. Мзарелуа, Н.М. Назарова, М.Е. Некрасова [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2018. - № 4. – С. 94-100.

63. Рахматулина, М. Р. Современные методы профилактики развития онкологических заболеваний шейки матки у больных папилломавирусной инфекцией / М.Р. Рахматулина, В.Я. Кицак, Н.В. Большенко // *Вестник дерматологии и венерологии*. – 2013. – №. 6. – С. 40-48.

64. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTIKA / О.Ю. Реброва. – М.: Медиа Сфера, 2006.- 312 с.

65. Роговская, С. И. Обзор российских клинических рекомендаций 2017 года «Доброкачественные и предраковые заболевания шейки матки с позиции профилактики рака» / С. И. Роговская, И.Д. Ипастова // *StatusPraesens*.- 2018.- № 2 [45].- С. 61- 69.

66. Роговская, С.И. Практическая кольпоскопия / С. И. Роговская. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 316 с.
67. Роговская, С. И. Цервикальная папилломавирусная инфекция. Возможности комбинированной терапии / С. И. Роговская, Т. Н. Бебнева // Акушерство и гинекология. -2016.- № 10.- С. 26 – 32.
68. Роговская, С. И. Шейка матки, влагалище, вульва. Руководство для практикующих врачей / С. И. Роговская, Е. В. Липова. - М.: StatusPraesens, 2016. – 829 с.
69. Роговская, С. И. Клинические аспекты плоскоклеточных интраэпителиальных поражений низкой степени / С. И. Роговская, Л. И. Терехова // Акушерство и гинекология. – 2013. - № 2. С. 136-143.
70. Роговская, С.И. Практическая кольпоскопия / С. И. Роговская. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. -240 с.
71. Рунова, О.А. Ранняя диагностика кариеса методом инфракрасной спектроскопии биологических жидкостей и тканей полости рта : автореф.дис. ... канд. Мед. наук : 14.01.14 / Рунова Ольга Алексеевна. – Нижний Новгород, 2015. -104 с.
72. Соловьев, А.М. Лечение и профилактика прогрессирования заболеваний шейки матки, ассоциированных с вирусом папилломы человека / А.М. Соловьев, Д.В. Логвинова // Лечащий врач. – 2013. – № 3. – С. 37–39.
73. Федулова, Э.Н. Использование математической модели инфракрасной спектроскопии сыворотки крови в дифференциальной диагностике язвенного колита и болезни Крона у детей / Э.Н. Федулова, А.С. Гордеев, О.В. Федорова [ и др] // Вестник РАМН. - 2013. - № 12. – С. 44 - 48.
74. Фемофлор: пособие для врачей / Липова Е.В. Болдырева М.Н. Трофимова Д.Ю. Витвицкая Ю.Г. – М.: ДНК – технология, 2010. – 30 с.
75. Характеристика биоценозов урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста / Л. Д. Андосова, К. Н. Конторщикова, О. В. Качалина [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. - 2013. - № 1. - С.51-53.

76. Характеристика изменений протеомного состава цервикагинальной жидкости при заболеваниях шейки матки, ассоциированных с ВПЧ-инфекцией / М.Д. Зардиашвили, В.Е. Франкевич, Н.М. Назарова [и др.] // *Акушерство и гинекология.* – 2017. - № 4. – С. 88-94.

77. Хронический цервицит: современные возможности диагностики и лечения / А.С. Амирханян, В.Н. Прилепская, Г.Р. Байрамова // *Акушерство и гинекология.* - 2018. - № 4. – С. 22-27.

78. Цервикальная неоплазия и вирусная нагрузка ВПЧ 16 генотипа / В.С. Чирский, В.А. Ершов, А.А. Вязовая [и др.] // *Инфекция и иммунитет.* - 2014. - №2. - С. 192-196.

79. Черенков, В.Г. Новые подходы к скринингу и лечению HSIL как основа снижения смертности от рака шейки матки / В.Г. Черенков, А.Б. Петров, О.Г. Иванченко [и др.] // *Вестник НовГУ.* - 2017. - №3 (101). - С.29-32.

80. Шаргородская, А. В. Клинико–эпидемиологические особенности папилломавирусной инфекции у молодых женщин : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.01 / Шаргородская Анна Витальевна. – Москва, 2013. – 24 с.

81. Шейка матки и вульвовагинальные болезни. Пост-релиз и материалы научной программы II Междисциплинарного форума с международным участием (Москва, 27, 28 -1 марта 2014 года)– М.: Редакция журнала *StatusPraesens.*- 2015.- 24 с.

82. Эпидемиологические аспекты рака шейки матки / И.И. Курунова, Т. Ф. Боровская, А. Ю. Марочко, Н. Г. Бессмертная // *Дальневосточный медицинский журнал* - 2013. - №3. - С.130-134.

83. Эффективность комплексного подхода к лечению дисплазии эпителия шейки матки умеренной и тяжелой степени на фоне инфицирования вирусом папилломы человека / Ю. Э. Доброхотова, М. Г. Венедиктова, И. И. Гришин [и др.] // *Фарматека.* – 2015. - № 3. – С. 44-7.

84. A cohort study of cervical screening using partial HPV typing and cytology triage / M. Schiffman, N. Hyun, T.R. Raine - Bennett [et al.] // International journal of cancer. – 2016. – Vol. 139. – №. 11. – P. 2606-2615.

85. ACOG Practice Bulletin No. 157 Summary: Cervical Cancer Screening and Prevention // Obstetrics & Gynecology. - 2016 - Vol. 127 (Issue 1). - P. 185-187.

86. Altobelli, E. A comparison between Pap and HPV screening tests and screening methods / E. Altobelli, G. Scarselli, A. Lattanzi [et al.] // Molecular and Clinical Oncology. - 2016. - № 5(2). - P. 348-354.

87. Analysis of human papillomavirus infection in 16,320 patients from a gynecology clinic in central south China / S.S. Xiao, J.L. Fan, S.L. He [et al.] //Journal of lower genital tract disease. – 2016. – Vol. 20. – №. 4. – P. 327-331.

88. Andrei, A. B. Cancer diagnosis by FT-IR spectrophotometry / A.B. Andrei, S. Fleschin, H.Y. Aboul-Enein // Revue Roumaine de Chimie – 2015. – Vol. 60. – №. 5-6. – P. 415-426.

89. Application of raman spectroscopy and infrared spectroscopy in the identification of Breast cancer / J. Depciuch, E. Kaznowska, I. Zawlik [ et al.] //Applied spectroscopy. – 2016. – Vol. 70. – №. 2. – P. 251-263.

90. ASCCP Consensus Guidelines Conference. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors / L. S. Massad, M. H. Einstein, W. K. Huh [et al.] // Obstetrics & Gynecology. – 2013. – Vol. 121. – №. 4. – P. 829-846.

91. Association between the human papillomavirus, bacterial vaginosis and cervicitis and the detection of abnormalities in cervical smears from teenage girls and young women / R.C. Caixeta, A.A. Ribeiro, K.D. Segatti [et al.] // Diagnostic cytopathology. – 2015. – Vol. 43. – №. 10. – P. 780-785.

92. ATR-FTIR and multivariate analysis as a screening tool for cervical cancer in women from northeast Brazil: a biospectroscopic approach / Ana C. O. Neves, Priscila P. Silva, Camilo L. M. Morais [et al.] // RSC Advances. - 2016. - №6. – P. 99648–99655.

93. ATR-FTIR Spectroscopy for the Assessment of Biochemical Changes in Skin Due to Cutaneous Squamous Cell Carcinoma / C. A. Lima, V. P. Goulart, L. Côrrea [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2015. - № 16. – P. 6621–6630.

94. Branca, M. Recommendations on quality control and quality assurance in cervical cytology / M. Branca, A. Longatto-Filho // Acta cytologica. – 2015. – Vol. 59. – №. 5. – P. 361-369.

95. Chaouat, G. Immunology of pregnancy / G. Chaouat, O. Sandra, N. Lédée // Bentham, UK, 2014. – 902 p.

96. Chronic cervicitis: current opportunities for diagnosis and treatment / A.S. Amirkhanyan, V.N. Prilepskaya, G.R. Bairamova [et al.] // Obstetrics and Gynecology. – 2018. - №4. – C. 22-27.

97. Classification of cervical cytology for human papilloma virus (HPV) infection using biospectroscopy and variable selection techniques / K. M. G. Lima, K. Gajjar, G. Valasoulis [et al.] // Analytical Methods. - 2014. - № 6. P. 9643-9652.

98. Comparison of serum from gastric cancer patients and from healthy persons using FTIR spectroscopy / D. Sheng, Y. Wu, X. Wang [et al.] // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. - 2013. – Vol. 116. – P. 365-369.

99. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases / F. X. Bosch, T. R. Broker, D. Forman [et al.] //Vaccine. – 2013. – Vol. 31. – P. H1–H31.

100. Detection of gastric cancer with Fourier transform infrared spectroscopy and support vector machine classification / Q. Li, W. Wang, X. Ling, J. G. Wu //BioMed research international. – 2013. – Vol. 2013.

101. Diagnostic accuracy of VIA and HPV detection as primary and sequential screening tests in a cervical cancer screening demonstration project in India / P. Basu, S. Mittal, D. Banerjee [ et al.] // International Journal of Cancer. – 2015. - Vol. 137. – №. 4. – P. 859-867.

102. Differentially expressed proteins among normal cervix, cervical intraepithelial neoplasia and cervical squamous cell carcinoma / Q. Zhao, Y. He, X.-L. Wang [et al.] // *Clinical and Translational Oncology*. – 2015. – Vol. 17. – №. 8. – P. 620-631.

103. Egawa, N. The low-risk papillomaviruses / N. Egawa, J. Doorbar // *Virus research*. – 2017. – Vol. 231. – P. 119-127.

104. Egawa, N. Human papillomaviruses; epithelial tropisms, and the development of neoplasia / N. Egawa, K. Egawa, H. Griffin, J. Doorbar // *Viruses*. – 2015. – Vol. 7. – №. 7. – P. 3863-3890.

105. Genotyping for human papillomavirus types 16 and 18 in women with minor cervical lesions: a systematic review and meta-analysis / M. Arbyn, L. Xu, F. Verdoodt, // *Annals of internal medicine*. – 2017. – Vol. 166. – №. 2. – P. 118-127.

106. Fertility and early pregnancy outcomes after treatment for cervical intraepithelial neoplasia: systematic review and meta-analysis [Текст] / M. Kyrgiou, A. Mitra, M. Arbyn // *BMJ*. – 2014. – Vol. 349. – P. 6192.

107. FTIR spectral signature of anticancer drugs. Can drug mode of action be identified? / A. Mignolet, A. Derenne, M. Smolina [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*. – 2016. – Vol. 1864. – №. 1. – P. 85-101.

108. Huck, C. Critical Review Upon the Role and Potential of Fluorescence and Near-Infrared Imaging and Absorption Spectroscopy in Cancer Related Cells, Serum, Saliva, Urine and Tissue Analysis / C. W. Huck, Y. Ozaki, V. A Huck-Pezzei // *Current medicinal chemistry*. – 2016. – Vol. 23. – №. 27. – P. 3052-3077.

109. Human papillomavirus Prevalence and Type-Distribution, Cervical Cancer Screening Practices and Current Status of Vaccination Implementation in Russia. The Western Countries of the former Soviet Union, Caucasus Region and Central Asia: ICO/ WHO Monograph / S.I. Rogovskaya, I.P. Shabalova, I.V. Mikheeva [et al.] // *Vaccine*. – Dec. 2013. – Vol. 315, Suppl. 7. – P. 46-58.

110. HPV16 E7 genetic conservation is critical to carcinogenesis / L. Mirabello, M. Yeager, K. Yu [et al.] // *Cell*. – 2017. – Vol. 170. – №. 6. – P. 1164-1174.

111. Identification of protein biomarkers for cervical cancer using human cervicovaginal fluid / G.A.A. Van Raemdonck, W.A.A. Tjalma, E.P. Coen [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol.9. – №. 9. – P. e106488.

112. Infrared spectroscopy with multivariate analysis segregates low-grade cervical cytology based on likelihood to regress, remain static or progress / N. C. Purandare, I. I. Patel, K. M. G. Lima [et al.] // *Analytical Methods*. – 2014. – Vol. 6. – №. 13. – P. 4576-4584.

113. Intelligent classification of cervical pre-cancerous cells based on the FTIR spectra / Y. Jusman, N. A. M. Isa, R. Adnan, N. A. Othman // *Ain Shams Engineering Journal* – 2012. – Vol. 3. – №. 1. – C. 61-70.

114. Is HPV DNA testing specificity comparable to that of cytological testing in primary cervical cancer screening? Results of a meta-analysis of randomized controlled trials / C. Pileggi, D. Flotta, A. Bianco [et al.] // *International journal of cancer*. – 2014. – Vol. 135. – №. 1. – P. 166-177.

115. Jahic, M. Diagnostic Approach to Patients with Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance Cytologic Findings on Cervix / M. Jahic, E. Jahic // *Medical Archives*. – 2016. – Vol. 70. – №. 4. – P. 296-298.

116. Joshi, C. Correlation of Pap smear and colposcopy in relation to histopathological findings in detection of premalignant lesions of cervix in a tertiary care centre / C. Joshi, P. Kujur, N. Thakur // *International Journal of Scientific Study*. – 2015. – Vol. 3. – №. 8. – P. 55-60.

117. Kituncharoen, S. Comparison of unsatisfactory rates and detection of abnormal cervical cytology between conventional Papanicolaou smear and liquid-based cytology (Sure Path @) / S. Kituncharoen, P. Tantbirojn, S. Niruthisard // *Asian Pac J Cancer Prev*. – 2015. – Vol.16. – № 16. – P. 8491-8494.



118. Knoff, J. Cervical cancer: development of targeted therapies beyond molecular pathogenesis / J. Knoff, B. Yang, C.F. Hung [et al.] // Current obstetrics and gynecology reports. – 2014. – Vol. 3. – №. 1. – P. 18-32.

119. Link between chronic inflammation and human papillomavirus-induced carcinogenesis / J.V. Fernandes, T. A. Araújo de Medeiros Fernandes, J.C. Veríssimo de Azevedo // Oncology letters. – 2015. – Vol. 9. – №. 3. – P. 1015-1026.

120. Loop electrosurgical excision procedure and the risk for preterm delivery / A. Heinonen, M. Gissler, A. Riska [et al.] // Obstetrics and gynecology. - 2013. – Vol.121. - № 5. – P. 1063 -1068.

121. Monsonego, J. Prevalence of high-risk human papilloma virus genotypes and associated risk of cervical precancerous lesions in a large U.S. screening population: Data from the ATHENA trial / J. Monsonego [et al.] // Gynecol Oncol. - 2015 Apr. - 137(1). – P.47-54.

122. Molecular detection of human papillomavirus in Brazilian women with cervical intraepithelial neoplasia in a northeast Brazilian city / J. D. C. Nunes, F. C. B. Vidal, C. T. L Ferraro // Genetics and molecular research: GMR. – 2014. – Vol. 13. – №. 4. – P. 9077-9085.

123. Munoz, N. Epidemiology of cervical cancer in Colombia / N. Munoz, L. E. Bravo // Salud publica de Mexico. – 2014. – Vol. 56. – №. 5. – P. 431-439.

124. Near-infrared spectroscopy as a diagnostic tool for distinguishing between normal and malignant colorectal tissues / H. Chen, Z. Lin, L. Mo [et al.] // BioMed research international. – 2015. – Vol. 2015.

125. Nayar, R. The Pap Test and Bethesda 2014:“The reports of my demise have been greatly exaggerated.”(after a quotation from Mark Twain) / R. Nayar, D. C. Wilbur // Journal of the American Society of Cytopathology. – 2015. – Vol. 4. – №. 3. – P. 170-180.

126. Patterns of persistent genital human papillomavirus infection among women worldwide: A literature review and meta-analysis / A. F. Rositch, J.

Koshiol, M. G. Hudgens [et al.] // International journal of cancer. – 2013. – Vol. 133. - № 6. – P. 1271-1285.

127. Potential of non-invasive esophagus cancer detection based on urine surface-enhanced Raman spectroscopy / S. Huang, L. Wang, W. Chen [et al.] // Laser Physics Letters. – 2014. – Vol. 11. – №. 11. – P. 115604.

128. Porter, S. S. Host cell restriction factors that limit transcription and replication of human papillomavirus / S. S. Porter, W.H. Stepp, J.D. Stamos, A.A. McBride // Virus research. – 2017. – Vol. 231. – P. 10-20.

129. Proteomic analysis of cervical vaginal fluid proteins among women in recurrent preterm labor / Jamie O. Lo, Ashok P. Reddy, Phillip A. Wilmarth [et al.] // The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. – 2014. – T. 27. – №. 12. – P. 1183-1188.

130. Pregnancy incidence and outcome before and after cervical intraepithelial neoplasia: a retrospective cohort study / I. Kalliala, A. Anttila, P. Nieminen [et al.] // Cancer medicine. – 2014. - Vol. 3. – №. 6. – P. 1512-1516.

131. Proof of principle study of a novel cervical screening and triage strategy: Computeranalyzed cytology to decide which HPV-positive women are likely to have  $\geq$  CIN2 / M. Schiffman, K. Yu, R. Zuna [et al.] // International journal of cancer. – 2017. – Vol. 140. – №. 3. – P. 718-725.

132. Risk factors for cervical human papillomavirus infection and high-grade intraepithelial lesion in women aged 20 to 31 years in Germany / C. Remschmidt, A. M. Kaufmann, I. Hagemann [et al.] //International Journal of Gynecological Cancer. – 2013. – Vol. 23. – №. 3. – P. 519-526.

133. Role of E6/E7 mRNA test in the diagnostic algorithm of HPV-positive patients showing ASCUS and LSIL: clinical and economic implications in a publicly financed healthcare system / R. Zappacosta, D.M. Pia Gatta, P. Marinucci [et al.] //Expert review of molecular diagnostics. – 2015. – Vol. 15. – №. 1. – P. 137-150.

134. Roman, A. The papillomavirus E7 proteins / A. Roman, K. Munger // Virology. – 2013. – Vol. 445. – №. 1-2. – P. 138-168.

135. Singer & Monaghan's cervical and lower genital tract precancer. Diagnosis and treatment / A. Singer, A. Khan, A. R. S. Deery, Q. S. Chong // John Wiley & Sons, 2014.

136. Song D. Effect of human papillomavirus infection on the immune system and its role in the course of cervical cancer / D. Song, Hong Li, Haibo Li, Jianrong Dai // *Oncology letters*. – 2015. – Vol. 10. – №. 2. – P. 600-606.

137. The association of HPV genotype with the regression, persistence or progression of low-grade squamous intraepithelial lesions / F. A. Silveira, G. Almeida, Y. L. Furtado [et al.] // *Experimental and molecular pathology*. – 2015. – Vol. 99. – №. 3. – P. 702-706.

138. The prevalence of HPV types in women with CIN 2-3 or cervical cancer in Haifa district, Israel / E. Siegler, K. Sharir, O. Lavie [et al.] // *Minerva ginecologica*. – 2017. – Vol. 69. – №. 3. – P. 211-217.

139. The problem of false-positive human papillomaviruses DNA tests in cervical screening / M. Rebolj, I. Pribac, M. E. Frederiksen, E. Lynge // *Current pharmaceutical design*. – 2013. – Vol. 19. - №8. – P. 1439-1449.

140. Tummers, B. High-risk human papillomavirus targets crossroads in immune signaling / B. Tummers, S. H. Van Der Burg // *Viruses*. – 2015. – Vol. 7. – №. 5. – P. 2485-2506.

141. Tomaic, V. Functional Roles of E6 and E7 Oncoproteins in HPV-Induced Malignancies at Diverse Anatomical Sites / V. Tomaic // *Cancers*. – 2016. – Vol. 8. – №. 10. – P. 95.

142. Towards increase of diagnostic efficacy in gynecologic OCT / M. Kirillin, O. Panteleeva, D. Eliseeva [et al.] // *European Conference on Biomedical Optics*. – Optical Society of America, 2013. – P. 880205.

143. Use of a high-risk human papillomavirus DNA test as the primary test in a cervical cancer screening programme: a population-based cohort study / M. Zorzi, A. Del Mistro, A. Farruggio [et al.] // *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. – 2013. – Vol. 120. – №. 10. – P. 1260-1268.

144. Use of FTIR spectroscopy and PCA-LDC analysis to identify cancerous lesions within the human colon / E. Kaznowska, J. Depciuch, K. Szmuc [et al.] //Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2017. – Vol. 134. – P. 259-268.

145. Viral DNA load of high-risk human papilloma virus is closely associated with the grade of cervical lesions / G. Shen, J. Cheng, Y. Wang [et al.] // International journal of clinical and experimental medicine. – 2014. – Vol. 7. – №. 12. – P. 5826-5831.

146. Workowski, K.A. Sexually transmitted diseases treatment guidelines (2015) / K.A. Workowski, G.A. Bolan //Reproductive Endocrinology. – 2015. – №. 24. – P. 51-56.