

Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
(ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора)

На правах рукописи

КУЛЕШОВА ОЛЬГА БОРИСОВНА

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА
ЗА ПАТОЛОГИЕЙ ШЕЙКИ МАТКИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ
ЭТИОЛОГИИ НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ
МЕТОДОВ**

3.2.2. Эпидемиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Акимкин Василий Геннадьевич
академик РАН, д.м.н., профессор

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	19
1.1 Эпидемиологическое значение вируса папилломы человека.....	21
1.1.1 Строение и классификация вируса папилломы	21
1.1.2 Распространенность вируса папилломы человека	24
1.1.3 Эпидемиология рака шейки матки.....	26
1.1.4 Патогенез и клинические проявления рака шейки матки	28
1.2 Профилактические и противоэпидемические мероприятия.....	30
РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	41
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	41
ГЛАВА 3. ОЦЕНКА СУЩЕСТВУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ ВЫЯВЛЕНИЯ И РЕГИСТРАЦИИ ВПЧ-АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ.....	58
3.1 Организация системы выявления и регистрации ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки	58
3.2 Оценка информативности существующей системы учета и регистрации случаев ВПЧ-ассоциированных патологий шейки матки.....	64
3.2.1 Общая характеристика заболеваемости и смертности от рака шейки матки в Российской Федерации за 2011 – 2021 гг.....	66
3.2.2 Анализ динамики уровня заболеваемости по возрастным показателям..	68
3.2.3 Анализ параметров, характеризующих организационный аспект борьбы с раком шейки матки	73
ГЛАВА 4. ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВПЧ-АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ	84

4.1	Оценка сходимости результатов цитологического и гистологического исследования при диагностике интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени.....	84
4.2	Оценка диагностических характеристик ВПЧ-теста на основе метода полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме реального времени	87
4.2.1	Частота выявления вируса папилломы человека четырнадцати онкогенных типов при патологии эпителия шейки матки различной степени и ее отсутствии	88
4.2.2	Иерархическая значимость вируса папилломы человека четырнадцати онкогенных типов при выявлении интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени.....	90
4.2.3	Диагностические характеристики ВПЧ-теста при выявлении интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени.....	93
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ ВЫСОКОТЕХНОЛОГИЧНОЙ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧЕТЫРНАДЦАТИ ТИПОВ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА		96
ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА СРЕДИ ЖЕНЩИН МОСКОВСКОГО РЕГИОНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗРАБОТАННОЙ МЕТОДИКИ		102
6.1	Распространенность онкогенных типов вируса папилломы человека, структура популяции вируса, относительный риск персистенции.....	102
6.2	Количественные закономерности определения онкогенных типов вируса папилломы человека	106
6.2.1	Количественные закономерности распределения вируса папилломы человека при отсутствии интраэпителиальных поражениях эпителия шейки матки.....	108

6.2.2 Количественные закономерности распределения вируса папилломы человека при неопластических изменениях клеток, вызванных ВПЧ	108
ГЛАВА 7. РАЗРАБОТКА ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РИСКА НАЛИЧИЯ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ ШЕЙКИ МАТКИ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ НА ОСНОВАНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИМЕНЕНИЯ РАЗРАБОТАННОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕТОДИКИ.....	113
7.1 Создание прогностической модели наличия неоплазии тяжелой степени на основании данных лабораторного исследования	113
7.2 Апробация прогностической модели при обследовании пациентов медицинских учреждений города Москвы.....	126
ГЛАВА 8. РАЗРАБОТКА МЕР ПО СОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ СИСТЕМЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ВПЧ-АССОЦИИРОВАННЫМИ ПАТОЛОГИЯМИ ШЕЙКИ МАТКИ НА ОСНОВЕ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ	129
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	140
ВЫВОДЫ	156
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	159
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	160
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	161
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	163

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Вирус папилломы человека (ВПЧ) относится к инфекциям передающимся половым путем, повсеместно распространен среди людей обоих полов, инфицирование происходит при контакте инфицированных участков слизистых оболочек и кожи. Отдельные типы ВПЧ, классифицированные как онкогенные, ассоциируют с развитием рака шейки матки (РШМ). По данным мировой статистики порядка 90% новых случаев заболевания и смерти от РШМ регистрируется в странах с низким и средним уровнем дохода [1]. Рак шейки матки обозначен Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) как одна из приоритетных проблем общественного здравоохранения [2]. По данным агентства GLOBOCAN в 2022 г. среднемировой уровень заболеваемости составил 14,1 на 100 тыс. женщин, варьируя в широком диапазоне в разных странах - от 69,4 (Королевство Эсватини) до 1,4 (Йемен) [3]. В Российской Федерации стандартизованный интенсивный показатель заболеваемости в 2022 г. составил 13,8 на 100 тыс. женщин, определяя для РШМ 5 место по заболеваемости злокачественными новообразованиями среди женщин [4]. Медико-демографические потери, рассчитанные по методу DALY (Disability adjusted life year — год жизни с поправкой на инвалидность) в мировом масштабе для РШМ по данным на 2019 г. составили $8,96 \cdot 10^6$ (ДИ 95%: $7,75 \cdot 10^6 - 9,98 \cdot 10^6$) единиц DALY, что означает потерю 8,96 млн. лет 39 «здоровой жизни» женщин Мира [5].

РШМ имеет инфекционную этиологию, долгий период развития от момента инфицирования и является управляемым заболеванием средствами специфической профилактики. Целевой уровень заболеваемости, рекомендованный ВОЗ, как признак успеха в проведении профилактики РШМ, составляет 4 случая на 100 тыс. женщин. Условиями достижения рекомендованного уровня заболеваемости являются три аспекта профилактики: первичная – вакцинопрофилактика с

широким охватом населения (не менее 90% девочек к 15 годам жизни) препятствующая распространению вируса, вторичная – скрининг женщин для выявления предрака и РШМ (обследование не менее 70% женщин к 35- и 45-летнему возрасту) и третичная – лечение женщин с выявленным предраком и РШМ (не менее 90% женщин с предраком и РШМ) [6]. Зарубежный опыт, накопленный в Австралии, демонстрирует, что одно только введение национальной программы скрининга на основе цитологического исследования с 1991г. позволило к 2010 г. снизить уровень заболеваемости РШМ в среднем на 50% (7,4 на 100 тыс. женщин) среди женщин старше 24 лет [7], широкомасштабной вакцинации с 2008 г. в комплексе со скринингом на основе первичного ВПЧ-теста – достичь уровня заболеваемости 6,9 на 100 тыс. женщин к 2022 г. [3].

Борьбе с онкологическими заболеваниями, включая РШМ, в Российской Федерации уделяется особенное внимание, в том числе осуществляется программа, реализуемая в рамках одноименного национального проекта [8]. Большие надежды связаны с разработкой отечественной вакцины против ВПЧ [9, 10]. Ведется планомерная работа по внедрению прогрессивных схем вторичной профилактики - скрининга [11]. Для скорейшего достижения Россией целевых показателей заболеваемости РШМ необходима интенсификация профилактических мероприятий, направленных на борьбу с распространением вируса папилломы человека и повышение эффективности ранней диагностики. Успех борьбы будет во многом зависеть от обоснованного определения направлений совершенствования эпидемиологического надзора за предраком и РШМ, что требует проведения актуального эпидемиологического анализа состояния проблемы ВПЧ-ассоциированных заболеваний в Российской Федерации.

Степень разработанности темы исследования

Вторичная профилактика РШМ в Российской Федерации проводится при диспансерном осмотре определенных групп взрослого населения и при обращении

женщин к врачу-гинекологу (оппортунистический скрининг). Принятый подход к проведению вторичной профилактики РШМ является многоэтапным: каждое последующее обследование назначается при условии обнаружения отклонений от нормы на предыдущем этапе [11]. Критическим звеном в процессе скрининга является первый этап, чувствительность которого определяет чувствительность скрининга в целом. Традиционная схема обследования предполагает цитологическое исследование на первом этапе самостоятельно или цитологическое исследование с ВПЧ-тестом совместно (рекомендовано в Российской Федерации и др. странах Европы), прогрессивная схема подразумевает только ВПЧ-тест на первом этапе (практикуется в Австралии, США, Новой Зеландии и др.) [11]. Валидация цитологического исследования относительно гистологического является международной практикой и способствует оценке качества проводимых диагностических мероприятий и разработке корректирующих мер для достижения целевых параметров вторичной профилактики. В мировой практике сходимость цитологического и гистологического исследований оценивается от 73 до 89% [12, 13]. В Российской Федерации сравнительные исследования представлены ограниченно.

Для совершенствования скрининга ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки на современном этапе применяется ВПЧ-тест на основе ПЦР-РВ. Методики, валидированные и используемые за рубежом, направлены на определение 13–14 типов ВПЧ (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) с частичным генотипированием – выявлением отдельно 16 и 18 типов вируса [14]. В российской практике отсутствуют требования, а также недостаточно информации о клинической валидации и диагностических характеристиках применяемых отечественных тестов, количестве типов ВПЧ, необходимых для достижения максимальной чувствительности теста, о ценности дифференциации отдельных типов ВПЧ, кроме 16 и 18 и количественной оценке всех типов ВПЧ совместно и по отдельности. Данные, получаемые при использовании имеющихся методик в практическом здравоохранении и научных исследованиях разрозненны, не ведется учет распространенности ВПЧ, отсутствуют структурированные ресурсы для сбора

информации. Также отсутствуют алгоритмы интерпретации результатов расширенных ВПЧ-тестов и прогнозирования наличия ВПЧ-ассоциированной патологии на их основании. Таким образом, мониторинг ВПЧ-инфекции в России отсутствует, вследствие чего эпидемиологический надзор за ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки проводится не в полном объеме.

Цель исследования

Совершенствование системы эпидемиологического надзора за ВПЧ-ассоциированной патологией шейки матки на основе применения молекулярно-биологических методов.

Задачи исследования

1. Провести оценку существующей системы выявления и регистрации ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки в Российской Федерации.
2. Оценить диагностическую эффективность лабораторных методов для выявления заболеваний шейки матки папилломавирусной этиологии в Российской Федерации.
3. Разработать и апробировать высокотехнологичную методику определения генотипа вируса папилломы человека и его концентрации.
4. Изучить с использованием разработанной методики особенности распространения вируса папилломы человека среди женщин на территории Московского региона Российской Федерации.
5. Разработать прогностическую модель для определения риска наличия интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени на основании результатов применения разработанной ПЦР-методики.
6. Предложить меры по совершенствованию системы эпидемиологического надзора за ВПЧ-ассоциированной патологией шейки матки на основе применения молекулярно-биологических методов.

Научная новизна исследования

Установлено несовершенство существующей системы учета и регистрации ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки в части отсутствия учета облигатного предрака и проведения мониторинга за вирусом папилломы человека, что не позволяет проводить качественную эпидемиологическую диагностику этих заболеваний.

Выявлена волнообразная тенденция динамики заболеваемости раком шейки матки за период наблюдения – возрастание интенсивного показателя с 2011 по 2018 гг. ($p < 0,001$), затем снижение с 2018 по 2021 гг. ($p < 0,001$). Выявлена тенденция к замедлению темпа прироста заболеваемости в 2016 – 2018 гг. в 2,6 раз ($p < 0,0001$) и последующему снижению заболеваемости в 2019 – 2021 гг. со средней величиной снижения интенсивного показателя -1,12 на 100 тыс. женщин.

Показана разнонаправленность динамики заболеваемости раком шейки матки в зависимости от возраста. В возрастной группе 30-49 лет установлена стабилизация заболеваемости начиная с 2016 г. (34,58 – 34,83 на 100 тыс. женщин, $p = 0,58$) и последующее снижение с 2019 г. по 2021 г. (34,83 – 29,93 на 100 тыс. женщин), что обусловлено интенсификацией мер вторичной профилактики в части внедрения ВПЧ-теста в диагностику этого заболевания.

Выявлено увеличение эффективности диагностики предрака и рака шейки матки в части ранней и активной диагностики. Установлено увеличение доли случаев РШМ I-II стадий и карциномы *in situ* (на 5 %), увеличение доли выявленных карцином *in situ* по отношению к РШМ I-II (на 8,9%), рост доли случаев РШМ, выявленных активно (на 4,9%), снижение количества случаев РШМ, выявленных на поздних стадиях (в 1,86 раз), снижение индекса одногодичной летальности (на 5,5%).

Определена современная распространенность ВПЧ онкогенных типов среди женщин, проживающих в Московском регионе, составившая 14,87% (ДИ 95%:

12,86 – 17,13%). Показано, что наиболее часто встречаются 16 (16,98%), 31 (14,47%), 52 (13,21%) типы, наибольший относительный риск персистенции наблюдается для типов 33, 58, 45, 52 ($p < 0,05$). Определен базовый уровень распространенности ВПЧ - значимый параметр для оценки эффективности проводимой вакцинации и скрининга - 11,81% (ДИ 95%: 9,98 – 13,94%); первые три ранговых места занимали ВПЧ 52, 16, 31 (14,05%, 13,22%, 13,22%) типов. Выявлен возраст, при котором частота встречаемости бессимптомной инфекции наибольшая - женщины до 25 лет инфицированы в 20,21% случаев (ДИ 95%: 15,15–26,43%).

Установлена современная частота выявления ВПЧ 14-и онкогенных типов и вклад каждого в развитие предрака и РШМ. Случаи предрака и РШМ чаще всего ассоциированы с ВПЧ 16 (63,24%, ДИ 95%: 56,41 – 69,69%), 33 (15,68%, ДИ 95%: 11,22 – 21,13%) и 31 (9,73%, ДИ 95%: 6,30 – 14,30%) типами, при общей тенденции снижения вклада онкогенных типов в соответствии с их принадлежностью к филогенетическим группам: $\alpha 9 > \alpha 7 > \alpha 5 / \alpha 6$. Показано, что значимость обнаружения типов ВПЧ для выявления предрака и РШМ убывает в следующем порядке: 16 > 33 > 58 > 35 > 45 > 31 > 18 > 52 > 39 > 59 > 56 > 51 > 68 > 66.

Установлено, что вирусная нагрузка возрастает при увеличении тяжести интраэпителиального поражения шейки матки. Показана значимая разница суммарной концентрации ДНК ВПЧ 14 типов, а также индивидуальных концентраций ДНК ВПЧ 16, 33, 58 и 66 типов в зависимости от степени интраэпителиального поражения шейки матки.

Предложены и научно обоснованы мероприятия совершенствования информационной, диагностической и управленческой подсистем эпидемиологического надзора за патологией шейки матки папилломавирусной этиологии на основе молекулярно-биологических методов.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Теоретическая значимость работы состоит в актуализации данных о распространенности и структуре популяции вируса папилломы человека в Российской Федерации, вкладе отдельных типов ВПЧ в развитие предрака и рака шейки матки, определении диагностической эффективности лабораторных методов диагностики и установлении преимуществ ВПЧ-теста в сравнении с цитологическим исследованием на первой ступени скрининга.

Установлена причина заниженного показателя ранней диагностики, и, как следствие, показателя активной выявляемости – недоучет случаев облигатного предрака: карциномы *in situ* и интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени. Предложены усовершенствованные варианты формул расчета показателя ранней диагностики.

Проведена научная и практическая оценка диагностической эффективности лабораторных методов для выявления ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки в части сходимости результатов цитологического и гистологического исследований (67,12%); диагностической чувствительности цитологического метода при определении интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени (83,78%) и при выявлении любых результатов отличных от нормы (94,34%); диагностической чувствительности ВПЧ-теста при определении не менее 12ти онкогенных типов (99,5%).

Разработана и зарегистрирована ПЦР-методика для выявления, генотипирования и количественного определения 14-и онкогенных типов ВПЧ в различном биологическом материале.

Установлено, что оценка количественных параметров при помощи разработанной методики с введением порога клинической значимости суммарной концентрации ДНК ВПЧ равного 4 lg копий на 10^5 клеток человека позволит избежать избыточного обследования 47,5% женщин с субклинической инфекцией вирусом папилломы человека.

Разработан и внедрен в практическое использование прототип базы данных для сбора результатов обследования, полученных при применении разработанной молекулярно-биологической методики.

Разработана и апробирована прогностическая модель, учитывающая результаты обследования, полученные с применением разработанной ПЦР-методики, позволяющая прогнозировать индивидуальный риск наличия интраэпителиального поражения высокой степени и РШМ. Диагностические характеристики модели составили: чувствительность 97,62%, специфичность 87,59%, предсказательная ценность положительного результата 15,07%, предсказательная ценность отрицательного результата 99,9%, диагностическая эффективность 87,82%. Высокая прогностическая ценность отрицательного результата модели позволяет использовать разработанный алгоритм для определения пациентов не нуждающихся в расширенном обследовании и снижения показателя гипердиагностики.

Предложены и научно обоснованы мероприятия по совершенствованию эпидемиологического надзора за патологией шейки матки папилломавирусной этиологии на основе молекулярно-биологических методов.

Методология и методы исследования

Диссертационное исследование осуществлялось в соответствии с планом, разработанным для осуществления поставленной цели при последовательном выполнении сформулированных задач исследования. При выполнении диссертационного исследования использовался арсенал методов: эпидемиологического (описательно-оценочный и аналитический приемы), лабораторной диагностики (цитологический, гистологический и молекулярно-биологический) и статистики. Результаты, полученные в ходе проведения диссертационного исследования проанализированы, систематизированы и описаны в главах рукописи, посвященных собственным исследованиям. На

основании полученных результатов сформулированы выводы и разработаны практические рекомендации.

Положения, выносимые на защиту

- 1.** Существующая система учета заболеваний шейки матки папилломавирусной этиологии несовершенна. Регистрация случаев происходит по типу соматической патологии, мониторинг вируса папилломы человека не производится, учет выявления стадий облигатного предрака происходит не в полном объеме.
- 2.** Чувствительность скрининга рака шейки матки при использовании цитологического метода находится в пределах 83,78% - 94,34%, ВПЧ-теста на основе ПЦР - составляет более 99,5% при условии выявления не менее 12-и онкогенных типов вируса папилломы человека, значимость которых в развитии предрака шейки матки убывает в следующем порядке: 16>33>58>35>45>31>18>52>39>59>56>51>68>66.
- 3.** Разработана и апробирована методика на основе ПЦР в режиме реального времени, позволяющая проводить выявление, генотипирование и определение суммарной и индивидуальной концентрации 14-и типов вируса папилломы человека.
- 4.** Распространенность ВПЧ 14-и типов среди женщин Московского региона составляет 14,87%, (ДИ 95%: 12,86–17,13%), среди женщин без патологии цервикального эпителия - 11,82% (ДИ 95%: 9,98–13,94%), наиболее инфицированы женщины до 25 лет - 20,21% (ДИ 95%: 15,15–26,43%), наиболее распространены типы: 16 (16,98%), 31 (14,47%), 52 (13,21%).
- 5.** Создана и апробирована прогностическая модель на основе результатов, получаемых при применении разработанной методики, характеризующаяся диагностической эффективностью 87,8%, позволяющая с вероятностью 99,9%

исключить наличие предрака и рака шейки матки папилломавирусной этиологии у обследуемых женщин.

6. Для совершенствования эпидемиологического надзора за патологией шейки матки папилломавирусной этиологии необходимо внедрение мониторинга за ВПЧ-инфекцией на основе молекулярно-биологических методов.

Личное участие автора в получении результатов

Исследование проведено на базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора в составе научной группы разработки новых методов диагностики оппортунистических и папилломавирусных инфекций.

Автором проведен полный набор исследований эпидемиологических, включающих поиск, анализ, расчеты и интерпретацию результатов; молекулярно-биологических, включающих анализ олигонуклеотидных последовательностей, участие в разработке и усовершенствовании методики генотипирования ВПЧ, включая разработку количественного способа оценки индивидуальных типов вируса, подбор условий амплификации, оформление документов для передачи методики на производство ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии, проведение апробации и валидации методики с использованием биологического материала, полученного от пациентов; аналитических, включающих формирование алгоритма интерпретации данных, полученных при применении молекулярно-биологической методики, создание программы расчета для ЭВМ; статистических, включающих математический анализ полученных данных и интерпретацию рассчитанных результатов.

Автором сформирован дизайн исследований и проведена оценка результатов лабораторных тестов для определения диагностической эффективности методов при выявлении ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки в Российской Федерации, изучены особенности распространения вируса папилломы человека среди женщин Московского региона.

Автором разработана концепция, рассчитана и апробирована прогностическая модель для определения вероятности наличия интраэпителиального поражения высокой степени на основании данных, полученных при применении разработанной молекулярно-биологической методики.

Формирование базы данных «Распространенность вируса папилломы человека различного канцерогенного риска среди населения Московского региона», содержащей деперсонифицированные результаты лабораторного обследования пациенток ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора осуществлено совместно с подразделением молекулярных методов диагностики ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Внедрения результатов исследования

Результатами проведенной научной работы явились:

1. Регистрационное удостоверение на набор реагентов, основанный на разработанной методике «Набор реагентов для качественного и количественного определения ДНК ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР) 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 генотипов в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики *in vitro* «АмплиСенс ВПЧ ВКР генотип-титр-FL» по ТУ 9398-226-01897593-2016» (№РЗН2017/6533 от 27.03.2019).
2. Регистрационное свидетельство на базу данных «Распространенность вируса папилломы человека различного канцерогенного риска среди населения Московского региона». Свидетельство о государственной регистрации базы данных №2022621655. 07.07.2022.
3. Регистрационное свидетельство на программу для ЭВМ «Электронный калькулятор АмплиСенс ВПЧ ВКР генотип-титр». Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2024617242.

4. Данные, полученные при выполнении работы используются в лекционном материале сертификационных курсов, проводимых во ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора «ПЦР – диагностика инфекционных заболеваний»; на научно-практических семинарах для специалистов республик Армения, Белоруссия, Казахстан, Киргизия, Таджикистан, Азербайджан; на курсах практических занятий для специалистов из стран-членов АСЕАН.

Степень достоверности и апробация результатов

Для обеспечения достоверности результатов, получаемых при выполнении диссертационной работы, использовался репрезентативный объем выборки, применялись релевантные поставленной цели и задачам методы исследования, достоверность полученных результатов проверялась проведением статистического анализа.

Материалы диссертационного исследования представлены на научно-практических мероприятиях:

- онлайн-совещание ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора «Изучение влияния вируса папилломы человека на развитие онкологической патологии у женщин, живущих с ВИЧ/СПИД в странах-участницах исследования», (29 декабря 2022, Москва, Россия);

- Российская научно-практическая конференция с трансляцией в интернет «Управляемые и другие социально значимые инфекции: диагностика, лечение и профилактика» (7–8 февраля 2023, Санкт-Петербург, Россия);

- 16-й Всероссийский съезд национального альянса дерматовенерологов и косметологов (14–16 марта 2023, Москва, Россия);

- Конгресс с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность-2023», (27–28 апреля 2023, Москва, Россия);

- IX Конгресс Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (23-25 мая 2023, Санкт-Петербург, Россия);

- Гомельский международный конгресс «Инфекционные болезни, микробиология и иммунология» (13–14 сентября 2023, Гомель, Республика Беларусь);

- XXIII Всероссийский съезд дерматовенерологов и косметологов (19–22 сентября 2023, Москва, Россия);

- Научно-практическая конференция «Современная иммунопрофилактика 2023» (12-13 октября 2023, Москва, Россия);

- III Ежегодная конференция по инфекционным болезням «Покровские чтения» (30–31 октября 2023 года, Москва, Россия);

- XVI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы» с международным участием (25–27 марта 2024, Москва, Россия);

- Конгресс с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность-2024» (, 16–17 апреля 2024, Москва, Россия);

- Научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора «Проблемы эпидемиологии, терапии и лабораторной диагностики инфекционных заболеваний – 2024» (29–30 мая 2024, Москва, Россия);

- Второй Гомельский международный конгресс «Инфекционные болезни, микробиология и иммунология» 2024 (12–13 сентября 2024 года, Гомель, Республика Беларусь);

- Заключительное совещание по проекту «Изучение влияния вируса папилломы человека на развитие онкологической патологии у женщин, живущих с ВИЧ/СПИД в странах-участницах исследования» (18-19 сентября 2024, Москва, Россия).

Диссертационная работа представлена и рекомендована к защите на заседании апробационного совета Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной

службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Роспотребнадзора от 26 ноября 2024 года, протокол № 91.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.2.2. Эпидемиология. Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследований: пунктам 2, 4, 5 и 6 паспорта специальности 3.2.2. Эпидемиология.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, в том числе 4 статьи в изданиях, рекомендованных Высшей Аттестационной Комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертации.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, восьми глав (обзора литературы; главы, описывающей материалы и методы исследования; 6 глав собственных исследований), заключения, выводов и практических рекомендаций. Объем работы – 179 страниц. Диссертация иллюстрирована 21 таблицами и 42 рисунками. Список литературы содержит 126 источников, в том числе 67 – на русском языке и 59 – на английском языке.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Открытие вирусов произошло более 130 лет назад. В настоящий момент известно более 11000 различных вирусов бактерий, грибов, растений и животных [15]. Для ряда вирусов установлено патогенное действие на организм человека. Некоторые из них являются этиологической причиной развития онкологических заболеваний [16]. Механизмы развития злокачественных новообразований (ЗНО) с вирусной этиологией изучены не полностью, до сих пор достоверно неизвестны причины элиминации вирусов у одних пациентов и прогрессии инфекции и онкологической трансформации клеток у других. В ситуации недостаточности знаний о комплексе взаимодействий, происходящих при вирус-опосредованной малигнизации, сложности представляет и организация профилактики онкологических заболеваний с вирусной этиологией.

Исторически, теории развития рака сменяли друг друга в зависимости от развития познаний о мироустройстве, медицине, биологии. 1892 год считается моментом зарождения вирусологии, в связи публикацией Дмитрием Иосифовичем Ивановским статьи о болезнях табака, в которой описаны «фильтрующиеся минимикробы», названные впоследствии вирусами, их контагиозные свойства, корпускулярная природа и способность размножаться внутри живых организмов [17]. Эпоха начала распространения инфекционной теории развития злокачественных опухолей связана с изысканиями ученых, проводивших опыты, подобные опытам Ивановского, с различными биологическими объектами. Фрэнсис Пейтон Раусс, опубликовавший результаты опытов о заразности саркомы цыплят в 1911 году был удостоен Нобелевской премии по физиологии или медицине «за открытие онкогенных вирусов». Впервые научно сформулирована и описана вирусная теория происхождения злокачественных опухолей была Львом Зильбером в 1946 году [18], трансформированная им позднее в вирусогенетическую теорию. В соответствии с вирусогенетической теорией причиной развития опухолевого процесса является интеграция вирусной ДНК в геном

макроорганизма, что приводит к изменению свойств его клеток и развитию новообразований [19]. Позднее были описаны вирусные онкогены – участки ДНК, продукты которых, приводят к трансформации клеток и их неограниченному и неконтролируемому размножению, вызывая развитие опухоли. Вирус папилломы человека (ВПЧ) является одним из вирусов, канцерогенный потенциал которых доказан, и установлена роль в развитии ряда заболеваний, таких как рак анального канала, рак полового члена, раки головы и шеи, рак вульвы и рак влагалища [16]. Однако, наибольший вклад ВПЧ вносит в развитие рака шейки матки (РШМ), вирусная этиология которого подтверждается более, чем в 95 % случаев [16].

Представления об инфекционной природе РШМ берут начало с конца первой половины 19 века, с тех пор как Ригони-Штерн, анализируя заболеваемость раком шейки матки среди женщин в Италии, увидел закономерность – у девственниц и монахинь заболевание встречалось крайне редко, в то время как у женщин, имевших сексуальные контакты, распространенность была выше. Таким образом, впервые было сделано предположение о раке, передающемся половым путем. В 1907 году Джузеппе Чуффо пропустил экстракт, полученный из венерических бородавок через фильтр, задерживающий бактерии, и втирал его в здоровую кожу, в результате чего на обработанных экстрактом участках кожи развивались бородавки. Таким образом Чуффо показал вирусную природу развития бородавок, а 1907 год, с тех пор, считается годом открытия вируса папилломы [20]. Предположения о возможном канцерогенном потенциале вируса папилломы, были высказаны в работах Ричарда Шоупа, изучавшего развитие бородавок, а затем и рака у кроликов под действием определенных типов папилломавируса, и работах Стефании Яблонской об ассоциации вируса папилломы человека с раком кожи. Харальд Цур Хаузен, изучая ткани образцов рака шейки матки, впервые предположил, что развитие данного заболевания связано с папилломавирусом, и был награжден нобелевской премией «за открытие вируса папилломы человека как причины рака шейки матки» в 2008 году.

1.1 Эпидемиологическое значение вируса папилломы человека

1.1.1 Строение и классификация вируса папилломы

Вирус папилломы имеет икосаэдрический пептидный капсид, содержащий внутри генетический материал. Геном вируса папилломы состоит из кольцевой двухцепочечной ДНК размером около 8000 пар оснований, кодирующей последовательности ранних и поздних белков и регуляторные элементы [21]. К ранним белкам относят E1, E2, E4, E5, E6, E7 - они отвечают за управление процессами регуляции репликации, репарации, транскрипции, процессинга и упаковки вирусных частиц, а также имеют сигнальные функции и участвуют в онкогенезе. Поздние белки L1 и L2 формируют капсид вирусных частиц (рисунок 1.1).

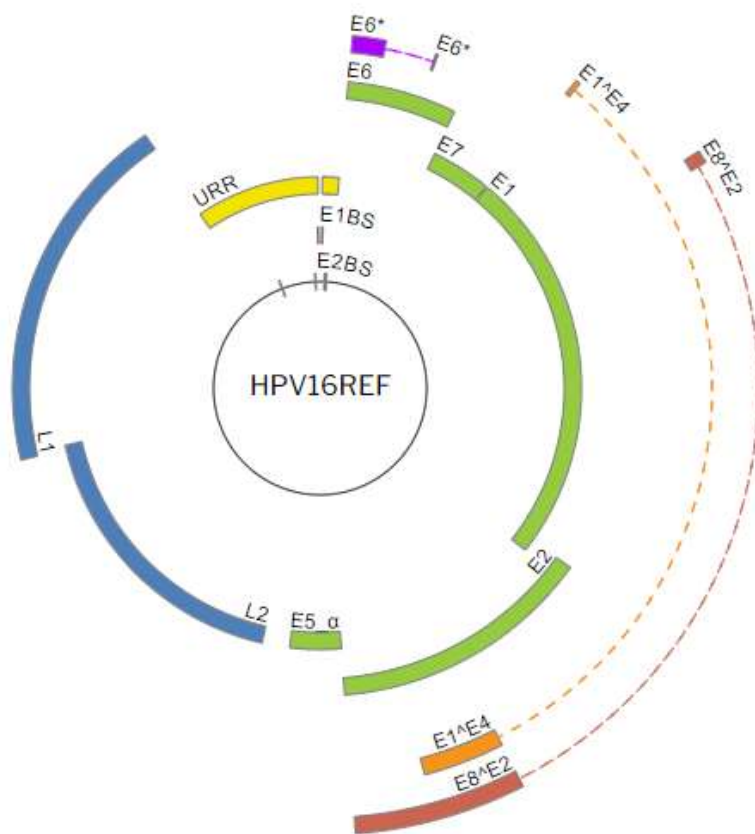


Рисунок 1.1 – транскрипционная карта вируса папилломы человека 16 типа [22]

Вирус папилломы отнесен к семейству Papillomaviridae. На данный момент открыто более 400 типов вируса папилломы, из них более 200 относятся к вирусам папилломы человека [22, 23].

Существует два подхода к классификации вируса папилломы – филогенетический и эпидемиологический. Филогенетический подход основан на поиске сходства ДНК изучаемого вируса с уже известными классифицированными типами вируса папилломы. Ключевым параметром является последовательность наиболее консервативного гена L1. В том случае, когда сравниваемые вирусы имеют менее 10% различий нуклеотидов в данной области, их относят к одному типу, если различий в нуклеотидных последовательностях более 10%, вирусы относят к разным типам [24]. На рисунке 1.2 показан фрагмент филогенетического дерева вируса папилломы человека на примере ветви $\alpha 9$.

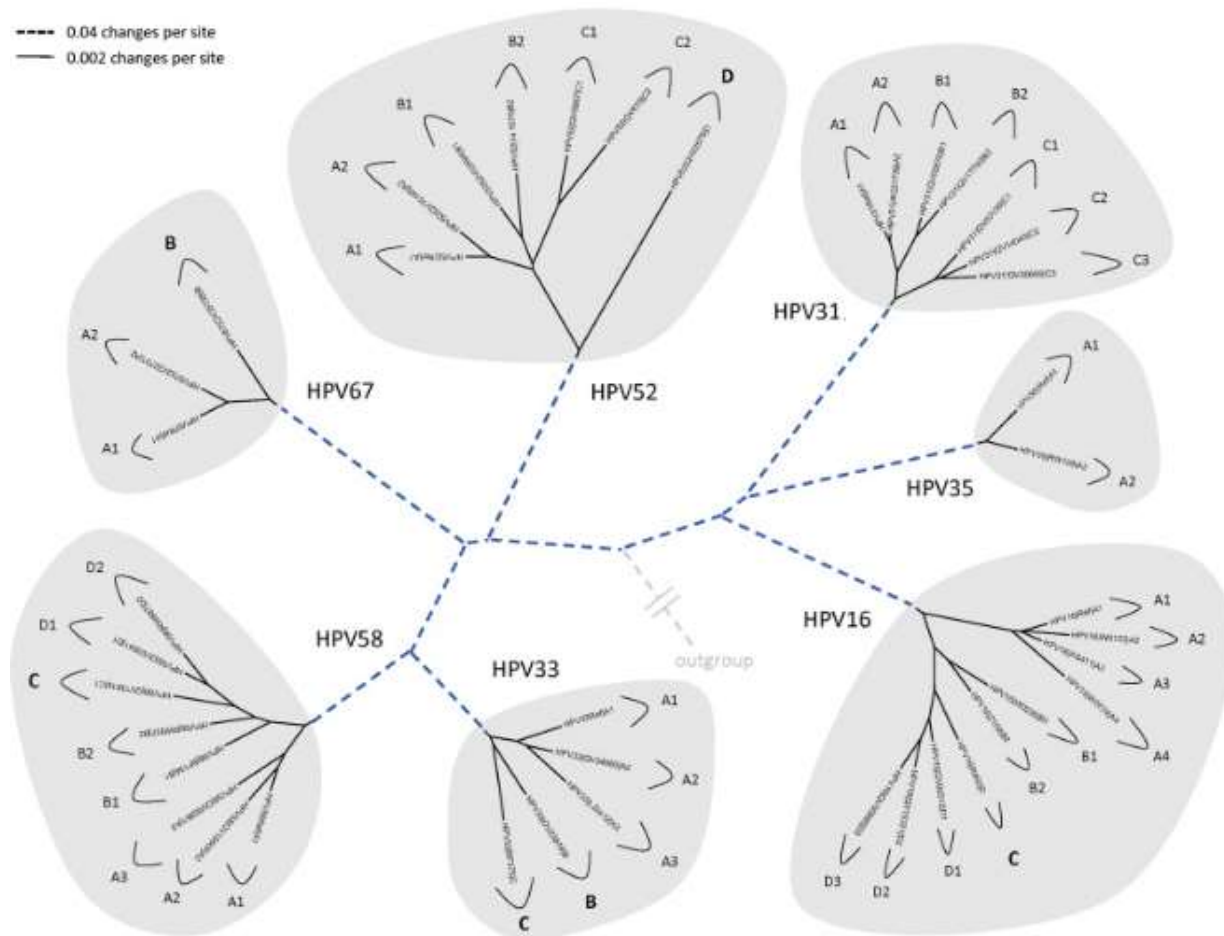


Рисунок 1.2 – Филогенетическое дерево папилломавируса ветви $\alpha 9$, показывающее входящие типы и их варианты линий/сублиний [25]

При большом разнообразии типов ВПЧ, не все способны вызывать развитие онкологических заболеваний. Первая эпидемиологическая классификация ВПЧ была сформирована в 2003 году группой исследователей из международного агентства по изучению рака (IARC). Типы ВПЧ были разделены по способности трансформировать клетки, на основании обнаружения их в тканях предрака и рака шейки матки. Первоначально сформированная классификация, основанная на данных мета-анализа результатов 11 исследований типа случай-контроль, проведенных в 9 странах с общим количеством 1918 случаев подразделяла ВПЧ на три группы: пятнадцать типов высокого канцерогенного риска (ВКР): 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82; три типа вероятно высокого канцерогенного риска (вВКР): 26, 53, 66; двенадцать типов низкого канцерогенного риска (НКР): 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, С36108. Было подчеркнуто хорошее соответствие полученной эпидемиологической классификации с филогенетической классификацией – онкогенные типы принадлежат одному роду α , подгруппам α_9 , α_7 , α_5 и α_6 [26]. В 2012 году Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) опубликована обновленная эпидемиологическая классификация ВПЧ, основанная на результатах мета-анализа данных мировых исследований в этой области. В актуальной классификации типы ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 (группа 1) определены онкогенными для человека; тип ВПЧ 68 (группа 2А) - вероятно онкогенным для человека; типы ВПЧ 26, 53, 66, 67, 70, 73, 82 (группа 2В) - возможно онкогенными для человека; типы ВПЧ 30, 34, 69, 85 и 97 (Группа 2В) отнесены к возможно онкогенным для человека на основании их филогенетического родства с типами с достаточным или ограниченным доказательством онкогенности; типы ВПЧ 6 и 11 (группа 3) не поддаются классификации по степени их онкогенности для человека [16].

1.1.2 Распространенность вируса папилломы человека

Путь передачи ВПЧ – половой, реализуется при контактах слизистых оболочек и кожи. Вирус высоко контагиозный, вследствие чего инфицированность населения ВПЧ высока как среди мужчин, так и среди женщин. Установлено, что не менее 80% мужчин и женщин инфицируются хотя бы одним типом ВПЧ к 45 годам [27]. Однако, распространенность вируса в целом и разных его типов отличается в зависимости от региона проживания и возраста обследуемых. Распространенность ВПЧ среди женщин с отсутствием изменений цервикального эпителия (базовая распространенность), составляет в среднем 9,9% в Мировом масштабе, с вариацией от 3,7% в странах Западной Европы и до 33,6% в Восточной Африке и Латинской Америке [28 - 30]. Наиболее инфицированы женщины моложе 25 лет: 19,2% в среднем в Мировом масштабе [30]. Выявлены различия в частотах встречаемости типов ВПЧ между разными регионами, однако, выделено 5 лидирующих по распространенности типов среди женщин без патологии цервикального эпителия: 16, 18, 52, 31, 58 (3,2%, 1,4%, 0,9%, 0,8%, 0,7% соответственно) [30] (рисунок 1.3).

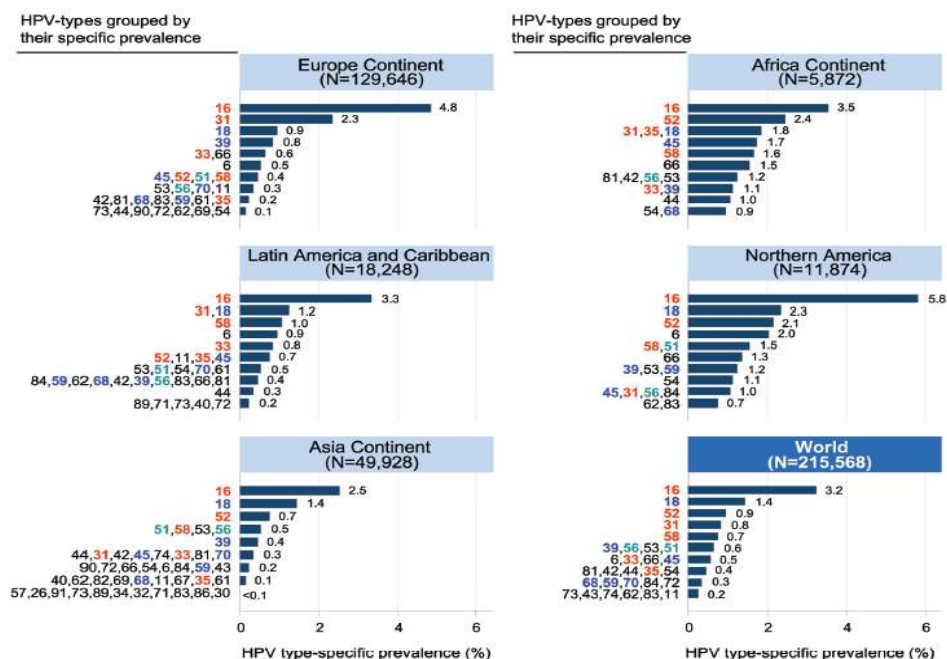


Рисунок 1.3 – Распространенность ВПЧ среди женщин без цитологических признаков интраэпителиальной неоплазии на 5 континентах и в Мировом масштабе [30]

В ряде исследований показано также, что частота встречаемости различных типов ВПЧ зависит от степени тяжести интраэпителиальной неоплазии эпителия. ВПЧ 16 типа встречается наиболее часто во всех случаях, но встречаемость других варьирует (рисунок 1.4).

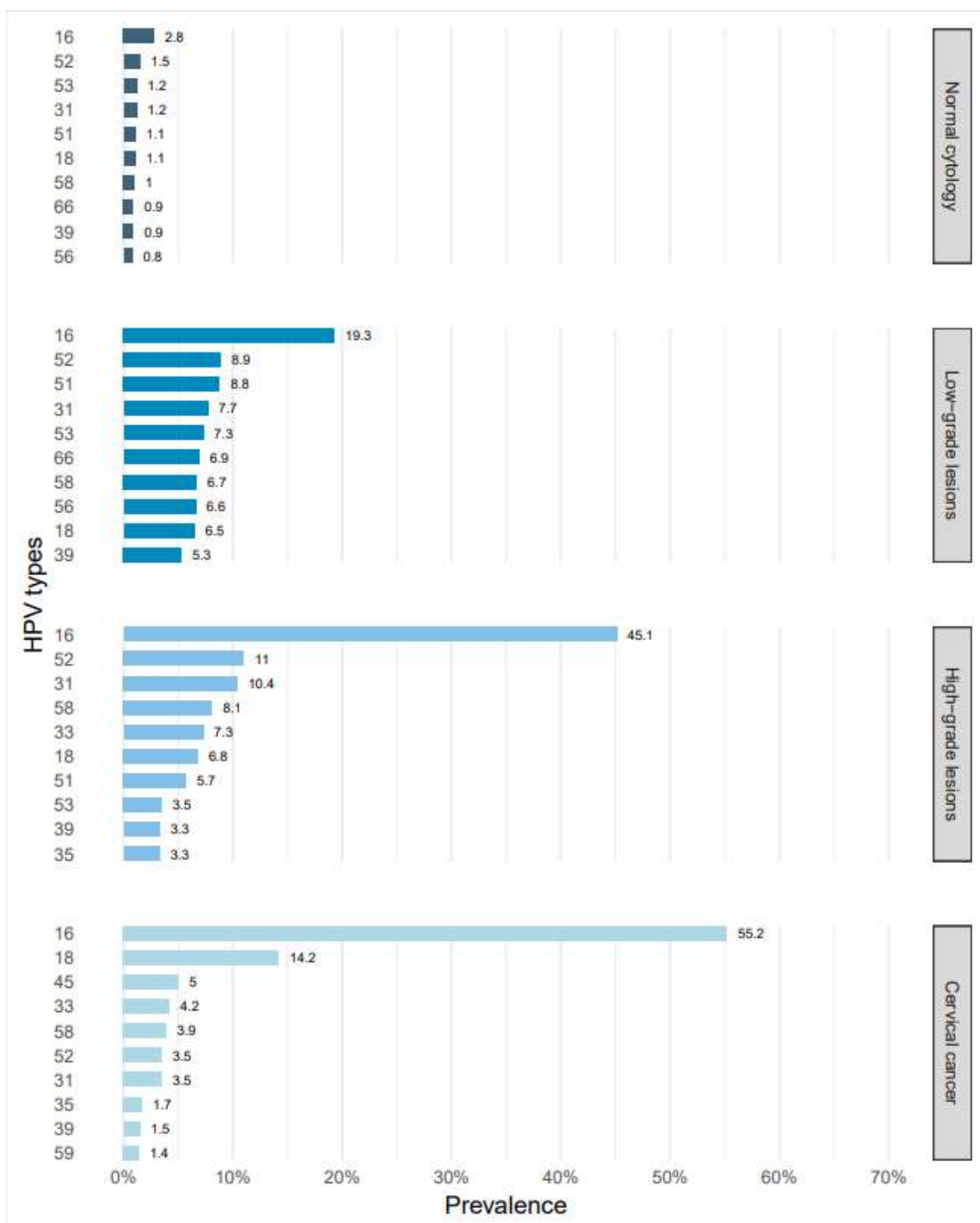


Рисунок 1.4 – Сравнение частоты встречаемости десяти наиболее распространенных онкогенных типов ВПЧ в Мире среди женщин с поражениями эпителия шейки матки и без [28]

Официальных данных о распространенности ВПЧ в целом и отдельных типов при интраэпителиальных неоплазиях различной степени и РШМ в Российской Федерации не имеется по причине отсутствия мониторинга за ВПЧ инфекцией.

1.1.3 Эпидемиология рака шейки матки

Рак шейки матки (РШМ) – злокачественная опухоль, исходящая из слизистой оболочки шейки матки (эктоцервикса или эндоцервикса) [31]. РШМ занимает 4 место по заболеваемости онкологическими заболеваниями и 4 место по смертности от онкологических заболеваний в Мире [1].

Порядка 90% новых случаев заболевания и смерти от РШМ возникает в странах с низким и средним уровнем дохода населения [1] (рисунок 1.5).

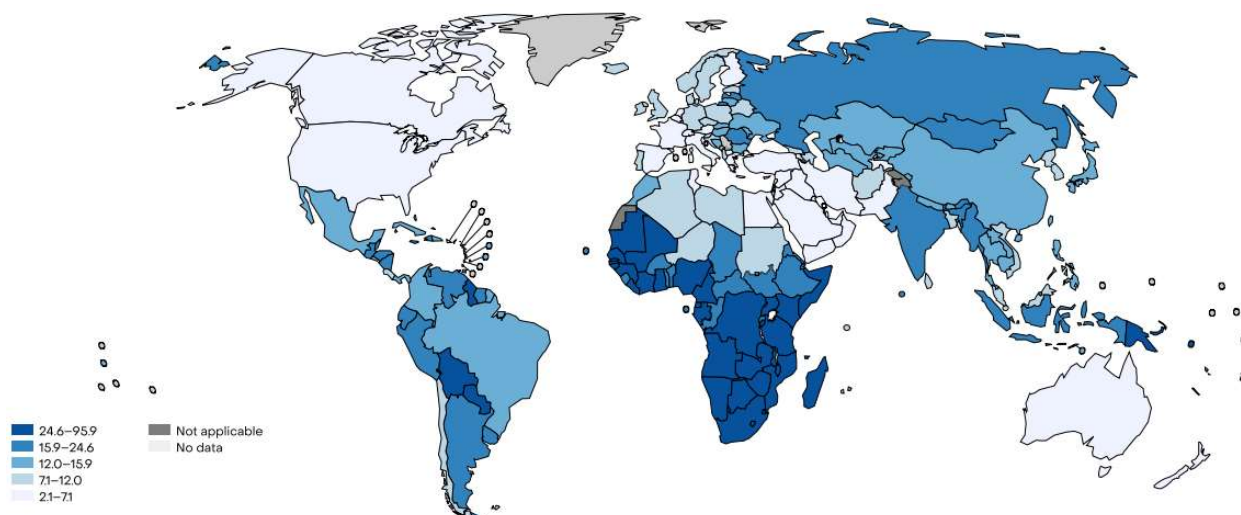


Рисунок 1.5 – Стандартизованный показатель заболеваемости РШМ в 2022 г. среди женщин всех возрастов [1]

В структуре онкологических заболеваний среди женского населения России по данным за 2023 г. РШМ занимает 5 место (4,5%) после рака молочной железы, злокачественных новообразований кожи (кроме меланомы), тела матки и ободочной кишки [32]. Заболеваемость РШМ среди женщин 25 - 29 лет находится на втором месте после опухолей щитовидной железы с удельным весом 13,57%. В

структуре онкологических заболеваний женщин среднего возраста (30-59 лет) РШМ занимает также 2е место (9,7%) после рака молочной железы [32].

Заболеваемость РШМ в Российской Федерации поступательно возрастает – среднегодовой темп прироста случаев выявления РШМ на 100 000 населения в 2020 году составил 1,27%, прирост за 10 лет (2010 – 2020) – 13,63%. Кумулятивный риск развития РШМ для женщин в 2019г составил 1,52%, в то время, как в 2011 году он оценивался как 1,35% [33].

Уровень смертности от РШМ в Мире также варьирует в зависимости от региона и является наиболее высоким в странах Африки к югу от Сахары и наиболее низким в странах Западной Азии [1] (рисунок 1.6). Среди заболевших РШМ в странах с низким и средним уровнем дохода населения смертность составляет порядка 60%, в то время как в странах с высоким уровнем дохода населения этот показатель составляет около 30% [34].

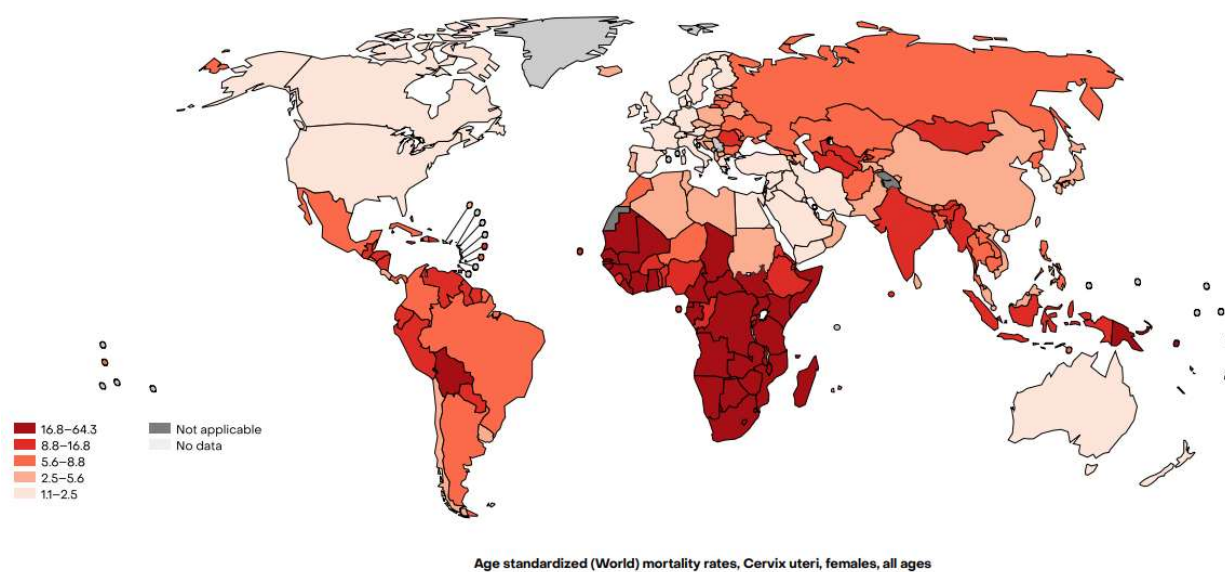


Рисунок 1.6 – Стандартизованный показатель смертности от РШМ в 2022 г. среди женщин всех возрастов [1]

В структуре женской смертности от онкологических заболеваний в Российской Федерации по данным на 2023 год РШМ занимает 10 место с удельным весом 4,9%. Среди женщин возраста 30 – 39 лет и 40-49 РШМ является второй причиной женской смертности от онкологических заболеваний с удельным весом

21,2% и 15,9% соответственно после рака молочной железы, а возрастной категории 30-34 лет – обгоняет рак молочной железы, выходя на первое место с удельным весом 22,19%. Среди женщин 50-59 лет РШМ занимает 3е место среди причин женской смертности от ЗНО с удельным весом 7,9% после опухолей молочной железы и яичника. Среди женщин старше 50 лет удельный вес РШМ в структуре смертности поступательно снижается, уступая место другим онкологическим заболеваниям [4] (рисунок 1.7).

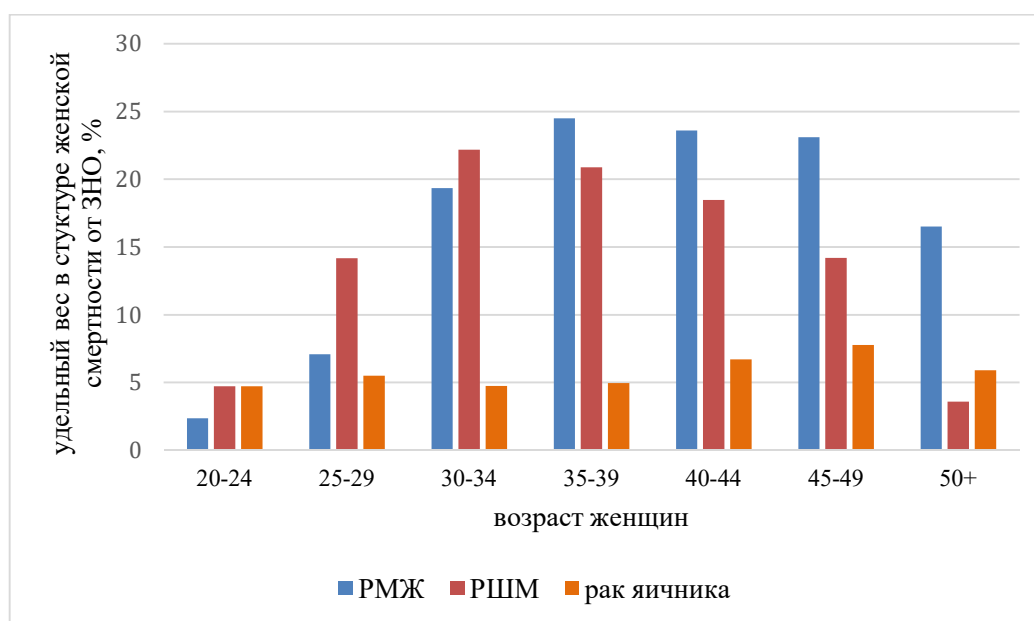


Рисунок 1.7 – удельный вес РШМ, РМЖ и рака яичника среди причин женской смертности от ЗНО в зависимости от возраста в 2023г.

1.1.4 Патогенез и клинические проявления рака шейки матки

Онкогенные ВПЧ инфицируют эпителий наружных половых органов, аногенитальной зоны, влагалища и шейки матки, а также ротоглотки. Наиболее уязвимой для воздействия вируса является зона трансформации и ее верхняя граница переходная зона – зона стыка двух видов эпителия – плоского и цилиндрического, где клетки обладают большим количеством потенциалов со сложно организованными процессами дифференциации, и являются более уязвимыми [35]. Зона трансформации присутствует в цервикальном канале, анальном канале,

глотке, что обуславливает развитие злокачественных новообразований в этих зонах – 99,7% РШМ и 92% рака заднего прохода, 60% рака ротоглотки ассоциировано с ВПЧ [36]. Канцерогенное воздействие ВПЧ на клетки человека обусловлено работой вирусных белков. Наиболее изучены вирусные белки E6, E7, называемые белками-онкогенами и регуляторный белок E2. Изменение баланса экспрессии этих белков и их воздействие на каскады реакций клеточного цикла приводит к малигнизации клеток эпителия. Белки E6 и E7 ВПЧ экспрессируются с общего раннего промотора. Белок вируса папилломы E7, связываясь с человеческим белком ретинобластомы (pRb) и, опосредуя деградацию pRb и связанных протеинов p107 и p130, стимулирует повторный вход клетки в S-фазу клеточного цикла и активизирует пролиферацию. Белок вируса E6, связываясь с регулятором клеточного цикла человека p53, а также другими регуляторными белками, блокирует их функции, что приводит к ингибированию остановки клеточного цикла и перехода клетки в апоптоз, а также другим последствиям, включая нарушение клеточной транскрипции, дифференцировки, репаративных функций. Белок E2 является регулятором транскрипционной активности вирусного генома. В случаях, когда нарушается E2-опосредованное репрессорное функционирование регуляции экспрессии вирусных онкогенов E6 и E7 в результате мутаций или интеграции вируса в геном человека с разрывом вирусной ДНК в области гена E2, возникает озлокачествление эпителиальных клеток [16, 37].

Факторами риска развития РШМ являются как травматические воздействия на эпителий шейки матки, в том числе аборты, раннее начало половой жизни, так и другие факторы – курение, большое количество половых партнеров, иммуносупрессия [16].

Клинические симптомы ВПЧ-ассоциированных заболеваний в большинстве случаев отсутствуют вплоть до стадии инвазивного рака, изредка встречаются «контактные» кровянистые выделения из половых путей [38]. РШМ проявляется обильными водянистыми белями и «контактными» кровянистыми выделениями из половых путей. При значительном распространении опухоли появляются боли, дизурия и затруднения при дефекации [31].

Согласно МКБ-10 заболевание РШМ имеет классификатор C53.0. Карцинома in situ шейки матки имеет классификатор D06 – (включена цервикальная интраэпителиальная неоплазия (CIN) III степени с упоминанием или без упоминания о выраженной дисплазии, исключены: меланома in situ шейки матки D03.5 и тяжелая дисплазия шейки матки БДУ(87.2)). Дисплазии шейки матки относят к рубрике N87, в том числе:

- N87.0 слабовыраженная дисплазия шейки матки (цервикальная интраэпителиальная неоплазия [CIN] I степени, низкая степень плоскоклеточных интраэпителиальных поражений [LSIL]);
- N87.1 умеренная дисплазия шейки матки (цервикальная интраэпителиальная неоплазия II степени);
- N87.2 резко выраженная дисплазия шейки матки, неклассифицированная в других рубриках (резко выраженная дисплазия БДУ исключена: цервикальная интраэпителиальная неоплазия III степени с упоминанием (или без него) о резко выраженной дисплазии (D06.-)).
- N87.9 дисплазия шейки матки неуточненная.

1.2 Профилактические и противоэпидемические мероприятия

РШМ является заболеванием, управляемым при помощи проведения профилактических мероприятий. Опыт Австралии – первой страны, внедривший вначале вакцинацию девочек (2007 г.), а затем и гендерно-нейтральную вакцинацию (2013 г.), а также переключение алгоритма скрининга на ВПЧ-тест на первом этапе (с 2017 г.) показывает эффективность проводимых мер и, согласно расчетам, в Австралии планируется достижение порога заболеваемости РШМ 4 случая на 100 тысяч женщин к 2030 г. [39]. Динамика снижения заболеваемости РШМ в Австралии показана на рисунке 1.8.

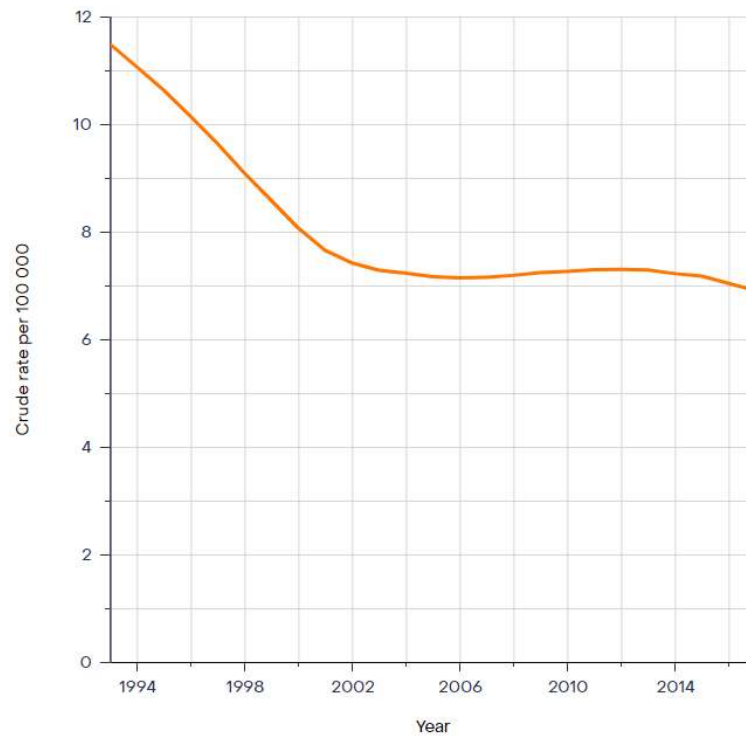
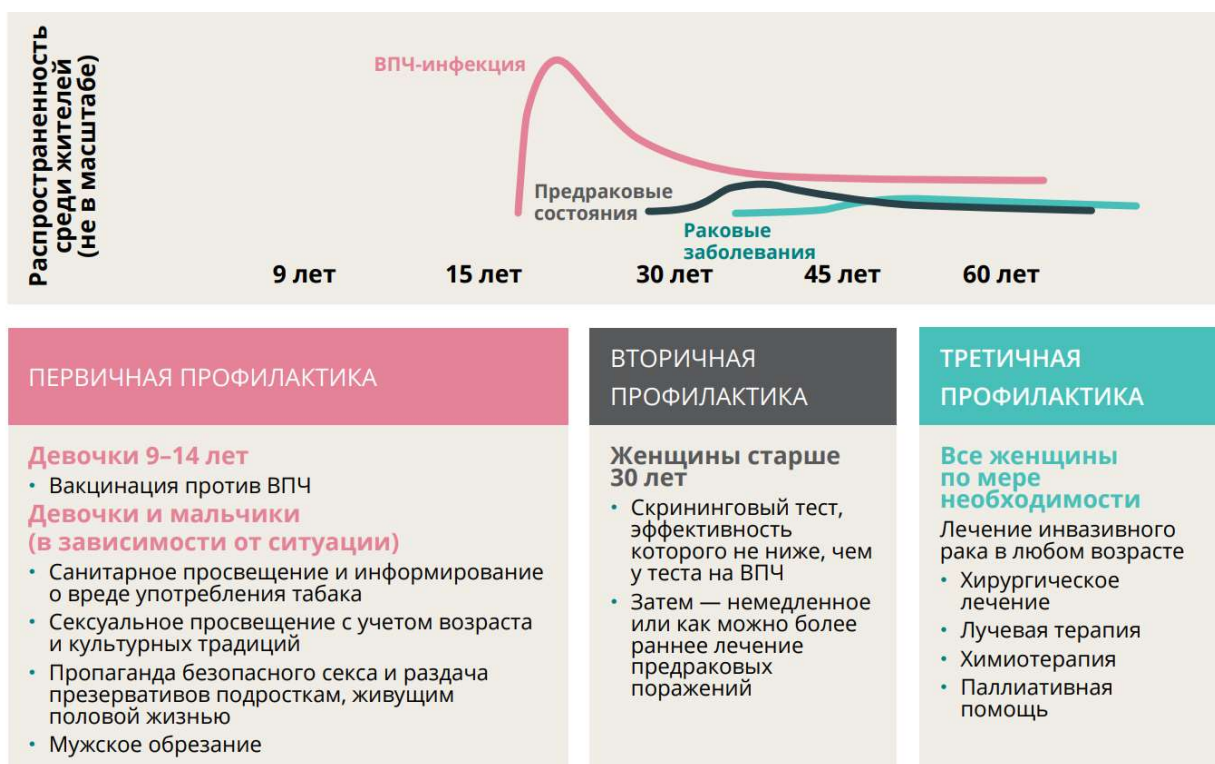


Рис.1.8 – Интенсивный показатель заболеваемости РШМ в Австралии в 1994 – 2017 гг. [3]

Глобальная стратегия, направленная на борьбу с РШМ, рекомендованная ВОЗ подразумевает активное внедрение профилактических программ. Основными ее составляющими являются: первичная профилактика (охват вакцинацией не менее 90% девушек к 15-летнему возрасту), вторичная профилактика (охват скринингом не менее 70% женщин с использованием высокопроизводительного теста как минимум дважды в течение жизни) и третичная профилактика (эффективное лечение не менее 90% женщин с выявленным предраком и РШМ). Глобальная стратегия представлена на рисунке 1.9 [2].



1.9 – Глобальная стратегия по ускорению ликвидации рака шейки матки как проблемы общественного здравоохранения (ВОЗ). Подход к мероприятиям по борьбе с РШМ с учетом жизненного цикла человека [2]

Открытие в 1990е годы Яном Гектором Фрейзером и Цзянь Чжоу свойств белка L1 оболочки ВПЧ, способных сворачиваться в капсид без генетического материала внутри, формируя вирусоподобные иммуногенные частицы, способствовало созданию вакцинных препаратов от ВПЧ, применяемых с 2006 года [40]. Страны, в которых по данным ВОЗ внедрена вакцинация от ВПЧ в национальную программу иммунизации показаны на рисунке 1.10.

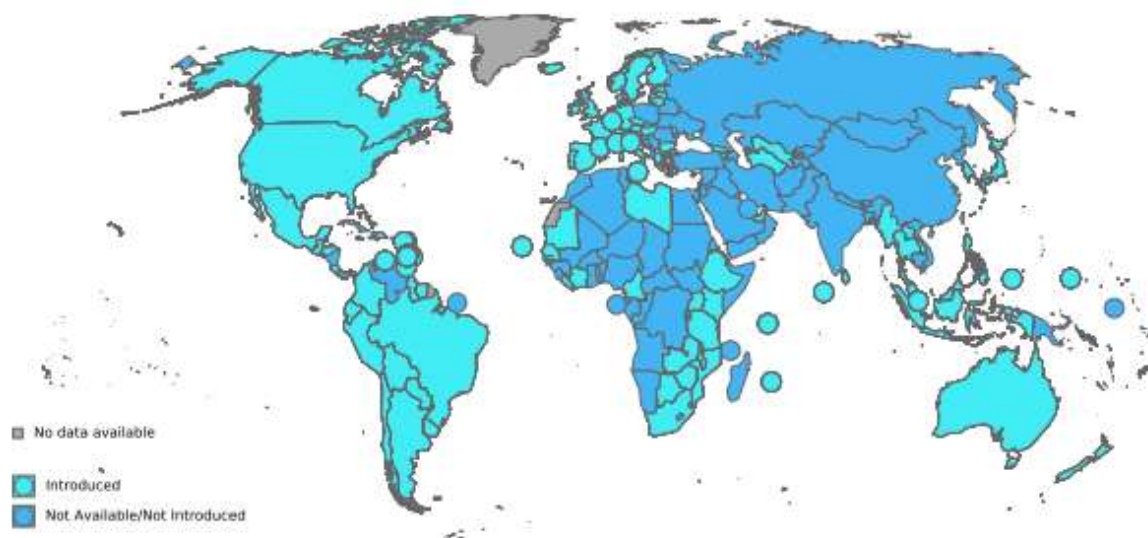


Рисунок 1.10 – Страны с внедренной в национальную программу иммунизации вакцинацией от ВПЧ (показаны голубым цветом) [41]

На сегодняшний момент испытаны, зарегистрированы и разрешены к применению две зарубежные вакцины от ВПЧ, в некоторых странах апробированы три вакцины. Они представляют собой 2-х, 4-х и 9-и валентные рекомбинантные препараты, направленные на предотвращение инфицирования вирусом и его персистенции. Основная целевая группа для применения масштабной вакцинопрофилактики дети и подростки возраста 9-13 лет [42]. Вакцинопрофилактика имеет высокую эффективность в борьбе с заболеванием в случае широкого охвата населения, однако на данный момент, первичная профилактика (вакцинопрофилактика) не достигает требуемого объема, в особенности, в странах с низким и средне-низким уровнем дохода населения [43].

В Российской Федерации вакцинация против ВПЧ не реализована на государственном уровне, однако проведено более 30 региональных программ вакцинации против ВПЧ. Пилотные программы были проведены в Московской области, Санкт-Петербурге, Ханты-Мансийском автономном округе и других регионах [44]. На данный момент отечественная вакцина, содержащая антигены двух онкогенных типов ВПЧ 16 и 18 и двух неонкогенных – 6 и 11 находится на этапе испытаний [10].

Основой вторичной профилактики РШМ является скрининг. Визуальный осмотр с применением 3% уксусной кислоты (VIA), цитологическое исследование и ВПЧ-тест относятся к диагностическим мероприятиям первой линии, являясь наиболее простыми и подходящими для широкого масштабирования [45]. Использование различных подходов к вторичной профилактике РШМ представлено на рисунке 1.11.

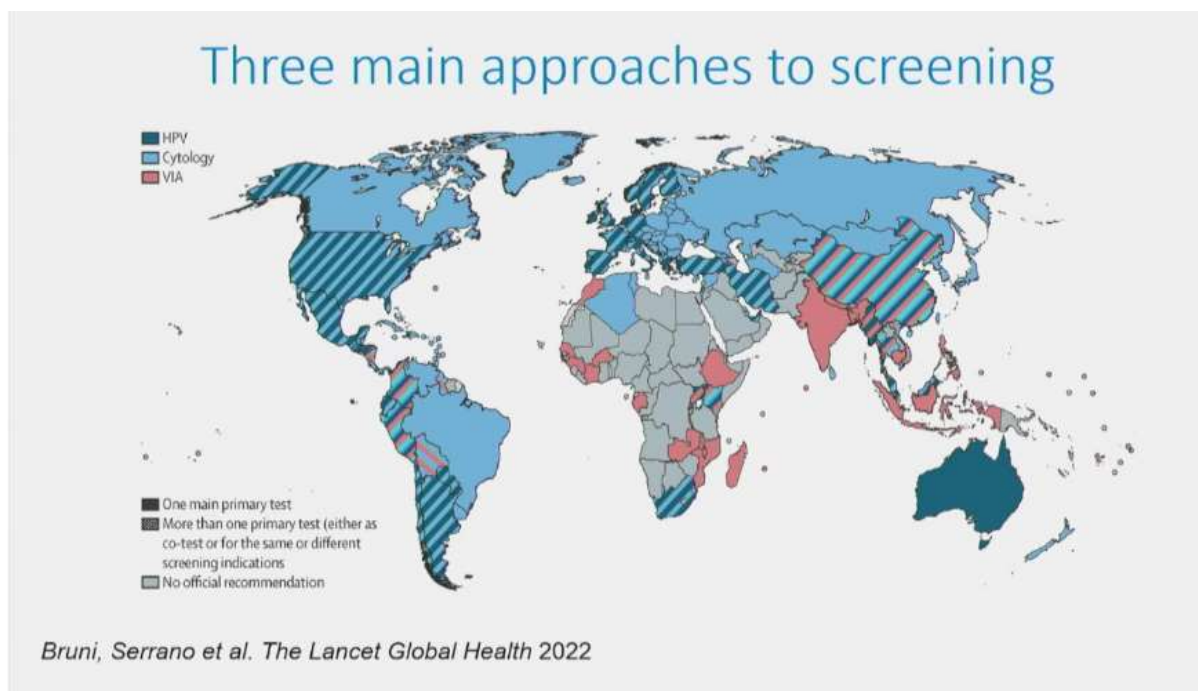


Рисунок 1.11 – Три основных подхода к проведению скрининга РШМ [45]

В настоящий момент как в Российской Федерации, так и в Мире широко применяется жидкостная цитология - изучение клеток цервикального эпителия, полученных методом соскоба, помещенных в жидкостную транспортно-консервирующую среду, с последующим нанесением на стекло и окраской по Папаниколау. Современным стандартом описания цитологического препарата является терминологическая система Бетесда (The Bethesda System – TBS, 2014 г.) (таблица 1.1).

Таблица 1.1 – Заключение для цитологических препаратов в соответствии с терминологической системой Bethesda (TBS, 2014 г.) [46].

NILM	negative for intraepithelial lesion or malignancy - отсутствие интраэпителиальных поражений
ASCUS	atypical squamous cells of undetermined significance - атипические клетки плоского эпителия неясного значения
ASC - H	atypical squamous cells can not exclude HSIL - атипические клетки плоского эпителия, нельзя исключить тяжелое поражение
LSIL	low-grade squamous intraepithelial lesions – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени
HSIL	high-grade squamous intraepithelial lesions – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение высокой степени
карцинома	Инвазивный рак

Для цитологического исследования характерны как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты, обусловленные качеством взятия материала, используемыми инструментами, особенностями подготовки к исследованию, способом окрашивания препарата, опытом специалистов [47 - 49].

Выявление ВПЧ (ВПЧ-тест) реализуется при помощи молекулярно-биологического метода. Изначально для решения данной задачи использовался тест двойного гибридного захвата HC2 (Digene), который, по мере развития методов амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), был практически вытеснен ими [50]. Динамика интенсивности использования различных методик для выявления ВПЧ в США продемонстрирована на рисунке 1.12.

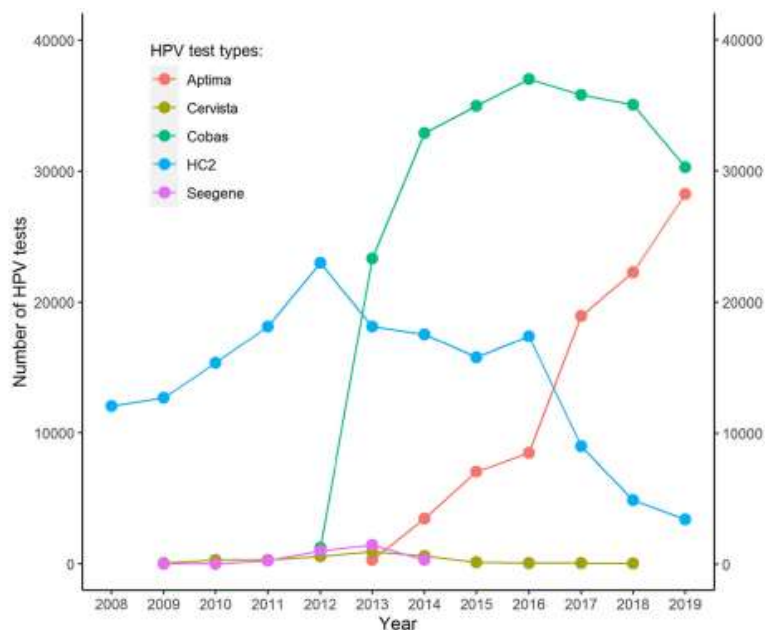


Рисунок 1.12 – количество тестов для выявления ВПЧ, проведенных различными методиками в штате «Новая Мексика» в 2008 – 2019 гг. [50]

В настоящее время наиболее распространены ВПЧ-тесты на основе полимеразной цепной реакции с оценкой результата в режиме реального времени (ПЦР-РВ) качественные и количественные без идентификации типа ВПЧ или с частичным, или полным генотипированием. В зарубежной практике сформированы требования для ВПЧ-тестов, пригодных для проведения скрининга [51, 52]. В Российской Федерации для применения в клинической практике ВПЧ-тестов требуется их регистрация в качестве медицинских изделий в Федеральной службе по надзору в сфере здравоохранения с получением регистрационного удостоверения (РУ).

Интерпретации результатов ВПЧ-тестов при проведении скрининга отводится особое внимание, поскольку часты случаи субклинической и транзиторной инфекции. Одно из наиболее известных изданий, предлагающих алгоритм ведения пациентов в зависимости от совокупности результатов, полученных при скрининге – руководство по управлению рисками наличия предрака и РШМ при получении результатов скрининга, отличных от нормы [53]. Руководство предполагает расчет индивидуального риска наличия карциномы in

situ на основе результатов ВПЧ-теста (в качественном формате без определения концентрации, в том числе наличия типов ВПЧ 16 и 18) и результатов цитологического заключения. Дополнительно уточнить наличие риска возможно при учете данных предыдущих скринингов, пройденных женщиной в течение жизни. В российских клинических рекомендациях отмечается целесообразность проведения частичного или полного генотипирования ВПЧ и оценки вирусной нагрузки у пациенток с цитологическим заключением ASCUS, ASC-H, LSIL, HSIL вне зависимости от возраста для оценки риска прогрессирования дисплазии до инвазии, а также для выбора тактики ведения и контроля эффективности лечения [11], однако, рекомендаций по интерпретации расширенных данных, кроме обнаружения ВПЧ 16 и 18 типа, не приводится.

Расширенная кольпоскопия проводится на основании наличия визуальных изменений шейки матки, отклонений от нормы в цитологическом исследовании, положительном ВПЧ-тесте, а также с целью выбора прицельного участка для проведения биопсии для верификации диагноза [11]. В случае отсутствия возможности проведения кольпоскопии рекомендуется проведение визуального осмотра шейки матки (VIA) с обработкой 3% уксусной кислотой. Метод основан на том, что измененные участки эпителия не приобретают окраску, в отличие от здоровых. В ряде стран с затруднениями для внедрения скрининга на основе цитологического метода и ВПЧ-теста VIA используется как первичное сортировочное исследование (рисунок 1.11), однако, данный подход ввиду низкой чувствительности и специфичности VIA, является наименее подходящим для достижения значимых результатов в борьбе с РШМ и, согласно рекомендациям ВОЗ, требует скорейшей замены на цитологическое исследование или ВПЧ-тест на первом этапе скрининга [6].

Скрининг на РШМ в России проводится для всех женщин в возрасте от 18 до 64 лет включительно при проведении профилактического медицинского осмотра и диспансеризации определенных групп взрослого населения по схеме, основанной на первичном цитологическом исследовании биоматериала шейки матки [54]. В 2020 г. Минздравом России утверждены, а в 2024 г. обновлены клинические

рекомендации «Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки», согласно которым регламентировано: для женщин 21–29 лет – цитологическое исследование микропрепарата шейки матки не реже 1 раза в 3 года, 30–65 лет – проведение цитологического исследования микропрепарата шейки матки и ВПЧ-тестирования 1 раз в 5 лет [11]. По результатам скрининга назначается дополнительное обследование и лечение согласно утвержденным протоколам [11, 31]. Данные протоколы выполняются при обращении пациентов к гинекологу в связи с различными жалобами. По данным Каприна А.Д. и соавторов в 2015-2016 гг. вклад диспансеризации в выявляемость РШМ составил 9,2 и 9,6% соответственно [55]. По сравнению с другими ЗНО этот вклад оказался существенным, поскольку проводился с применением целевого скрининга. Однако, эффективность диспансеризации в активной выявляемости РШМ оказалась сравнительно низкой, что, по мнению авторов исследования, требует анализа качества исследований, оснащенности лабораторий, уровня подготовки специалистов и пересмотра модели скрининга в сторону первичного ВПЧ-теста [55].

Основной целью скрининга является идентификация женщин, имеющих бессимптомные стадии предрака: интраэпителиальное поражение шейки матки высокой степени и карциномы *in situ* (N 87.1, N87.2, D06) и их лечение. Выявление инвазивного рака ранних стадий (C53 I-II) также может считаться благоприятной ситуацией. По результатам скрининга назначается дополнительное обследование и лечение согласно утвержденным протоколам.

Диагноз РШМ устанавливается на основании патологоанатомического (интраоперационного/диагностического) исследования биоптата шейки матки. Решение для проведения прицельной биопсии принимается на основании кольпоскопической картины при цитологических заключениях, отличающихся от нормы и наличии ВПЧ ВКР [11, 31]. Наиболее актуальная и используемая классификация результата гистологического исследования биоптата шейки матки проводится в соответствии с Международной гистологической классификации Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), 2019 (таблица 1.2).

Таблица 1.2 – Заключение для гистологических препаратов в соответствии с Международной гистологической классификации Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) [56]

LSIL	внутриэпителиальное поражение плоского эпителия легкой степени
HSIL	внутриэпителиальное поражение плоского эпителия тяжелой степени
РШМ	Инвазивная карцинома

Третичная профилактика РШМ предусматривает динамическое наблюдение за состоянием эпителия у пациенток с выявленной дисплазией легкой степени и наличием ВПЧ, и деструктивное или эксцизионное вмешательство при сохранении поражения более 18-24 мес. [11]. При подтверждении интраэпителиального поражения высокой степени проводится электроэксцизия или конизация шейки матки [11, 31]. При подтверждении РШМ объем и тип хирургического лечения, а также необходимость лучевой и химиотерапии определяется стадией заболевания, распространенностью опухолевого процесса и тяжестью сопутствующей соматической патологии [31].

Таким образом, вирус папилломы человека является доказанным этиологическим агентом злокачественных новообразований шейки матки. В настоящее время признано, что РШМ относится к контролируемым инфекциям и является контролируемым заболеванием. Для устранения проблемы РШМ разработаны глобальные меры первичной, вторичной и третичной профилактики, активное внедрение которых, позволит снизить заболеваемость до целевого показателя, обозначенного ВОЗ – 4 случая /100 тыс. женщин. По мнению ряда авторов, система регистрации и учета ВПЧ-ассоциированных заболеваний в Российской Федерации разработана не в полном объеме, а система эпидемиологического надзора требует оптимизации [57]. Официальные данные о распространенности ВПЧ-инфекции среди женщин с наличием патологии

эпителия шейки матки и без отсутствуют, по данным российских исследователей распространенность в различных группах населения и регионах варьирует от 13% до 63% [58]. Для разработки и контроля профилактических мероприятий, подходящих для Российской Федерации, необходима оценка эпидемиологической ситуации по РШМ в динамике, анализ причин динамических изменений заболеваемости, накопление сведений об этиологическом агенте, его распространенности среди населения РФ и структуре популяции среди заболевших женщин.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Диссертационная работа проведена на базе отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва в 2022 – 2024 гг. Исследование выполнено в рамках темы Государственного задания № 141-00094-21-00 «Совершенствование методов эпидемиологического мониторинга за внутриутробными оппортунистическими и папилломавирусной инфекциями с использованием новых комплексных диагностических схем выявления их возбудителей», номер государственного учета НИОКТР АААА-А21-121011990055-2.

Диссертационное исследование проведено с использованием комплекса эпидемиологического, лабораторных (цитологический, молекулярно-биологический, гистологический) и статистических методов в 6 этапов последовательно в соответствии с поставленными задачами. Материалы, включенные в работу и методы исследования представлены в таблице 2.1

Таблица 2.1 – Материалы и методы исследования

Задача исследования	Материалы	Количество, анализируемый период	Методы
<p>Оценка существующей системы выявления и регистрации ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки в Российской Федерации</p>	<ul style="list-style-type: none"> - учетная форма №7 «Сведения о злокачественных новообразованиях» Минздрава России - учетная форма № 030 – 6/ГРР «Регистрационная карта больных злокачественными новообразованиями» - ежегодные статистические сборники «Злокачественные новообразования в России (заболеваемость и смертность)» - ежегодные статистические сборники «Состояние онкологической помощи населению России» - Нормативно-правовые акты, регламентирующие организацию статистической отчетности по заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований - Нормативно-правовые акты, регламентирующие порядок оказания медицинской помощи больным злокачественными новообразованиями - федеральная статистическая форма отчетности №5 «Сведения о профилактических прививках» - Результаты лабораторных обследований пациенток ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора 	<p>1 форма</p> <p>1 форма</p> <p>15 сборников, 2008 – 2022гг.,</p> <p>12 сборников 2011 – 2022гг.</p> <p>8 источников</p> <p>4 источника</p> <p>1 форма 2021г.</p> <p>2013 – 2022 гг.</p> <p>264 061 наблюдений</p>	<p>Эпидемиологический (ретроспективное описательно-аналитическое исследование); статистический (Microsoft Excel, IBM SPSS Statistics)</p>

Продолжение таблицы 2.1

Задача исследования	Материалы	Количество, анализируемый период	Методы
Оценка диагностической эффективности лабораторных методов для выявления заболеваний шейки матки папилломавирусной этиологии в Российской Федерации	Результаты лабораторных обследований пациенток ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора	2015 – 2023 гг. 653 наблюдения	Молекулярно-биологический (ПЦР в режиме реального времени), Цитологический (жидкостная цитология с окрашиванием препарата по Папаниколау) Гистологический Статистический (Microsoft Excel, IBM SPSS Statistics)
Разработка и апробация высокотехнологичной методики определения генотипа вируса папилломы человека и его концентрации	количественно охарактеризованные стандартные образцы предприятия, коллекции штаммов, клинических изолятов микроорганизмов, геномная ДНК человека, образцы биологического материала – отделяемое уrogenитального тракта (цервикального и вагинального эпителия) женщин	Более 500 экспериментов Более 1000 образцов биологического материала	Молекулярно-биологический (ПЦР в режиме реального времени)

Продолжение таблицы 2.1

Задача исследования	Материалы	Количество, анализируемый период	Методы
Изучение особенностей распространения вируса папилломы человека среди женщин на территории Московского региона Российской Федерации	Результаты лабораторных обследований пациенток ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, соскобы со слизистой оболочки шейки матки женщин из архива ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора	2017 – 2021 гг. 1068 наблюдений, 2819 образцов	Молекулярно-биологический (ПЦР в режиме реального времени), Цитологический (жидкостная цитология с окрашиванием препарата по Папаниколау), статистический (Microsoft Excel, IBM SPSS Statistics)
Разработка прогностической модели для определения риска наличия интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени на основании результатов применения разработанной ПЦР-методики	Коллекция образцов биологического материала ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора	3842 образца	Молекулярно-биологический (ПЦР в режиме реального времени), Цитологический (жидкостная цитология с окрашиванием препарата по Папаниколау), статистический (Microsoft Excel, IBM SPSS Statistics)

Сбор биоматериала проводился в соответствии с требованиями о соблюдении этических норм, обработка и анализ данных проводились в деперсонифицированном виде.

Для проведения ретроспективного анализа заболеваемости и смертности от РШМ на территории Российской Федерации за период с 2008 по 2021 гг. проанализированы совокупные данные статистической формы №7 «Сведения о злокачественных новообразованиях» Минздрава России, опубликованные Российским Центром информационных технологий и эпидемиологических исследований в области онкологии Минздрава России (РЦИТЭО) в составе МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦРЦ» Минздрава России в составе ежегодных сборников «Злокачественные новообразования в России (заболеваемость и смертность)» и «Состояние онкологической помощи населению России» за 2008–2021 гг. [59 - 83]. Для оценки многолетней динамики количества обследованных женщин города Москвы и Московской области использованы данные о количестве проведенных ко-тестов (цитологическое исследование и ВПЧ-тест методом ПЦР-РВ) в лаборатории ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора за 2013–2021 гг. Для анализа активности проведения вакцинопрофилактики использованы данные Федеральной статистической формы отчетности №5 «Сведения о профилактических прививках» за 2021 г.

Для оценки диагностической эффективности лабораторных методов выявления ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки, разработки и апробации высокотехнологичных методик количественного определения типов ВПЧ, изучения структуры популяции вируса папилломы человека среди женщин Московского региона Российской Федерации и для проектирования прогностической модели для определения риска наличия интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени на основании результатов, полученных при применении разработанной молекулярно-биологической методики анализировали данные обследования женщин в медицинских учреждениях города Москвы и Московского региона (более 500 учреждений), направленных для проведения лабораторного исследования во ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии

Роспотребнадзора с 2012 по 2022 гг., в деперсонифицированном виде, и охарактеризованные образцы биологического материала от женщин с наличием ВПЧ-ассоциированной интраэпителиальной неоплазии различной степени и ее отсутствием из коллекции ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

В работе использованы следующие методы: эпидемиологический, лабораторный, статистический.

Эпидемиологический метод исследования

В работе применены описательно-оценочный и аналитический методические приемы эпидемиологического метода.

Для современной эпидемиологической характеристики РШМ в Российской Федерации изучали основные показатели, отражающие состояние и тенденции развития эпидемического процесса: распространенность РШМ, динамика заболеваемости и смертности от РШМ, особенности возрастной структуры заболевших, а также показатели, характеризующие организационные аспекты оказания онкологической помощи: динамика показателей ранней диагностики и запущенности РШМ, динамика показателей активного выявления РШМ и выявления посмертно. Способы расчета показателей эпидемического процесса представлены в таблице 2.2

Таблица 2.2 – Способы расчета показателей эпидемического процесса

Изучаемый параметр	Способ расчета	обозначения
Интенсивный показатель заболеваемости/смертности от РШМ	$A/B \times 100\ 000$	А – абсолютное «количество заболевших/умерших от РШМ за изучаемый год В – численность женского населения в изучаемом году

Продолжение таблицы 2.2

Абсолютный прирост/снижение заболеваемости/смертности	$D - C$	С – показатель заболеваемости за исследуемый год D – показатель заболеваемости за предыдущий год
Показатель роста/снижения заболеваемости/смертности	$C/D \times 100\%$	
Темп прироста/снижения заболеваемости/смертности	$C/D \times 100\% - 100\%$	

Линию тренда строили на основании расчета показателей заболеваемости в соответствии с линейным уравнением:

$$y = ax + b, \quad (2.1)$$

где x – нумерация временных отрезков наблюдения; b – ожидаемый, согласно уравнению аппроксимации, показатель заболеваемости/смертности при x равном нулю; a – коэффициент наклона линии аппроксимации.

Для анализа параметров, характеризующих качество оказания медицинской помощи, использовали формулы, рекомендованные в методическом пособии «Расчет медико-статистических показателей учреждений и территорий в краткосрочной динамике, применяемых в онкологии», методические рекомендации №97 Департамента здравоохранения города Москвы [84]. Способы расчета представлены в таблице 2.3

Таблица 2.3 – Способы расчета показателей состояния онкологической помощи

параметр	Способ расчета	обозначения
Показатель раннего выявления (доля РШМ I-II стадии)	E/F	E – число РШМ I+II стадий, выявленных в отчетном году F – общее число РШМ, выявленных в отчетном году
Выявляемость преинвазивного рака in situ	$G/F \times 100\%$	G – число РШМ in situ, выявленных в отчетном году

Продолжение таблицы 2.3

Индекс летальности	одногодичной	$H/F \times 100\%$	Н – число умерших от РШМ на первом году с момента установления диагноза
Показатель РШМ как ЗНО локализации	запущенности визуальной	I/F	I – число РШМ III+IV стадий, выявленных в отчетном году
Достоверность запущенных стадий	учета	J/H	J – число РШМ III+IV стадий, выявленных в предыдущем году
Активная выявляемость		K/F	K – число больных, у которых РШМ выявлен активно

Лабораторные методы исследования

1) Молекулярно-биологические методы

Разработка методики выявления и количественного определения ДНК 14-и типов ВПЧ (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) проводилась во ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Экстракция нуклеиновых кислот из биологического материала проводилась согласно инструкции к набору реагентов «ДНК-сорб-D» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Амплификация проводилась при помощи специфических олигонуклеотидов, комплементарных ДНК 14-и типов ВПЧ и реагентов производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Подтверждение специфической амплификации проводилось путем секвенирования по Сэнгеру продуктов вложенной ПЦР, осуществленной с использованием консенсусных пар универсальных праймеров Mu 9/11 и Gr 5+/6+. Количественные стандарты – калибраторы изготовлены путем клонирования типоспецифических фрагментов ДНК ВПЧ в вектор pGem-t и последующего определения концентрации полученных препаратов с помощью капельной цифровой ПЦР QX100 droplet digital PCR (ddPCR), производства "Био-Рад Лабораториз, Инк." (Bio-Rad Laboratories, Inc.), США.

Определение аналитических и диагностических характеристик методики проводили согласно формулам, представленным в таблице в таблице 2.4

2) Цитологический метод

Исследование проводили с использованием жидкостной цитологии. Взятие соскоба со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс) проводили с помощью щетки эндоцервикальной «Rovers Cervex-Brush Combi» («Rovers Medical Devices B.V.», Нидерланды) в виалу с транспортной средой для жидкостной цитологии «BDSurePath» («BD Diagnostics», США), с последующим окрашиванием микропрепаратов шейки матки по Папаниколау (ПАП-тест) и классификацией результата исследования в соответствии с терминологической системой Бетесда (The Bethesda System – TBS, 2014 г.) [46]. Цитологическое исследование проводили в клинико-диагностической лаборатории ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, оценка микропрепарата проводилась врачами клиническими-цитологами. Расчет диагностических характеристик цитологического исследования проводили с применением аналогичных формул используемых для расчета диагностических характеристик молекулярных методик, представленных в таблице 2.4.

Таблица 2.4 – Способы расчета аналитических и диагностических характеристик лабораторных методик

параметр	Способ определения	обозначения
Чувствительность (Se)	$L/(L + M) \times 100\%$	L – число истинно положительных результатов (положительный результат исследуемой методики совпадает с положительным результатом референсного метода) M – число ложноотрицательных результатов (отрицательный результат исследуемой методики при положительном результате в референсном методе) N – число истинно отрицательных результатов (отрицательный результат исследуемой методики совпадает с отрицательным результатом референсного метода) O – число ложноположительных результатов (положительный результат исследуемой методики при отрицательном результате в референсном методе)
Специфичность (Sp)	$N/(N + O) \times 100\%$	
Прогностическая ценность положительного результата (PPV)	$L/(L + O) \times 100\%$	
Прогностическая ценность отрицательного результата (NPV)	$N/(N + M)$	
Коэффициент вариации (CV)	$SD(Lg) / Lg_{cp} \times 100\%$	SD (Lg) – стандартное отклонение, вычисленное как среднее значение стандартного отклонения логарифмов концентраций, полученных для каждого набора данных Lg _{cp} – среднее значение логарифмов концентраций
Относительная систематическая погрешность (SD)	$(Lg_{cp} - Lg_{ожд.}) / Lg_{ожд.} \times 100\%$	Lg _{ожд.} – заданное значение концентрации Lg _{cp} – среднее значение логарифмов расчетных концентраций всех повторов образца,

3) Гистологический метод

Гистологическое исследование препаратов, полученных при проведении прицельной кольпоскопически направленной биопсии и петлевой электроэксцизии шейки матки осуществляли по показаниям. Биоптаты шейки матки фиксировали в 10% растворе формалина и заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологическое исследование проводилось традиционным способом с применением светового микроскопирования врачами-патоморфологами в ММНКЦ им. С.П. Боткина, МНИОИ им П.А. Герцена, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, международной лаборатории патоморфологии «Лаборатуар де Жени». Гистологические заключения даны в соответствии с классификацией опухолей женских репродуктивных органов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2019г., 5-е издание [56]

Результат гистологического исследования считался основным для установления окончательного диагноза.

Сопоставление диагнозов цитологического и гистологического исследований производилось согласно таблице 2.5.

Таблица 2.5 – Соотношение классификаций гистологических заключений по ВОЗ и цитологических заключений по ТВС [85]

Описательная система ВОЗ	Терминологическая система Бетесда (ТВС)
Отсутствие злокачественных клеток	Норма
Атипия, связанная с воспалением	Реактивные изменения клеток ASC: ASC-US, ASC-H
Слабая дисплазия	LSIL
Умеренная дисплазия	HSIL
Тяжелая дисплазия	
Карцинома in situ	Карцинома
Инвазивная карцинома	

Статистическая обработка результатов исследования

Материалы исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics v.26 (разработчик - IBM Corporation).

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению, для этого использовался критерий Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерий Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50), а также показатели асимметрии и эксцесса.

В случае описания количественных показателей, имеющих нормальное распределение, полученные данные объединялись в вариационные ряды, в которых проводился расчет средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95% доверительного интервала (ДИ 95%).

Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи значений медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей ($Q1-Q3$).

Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

При сравнении средних величин в нормально распределенных совокупностях количественных данных рассчитывался t-критерий Стьюдента по следующей формуле:

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}} \quad (2.2)$$

где: M_1 и M_2 – сравниваемые средние величины, m_1 и m_2 – стандартные ошибки средних величин, соответственно.

Полученные значения t-критерия Стьюдента оценивались путем сравнения с критическими значениями. Различия показателей считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Для сравнения независимых совокупностей в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных использовался U-критерий Манна-Уитни. по следующей формуле:

$$U = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_x \cdot (n_x + 1)}{2} - T_x \quad (2.3)$$

где n_1 – количество элементов в первой выборке, n_2 – количество элементов во второй выборке, n_x – количество элементов в большей выборке, T_x – сумма рангов в большей выборке.

Рассчитанные значения U-критерия Манна-Уитни сравнивались с критическими при заданном уровне значимости: в том случае, если рассчитанное значение U было равно или меньше критического, признавалась статистическая значимость различий.

Статистическая значимость различий количественных показателей, имеющих нормальное распределение, между группами оценивалась при помощи однофакторного дисперсионного анализа путем расчета критерия F Фишера по следующей формуле:

$$F = \frac{MS_1}{MS_2} \quad (2.4)$$

где MS_1 – факторная дисперсия, MS_2 – остаточная дисперсия.

В том случае, если расчетное значение критерия Фишера F было меньше критического, делался вывод об отсутствии статистически значимого влияния изучаемого фактора на разброс средних значений признака. В противном случае признавалось существенное влияние независимого фактора на разброс средних значений при определенном уровне статистической значимости.

В случае обнаружения статистически значимых различий между группами, дополнительно проводилось сравнение совокупностей попарно при помощи апостериорного критерия Шеффе.

При сравнении нескольких выборок количественных данных, имеющих распределение, отличное от нормального, использовался критерий Краскела-Уоллиса, являющийся непараметрической альтернативой однофакторного дисперсионного анализа. Критерий Краскела-Уоллиса вычислялся после ранжирования всех элементов анализируемых совокупностей по следующей формуле:

$$H = \frac{12}{n(n+1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} - 3(n+1) \quad (2.5)$$

где H – критерий Краскела-Уоллиса, n – общее число исследуемых, R_i – сумма рангов исследуемых, относящихся к определенной выборке, k – число сопоставляемых выборок.

В том случае, если рассчитанное значение критерия Краскела-Уоллиса превышало критическое, различия показателей считались статистически значимыми. В противном случае признавалась верной нулевая гипотеза.

В случае обнаружения статистически значимых различий между группами, дополнительно проводилось парное сравнение совокупностей при помощи апостериорного критерия Данна.

Сравнение номинальных данных проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона, по формуле:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}} \quad (2.6)$$

где i – номер строки (от 1 до r), j – номер столбца (от 1 до c) O_{ij} – фактическое количество наблюдений в ячейке ij , E_{ij} – ожидаемое число наблюдений в ячейке ij .

Значение критерия χ^2 сравнивалось с критическими значениями для $(r-1) \times (c-1)$ числа степеней свободы. В том случае, если полученное значение критерия χ^2 превышало критическое, делался вывод о наличии статистической взаимосвязи между изучаемым фактором риска и исходом при соответствующем уровне значимости.

В тех случаях, когда число ожидаемых наблюдений в любой из ячеек четырехпольной таблицы было менее 5, для оценки уровня значимости различий использовался точный критерий Фишера, который рассчитывался по формуле:

$$P = \frac{(A+B)! \cdot (C+D)! \cdot (A+C)! \cdot (B+D)!}{A! \cdot B! \cdot C! \cdot D! \cdot N!} \quad (2.7)$$

где А, В, С, D – фактические количества наблюдений в ячейках таблицы сопряженности, N – общее число исследуемых, ! – факториал, который равен произведению числа на последовательность чисел, каждое из которых меньше предыдущего на 1.

Полученное значение точного критерия Фишера P более 0,05 свидетельствовало об отсутствии статистически значимых различий. Значение P менее 0,05 – об их наличии.

В качестве количественной меры эффекта при сравнении относительных показателей использовали показатель отношения шансов (ОШ), определяемый как отношение вероятности наступления события в группе, подвергнутой воздействию фактора риска, к вероятности наступления события в контрольной группе. Показатель отношения шансов рассчитывали исходя из полученных таблиц сопряженности по формуле 9

$$OR = \frac{A \cdot D}{B \cdot C} \quad (2.8)$$

С целью проецирования полученных значений ОШ на генеральную совокупность рассчитывали границы 95% доверительного интервала (ДИ 95%) по следующим формулам:

$$\text{Нижняя граница ДИ 95\%} = e^{\ln(OR) - 1,96 \cdot \sqrt{\frac{1}{A} + \frac{1}{B} + \frac{1}{C} + \frac{1}{D}}} \quad (2.9)$$

$$\text{Верхняя граница ДИ 95\%} = e^{\ln(OR) + 1,96 \cdot \sqrt{\frac{1}{A} + \frac{1}{B} + \frac{1}{C} + \frac{1}{D}}} \quad (2.10)$$

Исходя из полученных данных, значимость взаимосвязи исхода и фактора считали доказанной в случае нахождения доверительного интервала за пределами границы отсутствия эффекта, принимаемой за 1.

В качестве количественной меры эффекта при сравнении относительных показателей использовали показатель относительного риска (ОР) по следующей формуле:

$$RR = \frac{\frac{A}{A+B}}{\frac{C}{C+D}} = \frac{A \cdot (C + D)}{C \cdot (A + B)} \quad (2.11)$$

С целью проецирования полученных значений ОР на генеральную совокупность рассчитывали границы 95% доверительного интервала (ДИ 95%) по следующим формулам:

$$\text{Нижняя граница ДИ 95\%} = e^{\ln(RR) - 1,96 \cdot \sqrt{\frac{B}{A \cdot (A+B)} + \frac{D}{C \cdot (C+D)}}} \quad (2.12)$$

$$\text{Верхняя граница ДИ 95\%} = e^{\ln(RR) + 1,96 \cdot \sqrt{\frac{B}{A \cdot (A+B)} + \frac{D}{C \cdot (C+D)}}} \quad (2.13)$$

Исходя из полученных данных, значимость взаимосвязи исхода и фактора считали доказанной в случае нахождения доверительного интервала за пределами границы отсутствия эффекта, принимаемой за 1.

Построение прогностической модели риска наличия HSIL выполняли при помощи метода бинарной логистической регрессии. Прогностическая модель имеет следующее математическое выражение:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-z}} \quad (2.14)$$

$$z = a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_2 + \dots + a_n x_n \quad (2.15)$$

где p – вероятность возникновения изучаемого исхода, $x_1 \dots x_n$ – значения факторов риска, измеренные в номинальной, порядковой или количественной шкале, $a_1 \dots a_n$ – коэффициенты регрессии.

Отбор независимых переменных производили методом пошаговой прямой селекции с использованием в качестве критерия исключения статистики Вальда. Статистическую значимость полученной модели определяли с помощью критерия χ^2 .

Мерой определенности, указывающей на ту часть дисперсии, которая может быть объяснена с помощью логистической регрессии, в нашем исследовании служил показатель Найджелкерка.

Для оценки диагностической значимости концентрации вируса при прогнозировании наличия HSIL, в том числе вероятности наступления исхода, рассчитанной с помощью регрессионной модели, применяли метод анализа ROC-кривых. Определяли оптимальное разделяющее значение концентрации вируса, позволяющее классифицировать пациентов по степени риска наличия HSIL, обладающее наилучшим сочетанием чувствительности и специфичности. Качество прогностической модели, полученной данным методом, оценивалось исходя из значений площади под ROC-кривой со стандартной ошибкой и 95% доверительным интервалом (ДИ) и уровня статистической значимости.

Для оценки динамики эпидемиологических показателей использовали стандартные методы описательной статистики. Для сравнения статистической значимости изменения показателей заболеваемости в разные годы использовали критерий Пирсона (χ^2). Различия между показателями считали статистически значимыми (статистически достоверными) при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. ОЦЕНКА СУЩЕСТВУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ ВЫЯВЛЕНИЯ И РЕГИСТРАЦИИ ВПЧ-АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Организация системы выявления, регистрации и учета ВПЧ-ассоциированных заболеваний напрямую влияет на обеспечение эпидемиологического надзора за РШМ, разработку стратегий проведения профилактических мероприятий и мер оперативного реагирования при изменении эпидемической ситуации.

3.1 Организация системы выявления и регистрации ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки

В Российской Федерации в рамках государственной статистической отчетности с 1953 года введена обязательная регистрация злокачественных новообразований, включая заболевания шейки матки. Действующие нормы и правила регистрации заболеваемости базируются на принципах Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем, десятого пересмотра (МКБ-10).

Диагностика предрака и рака шейки матки в Российской Федерации регламентирована следующими документами: приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации №404н от 27.04.2021 «об утверждении Порядка проведения профилактического медицинского осмотра и диспансеризации определенных групп взрослого населения», клиническими рекомендациями «Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки» (2020г., обновл. 2024г.) [11] и клиническими рекомендациями «Рак шейки матки» (2020) [31].

Выявление предрака и рака шейки матки производится активно: при профосмотрах, диспансеризации, осмотрах в смотровых кабинетах, фельдшерско-акушерских пунктах посредством скрининга, а также при диспансерных осмотрах онкологических больных, проведении углубленных осмотров больных,

находящихся в стационарах по поводу других заболеваний. В запущенных случаях РШМ выявление заболевания происходит при самостоятельном обращении пациентов по поводу жалоб; небольшую долю случаев РШМ выявляют посмертно.

Диагностические этапы выявления патологии шейки матки включают сбор данных о жалобах и анамнезе, физикальное обследование и проведение лабораторной диагностики. Ключевым инструментом скрининга являются методы лабораторной диагностики.

Учет ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки проводится в соответствии с правилами учета онкологических заболеваний и регламентирован приказами Министерства Здравоохранения: №420 от 23.12.1996 г. «О создании Государственного ракового регистра» [86], № 135 от 19.04.1999 г. «О совершенствовании системы Государственного ракового регистра» [87] и №915н от 15.11.2012 г. «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи по профилю «Онкология»» с изменениями от 4.07.2017 г., действовавшим до 31.12.2019 г. [88]. Ключевым документом системы учета РШМ является учетная форма №7 «Сведения о злокачественных новообразованиях» Минздрава России (Таблица 3.1), утвержденная приказом Росстата №479 от 30.08.2019 г. «Об утверждении формы федерального статистического наблюдения с указаниями по ее заполнению для организаций Министерством здравоохранения Российской Федерации федерального статистического наблюдения в сфере охраны здоровья» [89] и дополненная приказом Росстата № 985 от 27.12.2022 [90]. Форма №7 заполняется медицинскими учреждениями онкологической службы системы здравоохранения из электронного массива «Регистрационных карт больных злокачественными новообразованиями» – форма № 030 – 6/ГРР (Таблица 3.2).

Таблица 3.1 – Учетные таблицы и учитываемые заболевания шейки матки формы федерального статистического наблюдения №7

Таблица	Содержание	Код МКБ учетных случаев заболеваний шейки матки
2000	сведения о злокачественных новообразованиях	C53
2010	сведения о злокачественных новообразованиях у сельских жителей из числа впервые выявленных, и о новообразованиях in situ о первично-множественных злокачественных новообразованиях	D06
2100	сведения о движении контингента пациентов со злокачественными и другими новообразованиями	C53
2110	сведения о диспансерном наблюдении за пациентами со злокачественными новообразованиями	C53
2120	сведения о смертельных исходах у пациентов со злокачественными новообразованиями	C53
2130	сведения о пациентах со злокачественными новообразованиями, состоящих под диспансерным наблюдением 5 и более лет	C53
2200	сведения о морфологическом подтверждении и распределении по стадиям злокачественных новообразований, выявленных в отчетном году	C53
2300	сведения о впервые в жизни выявленных злокачественных новообразованиях, подлежащих радикальному лечению.	C53
2310	сведения о лечении злокачественных новообразований	C53

Таблица 3.2 – Данные, содержащиеся в «регистрационной карте больного злокачественным новообразованием - форма № 030 – 6/ГРР

Раздел	Содержание
Идентификация пациента	персональные данные пациента

Продолжение таблицы 3.2

Раздел	Содержание
Пациент	социально-демографические данные, наличие инвалидности, дата взятия на учет, обстоятельства взятия на учет, дата снятия с учета, причина снятия с учета, дата смерти, причина смерти, наличие аутопсии
Диагноз	дата установления диагноза, обстоятельства установления диагноза стадия, локализация и распространение опухоли, порядковый номер опухоли, первичная множественность, метастазирование, метод подтверждения диагноза, причины поздней диагностики, результат аутопсии
Лечение. Общая характеристика проведенного специального лечения	даты начала и окончания лечения, способ лечения, причины незавершенности лечения, осложнения лечения
Хирургическое лечение	даты и особенности проведения лечения
Лучевое лечение	даты и особенности проведения лечения
Химиотерапевтическое лечение	даты и особенности проведения лечения
Гормоноиммунотерапевтическое лечение	даты и особенности проведения лечения

Из представленных таблиц по содержанию форм №7 и № 030 – 6/ГРР видно, что заболевание регистрируется и учитывается как соматическое. Учет инфекционной этиологии не производится, сбор данных о распространенности и структуре популяции ВПЧ среди пациентов с РШМ как в целом, так и отдельных стадий не ведется.

Приказ № 135 от 19.04.1999 г. «О совершенствовании системы Государственного ракового регистра» регламентирует порядок сбора, обработки, формирования и представления материалов государственной статистической отчетности. Последовательность движения документов, согласно Приказу, представлена на рисунке 3.1. Для каждого пациента с впервые в жизни выявленным РШМ в любом ЛПУ любым врачом оформляется регистрация злокачественного

новообразования в «Медицинской карте амбулаторного больного» (форма №025/У), а также сигнальная документация («Извещение о больном с впервые в жизни установленным диагнозом злокачественного новообразования» - форма №090/У), направляемая в онкологическое учреждение (диспансер, диспансерные отделения, кабинеты) территориального уровня по месту постоянного проживания больного. Кроме того, после осуществления стационарного лечения онкологического больного любым медицинским учреждением оформляется форма № 027-1/У «Выписка из медицинской карты стационарного больного злокачественным новообразованием» на всех больных прошедших лечение, включая преинвазивную стадию карцинома *in situ*, как с диагнозом, установленным впервые, так и с диагнозом, установленным ранее. Выписка направляется в онкологическое учреждение территориального уровня по месту жительства больного.

В онкологическом диспансере оформляется «Регистрационная карта больного злокачественным новообразованием» ф. №030– 6/ГРР, посредством которой осуществляется наблюдение за протеканием заболевания и проводимым лечением. На основе массива регистрационных карт каждое учреждение ежегодно заполняет отчетную форму федерального статистического наблюдения №7, направляемую в региональный онкологический диспансер. Региональный онкологический диспансер ежегодно консолидирует данные формы №7 из всех подведомственных территориальных онкологических диспансеров в единую сводную форму №7 и предоставляет ее в Министерство здравоохранения Российской Федерации. На базе региональных онкологических диспансеров функционируют популяционные раковые регистры в территориальной электронной базе, содержащие данные в персонифицированном виде обо всех больных ЗНО, включая РШМ и карциному *in situ* (C53, D06). Данные из территориальных раковых регистров объединяются в Федеральный раковый регистр в федеральной электронной базе в деперсонифицированном виде.

Совокупные данные статистической формы №7 публикуются Российским Центром информационных технологий и эпидемиологических исследований в

области онкологии Минздрава России (РЦИТЭО) в составе МНИОИ им. П.А. Герцена - филиала ФГБУ «НМИЦРЦ» Минздрава России в составе ежегодных сборников «Злокачественные новообразования в России (заболеваемость и смертность)» и «Состояние онкологической помощи населению России».

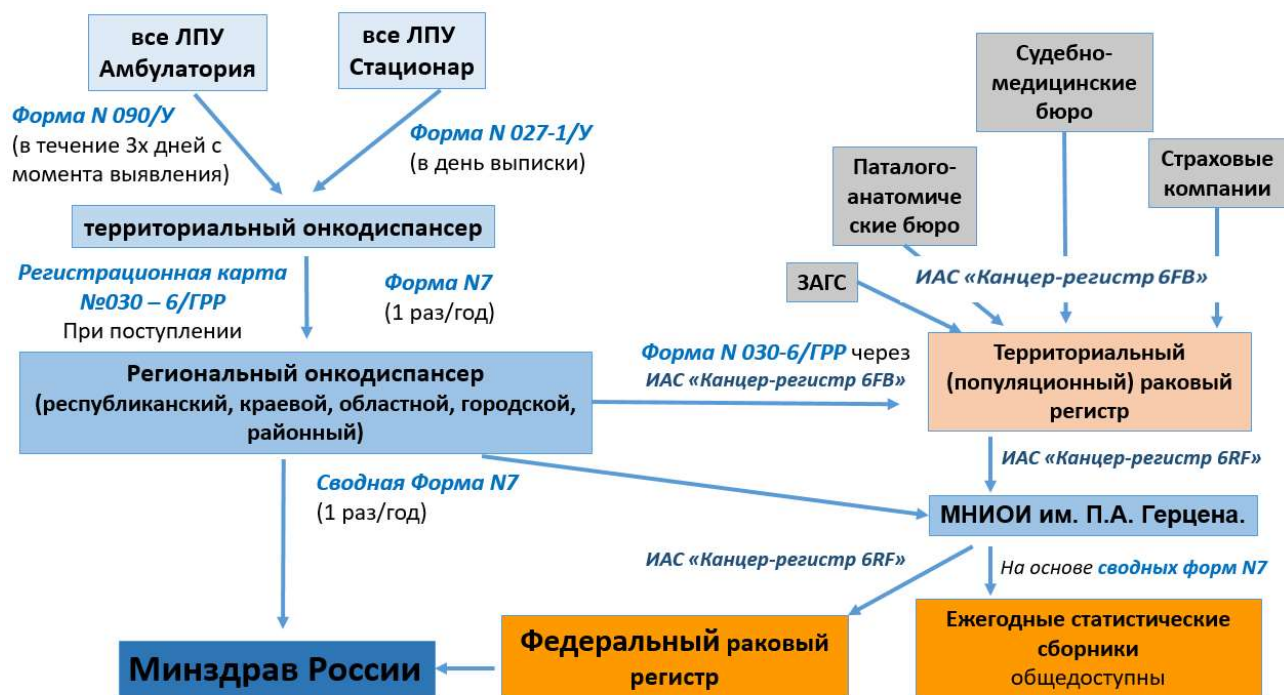


Рисунок 3.1 – Схема учета и регистрации случаев РШМ в рамках системы учета онкологических заболеваний в Российской Федерации согласно Приказу №135 от 19.04.1999 г. «О совершенствовании системы Государственного ракового регистра»

Среди целей создания ракового регистра, обозначенных приказами №420 от 23.12.1996 г. «О создании Государственного ракового регистра» и №135 от 19.04.1999 г. «О совершенствовании системы Государственного ракового регистра», к эпидемиологическим относятся оценка распространенности ЗНО, формирование информационной базы для эпидемиологических исследований ЗНО, планирование профилактических мероприятий. Для решения эпидемиологических задач информация, консолидированная в системе ракового регистра и отчетных формах федеральной статистики, должна быть достаточной для оценки не только динамики уровня заболеваемости и смертности, но и вклада событий или мер

повлиявших на их изменение, что позволит осуществлять оперативное реагирование или поддержание и усиление принятых мер в случае установления их эффективности. Нами проведена оценка возможностей системы учета и регистрации злокачественных заболеваний шейки матки, описанная также в публикации [91].

3.2 Оценка информативности существующей системы учета и регистрации случаев ВПЧ-ассоциированных патологий шейки матки

По данным статистического наблюдения динамика заболеваемости РШМ в период с 2011 по 2021 гг. сменила тренд с возрастания на снижение. Наблюдалось стойкое возрастание интенсивного показателя заболеваемости с 19,30 до 22,57⁰/₀₀₀₀ ($p < 0,0001$) в 2011 - 2018 гг., с 2018 по 2019 гг. значимого изменения показателя заболеваемости не наблюдалось: 22,57 - 22,25⁰/₀₀₀₀ ($p = 0,18$), затем последовал резкий спад до 19,75⁰/₀₀₀₀ и далее до 19,67⁰/₀₀₀₀ ($p < 0,0001$) в 2020 - 2021 годах. Интенсивный показатель смертности за период с 2011 по 2019 гг. не имел значимых изменений ($p = 0,22$), в период с 2019 по 2021 гг. наблюдалось снижение показателя с 8,12⁰/₀₀₀₀ до 7,46⁰/₀₀₀₀ ($p < 0,0001$) (Рисунок 3.2, Таблица 3.3).

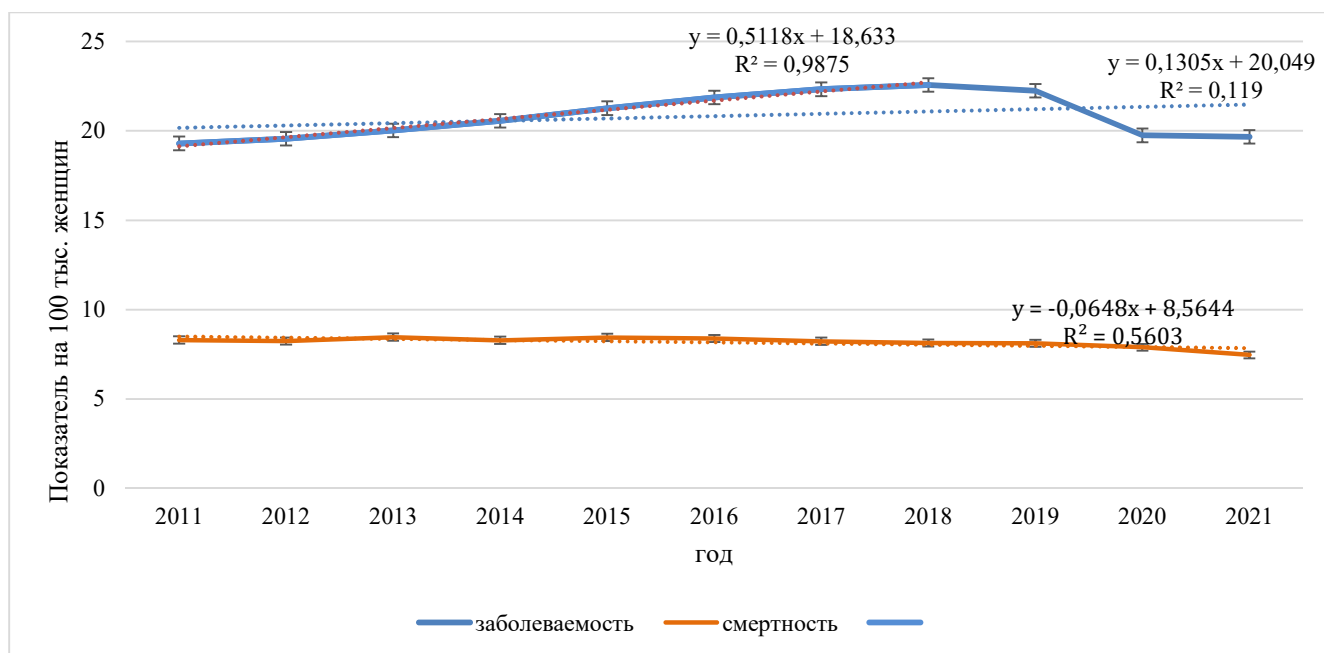


Рисунок 3.2 – Динамика интенсивных показателей заболеваемости и смертности от РШМ в России за 2011 - 2021 гг.

Таблица 3.3 – Динамика интенсивных показателей заболеваемости и смертности РШМ в России за 2011 – 2021 гг.

год	Заболеваемость в расчете на 100 тыс. населения	ДИ 95%	Смертность в расчете на 100 тыс. населения	ДИ 95%
2011	19,30	18,99 – 19,61	8,30	8,10 – 8,50
2012	19,56	19,25 – 19,87	8,24	8,04 – 8,44
2013	20,02	19,70 – 20,34	8,46	8,25 – 8,67
2014	20,57	20,25 – 20,89	8,28	8,08 – 8,48
2015	21,27	20,95 – 21,59	8,44	8,24 – 8,64
2016	21,87	21,54 – 22,20	8,38	8,18 – 8,58
2017	22,33	22,00 – 22,66	8,23	8,03 – 8,43
2018	22,57	22,24 – 22,90	8,13	7,93 – 8,33
2019	22,25	21,92 – 22,58	8,12	7,92 – 8,32
2020	19,75	19,44 – 20,06	7,89	7,69 – 8,09
2021	19,67	19,36 – 19,98	7,46	7,27 – 7,65

Тенденция к снижению показателей заболеваемости РШМ могла иметь место по двум возможным причинам, требующим различных подходов к разработке, поддержанию, интенсификации и корректировке профилактических мер. Одна из возможных причин – проводимая противораковая политика, набирающая масштабы в Российской Федерации. Вторая причина – влияние пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID–19) на масштабы обследования женщин, на корректность определения причин смерти, выживаемость и дожитие женщин до РШМ. Ряд публикаций ассоциируют изменение статистических показателей заболеваемости различными нозологиями с пандемией COVID–19, однако интересен для рассмотрения возможный вклад других факторов в изменение динамики интенсивного показателя заболеваемости РШМ в РФ.

3.2.1 Общая характеристика заболеваемости и смертности от рака шейки матки в Российской Федерации за 2011 – 2021 гг.

Заболеваемость РШМ за период с 2011 по 2015 г. поступательно возрастала с абсолютным приростом от 0,26 ‰ в 2012 г до 0,7 ‰ в 2015 г. ($p < 0,0001$), также наблюдалось увеличение показателя роста заболеваемости с 101,35% в 2012 г. до 103,4% в 2015 г. ($p < 0,0001$) и темпа прироста заболеваемости с 1,35% в 2012 г. до 3,40% в 2015 г. ($p < 0,0001$) со среднегодовым ростом 0,495 ‰ (рисунок 3.3, таблицы 3.4, 3.5).

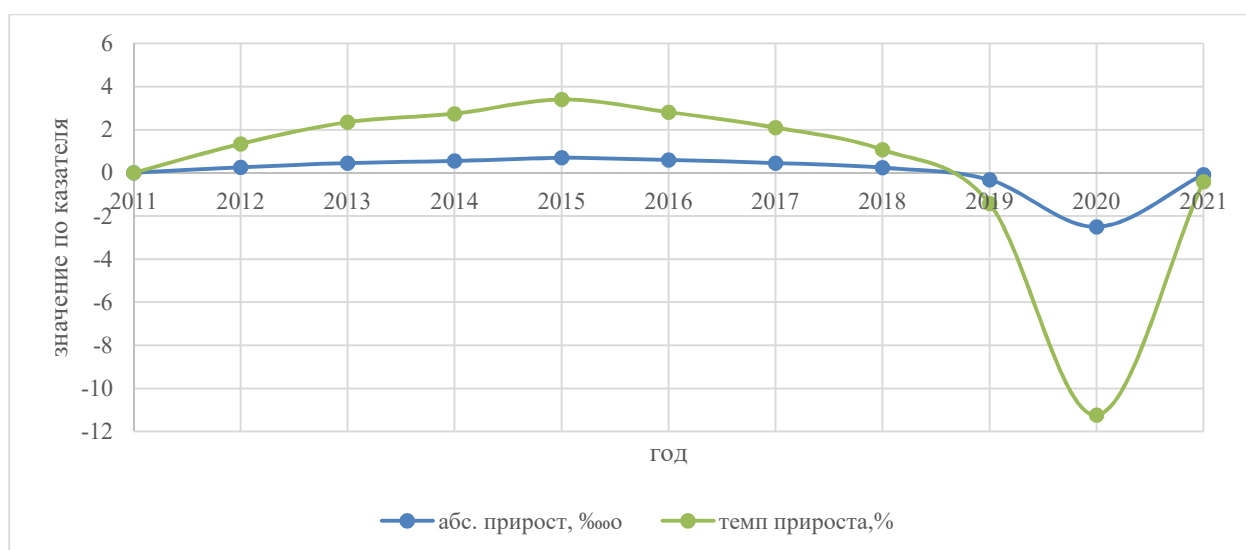


Рисунок 3.3 – Показатели абсолютного прироста и темпа прироста заболеваемости РШМ за 2011 – 2021 гг.

С 2016 по 2018 гг. наблюдалось снижение абсолютного прироста заболеваемости с 0,6 ‰ до 0,24 ‰ ($p < 0,0001$), также уменьшился показатель роста заболеваемости с 102,82% до 101,07% ($p < 0,0001$) и замедлился темп прироста заболеваемости с 2,82% до 1,07% ($p < 0,0001$). Средняя величина роста интенсивного показателя за 2016-2018 гг. составила 0,35 ‰. Начиная с 2019 г. интенсивный показатель заболеваемости начал снижаться более динамично с резким спадом в 2020 г. и продолжением снижения в 2021 г. (темп снижения заболеваемости составил -1,42 %, -11,24 % и -0,41 % в 2019 - 2021 гг., $p < 0,0001$). Средняя величина снижения интенсивного показателя заболеваемости составила -

1,12 ‰ (рисунок 3.3, таблицы 3.4, 3.5). В то же время динамика интенсивного показателя смертности имела более сглаженный характер, со значимым снижением лишь в 2020 и 2021 гг ($p < 0,0001$) (таблица 3.4).

Таблица 3.4 – Заболеваемость РШМ на 100 тысяч населения в 2011 – 2021 гг. на территории РФ

год	Абсолютный прирост/снижение заболеваемости, ‰	Показатель роста/снижения, заболеваемости %	Темп прироста/снижения заболеваемости, %	Абсолютный прирост/снижение смертности, ‰	Показатель роста/снижения смертности, %	Темп прироста/снижения смертности, %
2011	0,00	100,00	0,00	0,18	102,22	2,22
2012	0,26	101,35	1,35	-0,06	99,28	-0,72
2013	0,46	102,35	2,35	0,22	102,67	2,67
2014	0,55	102,75	2,75	-0,18	97,87	-2,13
2015	0,7	103,40	3,40	0,16	101,93	1,93
2016	0,6	102,82	2,82	-0,06	99,29	-0,71
2017	0,46	102,10	2,10	-0,15	98,21	-1,79
2018	0,24	101,07	1,07	-0,10	98,78	-1,22
2019	-0,32	98,58	-1,42	-0,01	99,88	-0,12
2020	-2,5	88,76	-11,24	-0,23	97,17	-2,83
2021	-0,08	99,59	-0,41	-0,43	94,55	-5,43

Таблица 3.5 – Рост средней величины интенсивного показателя заболеваемости РШМ в РФ за год для 3х временных периодов

Период наблюдения, год	Средняя величина роста/снижения интенсивного показателя, ‰	Ст. ошибка
2011 – 2015 гг.	0,495	0,048
2016 – 2018 гг.	0,350	0,064
2018 – 2021 гг.	-1,12	0,237

Таким образом, отмечаемое снижение темпа роста заболеваемости (с 2016 г.), а затем и снижение интенсивного показателя заболеваемости (с 2019 г.) произошло до начала распространения новой коронавирусной инфекции (COVID–19) на территории РФ, и связано с другими причинами. При этом, наиболее интенсивное возрастание темпа снижения заболеваемости в 2020 г., совпадает со временем пандемии и, вероятно, является ее следствием. Для изучения причин замедления роста заболеваемости и последующего снижения заболеваемости проанализированы особенности динамики интенсивных показателей по возрасту.

3.2.2 Анализ динамики уровня заболеваемости по возрастным показателям

При анализе заболеваемости РШМ принято выделять группы женщин по возрасту с шагом в 5 лет. Ранжирование многолетней динамики интенсивного показателя заболеваемости РШМ в зависимости от возраста женщин позволило выделить в нашем исследовании 3 укрупненные возрастные группы, имеющие сходную тенденцию внутри каждой группы: 20-29 лет, 30-49 лет и 50 лет и старше. Определены 3 основные тенденции заболеваемости РШМ, представленные на рисунке 3.4: в группе молодых женщин (20-29 лет) – незначительное снижение заболеваемости с 2018 по 2021 гг. ($p=0.047$); в группе женщин среднего возраста (30-49) лет интенсивный рост с 2008 до 2016 ($p<0,001$) со стабилизацией в 2016 - 2018 гг. ($p=0,58$) и снижением, начиная с 2019 г. ($p<0,05$); в группе женщин возраста 50 лет и старше рост заболеваемости с 2008 до 2018 г. ($p<0,001$) с динамичным снижением начиная с 2019 г. ($p<0,001$).

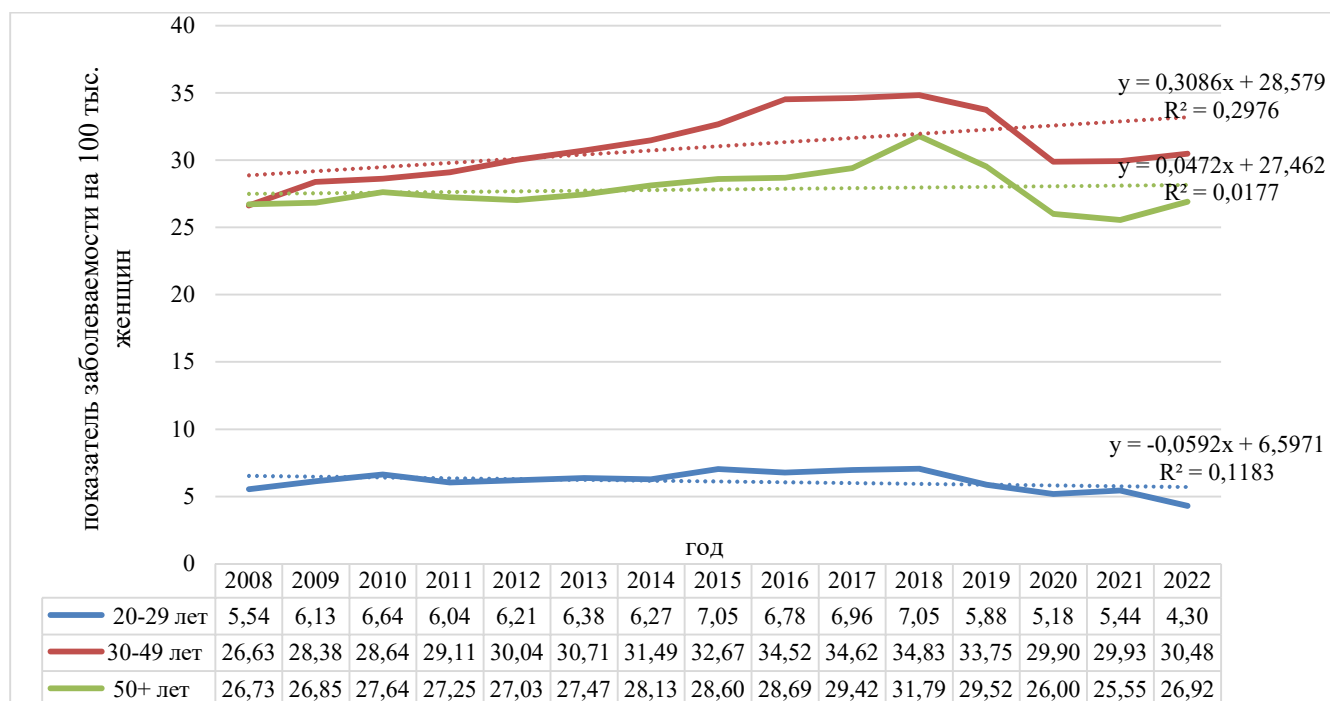


Рисунок 3.4 – Тенденции динамики заболеваемости РШМ женщин в возрастных группах 20-29 лет, 30-49 лет и 50 лет и старше в РФ

В случае эффективности мер первичной и вторичной профилактики снижение заболеваемости РШМ должно происходить в определенных возрастных группах, в которых проводились соответствующие меры. Первичная профилактика – вакцинация от ВПЧ подростков возраста 9-14 лет проводилась на территории РФ, начиная с 2008 года в Московской области и, позднее, в некоторых других городах Российской Федерации. В целом, за 13 лет с 2008 по 2021 гг. вакцинация проведена лишь в нескольких регионах в формате пилотных проектов и не имела масштабного охвата: по данным федеральной статистической формы отчетности №5 «Сведения о профилактических прививках» за 2021 г. в Российской Федерации вакцинировано против вируса папилломы человека 91 011 человек, при этом максимальное количество вакцинированных зарегистрировано в г. Москве – 37 883 человек. Вакцинация против вируса папилломы человека не проводилась в следующих субъектах Российской Федерации: Псковская область, Республика Адыгея, Республика Калмыкия, Краснодарский край, Республика Дагестан, Республика Ингушетия, Кабардино-Балкарская Республика, Карачаево-Черкесская

Республика, Республика Северная Осетия – Алания, Чеченская Республика, Республика Тыва, Республика Хакасия, Еврейская автономная область. Хотя динамика заболеваемости в возрастных группах 20-24 года и 25-29 лет (потенциально вакцинированные возрастные группы с 2008 г.) имеет восходящую тенденцию 5,54 – 7,05 ‰ с 2008 г. до 2018 г. ($p < 0,0001$), а затем нисходящую тенденцию начиная с 2019 – 2021 гг. 5,88 – 4,30 ‰ ($p < 0,0001$), однако вклад случаев РШМ данных возрастных групп в общую заболеваемость незначительный (3,48%, ДИ 95%: 3,22% – 3,76% в 2018 г. и 2,61%, ДИ 95%: 2,37% – 2,78% в 2021 г.) и не может в полной мере объяснять снижение общей заболеваемости РШМ.

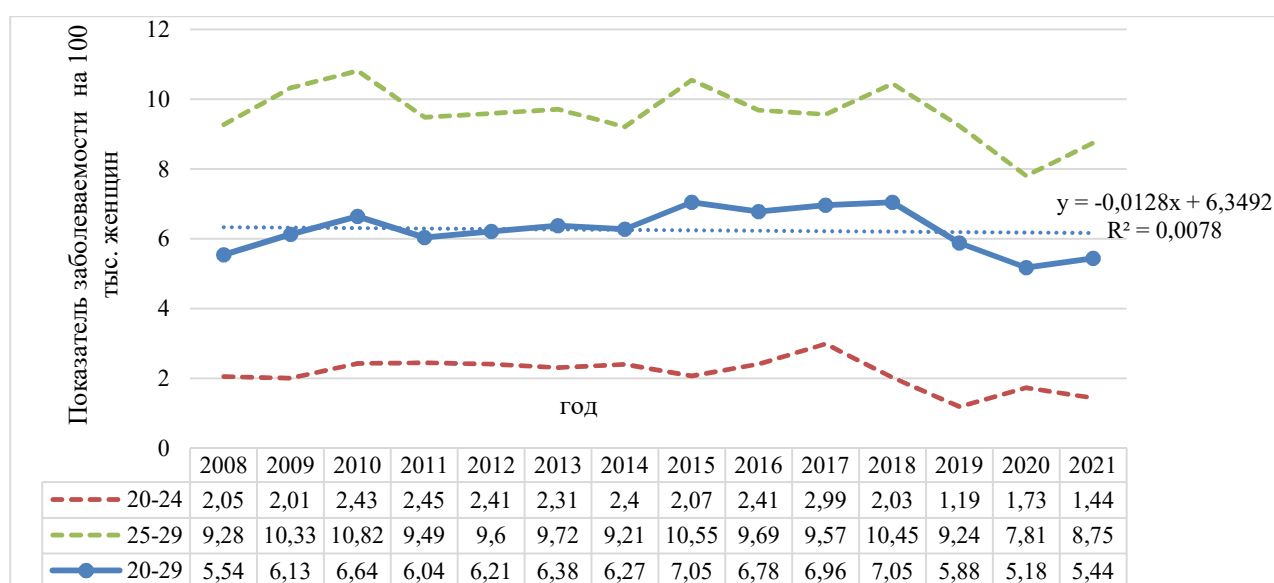


Рисунок 3.5 – Заболеваемость РШМ женщин возраста 20-29 лет с 2008 по 2021 гг. в РФ

В группе женщин среднего возраста (30 – 49 лет) (удельный вес в структуре РШМ находился в пределах от 41,53% (ДИ 95%: 40,71% – 42,35%) до 45,04% (ДИ 95%: 44,255 – 45,83%) в 2008 – 2021 гг. наметилась тенденция к стабилизации показателей заболеваемости в 2016 – 2018 гг. (показатель заболеваемости 34,52 – 34,83 ‰, $p = 0,58$) и последующему снижению, начиная с 2019 г. - года предшествующего появлению новой коронавирусной инфекции (COVID-19) на территории РФ (интенсивный показатель заболеваемости 34,83 – 33,75 ‰,

$p=0.049$ в 2018 – 2019 гг. и далее снизился 33,75 – 29,93 ‰, $p<0,0001$ в 2019 – 2021 гг.) (Рисунок 3.6). Причиной переломного этапа в динамике заболеваемости могла послужить расширение профилактических мероприятий, связанных с применением ВПЧ-теста в первичном скрининге для женщин начиная с 30 летнего возраста и увеличением настороженности медицинского персонала, и увеличением осведомленности пациентов в России о ВПЧ-ассоциированном раке шейки матки.

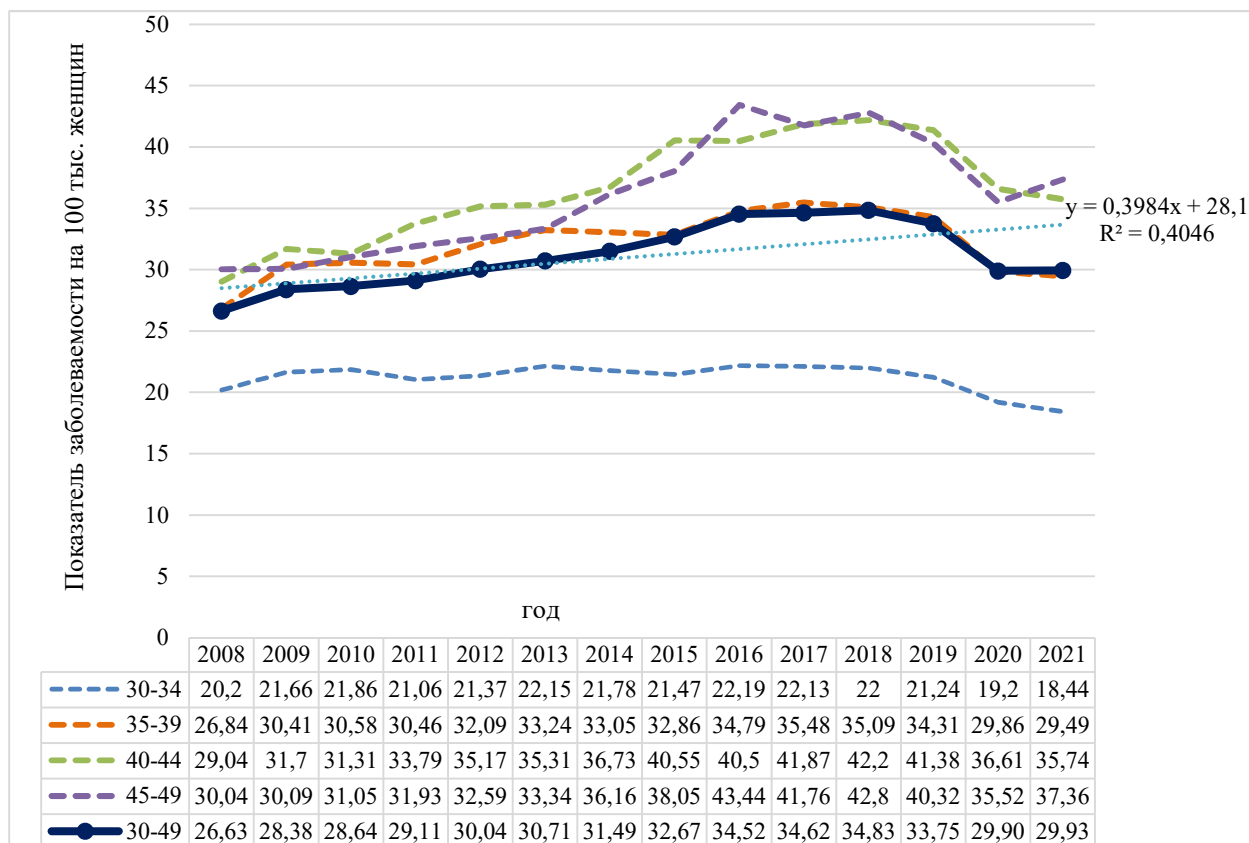


Рисунок 3.6 – Заболеваемость РШМ женщин возраста 30-49 лет с 2008 по 2021 гг. в РФ

Заболеваемость РШМ в старших возрастных группах (50+ лет) (удельный вес в структуре РШМ находился в пределах от 53,57%, ДИ 95%: 52,74% – 54,40% до 52,33%, ДИ 95%: 51,54% – 53,12% в 2008 – 2021 гг.) возрастает с 2008 по 2018 гг. (интенсивный показатель 26,73 – 31,79 ‰, $p<0,0001$), снижаясь в 2019 г. (интенсивный показатель 29,52 ‰, $p<0,0001$) с последующим резким снижением начиная с 2020 г. (интенсивный показатель 26,0 ‰, $p<0,0001$) и дальнейшей стабилизацией уровня заболеваемости в 2021 году (интенсивный показатель 25,55

$\%_{0000}$, $p=0,27$) (рисунок 3.7). Резкая тенденция к снижению заболеваемости в 2020 и 2021 гг. может быть связана с изменением выживаемости женщин старшего возраста с предраком и не диагностированным РШМ в условиях пандемии COVID-19, а также со снижением охвата диагностическими мероприятиями вследствие карантинных мер, на что указывает рост количества РШМ, диагностированных посмертно (удельный вес 1,46% - 2,30%, $p<0,0001$ в 2011 - 2021 гг., причем наиболее выраженное нарастание случаев наблюдается, начиная с 2020 года (удельный вес 1,61% -2,30%, $p<0,0001$ в 2019 – 2021гг.).

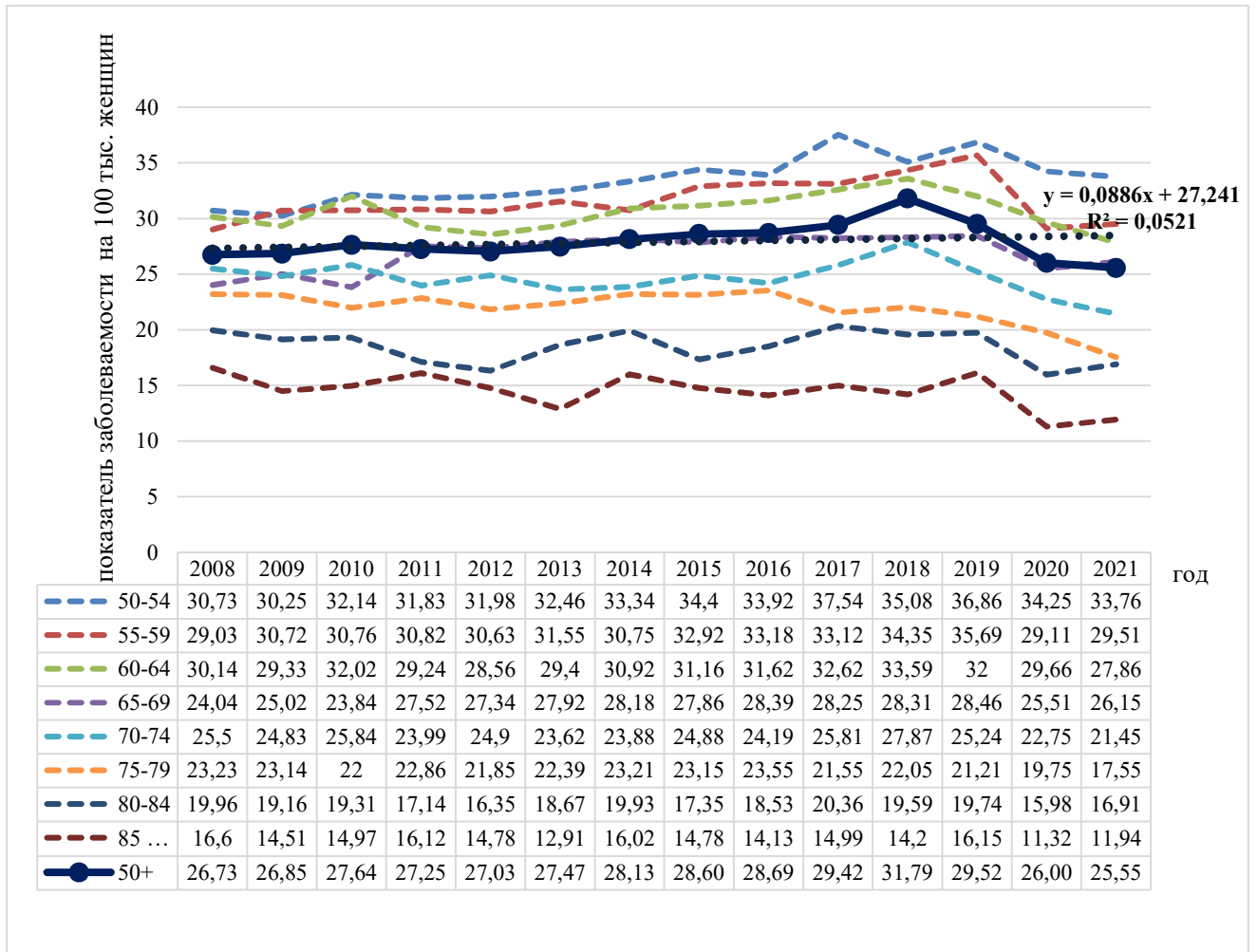


Рисунок 3.7 – Заболеваемость РШМ женщин возраста 50+ лет с 2008 по 2021 гг. в

РФ

3.2.3 Анализ параметров, характеризующих организационный аспект борьбы с раком шейки матки

Под выявлением заболеваний на ранних стадиях в онкологической практике понимают долю заболеваний, охарактеризованных как I и II стадии инвазивного рака. В методических рекомендациях №97 Департамента здравоохранения города Москвы «Расчет медико-статистических показателей учреждений и территорий в краткосрочной динамике, применяемых в онкологии» 2019г., приводится обобщенная формула уточненной модели ранней диагностики, включающей помимо ЗНО I-II стадий, учет ЗНО, выявленных *in situ* [84]. В случае РШМ проводится скрининг, направленный на выявление для осуществления своевременного лечения стадий предрака – интраэпителиального поражения высокой степени (HSIL), включающего дисплазии N87.1, N87.2 и карциному *in situ* (D06). В данном аспекте, понятие ранней диагностики предрака и РШМ и вычисление соответствующего показателя следует расширить с учетом данных форм заболевания. Мы предлагаем оценивать эффективность ранней диагностики предрака и РШМ по формуле:

$$\text{Доля ранних форм РШМ + предрака, \%} = \frac{1+3+4}{2+3+4} * 100, \quad (3.1)$$

где:

- 1 – число впервые выявленных РШМ I+II стадий
- 2 – общее число РШМ, выявленных впервые
- 3 – число впервые выявленных карцином *in situ*
- 4 – число впервые выявленных HSIL

Однако, применение данной формулы на практике на данный момент не выполнимо, поскольку случаи HSIL до 1.01.2022 г. не регистрировались и не учитывались и до настоящего времени не фиксируются в форме федерального статистического наблюдения №7. Данное ограничение существенно затрудняет

объективную оценку эффективности проведения мер вторичной профилактики, так как ожидается, и подтверждается международным опытом, что именно за счет увеличения интенсивности выявления и лечения заболевания на стадии HSIL удастся предотвратить развитие заболевания до стадии карциномы *in situ* и далее рака, снижая тем самым итоговое количество инвазивных форм. Таким образом, с учетом имеющихся статистических данных, оценка показателя ранней диагностики возможна, начиная со стадии карциномы *in situ*, а адаптированная формула лишь частично отражает эффективность проводимых скринингов:

$$\text{Доля ранних форм РШМ + предрака, \%} = \frac{1+3}{2+3} * 100 \quad (3.2)$$

Рисунок 3.8 иллюстрирует динамику показателя ранней диагностики с 2011 по 2021 гг. по предложенной формуле.

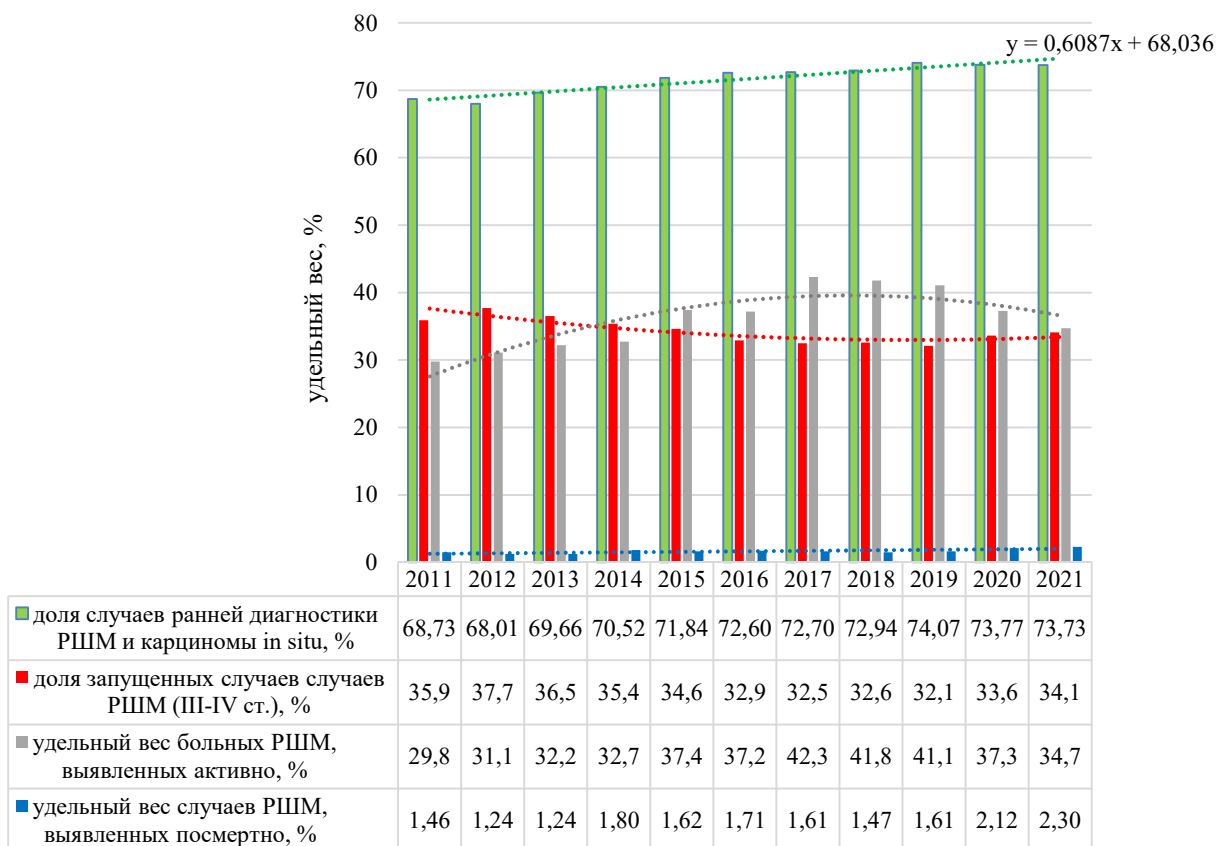


Рисунок 3.8 – Динамика показателей, характеризующих организационный аспект вторичных профилактических мероприятий

За последние 10 лет наблюдается увеличение доли впервые выявленных случаев карциномы *in situ* и РШМ I-II стадий с 68,73% до 73,73% ($p < 0,001$) от числа впервые выявленных заболеваний (исключая выявленные посмертно). Увеличивается и официальный среднероссийский показатель выявленных случаев карциномы *in situ* с 21.3/100 РШМ в 2011 году до 34,4/ 100 РШМ в 2021г ($p = 0,009$). Кроме того, соотношение выявленных случаев карцином *in situ* в сравнении с ранними стадиями РШМ увеличивается с 2019 г. в пользу случаев предрака с 25,8% до 34,7% ($p < 0,001$) (Рисунок 3.9). Наблюдается волнообразный прирост больных РШМ, выявленных активно ($p = 0,02$): интенсивный рост удельного веса 29,8% - 42,3% ($p = 0,002$) в 2011-2017 гг. и снижение 42,3% - 34,7% ($p = 0,04$) в 2017 - 2021 гг. (Рисунок 3.8). Примечательно, что наиболее динамично показатель активного выявления РШМ нарастал с 2016 г. и достигал максимальных значений: 42,3%; 41,8% и 41,1% в 2017 – 2019 гг. соответственно, резко снизившись в 2020 и 2021 гг. до 37,7% и 34,7% ($p < 0,001$). Описанная динамика согласуется с выше указанным снижением темпа прироста заболеваемости с 2016 г., а затем с периодом пандемии COVID-19 и карантинной политикой сдерживания его распространения.

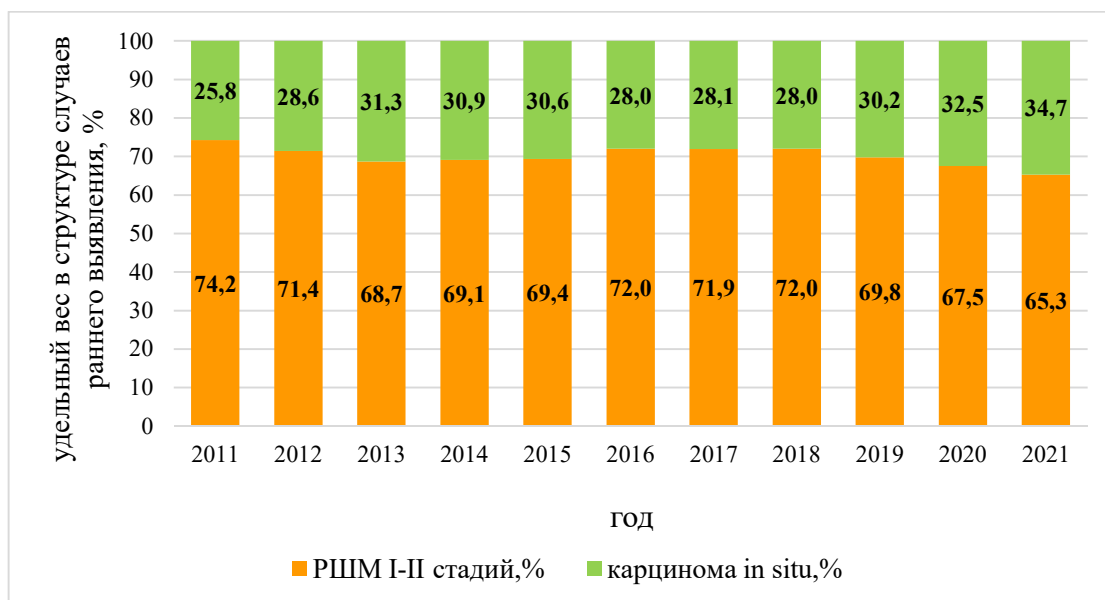


Рисунок 3.9 – Динамика изменения структуры случаев раннего выявления, включающих РШМ I-II ст. и карциномы *in situ* в 2011 – 2021гг. в РФ

В совокупности данные факты могут свидетельствовать об интенсификации ранней диагностики, увеличении настороженности врачей и пациентов в отношении РШМ и увеличение вклада скрининга в снижение заболеваемости РШМ. Однако, отсутствие данных о количестве выявленных случаев интраэпителиальных поражений шейки матки высокой степени за анализируемый период времени затрудняет окончательное подтверждение данного заключения.

В качестве иллюстрации ежегодного увеличения охвата скринингом женщин Московского региона можно привести динамику обследования пациентов во ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора с применением схемы совместного ВПЧ-тестирования и исследования микропрепарата шейки матки методом жидкостной цитологии, введенной с 2012 г.

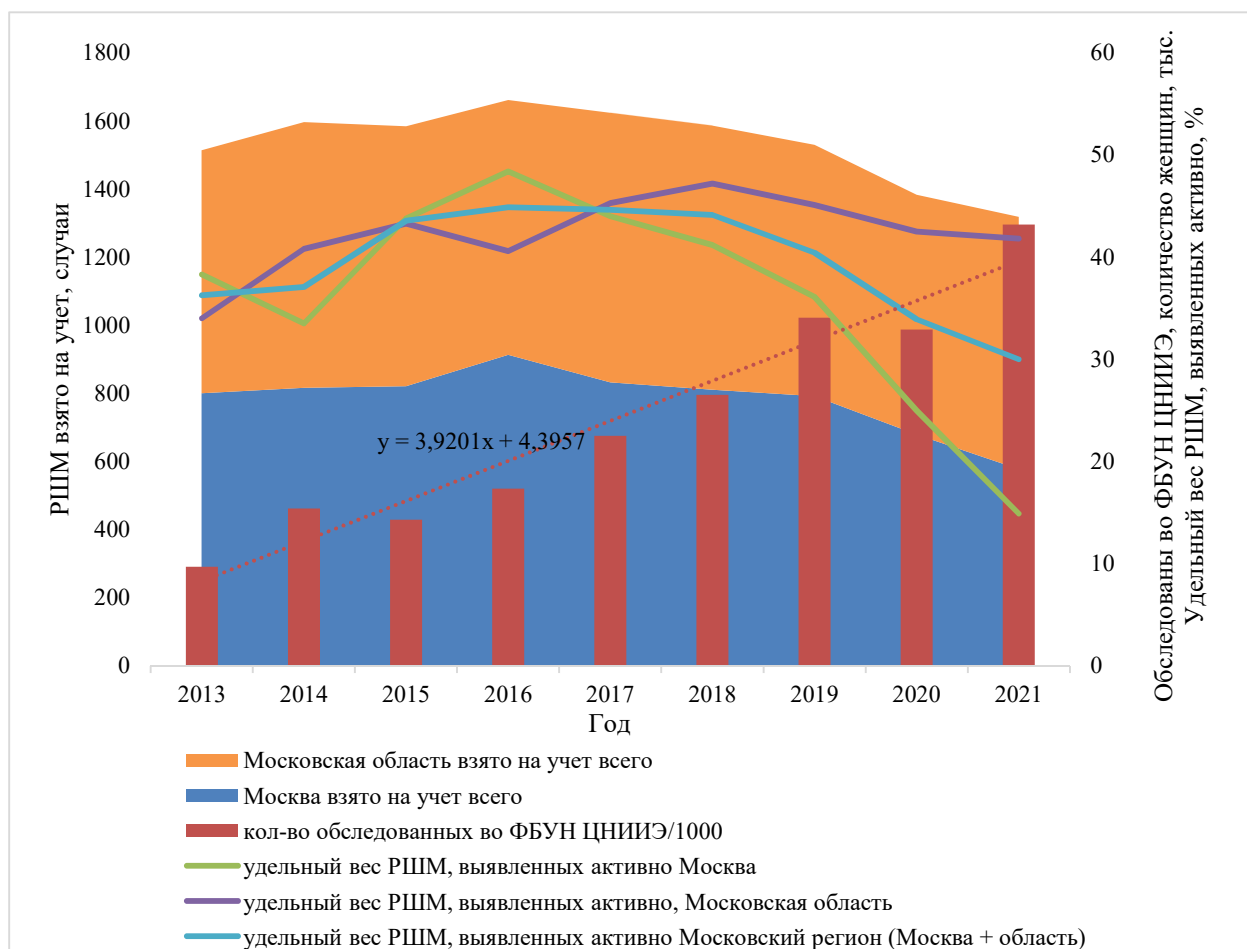


Рисунок 3.10 – Динамика случаев взятия на учет женщин с РШМ в Москве и Московской области и динамика количества обследуемых женщин с применением ВПЧ-теста и жидкостной цитологии совместно во ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии за 2013 – 2021 гг.

Снижение регистрации случаев РШМ в Московском регионе и, в особенности, в городе Москве при возрастании количества обследуемых ежегодно женщин в одной из самых крупных лабораторных сетей города может косвенно свидетельствовать об интенсификации выявления и своевременности лечения предраковых патологий (HSIL), не подлежащих регистрации и учету. Резкое снижение количества случаев РШМ в городе, выявленных активно (36,1% - 25,0% в 2019-2020 гг. ($p < 0,001$) и 14,9% ($p < 0,001$) в 2021г.), вероятно указывают на несовершенства системы учета – отсутствие в расчете показателя активного выявления данных о карциноме *in situ*, а также о снижении активности скрининга во время пандемии новой коронавирусной инфекции.

В связи с увеличением количества случаев РШМ, диагностированных на раннем этапе или на этапе предрака, следует ожидать снижение количества поздних запущенных форм заболевания. РШМ относится к ЗНО визуальной локализации в связи с чем запущенными стадиями считаются III и IV. На рисунке 3.8 показана динамика снижения показателя запущенности заболевания 35,9% – 34,1% ($p = 0,008$) в 2011 – 2021 гг. Индекс одногодичной летальности снизился с 17,4% до 11,9% ($p < 0,001$) в 2011 – 2021гг., что может характеризовать увеличение эффективности выявления патологии на ранних стадиях. С другой стороны, соотношение одногодичной летальности в текущем году к запущенности за предыдущий год для РШМ из года в год остается на уровне существенно ниже единицы, более того имеет тенденцию к снижению с 0,47 до 0,35 ($p = 0,00013$) в 2011 - 2021 гг. (рисунок 3.11). Данный параметр указывает на большую вероятность несоответствия между долей РШМ III-IV стадий и фактической запущенностью заболевания, в таких случаях предполагают увеличение доли неправильного стадирования заболеваний в сторону завышения тяжести выявленной патологии. В этой ситуации, показатель запущенности не отражает истинную структуру выявляемой патологии и, возможно, является завышенным.

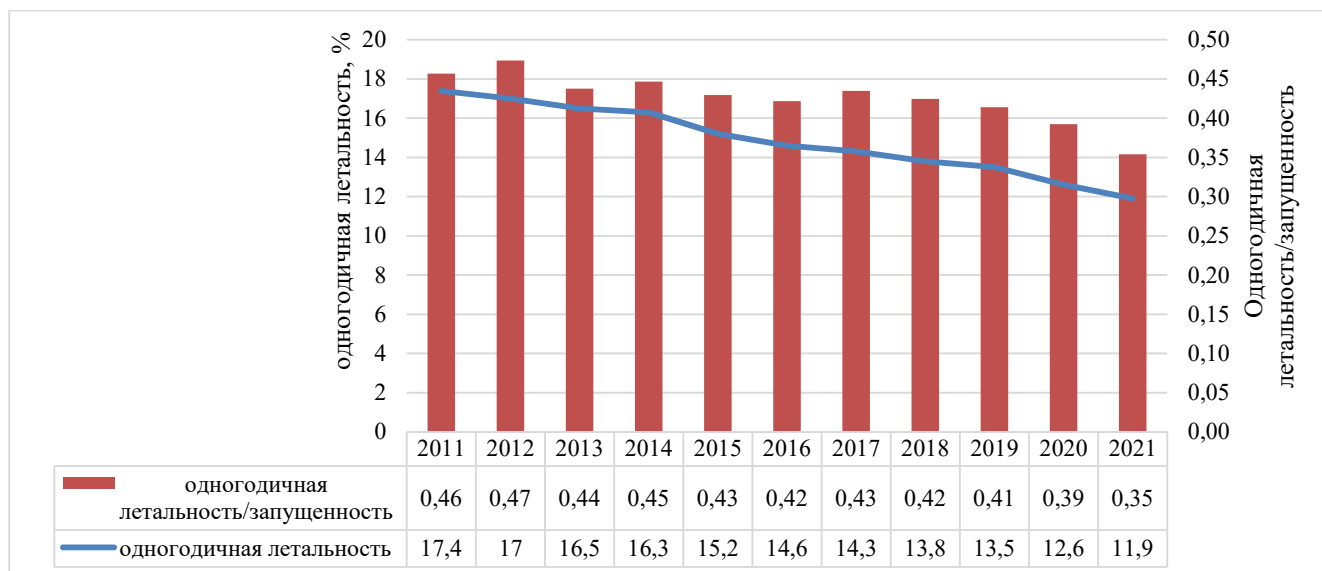


Рисунок 3.11 – Динамика показателя летальности больных в течение года с момента установления диагноза РШМ (из числа больных, впервые взятых на учет в предыдущем году) и отношения количества пациентов умерших в течение года с момента установления диагноза к числу пациентов, взятых на учет в запущенной стадии РШМ (III-IV стадии) за предыдущий год

Таким образом, анализ системы учета и регистрации РШМ показывает, что на основании собираемых данных возможно отслеживать динамику интенсивных показателей заболеваемости и смертности, однако, ввиду отсутствия данных о выявлении ВПЧ, случаях выявленного интраэпителиального поражения высокой степени, подтвердить причины изменения интенсивных показателей не представляется возможным. Кроме того, существует ряд факторов, искажающих статистические данные, связанных с особенностями работы различных ЛПУ. В частности, соблюдение приказа №135 в части оформления и подачи соответствующих сведений в первичном звене в тех случаях, когда пациент попадает в организацию неонкологической направленности недостаточно, в связи с чем данные о заболеваемости ЗНО отражены не в полном объеме.

Для постоянного контроля, обеспечения единообразия лечебных процессов, мониторинга деятельности онкологической службы и получения непрерывной отчетности на основе первичных данных приказом Министерства здравоохранения

№116н от 19.02.2021 г. с 1.01.2022 г. установлен новый порядок регистрация случаев онкологических заболеваний [92]. В приказе регламентирована обязанность ЛПУ всех форм собственности и ведомственной принадлежности осуществлять регистрацию случаев ЗНО в электронном виде в медицинскую информационную систему (МИС) с последующей передачей в Единую государственную информационную систему в сфере здравоохранения (ЕГИС СЗ) и ее подсистему - вертикально интегрированную медицинскую систему (ВИМИС) по профилю «онкология». Данные системы призваны осуществлять обмен сведениями между лечебными учреждениями разного уровня и ведомственной принадлежности. Доступ к информации, содержащийся в ВИМИС «Онкология», ранжируется в зависимости от должности специалиста и статуса курируемых и курирующих медицинских организаций (рисунок 3.11).



Рисунок 3.12 – Пути передачи электронных данных пациента с диагнозами С53; D06; N87

Важнейшим изменением по сравнению с системой регистрации, действовавшей до 1.01.2022 г., является расширение группы заболеваний, подлежащих мониторингу. В ВИМИС «Онкология», в дополнение к заболеваниям

РШМ и карциноме in situ шейки матки (D06 и C53), относимым к 1-й группе учета в рубрике «Онкологические заболевания», регистрируются также случаи дисплазии шейки матки N87.0, N87.1, N87.2 и N87.9 относимые ко 2-й группе в рубрике «Предопухолевые заболевания (состояния) и подозрение на онкологическое заболевание».

Данные о пациентах передаются в виде структурированных электронных медицинских документов (СЭМД). Сигналом для передачи данных СЭМД из ЕГИСЗ в ВИМИС «онкология» служит наступление одного из событий, обозначаемого как «триггерная точка» и занесение данных о нем в МИС лечебного учреждения (см. таблица 3.6). Передача данных осуществляется в оперативном режиме. Перечень медицинских документов, передаваемых в виде СЭМД при выявлении и лечении онкологического заболевания включает документы, перечисленные в таблице 3.6. Примечательно, что данные документы, как и ранее, не включают информацию об инфицировании ВПЧ, его типе и выявленной концентрации. Внедрение обязанности ведения медицинской документации через МИС и передачи данных в ЕГИСЗ призвано заполнить пробелы в данных о ЗНО, недополученными от первичного звена.

Таблица 3.6 – Триггерные точки – сигналы для передачи данных в ВИМИС «Онкология»

Код триггерной точки	Полное наименование триггерной точки	СЭМД, передаваемый в ВИМИС
1	выявление приема (осмотра) врачом-специалистом	прием (осмотр) врача-специалиста протокол на случай выявления у больного запущенной формы злокачественного новообразования
2	выявление диагностических исследований	протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала

Продолжение таблицы 3.6

Код триггерной точки	Полное наименование триггерной точки	СЭМД, передаваемый в ВИМИС
3	выявление направления на оказания медицинских услуг	направление на оказание медицинских услуг
4	выявление проведения консилиума врачей	протокол консилиума врачей
5	выявление госпитализации (получение пациентом медицинской помощи в условиях дневного стационара и стационарно)	выписной эпикриз из стационара по отдельным профилям медицинской помощи протокол хирургической операции протокол на случай выявления у больного запущенной формы злокачественного новообразования талон на оказание ВМП
6	выявление диспансерного наблюдения	диспансерное наблюдение
12	выявление факта необходимости постановки на диспансерное наблюдение	извещение о больном с впервые в жизни установленным диагнозом злокачественного новообразования
15	выявление факта смерти	медицинское свидетельство о смерти
22	выявление патолого-анатомического вскрытия	протокол патолого-анатомического вскрытия
29	ретроспективные данные по пациентам с онкологической патологией	ретроспективные данные по пациентам с онкологической патологией

Форма №7 «Сведения о злокачественных новообразованиях» в соответствии с приказом №985 от 27 декабря 2022 года с изменениями и дополнениями от 27 октября 2023 года заполняется только органами государственной власти субъектов Российской Федерации в сфере охраны здоровья и предоставляется Министерству здравоохранения Российской Федерации. Сведения по форме №7 предоставляются, как и ранее, только по нозологиям С53 и D06. Данные о РШМ, собираемые в

ВИМИС «онкология» поступают в Раковый регистр Российской Федерации, функционирующий в новом качестве в составе ЕГИС СЗ. На базе ВИМИС «онкология» ведется также регистр предраковых заболеваний шейки матки. Однако, статистический учет заболеваемости РШМ по-прежнему основывается на данных формы №7 без учета случаев предрака.

Таким образом, интенсивный показатель заболеваемости РШМ за наблюдаемые годы возростал в 2011 – 2018 гг. с 19,30 до 22,57⁰/₀₀₀₀ ($p < 0,001$), затем снижался в 2019 – 2021 гг. с 22,25 до 19,67⁰/₀₀₀₀ ($p < 0,001$). Темп прироста заболеваемости увеличивался в 2011 – 2015 гг. с 0,00% до 3,40% ($p < 0,001$), затем замедлился с 2,82% до 1,07% ($p < 0,0001$) в 2016 – 2018 гг. и снизился до -0,41% ($p < 0,001$) к 2021 году.

Динамика заболеваемости в возрастной группе 20 – 29 лет имела слабую тенденцию к снижению и, ввиду низкого удельного веса случаев (не более 3,5%, ДИ95%: 3,22% – 3,76%) в структуре РШМ, не вносила существенный вклад в динамику общей заболеваемости.

Среди женщин среднего возраста (30 – 49 лет) наблюдалась тенденция к замедлению с 2016 г. и затем снижению заболеваемости, начиная с 2019 г. что предшествовало периоду распространения новой коронавирусной инфекции (COVID–19) на территории РФ: 34,52 – 34,83⁰/₀₀₀₀ ($p = 0,58$) в 2016 – 2018, 34,83 – 33,75⁰/₀₀₀₀, ($p = 0,049$) в 2018 – 2019 гг. и далее 33,75 – 29,93⁰/₀₀₀₀, $p < 0,0001$ в 2019 – 2021 гг.

Динамика интенсивного показателя заболеваемости среди женщин 50 лет и старше имела достаточно резкий спад в 2020 году: 29,52 – 26,0⁰/₀₀₀₀ ($p < 0,001$), что, вероятнее всего, связано с пандемией COVID–19.

Отмечено увеличение доли активно выявленных случаев РШМ в 2011 – 2021 гг. с 29,8% до 34,7% ($p < 0,001$), повышение интенсивности ранней диагностики ввиду увеличения доли впервые выявленных ранних форм РШМ и карциномы *in situ* с 68,73% до 73,73% ($p < 0,001$), а также увеличение доли карцином *in situ* по сравнению с РШМ I+II стадий с 25,8% до 34,7% ($p < 0,001$). Также в 2011 – 2021 гг. наблюдалось снижение доли запущенных стадий РШМ с 35,9% до 34,1% ($p = 0,008$),

индекса одногодичной летальности с 17,4% до 11,9 % ($p < 0,001$). Соотношение одногодичной летальности в текущем году к запущенности за предыдущий год для РШМ меньше единицы и снизилось с 0,47 до 0,35 ($p = 0,00013$) в 2011 - 2021 г., что, в целостности, подразумевает ошибки на этапе регистрации стадии заболевания. Совокупные данные указывают на повышение вклада своевременного выявления предрака и РШМ в снижение темпа роста и прироста заболеваемости, снижение интенсивного показателя заболеваемости. Наиболее резкая динамика снижения интенсивного показателя в 2020 г., вероятно, связана с пандемией новой коронавирусной инфекции COVID-19.

Система Федерального статистического учета и регистрации ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки направлена на мониторинг за злокачественным новообразованием (C53) и, частично, за преинвазивной стадией карцинома *in situ* (D06). Стадии дисплазии шейки матки (N87), не подлежат учету, информированию онкологических учреждений. Мониторинг заболевания по Федеральной статистической форме №7 проводится без учета вирусной этиологии, не производится сбор данных о распространенности ВПЧ и структуре популяции вируса среди пациентов с РШМ как в целом, так и отдельных стадий. В составе эпидемиологического надзора за РШМ и предшествующими ему стадиями при наличии мониторинга заболевания и мониторинга больного полностью отсутствует мониторинг возбудителя. В связи с этим, для осуществления мер борьбы с РШМ и оценки их эффективности данные пригодны частично, оценка возможна, в основном, с учетом косвенных показателей.

ГЛАВА 4. ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВПЧ- АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

В Российской Федерации первым звеном в лабораторной диагностике ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки является цитологическое исследование, результат которого влияет на тактику дальнейшего ведения пациента. Гистологическое исследование проводится на третьем этапе диагностики, строго при наличии показаний к его проведению и является решающим при постановке диагноза. Валидация цитологического исследования относительно гистологического является международной практикой для оценки качества проводимых диагностических мероприятий. Проведенная нами валидации результатов цитологического исследования описана также в публикации [93].

4.1 Оценка сходимости результатов цитологического и гистологического исследования при диагностике интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени

Данные лабораторного обследования 219 женщин (M=36,57 лет, Me=35,0 лет, IQR: 30 – 41 лет), содержащие результаты цитологического и гистологического исследования образцов эпителия шейки матки, были проанализированы на предмет совпадения/расхождения результатов. 147 из 219 (67,12%, ДИ 95%: 60,65 – 73,0%) результатов оценки состояния эпителия шейки матки двумя методами – были конкордантны. В 72 из 219 (32,88%, ДИ 95%: 27,0–39,35%) случаях наблюдались дискордантные результаты.

Таблица 4.1 – Распределение дискордантных результатов цитологического и гистологического исследований в порядке убывания частоты встречаемости

Вариант дискорданта, цитологическое исследование/гистологическое исследование	Всего, абс.	%	ДИ 95%	
			от	до
HSIL, ASC-H/LSIL	26	36,11	25,98	47,65
LSIL/HSIL	13	18,06	10,87	28,49
NILM/HSIL	12	16,67	9,8	26,91
РШМ/HSIL	8	11,11	5,74	20,42
HSIL, ASC-H/NILM	6	8,33	3,87	17,01
ASCUS/HSIL	4	5,56	2,18	13,44
ASCUS/NILM	1	1,39	0,25	7,46
LSIL/РШМ	1	1,39	0,25	7,46
HSIL/РШМ	1	1,39	0,25	7,46

Примечание:

NILM – negative for epithelial lesion or malignancy – отсутствие интраэпителиальных поражений

ASCUS – atypical squamous cells of undetermined significance – атипичные клетки плоского эпителия неясного значения

LSIL – low-grade squamous intraepithelial lesions – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени

HSIL – high-grade squamous intraepithelial lesions – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение высокой степени

ASC-H (atypical squamous cells can't exclude HSIL) – атипичные клетки плоского эпителия, нельзя исключить тяжелое поражение, ASCUS (atypical squamous cells of undetermined significance) – атипичные клетки плоского эпителия неясного значения,

РШМ – рак шейки матки

Наибольшее число несовпадений (26 из 72 (36,11%, ДИ 95%: 25,98 – 47,65%)) относилось к расхождению анализируемых результатов типа HSIL, ASC-H/LSIL (цитологическое исследование/гистологическое исследование). 13 из 72 (18,06%, ДИ 95%: 10,87 – 28,49%) – LSIL/HSIL, 12 из 72 (16,67, ДИ 95%: 9,8 – 26,91%) – NILM/HSIL, 6 из 72 (8,33%; ДИ 95%: 3,87 – 17,01%) – HSIL, ASC-H/NILM, 4 из 72 (5,56%; ДИ 95%: 2,18 – 13,44%) – ASCUS/HSIL и 1 из 72 (1,39%; ДИ 95%: 0,25 – 7,46%) – ASCUS/NILM. Примечательно, что среди дискордантов типа NILM/HSIL в 7 из 12 (58,33%; ДИ 95%: 31,95 – 80,67%) случаев в цитологическом заключении отмечено наличие реактивных изменений. При выявлении карциномы отмечалось полное (100%) несовпадение цитологических и гистологических заключений. 8 случаев карциномы, установленных на основании данных цитологического исследования, верифицированы при проведении гистологического исследования как HSIL. В двух случаях при цитологическом заключении LSIL и HSIL гистологическим исследованием установлена карцинома. Всего на основании данных гистологического исследования верифицировано 183 случая HSIL и 2 случая РШМ.

Одной из наиболее частых причин расхождений результатов является наличие воспаления на момент взятия материала для исследования, которое может маскировать дисплазию, обуславливая ложноотрицательные заключения или, наоборот, способствовать гипердиагностике [48, 94]. В нашем исследовании 58% женщин с наличием признаков воспаления получили ложноотрицательное заключение цитологического исследования с последующей верификацией HSIL гистологическим исследованием, что суммарно составило 10% от всех дискордантных случаев. Общее количество ложноотрицательных результатов составило 41,7% (ДИ 95%: 30,99% – 53,2%) среди дискордантных случаев, полученных при использовании двух методов, и 13,7% (ДИ 95%: 9,77% – 18,88%) среди всех случаев, для которых известен результат обследования двумя методами.

Диагностическая чувствительность цитологического исследования при выявлении HSIL составила 83,78%. При любом положительном результате

цитологического исследования, отличном от нормы, проводится дальнейшее расширенное обследование. В связи с этим обоснован способ расчета чувствительности, при котором учитывается любой результат цитологического исследования, отличный от NILM, при гистологическом заключении, отличном от NILM. При таком способе расчета диагностическая чувствительность цитологического метода составила 94,34%. Диагностическая специфичность в рамках данного исследования не рассчитывалась ввиду отсутствия случаев истинно негативных результатов, подтвержденных гистологически, обусловленных этическими нормами при проведении диагностических манипуляций. Для повышения чувствительности активных мероприятий вторичной профилактики во многих странах мира с успехом применяют ВПЧ-тест на основе метода полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме реального времени (ПЦР-РВ) [45].

4.2 Оценка диагностических характеристик ВПЧ-теста на основе метода полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме реального времени

В мировой практике для совершенствования скрининга ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки применяется ВПЧ-тест на основе ПЦР-РВ. Эффективность его применения определяется диагностической чувствительностью и специфичностью выявления плоскоклеточного интраэпителиального поражения высокой степени (HSIL) [51]. На уровень диагностических характеристик влияет в том числе количество и состав определяемых методикой типов ВПЧ. Методики, валидированные и используемые в международной практике, направлены на определение 13-и – 14-и типов ВПЧ (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) с частичным генотипированием 16 и 18 типов вируса. В российской практике отсутствуют требования, а также данные о валидации и диагностических характеристиках применяемых отечественных методик, нет информации о ценности дифференциации отдельных типов ВПЧ.

4.2.1 Частота выявления вируса папилломы человека четырнадцати онкогенных типов при патологии эпителия шейки матки различной степени и ее отсутствии

Проведен анализ данных обследования 619 женщин, инфицированных одним или несколькими типами ВПЧ из четырнадцати изучаемых (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68). В 217 из 619 случаев состояние эпителия шейки матки охарактеризовано при цитологическом исследовании как NILM (M=32,78 лет, Me=31 лет, IQR: 25 – 37лет), 217 из 619 – LSIL (M=31,54 лет Me=29 лет, IQR: 25 – 35лет) и 185 из 619 (M=36,49 лет, Me=35 лет, IQR: 30 – 41лет) – HSIL. Результаты проведенного анализа представлены также в публикации [91].

Среди женщин с цитологическим заключением NILM наиболее часто выявляли ДНК ВПЧ 16 (12,90%, ДИ 95%: 9,14 – 17,58%), 31 (12,90%, ДИ 95%: 9,14 – 17,58%) и 51 (10,60%, ДИ 95%: 7,22 – 14,95%) типов. Среди женщин, с заключением LSIL – 16 (28,57%, ДИ 95%: 23,09 – 24,59%), 56 (16,59%, ДИ 95%: 12,30 – 21,71%) и 33 (12,44%%, ДИ 95%: 8,75 – 17,06%) типов. Среди женщин с верифицированным HSIL наиболее распространены – 16 (63,24%, ДИ 95%: 56,41 – 69,69%), 33 (15,68%, ДИ 95%: 11,22 – 21,13%) и 31 (9,73%, ДИ 95%: 6,30 – 14,30%) типы ВПЧ. Частота встречаемости различных типов в зависимости от диагноза среди ВПЧ-инфицированных женщин представлена на рисунке 4.1.

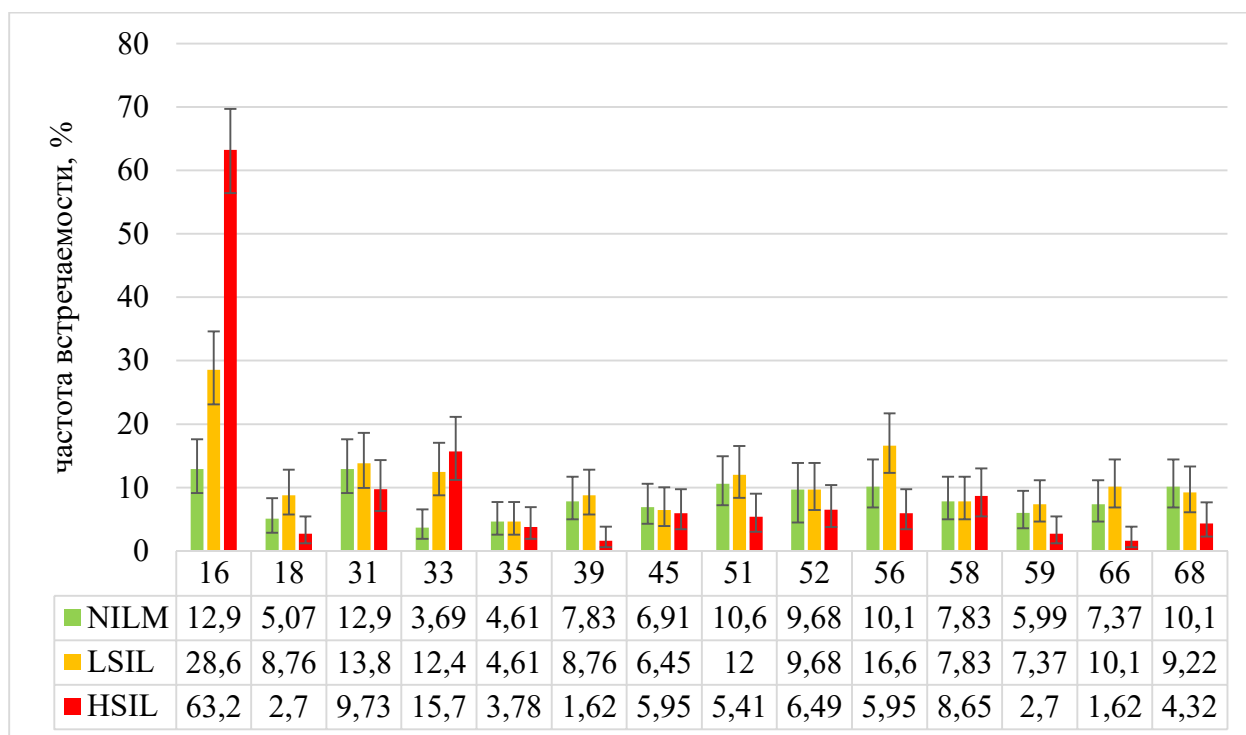


Рисунок 4.1 – Частота встречаемости четырнадцати онкогенных типов среди ВПЧ-инфицированных женщин при патологии эпителия шейки матки различной степени и ее отсутствии

Для двух типов ВПЧ: 16 и 33 отмечается возрастание частоты встречаемости с увеличением тяжести дисплазии, установлено достоверное отличие частоты встречаемости при HSIL и при отсутствии патологии ($p < 0,001$) (рисунок 4.2). Для остальных типов значимых отличий в частоте встречаемости в зависимости от степени интраэпителиального поражения эпителия шейки матки не выявлено.

На рисунке 4.2 показана зависимость частоты встречаемости типов ВПЧ 16 и 33 в зависимости от степени интраэпителиального поражения.

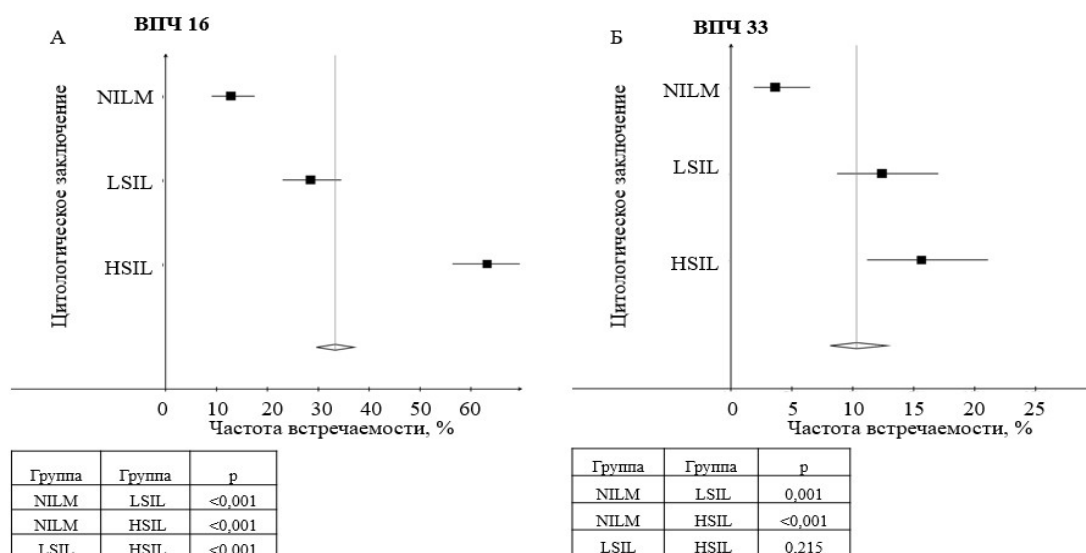


Рисунок 4.2 – Частота встречаемости ВПЧ 16 типа (А) и 33 типа (Б) среди женщин с различными состояниями эпителия шейки матки

4.2.2 Иерархическая значимость вируса папилломы человека четырнадцати онкогенных типов при выявлении интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени

Распространенность типов вируса характеризует в целом структуру популяции ВПЧ при разных состояниях эпителия шейки матки. Однако, учитывая существование случаев инфицирования одновременно несколькими типами (микст-инфекция) и наличие редко встречающихся типов, установление их вклада в развитие патологии на основании изучения исключительно распространенности не является корректным. В данном случае, оценка предсказательной ценности выявления соответствующего типа (PPV) для прогнозирования наличия HSIL с ранжированием значимости при поступательном исключении влияния типов, с большим значением PPV, является более репрезентативной характеристикой, позволяющей установить вклад в развитие патологии редко встречающихся типов и учитывать случаи множественного инфицирования. Иерархическая организация типов ВПЧ, основанная на максимальном значении PPV индивидуально для

каждого типа для всех случаев, а также, вычисленном при последовательном исключении из анализа образцов, содержащих типы ВПЧ, с большим PPV, представлена в таблице 4.2.

В целом, проведенное исследование показало, что иерархия ВПЧ онкогенных типов по значимости их для выявления HSIL согласуется с филогенетической классификацией: наблюдается снижение роли типов ВПЧ в соответствии с принадлежностью к филогенетическим ветвям: α_9 (ВПЧ 16 – первая, ВПЧ 33 – вторая, ВПЧ 58 – третья, ВПЧ 35 – четвертая иерархические позиции) $> \alpha_7$ (ВПЧ 45 – пятая, ВПЧ 18 – седьмая, ВПЧ 39 – девятая, ВПЧ 59 – десятая иерархические позиции) $> \alpha_5/\alpha_6$ (ВПЧ 56 – одиннадцатая, ВПЧ 51 – двенадцатая иерархические позиции).

Как видно из таблицы 4.2, выявление ВПЧ 16 и 33 типов наиболее часто указывает на наличие интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени.

Примечательно, что существенная доля случаев HSIL, ассоциированы с ВПЧ 33 типа (16% (29 из 185) в общем и 12% (22 из 185) при исключении случаев сочетанной инфекции с ВПЧ 16 типа); в тоже время наблюдается достоверно более частая встречаемость ВПЧ 33 типа среди женщин с HSIL, чем среди женщин с NILM (рисунок 4.2), инфицированных ВПЧ ($p < 0,001$); установлено второе место ВПЧ 33 типа в иерархии PPV для прогноза наличия HSIL (таблица 4.2).

Третье место в иерархии значимости для выявления HSIL занимает в нашем исследовании ВПЧ 58 типа, часто именуемый «азиатским» (таблица 4.2). Его распространенность в HSIL определяется на уровне пятого рангового места (рисунок 4.1). Ввиду того, что PPV является более прецизионной характеристикой, чем распространенность, ВПЧ 58 типа является кандидатом на третье место по значимости для развития HSIL в России.

Таблица 4.2 – Ранжирование типов ВПЧ в соответствии с значением PPV для прогноза выявления HSIL

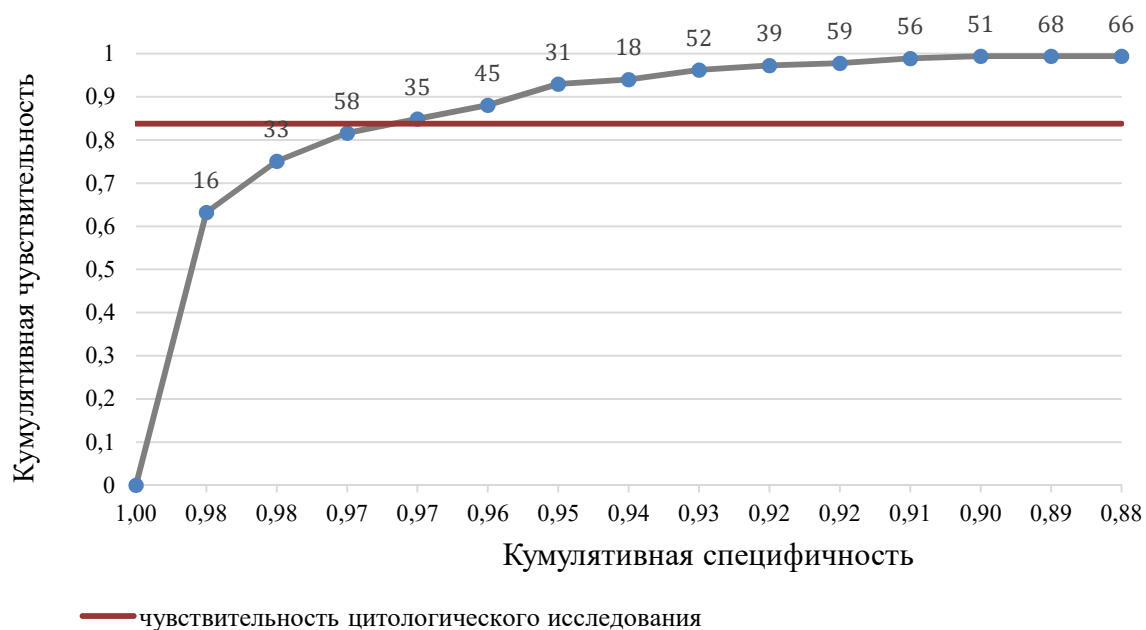
Тип ВПЧ	Для индивидуальных типов			Иерархическое ранжирование				Кумулятивные характеристики				
	PPV*, %	ДИ 95%		всего	HSIL +	ВПЧ +	PPV*, %	HSIL +	ВПЧ +	Чувствительность	специфичность**	PPV**, %
		от	до									
16	80,69	74,08	86,18	402	117	145	80,69	185	117	0,63	0,98	6,89
33	78,38	64,84	88,23	257	22	30	73,33	185	139	0,75	0,98	6,40
58	48,48	33,54	63,65	227	12	28	42,86	185	151	0,82	0,97	4,89
35	41,18	22,98	61,67	199	6	16	37,50	185	157	0,85	0,97	4,29
45	42,31	26,59	59,43	183	6	19	31,58	185	163	0,88	0,96	3,71
31	39,13	27,00	52,45	164	9	31	29,03	185	172	0,93	0,95	3,04
18	31,25	15,20	52,38	133	2	10	20,00	185	174	0,94	0,94	2,85
52	36,36	22,91	51,83	123	4	22	18,18	185	178	0,96	0,93	2,50
39	15,00	5,73	31,70	101	2	18	11,11	185	180	0,97	0,92	2,24
59	27,78	13,34	47,64	83	1	11	9,09	185	181	0,98	0,92	2,11
56	33,33	20,40	48,71	72	2	23	8,70	185	183	0,99	0,91	1,87
51	30,30	17,96	45,52	49	1	18	5,56	185	184	0,99	0,90	1,71
68	26,67	14,73	42,28	30	0	18	0,00	185	184	0,99	0,89	1,56
66	15,79	6,05	33,14	12	0	12	0,00	185	184	0,99	0,88	1,48

Примечание: * – без учета распространенности 14 типов ВПЧ, ** – с учетом поправки на распространенность 14 типов ВПЧ [96]

В соответствии с полученными результатами, ВПЧ 18 типа занимает лишь восьмое ранговое место по частоте выявления при HSIL среди женщин Московского региона (рисунок 4.1) и седьмое место в иерархии PPV для обнаружения HSIL (таблица 4.2). Известно, что ВПЧ 18 является вторым по распространенности типом в РШМ [95]. Разрыв между частотой встречаемости ВПЧ 18 типа при HSIL и РШМ может объясняться тем, что неоплазия, вызванная данным типом вируса, развивается преимущественно в цилиндрическом эпителии цервикального канала, плохо доступном для визуализации при кольпоскопии вплоть до этапа инвазивного рака, затрудняя своевременную диагностику и лечение. Таким образом, несмотря на установленное седьмое иерархическое место ВПЧ 18 типа по значению PPV для выявления HSIL, его отдельное определение при проведении ВПЧ-тестирования представляется чрезвычайно важным в связи со вторым местом по значимости после ВПЧ 16 типа в развитии карцином.

4.2.3 Диагностические характеристики ВПЧ-теста при выявлении интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени

Результативность вторичной профилактики РШМ зависит от диагностической эффективности используемых инструментов лабораторной диагностики. В случае выявления ВПЧ при помощи ВПЧ-теста диагностическая эффективность во многом определяется количеством и составом определяемых типов вируса (диагностических мишеней). Для оценки диагностических характеристик методики, позволяющей определять различные комбинации типов ВПЧ в соответствии с ранее вычисленной иерархической значимостью PPV типов в развитии HSIL, был проведен ROC-анализ (рисунок 4.3). Рассчитанные кумулятивная диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность при последовательном добавлении в состав методики типов ВПЧ указаны точками с подписью типов на ROC-кривой.



*Примечание – вычисления проведены при добавлении типов последовательно в соответствии с рассчитанной иерархией (точные значения указаны в таблице 4.2).

Рисунок 4.3 – ROC-кривая кумулятивной диагностической чувствительности и кумулятивной диагностической специфичности ВПЧ-теста для выявления HSIL

Из графика следует, что выявление первых 6 типов иерархической лестницы (ВПЧ 16, 33, 58, 35, 45 и 31 типов) обеспечит чувствительность и специфичность диагностического инструмента, приближенные к значениям 93% и 95% соответственно. Дальнейшее расширение количества определяемых типов приведет к увеличению диагностической чувствительности выявления HSIL до 99% и некоторому снижению диагностической специфичности до 88%.

Таким образом, сходимость результатов цитологического и гистологического исследования составляет 67,12%, наибольшее количество дискордантов относится к расхождению анализируемых результатов типа HSIL, ASC-H/LSIL (цитологическое исследование/гистологическое исследование). Диагностическая чувствительность цитологического метода исследования при определении HSIL составляет 83,78% и при выявлении любых результатов отличных от нормы достигает 94,34%. Увеличение диагностической чувствительности до 99,5% возможно за счет использования ВПЧ-теста,

определяющего не менее 12 онкогенных типов вируса (16, 33, 58, 35, 45, 31, 18, 52, 39, 59, 56, 51). Структура популяции ВПЧ онкогенных типов варьирует в зависимости от степени неоплазии. При HSIL чаще всего встречаются ВПЧ 16 (63,24%, ДИ 95%: 56,41 – 69,69%), 33 (15,68%, ДИ 95%: 11,22 – 21,13%) и 31 (9,73%, ДИ 95%: 6,30 – 14,30%) типов, при общей тенденции снижения вклада ВПЧ онкогенных типов в соответствии с их принадлежностью к филогенетическим группам: $\alpha 9 > \alpha 7 > \alpha 5 / \alpha 6$. Дифференциация отдельных типов ВПЧ дает представление о вероятности наличия HSIL в каждом конкретном случае инфицирования с наибольшей предсказательной ценностью (PPV) для ВПЧ 16 и 33 типов. Индивидуальная иерархическая PPV отдельных типов ВПЧ для прогноза наличия HSIL убывает в следующем порядке: 16 > 33 > 58 > 35 > 45 > 31 > 18 > 52 > 39 > 59 > 56 > 51 > 68 > 66.

Из вышеизложенного следует, что при проведении скрининга в России необходимо определять отдельно наличие ВПЧ 16 и 33 типов ввиду их особенной значимости при HSIL, а также ВПЧ 18 типа ввиду его распространенности в карциномах. Выявление всего трех основных типов недостаточно (кумулятивная чувствительность – 77%). При выявлении 12–14 типов ВПЧ чувствительность диагностического инструмента составляет более 99%. При определении наличия ВПЧ широкого спектра без дифференциации типов, оценить вероятность наличия HSIL в каждом конкретном случае и скорректировать тактику ведения пациента невозможно (PPV существенно варьирует между разными типами). Для повышения диагностической специфичности ВПЧ-теста следует рассматривать дополнительные возможности ПЦР-исследования, такие как определение концентрации вируса.

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ ВЫСОКОТЕХНОЛОГИЧНОЙ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧЕТЫРНАДЦАТИ ТИПОВ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Для совершенствования подходов лабораторной диагностики ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки и повышения прогностической значимости результатов, получаемых при применении молекулярно-биологических методов определения ВПЧ-инфекции, разработана и апробирована высокотехнологичная методика, позволяющая проводить ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с возможностью генотипирования и определения индивидуальной концентрации, а также суммарной вирусной нагрузки 14-и типов ВПЧ.

Для осуществления амплификации используются специфические олигонуклеотидные праймеры и зонды, комплиментарные уникальным участкам ДНК ВПЧ каждого из 14-и онкогенных типов.

Количественное определение ДНК ВПЧ онкогенных типов методом ПЦР-РВ основывается на существовании линейной зависимости между исходной концентрацией ДНК-мишени в исследуемом образце и циклом начала экспоненциального роста флуоресцентного сигнала (пороговый цикл). Для проведения количественного теста амплификацию ДНК из исследуемых образцов осуществляют одновременно с ДНК-калибраторами – образцами с известной концентрацией ДНК-мишени. По результатам амплификации ДНК-калибраторов строится калибровочная прямая, относительно которой происходит определение концентрации ДНК-мишени в исследуемых образцах.

Разработан комплекс количественно охарактеризованных препаратов (калибраторов) для осуществления возможности построения калибровочной прямой и последующей характеристики образцов с неизвестной концентрацией ДНК ВПЧ. Для оценки вирусной нагрузки ВПЧ используются значения нормализованной концентрации - соотношение количества ДНК ВПЧ и количества клеток эпителия слизистых оболочек человека. Данный способ расчета позволяет

контролировать качество взятия биоматериала и стандартизовать получаемый количественный результат по содержанию ДНК ВПЧ. Количество клеток человека оценивается путем измерения концентрации ДНК участка генома человека – гена β -глобина. Принцип измерения концентрации ДНК β -глобина аналогичен принципу измерения ДНК ВПЧ.

Для создания калибраторов приготовлены препараты на основе плазмидного вектора, содержащие клонированные участки ДНК ВПЧ 14-и типов. Для каждого из изучаемых типов ВПЧ приготовлены по 2 разведения с концентрациями 10^4 копий ДНК ВПЧ/мл и 10^7 копий ДНК ВПЧ/мл. Для количественной характеристики калибраторов использован метод капельной цифровой ПЦР QX100 droplet digital PCR (ddPCR), производства "Био-Рад Лабораториз, Инк." (Bio-Rad Laboratories, Inc.), США, РУ № ФСЗ 2012/13278 от 20.11.2012 г. (в соответствии с инструкцией к системе QX100 для проведения капельной цифровой ПЦР (QX100 droplet digital PCR)).

В разработанной методике идентификация ДНК каждого из 14-и типов ВПЧ, а также ДНК β -глобина для одного образца проводится в четырех пробирках, результаты амплификации регистрируются по 4-м различным каналам флуоресцентной детекции.

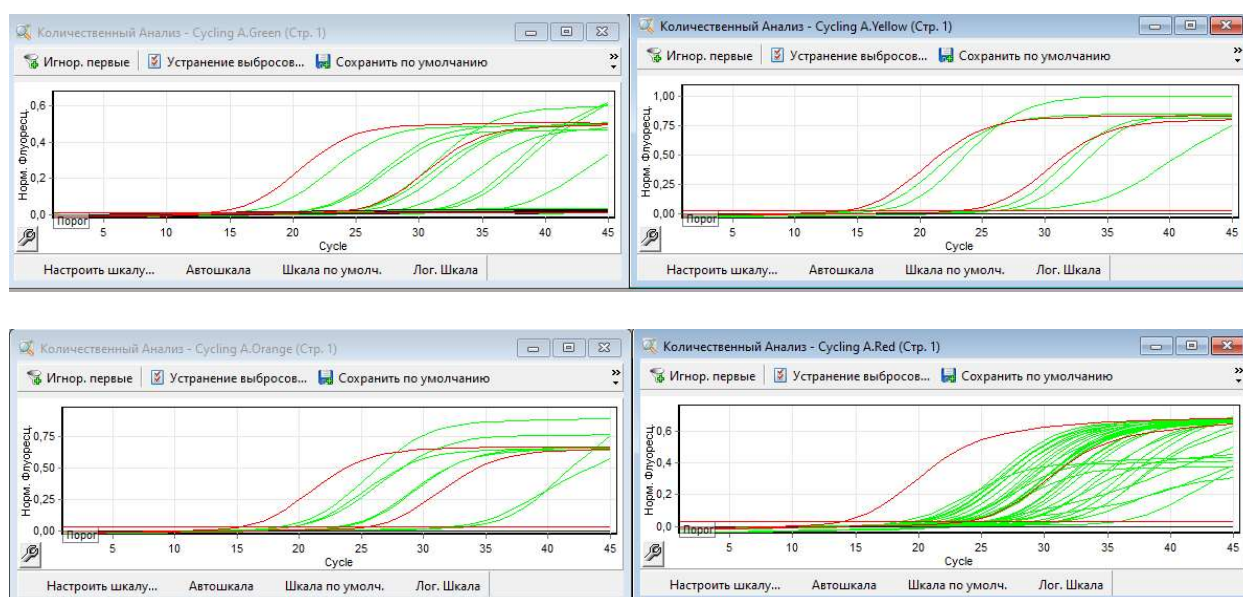
Таблица 5.1 – Регистрация результатов амплификации по каналам флуоресцентной детекции амплификатора

Канал для флуорофора	FAM	JOE	ROX	Cy5
Наименование ПЦР-смеси-FL	Выявляемая ДНК-мишень			
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 1	ДНК ВПЧ тип 16	ДНК ВПЧ тип 31	ДНК ВПЧ тип 18	ДНК участка β -глобинового гена
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 2	ДНК ВПЧ тип 39	ДНК ВПЧ тип 45	ДНК ВПЧ тип 59	ДНК участка β -глобинового гена
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 3	ДНК ВПЧ тип 33	ДНК ВПЧ тип 35	ДНК ВПЧ тип 68	ДНК ВПЧ тип 56

Продолжение таблицы 5.1

Канал для флуорофора	FAM	JOE	ROX	Cy5
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 4	ДНК ВПЧ тип 58	ДНК ВПЧ тип 52	ДНК ВПЧ тип 66	ДНК ВПЧ тип 51

Пример кривых накопления флуоресценции в результате реакций амплификации по 4-м каналам детекции представлен на рисунке 5.1.



*Примечание. Кривые красного цвета показывают амплификацию участков ДНК контрольных образцов - калибраторов

Рисунок 5.1 – Кривые накопления флуоресценции, полученные при амплификации 14-ти типов ДНК ВПЧ и участка β-глобина по 4-м каналам детекции флуоресценции амплификатора в режиме реального времени

Предел обнаружения и диапазон измерения разработанной методики были протестированы с применением разведений количественно охарактеризованных препаратов – стандартных образцов предприятия (СОП), содержащих специфические участки ДНК ВПЧ. Предел детекции составил 1×10^3 копий ДНК ВПЧ/мл исследуемого образца. Диапазон измерения составил $3 \times 10^3 - 1 \times 10^8$ копий ДНК ВПЧ/мл исследуемого образца.

Аналитическая специфичность набора реагентов доказана при исследовании ДНК человека и следующих микроорганизмов: *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida spp.*, CMV (цитомегаловирус), EBV (вирус Эпштейна-Барр), VZV (вирус ветряной оспы), HSV I, HSV II (вирус простого герпеса типы 1 и 2), Human herpesvirus 6 (герпес 6 типа), ДНК ВПЧ, относящиеся к типам низкого и неопределенного риска, в частности типы 6, 11, 67, 70, 84, 81, 82, 62, 72, 73. При тестировании образцов ДНК вышеперечисленных организмов неспецифических реакций, а также перекрестных реакций между типами ВПЧ при использовании высококонцентрированных образцов выявлено не было. Специфичность тестирования подтверждена методом секвенирования фрагментов амплификации по Сэнгеру с использованием консенсусных универсальных праймеров на область гена ВПЧ L1 – Mu 9/11 и GP 5+/6+.

Воспроизводимость и повторяемость разработанной методики были определены путем тестирования модельных образцов биоматериала, содержащих разведения СОП со встроенными специфическими участками ДНК ВПЧ в трех диапазонах концентраций (от 5×10^3 до 1×10^4 , от 5×10^4 до 1×10^5 , более 5×10^5 копий/мл) в биологическом материале, не содержащем ДНК ВПЧ других типов и ДНК других возбудителей. Получены следующие характеристики. Повторяемость - стандартное отклонение не превышало 0,17, коэффициент вариации не более 3,57%. Воспроизводимость – стандартное отклонение не превышало 0,30, коэффициент вариации не более 5,71%. Правильность – систематическая погрешность составляла не более 6,20%.

Для расчета и интерпретации результатов разработана программа для ЭВМ с автоматическим расчетом индивидуальных концентраций ДНК ВПЧ 14-и типов и количества клеток в образце на основе порогового сигнала – электронный калькулятор.

Работа электронного калькулятора осуществляется при использовании

программы Microsoft® Excel, входящей в состав приложений Microsoft® Office.

Принцип расчета и интерпретации результатов следующий:

1. Проводится расчет значений копий ДНК ВПЧ каждого типа и ДНК человека на реакцию в исследуемых и контрольных образцах по построенной калибровочной прямой.
2. Проводится расчет количества ДНК ВПЧ каждого типа в отдельности, приходящегося на 1×10^5 клеток человека, согласно формуле 5.1:

$$\lg \left(\frac{\text{число копий ДНК ВПЧ}}{\text{число копий ДНК человека}} * 2 * 10^5 \right) = \lg (\text{число копий ДНК ВПЧ на } 10^5 \text{ клеток человека}) \quad (5.1)$$

4. Проводится оценка суммарной концентрации ВПЧ ВКР в $\lg/10^5$ клеток человека:
 $\lg \text{ВПЧ}16 + \lg \text{ВПЧ}18 + \lg \text{ВПЧ}31 + \lg \text{ВПЧ}33 + \lg \text{ВПЧ}35 + \lg \text{ВПЧ}39 + \lg \text{ВПЧ}45 +$
 $\lg \text{ВПЧ}51 + \lg \text{ВПЧ}52 + \lg \text{ВПЧ}56 + \lg \text{ВПЧ}58 + \lg \text{ВПЧ}59 + \lg \text{ВПЧ}66 + \lg \text{ВПЧ}68 =$
 $\lg \text{суммарная}$

В качестве исходных данных электронный калькулятор использует значения пороговых циклов амплификации (Ct), исследуемых образцов, контролей и калибраторов по четырем каналам детекции, полученных в программном обеспечении прибора, используемом для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Данные могут быть перенесены непосредственно из программного обеспечения прибора, либо из файла экспорта данных в Excel.

После нажатия кнопки «*Рассчитать*», электронный калькулятор выдает значения количества клеток человека в исследованном образце, концентрации ДНК ВПЧ ВКР 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов, суммарную концентрацию ДНК ВПЧ и статус контрольных образцов.

Пример результатов исследования, проведенного с применением разработанной методики и электронного калькулятора представлен на рисунке 5.2

дата		Матрица сравнения				Значения Ct				Результат (выявленный генотип)	кол-во клеток	lg ВПЧ 16,39,33,5 8/10 ⁵ клеток	lg ВПЧ 31,45,35,5 2/10 ⁵ клеток	lg ВПЧ 18,59,68,6 6/10 ⁵ клеток	lg ВПЧ 56, 51 /10 ⁵ клеток	СУММ lg ВПЧ/ 10 ⁵ клеток			
NN	Лунка Well	Имя Well Name	FAM	JOE	ROX	Cy5	FAM Ct	JOE Ct	ROX Ct								Cy5 Ct		
10	38	Образец_38	39	45	59	ВК					25,7					1991	8,24		
	39	Образец_39	33	35	68	56													
	40	Образец_40	58	52	66	51													
11	41	753_ан	16	31	18	ВК	30,1	22,9			25,8	16,31	4,03	5,95		2405	6,84		
	42	Образец_42	39	45	59	ВК	19,7			24,8	39	6,71							
	43	Образец_43	33	35	68	56			22,6	26,3	68,56			5,80	4,62				
	44	Образец_44	58	52	66	51			26,5	30,2	66,51			5,06	3,60				
12	45	753_рг	16	31	18	ВК					24,5					3771			
	46	Образец_46	39	45	59	ВК				24,4									
	47	Образец_47	33	35	68	56													
	48	Образец_48	58	52	66	51													
13	49	747_ан	16	31	18	ВК	19,1		17,9		16,18	6,88		7,16		4093	7,34		
	50	Образец_50	39	45	59	ВК				24,5									
	51	Образец_51	33	35	68	56													
	52	Образец_52	58	52	66	51													
14	53	747_рг	16	31	18	ВК					24,4					4011			
	54	Образец_54	39	45	59	ВК				24,3									
	55	Образец_55	33	35	68	56													
	56	Образец_56	58	52	66	51													

Рисунок 5.2 – Пример интерпретации результатов ПРЦ-исследования при помощи разработанного электронного калькулятора

На регистрацию программы для ЭВМ подана заявка № 2024615194 от 15 марта 2024 года. По заявке получено свидетельство о государственной регистрации № 2024617242 с коммерческим названием «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-титр». Дата государственной регистрации в Реестре программ для ЭВМ – 29 марта 2024 года.

В результате валидации разработанной методики в сравнении с референтным набором реагентов, зарегистрированным и допущенным к применению на территории Российской Федерации, диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 90 %), находилась в интервале 97% - 100% и диагностическая специфичность, (с доверительной вероятностью 90 %), находилась в интервале 99,5% -100%.

Таким образом, разработана лабораторная методика для количественного определения и дифференциации ДНК ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов методом ПЦР-РВ. Разработанная методика характеризуется высокими аналитическими и диагностическими характеристиками. Разработана и зарегистрирована программа для ЭВМ № 2024617242 «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-титр» от 29 марта 2024 года.

ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА СРЕДИ ЖЕНЩИН МОСКОВСКОГО РЕГИОНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗРАБОТАННОЙ МЕТОДИКИ

Активное внедрение в скрининг методик, позволяющих проводить тестирование на ВПЧ в расширенном формате – генотипирование и определение вирусной нагрузки помимо решения клинических задач будет способствовать решению эпидемиологических задач, в том числе изучению структуры популяции циркулирующих типов ВПЧ, оценке эффективности рекомендованных диагностических схем, что позволит совершенствовать направления борьбы с заболеванием и внедрить оптимальные профилактические мероприятия. Апробация разработанной методики для решения эпидемиологических задач изучения ВПЧ-инфекции была проведена при диспансеризации определенных групп взрослого населения на примере сотрудниц одного учреждения города Москвы. Результаты проведенного нами исследования описаны также в публикации [96].

6.1 Распространенность онкогенных типов вируса папилломы человека, структура популяции вируса, относительный риск персистенции

За 5-летний период наблюдения (2017 – 2021 гг.) обследовано 1068 женщин в возрасте от 20 до 81 года ($M=37,82$, $Me=35$, IQR 27 – 47 лет) одного учреждения города Москвы. За основу скрининга взята модель ко-тестирования: жидкостная цитология с окрашиванием микропрепаратов шейки матки по Папаниколау и классификацией результата исследования по системе Бетесда. ВПЧ-тест с использованием разработанной методики в формате ПЦР-РВ с количественным определением ДНК ВПЧ 14-и типов (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) был выполнен из соответствующих архивных образцов, хранящихся во ФБУН

ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Анализ результатов ПЦР-исследования интерпретировали при помощи разработанной программы для ЭВМ

Среди 1068 обследованных женщин, 33,7% протестированы однократно, 19,42% – двукратно, 15,67% – трехкратно, 11,82% – четырехкратно и 19,32% – пятикратно. Средний возраст на момент первого обследования составил 38 лет ($M=37,82$, $Me=35$, IQR 27 – 47 лет). При первичном тестировании ВПЧ 14-онкогенных типов выявлен у 159 женщин (14,87%; ДИ 95%: 12,86 – 17,13%). Частота обнаружения онкогенных ВПЧ варьировала в зависимости от возраста и достигала максимальных значений равных 25,58% (ДИ 95%: 21,26 – 30,44%) у лиц в возрасте 20–29 лет, далее снижалась обратно пропорционально возрасту до 40 лет и после сохранялась на уровне 7% (рисунок 6.1).

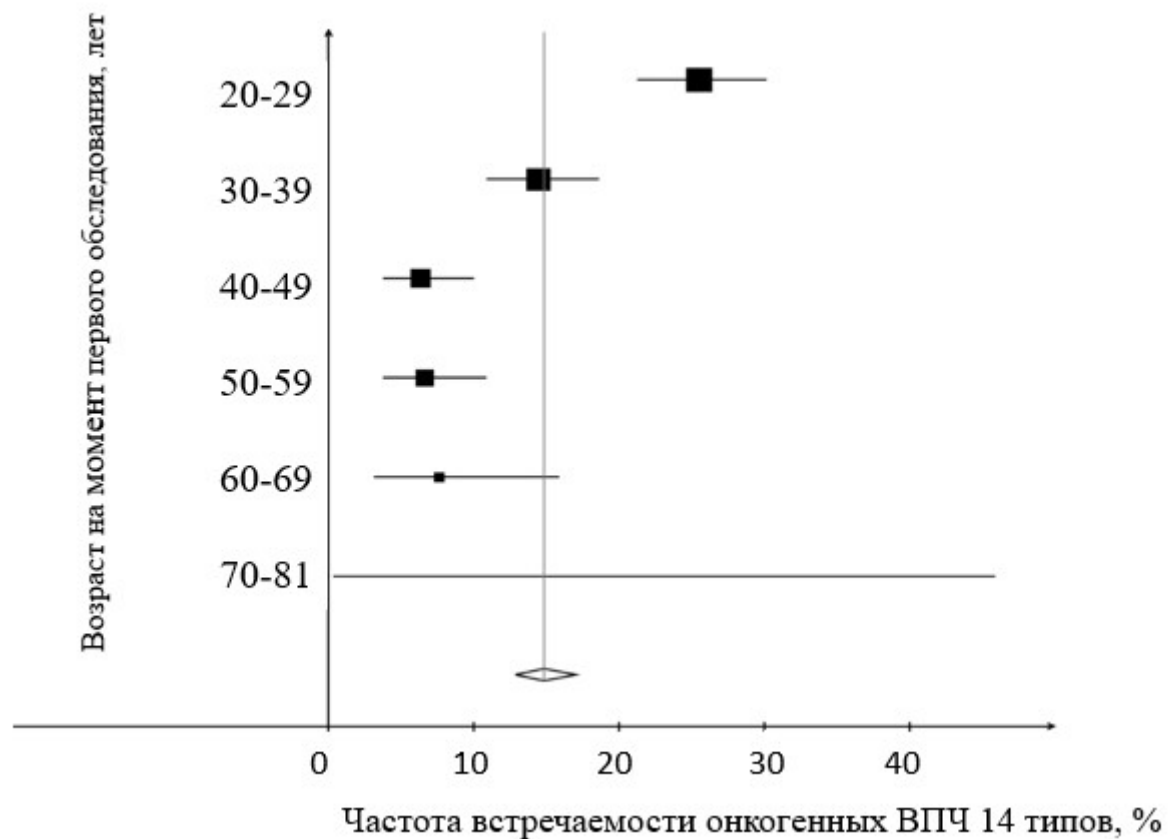


Рисунок 6.1 – Распространенность ВПЧ 14 онкогенных типов в зависимости от возраста обследованных женщин

В 124 из 159 (77,99%, ДИ 95%: 70,93 – 83,73%) случаях обнаружено инфицирование одним типом ВПЧ, в 35 из 159 (22,01%, ДИ 95%: 16,27 – 29,07%) случаях – от двух до пяти типами ВПЧ, выявленных одновременно. Наиболее часто выявляли ДНК ВПЧ: 16 (16,98%, ДИ 95%: 11,94 – 23,58%), 31 (14,47%, ДИ 95%: 9,84 – 20,78%) и 52 (13,21%, ДИ 95%: 8,81 – 19,35%) типов. Реже всего встречались ДНК ВПЧ: 33, 35 и 59 (по 5,03% каждый, ДИ 95%: 2,57 – 9,61%) типов (рисунок 6.2).

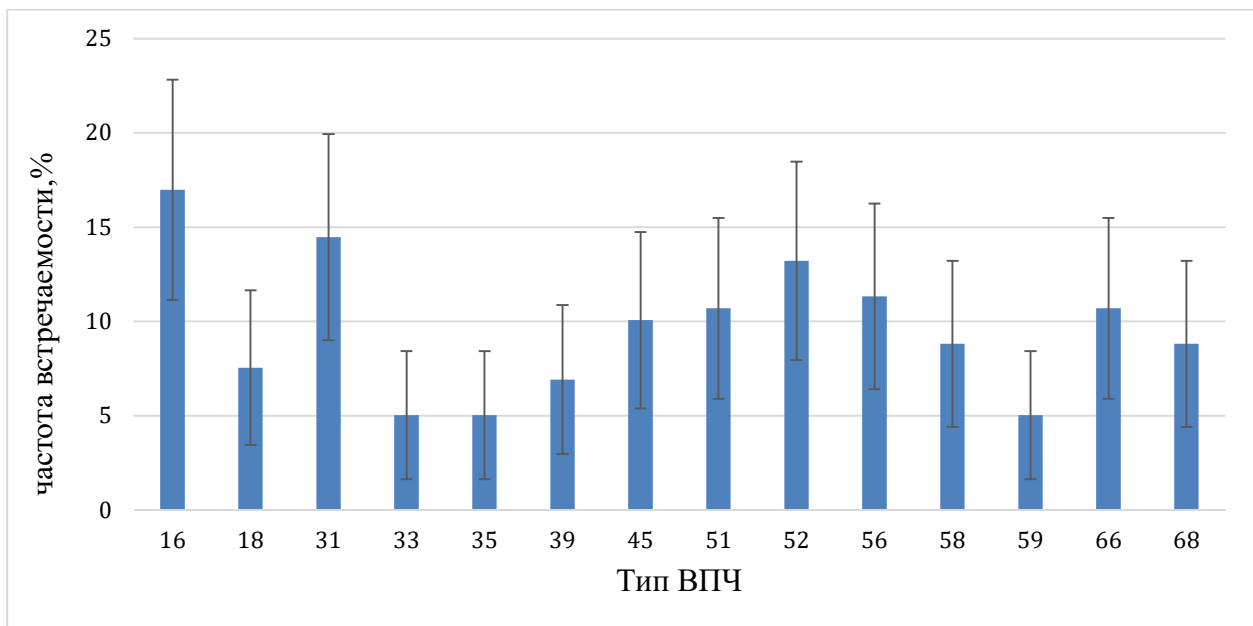


Рисунок 6.2 – Структура популяции ВПЧ 14 онкогенных типов в обследованной группе женщин (n=159 из 1068)

Базовый уровень распространенности ВПЧ 14-и онкогенных типов, определенный среди 1024 из 1068 женщин с цитологическим заключением NILM при первичном обследовании составил 121/1024 (11,82%, ДИ 95%: 9,98 – 13,94%). Частота встречаемости отдельных онкогенных типов ВПЧ среди женщин с цитологическим заключением NILM варьировала от 3,31% (ДИ 95%, 0,12 – 6,49%) для ВПЧ 33 типа и до 14,05% (ДИ 95%: 7,86 – 20,24%) для ВПЧ 52 типа. Наиболее часто выявляли ВПЧ 52 (14,05%), 16 и 31 (по 13,22%, ДИ 95%: 7,19 – 21,92%) типов (рисунок 6.3). Максимальный уровень инфицированности наблюдался у женщин моложе 25 лет: 39 из 193 (20,21%; ДИ 95%: 15,15–26,43%).

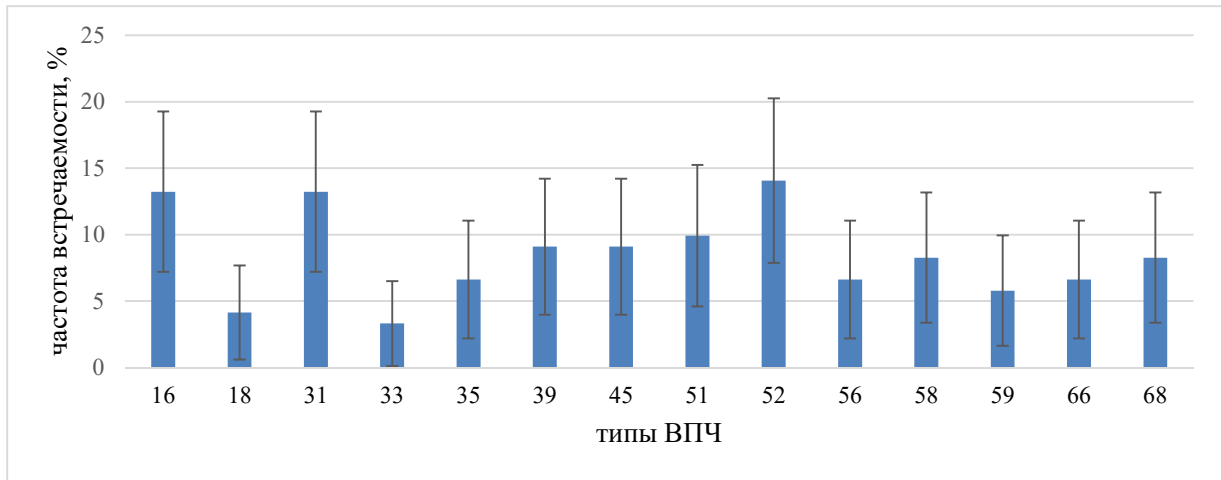


Рисунок 6.3 Структура популяции ВПЧ 14-и онкогенных типов среди женщин Московского региона при отсутствии интраэпителиальной неоплазии цервикального эпителия

Относительный риск повторного выявления ВПЧ 14-и онкогенных типов через 12 месяцев у женщин после предыдущего положительного теста был в 12,59 раз выше ($p < 0,001$) по сравнению с теми, у кого вирус отсутствовал при первом исследовании. Данная тенденция наблюдалась и для отдельных типов ВПЧ, изучаемых в данном исследовании (таблица 6.1).

Таблица 6.1 – Характеристика ВПЧ 14-и онкогенных типов по их предрасположенности к персистенции

Тип ВПЧ	Случаи персистенции ВПЧ в течение 12 месяцев, %	ОР*	p
16	47,06	54,2	<0,001
18	33,33	78	0,001
31	76,47	88,07	<0,001
33	100	353,5	0,004
35	42,86	100,14	0,001
39	28,57	33,38	0,002
45	41,67	145	<0,001

Продолжение таблицы 6.1

Тип ВПЧ	Случаи персистенции ВПЧ в течение 12 месяцев, %	ОР*	p
51	16,67	29	0,004
52	46,67	107,8	<0,001
56	27,27	38,02	<0,001
58	50	174,5	<0,001
59	25	58,67	0,022
66	30,77	71,28	<0,001
68	33,33	29,13	<0,001

Примечание; * относительный риск обнаружения ДНК ВПЧ того же типа повторно через 12 месяцев.

Таким образом, распространенность ВПЧ 14-и онкогенных типов среди обследованных женщин составила 14,87%. Наиболее часто выявляли ВПЧ 16, 31 и 52 типов (16,98%; 14,47%; 13,21%), что согласуется с исследованиями, проведенными ранее в различных регионах страны. Базовый уровень распространенности ВПЧ, один из параметров, относительно которого проводится оценка эффективности проводимой вакцинации и выработка скрининговых стратегий, составил 11,81%; первые три ранговых места занимали ВПЧ 52, 16, 31 (14,06%, 13,22%, 13,22%) типов. Наиболее инфицирована группа женщин моложе 26 лет: 20,21%.

6.2 Количественные закономерности определения онкогенных типов вируса папилломы человека

Суммарная концентрация ДНК ВПЧ 14-и онкогенных типов, выявленных в исследуемых образцах (n=342 из 2819), варьировала в широких пределах (Me= 4,17 lg копий/10⁵ клеток человека M=4,14; ДИ 95%: 3,97 – 4,31%).

Анализ вариантов сочетаний цитологических заключений и значений концентраций ДНК ВПЧ 14-и онкогенных типов (ко-тестов) в образцах показал, что с увеличением концентрации вируса увеличивается вероятность наличия дисплазии эпителия шейки матки (LSIL/HSIL). При попарном сравнении распределений концентраций ДНК ВПЧ и цитологических заключений установлено, что концентрации ВПЧ в образцах с отсутствием патологии (NILM) отличаются от концентраций в интраэпителиального поражения шейки матки низкой степени (LSIL) и высокой степени (HSIL) ($p < 0,001$), тогда как при сравнении образцов HSIL и LSIL различия недостоверны ($p = 0,413$), возможно, вследствие малого количества случаев HSIL в данной группе. Концентрация ДНК ВПЧ до $4,0 \lg$ копий/ 10^5 клеток человека с большой вероятностью связана с отсутствием патологии эпителия (доля LSIL, HSIL менее 5%). С увеличением концентрации ДНК вируса возрастает вероятность обнаружения измененных эпителиальных клеток: 23,65% и 66,67% при вирусной нагрузке $4,0-6,0 \lg$ копий/ 10^5 клеток человека и $>6,0 \lg$ копий/ 10^5 клеток человека соответственно (рисунок 6.4).

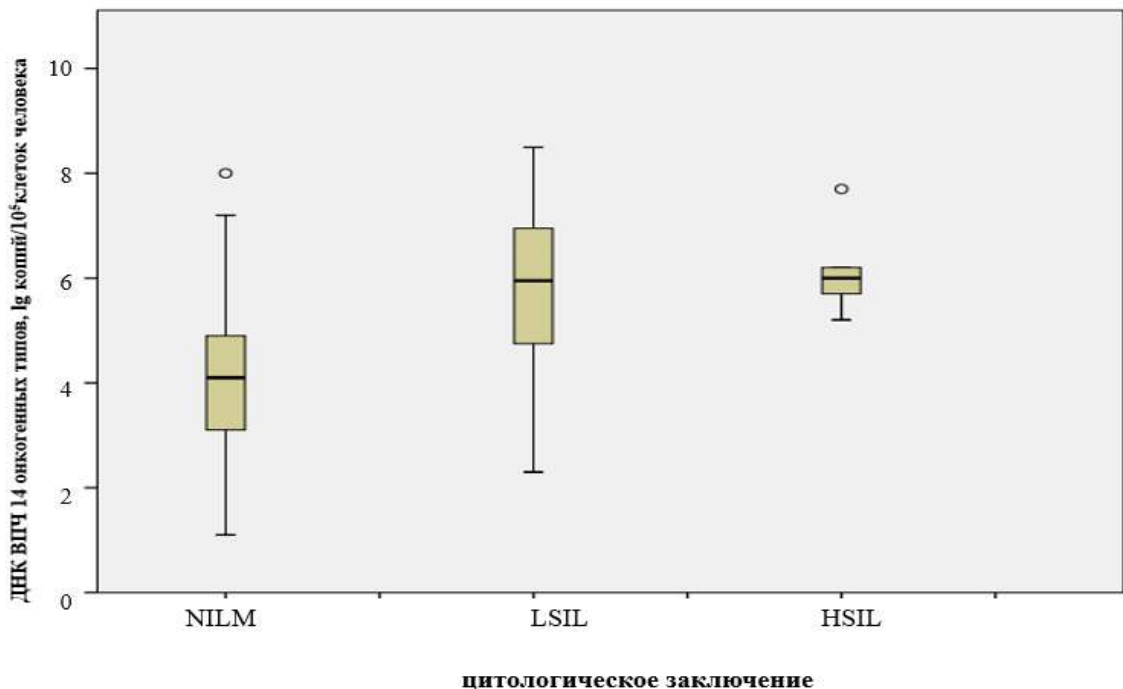


Рисунок 6.4 – Распределение концентрации ДНК ВПЧ 14-и онкогенных типов в образцах в зависимости от цитологического заключения

6.2.1 Количественные закономерности распределения вируса папилломы человека при отсутствии интраэпителиальных поражений эпителия шейки матки

Наиболее частым цитологическим заключением было отсутствие интраэпителиальных поражений (NILM) – 2680 из 2819 случаев (95,07%, ДИ 95%: 94,21 – 95,81%). 255 (9,51%, ДИ 95%: 8,46 – 10,68%) ко-тестов с таким цитологическим заключением имели положительный результат исследования на ДНК ВПЧ 14-и онкогенных типов. Средний возраст женщин с заключением NILM в ко-тестах составил 40,9 лет (Me=40,0; IQR: 31,0–51,0 год). Концентрация ДНК ВПЧ в соскобах со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикс и эндоцервикс) варьировала от 1,1 до 8,0 lg копий/10⁵ клеток человека. В 58 (22,75%, ДИ 95%: 18,03 – 28,28%) исследуемых образцах вирусная нагрузка составила <3,0 lg копий ДНК ВПЧ/10⁵ клеток человека, а в 121 (47,45%, ДИ 95%: 41,40 – 53,57%) образце – < 4,0 lg копий ДНК ВПЧ/10⁵ клеток (рисунок 6.4).

6.2.2 Количественные закономерности распределения вируса папилломы человека при неопластических изменениях клеток, вызванных ВПЧ

Частота встречаемости изменений клеток цервикального эпителия разной степени тяжести варьировала в зависимости от возраста обследуемых женщин. Наибольшее количество случаев интраэпителиального поражения шейки матки низкой степени (LSIL) 27,78% (ДИ 95%: 18,76 – 39,05%) определено в возрастной группе 20 – 24 года, далее наблюдалось снижение частоты встречаемости. Интраэпителиальное поражение высокой степени (HSIL) определено только среди женщин до 35 лет: 20 – 24 года (2 из 6, 33,3%), 25 – 29 лет (2 из 6, 33,3%), 30 – 34 года (2 из 6, 33,3%).

Количественные закономерности распределения вируса папилломы человека при атипических изменениях клеток эпителия шейки матки.

Заключение атипических изменений эпителиальных клеток шейки матки (ASCUS, AGC, ASC-H) установлено в 11 (0,41%, ДИ 95%: 0,23 – 0,73%) случаях, средний возраст женщин составил 34,1 года (Me=31,0; IQR: 28,0 – 37,5 лет). Из них: в 2 случаях в ко-тестах ДНК ВПЧ 14-и онкогенных типов отсутствовала; в 9 случаях обнаружена ДНК ВПЧ 14-и онкогенных типов в диапазоне концентраций от 3,86 до 6,44 lg копий/10⁵ клеток человека (Me=5,22). В 6 из 9 случаев выявлено по одному типу ВПЧ, 3 из 9 случаев обнаружена сочетанная инфекция 2-мя типами ВПЧ. Для 8 из 9 (89%) женщин с положительными результатами обнаружения ВПЧ известен результат динамического наблюдения через 12 месяцев. В 1 из 8 (12%) случаев установлен цитологический HSIL, 3 из 8 (38%) – LSIL, 4 из 8 (50%) – NILM. Согласно российским клиническим рекомендациям [11] женщины с атипичными результатами цитологии (ASCUS, ASC-H, AGC) на фоне присутствия ВПЧ онкогенных типов подлежат направлению на кольпоскопию. В проведенном исследовании в половине случаев цитологическое заключение о наличии атипично измененных клеток (ASCUS, ASC-H, AGC), являлось маркером развития патологии в краткосрочном периоде. В то же время, информация об отсутствии ВПЧ у части женщин помогала отсортировать состояния, не ассоциированные с ВПЧ-инфекцией.

Количественные закономерности распределения вируса папилломы человека при плоскоклеточных интраэпителиальных поражениях шейки матки низкой степени.

Среди 76 из 2819 образцов с цитологическим заключением интраэпителиальных поражений низкой степени (LSIL) ДНК ВПЧ 14-и типов не выявлены в 4 образцах (5,26%, ДИ 95%: 2,06 – 12,76%), во всех 4х случаях через год цитологическое обследование показало отсутствие измененных клеток и одновременное отсутствие ДНК ВПЧ 14-и онкогенных типов. Таким образом, ВПЧ-ассоциированных заключений LSIL было 72 (2,55%, ДИ 95%: 2,03 – 3,20%). Средний возраст

пациенток составил 29,4 лет (Me=28,0; IQR: 24,0–31,3 лет). В одном случае обнаружена ДНК ВПЧ в концентрации $<3,0 \lg$ копий/ 10^5 клеток человека. В 7 (9,72%, ДИ 95%: 4,79 – 18,73%) случаях концентрация ДНК ВПЧ определяемых типов находилась в диапазоне от 3,0 до 4,0 \lg копий/ 10^5 клеток человека, 64 (88,89%, ДИ 95%: 79,58 – 94,26%) случаях – $>4,0 \lg$ копий/ 10^5 клеток человека.

Высокая чувствительность ВПЧ-теста, позволяет выявлять все случаи инфицирования, включая большое количество случаев без патологии эпителия (NILM) и интраэпителиальным поражением низкой степени (LSIL), в то время, как целью скрининга является выявление интраэпителиального поражения высокой степени (HSIL). Применением порога клинической значимости 4,0 \lg копий/ 10^5 клеток человека удастся отсеять 47,45% случаев от всех ВПЧ положительных тестов с заключением NILM (рисунок 6.5), что повысит специфичность исследования и снизит уровень гипердиагностики.

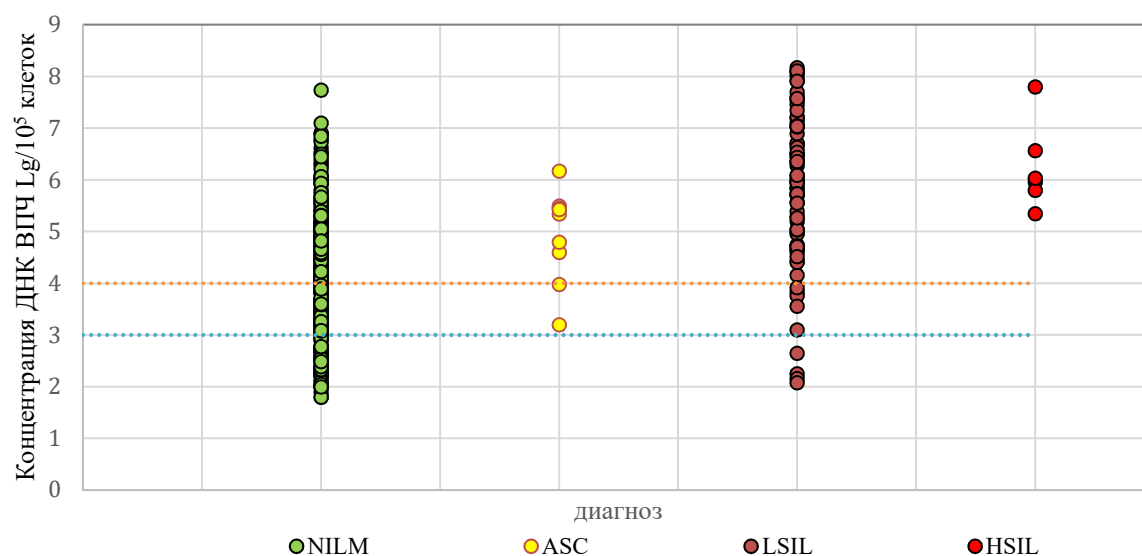


Рисунок 6.5 – Концентрации онкогенных ВПЧ в зависимости от цитологического диагноза, пороги клинической значимости количества вируса для стратегии дальнейшего обследования

Количественные закономерности распределения вируса папилломы человека при плоскоклеточных интраэпителиальных поражениях шейки матки высокой степени.

За все время наблюдения с помощью цитологического метода определено 7 из 2819 случаев тяжелой дисплазии (HSIL). В 1 из 7 случаев ДНК ВПЧ 14-и онкогенных типов не обнаружена и далее диагноз не подтвердился. Таким образом, в ходе проведения исследования установлено 6 из 2819 (0,21%, ДИ 95%: 0,10 – 0,46%) случаев HSIL. Средний возраст женщин с подтвержденным HSIL составил 26,8 лет (Me=26,0; IQR: 23,5 – 30,8 лет). Во всех подтвержденных случаях ДНК ВПЧ 14-и онкогенных типов определялась в диапазоне концентраций от 5,3 до 7,9 lg копий/10⁵ клеток человека (Me=5,9 lg копий/10⁵ клеток человека). В 4 из 6 случаев HSIL определена среди пациенток, обследованных впервые. В 2 из 6 случаев цитологическое заключение HSIL получено на второй год обследования. Ранее у одной из женщин выявлена AGC и ДНК ВПЧ 31 типа в концентрации 5,4 lg копий/10⁵ клеток человека. У второй женщины за год до выявления HSIL при цитологическом исследовании микропрепарата шейки матки определены изменения реактивного характера, признаки ВПЧ-ассоциированной трансформации отсутствовали, по результатам проведения ВПЧ-теста определена ДНК ВПЧ 31 и 45 типов в концентрациях 5,2 и 4,7 lg копий/10⁵ клеток человека соответственно. В целом, при анализе образцов с цитологическим заключением HSIL выявлены 2 из 14-и исследуемых типов ВПЧ – 16 и 31, а в одном из образцов определено их сочетание.

Таким образом, полученные в результате проведенного исследования данные отражают распространенность ВПЧ онкогенных типов среди женщин, проживающих в Московском регионе (14,87%, ДИ 95%: 12,86 – 17,13%). Среди изучаемых ВПЧ 14-и онкогенных типов: наиболее часто выявлялись 16 (16,98%), 31 (14,47%), 52 (13,21%), наибольший относительный риск персистирования наблюдался для 33, 58, 45, 52 ($p < 0,05$). Применение порога клинической значимости 4 lg/10⁵ клеток человека позволило установить положительный результат наличия ВПЧ во всех случаях предрака (HSIL), а также отсортировать из

дальнейшего обследования результаты обследования ВПЧ-инфицированных женщин с неопасными состояниями - 47,45% (NILM).

Применение разработанного ВПЧ-теста показало себя эффективной стратегией для этиологической диагностики заболеваний шейки матки, позволяя эффективно выявлять женщин из группы риска развития заболевания. Разработанный ВПЧ-тест явился эффективным инструментом стратификации сомнительных результатов цитологического исследования, позволил не допустить диагностических ошибок и лечебных промедлений. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности применения разработанного ВПЧ-теста при скрининге рака шейки матки с учетом преимуществ типирования и количественного определения ДНК ВПЧ, а также о необходимости рассмотрения вопроса снижения рекомендуемого возраста начала проведения ВПЧ-тестирования до 25 лет. Для уточнения порога клинической значимости концентрации ДНК ВПЧ при оценке риска наличия интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени и снижения уровня гипердиагностики при применении ВПЧ теста далее проведен анализ результатов обследования более чем 150 женщин с верифицированным диагнозом интраэпителиальной неоплазии высокой степени и РШМ.

ГЛАВА 7. РАЗРАБОТКА ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РИСКА НАЛИЧИЯ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ ШЕЙКИ МАТКИ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ НА ОСНОВАНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИМЕНЕНИЯ РАЗРАБОТАННОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕТОДИКИ

Вирус папилломы является обязательным фактором в развитии интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени, карциномы *in situ* и РШМ, однако его обнаружение не является прямым признаком наличия данных заболеваний, поскольку в большинстве случаев происходит элиминация вируса в первые 24 месяца после инфицирования. В связи с этим, положительный результат ВПЧ-теста сложен в интерпретации и требует проведения дополнительных методов (цитологическое, кольпоскопическое исследования) для определения стадии инфицирования. Для снижения количества методов, применяемых при обследовании женщин в процессе скрининга необходимо усовершенствование подходов к интерпретации результатов ВПЧ-теста с возможностью проведения прогнозирования наличия интраэпителиальной неоплазии тяжелой степени и выше. Разработка и апробация прогностической модели для определения риска обнаружения интраэпителиального поражения высокой степени описана также в публикации [97].

7.1 Создание прогностической модели наличия неоплазии тяжелой степени на основании данных лабораторного исследования

Произведено тестирование образцов соскобов эпителия шейки матки от женщин, инфицированных ВПЧ из коллекции ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии. Все случаи интраэпителиального поражения высокой степени, карциномы *in situ* и РШМ подтверждены гистологически (n=185, M=36,49 лет, Me=35 лет, IQR 30–

41лет). Случаи цервикального интраэпителиального поражения низкой степени ($n=217$, $M=31,54$ лет $Me=29$ лет, IQR 25–35лет), и отсутствия ВПЧ-ассоциированных изменений эпителия шейки матки ($n=217$, $M=32,78$ лет, $Me=31$ лет, IQR 25–37лет) охарактеризованы цитологическим исследованием.

Для проведения расчетов использованы значения нормализованной концентрации ДНК ВПЧ (отношение количества ДНК ВПЧ к 10^5 клеток человека), выраженной в десятичных логарифмах (lg). Для оценки ассоциации между величиной вирусной нагрузки и степенью трансформации цервикального эпителия использовался коэффициент корреляции Пирсона (r). Оценивалась корреляция изменения концентрации типоспецифической ДНК ВПЧ во всех образцах, содержащих данный тип, а также при селективном исключении образцов, содержащих типы ВПЧ с превосходящим значением предсказательной ценности положительного результата (PPV) согласно иерархии, описанной выше (раздел 4.2.2). В результате корреляционного анализа установлено, что суммарная концентрация ДНК ВПЧ 14-и типов, а также концентрации ДНК ВПЧ типов 16, 33, 58, 52, 51, 56 значимо возрастают ($p < 0,001$ для ВПЧ суммарно и ВПЧ 16, 33, 58; $p=0,011$ для ВПЧ 52; $p=0,014$ для ВПЧ 51; $p=0,001$ для ВПЧ 56) с увеличением тяжести интраэпителиального поражения, сила связи средняя (r от 0,318 до 0,505). ДНК ВПЧ 31 типа значимо возрастает ($p=0,017$) при увеличении тяжести поражения, сила связи слабая ($r=0,274$). При исключении влияния типов с превосходящим значением PPV значимо возрастают концентрации ДНК ВПЧ 16, 33, 58, 31, 52, 56 и 51 типов ($p < 0,001$ для ВПЧ суммарно и ВПЧ 16, 33, 58, 51 типов, $p=0,001$ для ВПЧ 31, $p=0,006$ для ВПЧ 56, $p=0,039$ для ВПЧ 52) с увеличением силы связи (r от 0,372 до 0,797). Описанные закономерности представлены в таблице 7.1.

Таблица 7.1 – Корреляция между вирусной нагрузкой онкогенных типов ВПЧ и степенью интраэпителиального поражения шейки матки

	без иерархии по PPV			иерархия	в соответствии с PPV		
	г	р	N		г	р	N
ВПЧ суммарно	0,475	<0,001*	618		0,475	<0,001*	618
16	0,471	<0,001*	207	1	0,471	<0,001*	207
33	0,437	<0,001*	64	2	0,558	<0,001*	50
58	0,505	<0,001*	50	3	0,597	<0,001*	41
35	0,147	0,466	27	4	0,248	0,243	24
45	-0,107	0,51	40	5	0,214	0,256	30
31	0,274	0,017*	76	6	0,449	0,001*	54
18	-0,15	0,39	35	7	0,125	0,56	24
52	0,345	0,011*	54	8	0,372	0,039*	31
39	0,098	0,551	39	9	0,167	0,414	26
59	0,277	0,112	34	10	0,419	0,094	17
56	0,377	0,001*	69	11	0,404	0,006*	44
51	0,318	0,014*	59	12	0,797	<0,001*	29
68	0,17	0,239	50	13	0,22	0,301	24
66	0,203	0,202	41	14	0,142	0,578	17

* -корреляционная связь статистически значима значимо ($p < 0,05$)

Однофакторный дисперсионный анализ с апостериорным критерием Шеффе был использован для проведения множественных попарных сравнений типоспецифической вирусной нагрузки и тяжести цервикального интраэпителиального поражения. Также проведен анализ сравнения средних с использованием непараметрических критериев Манна-Уитни (МИ) и Колмогорова-Смирнова (КС), обладающих большей устойчивостью к отлнчию распределений от нормального распределения по сравнению с дисперсионным анализом. При анализе всех случаев инфицирования изучаемым типом без исключения суммарная концентрация ДНК ВПЧ, концентрация ДНК ВПЧ 16, 33, 58 и 56 типов в соответствии с дисперсионным анализом, а также концентрация

ДНК ВПЧ 31 и 52 типов в соответствии с непараметрическими критериями отличалась для интраэпителиального поражения высокой степени (HSIL) и отсутствия интраэпителиального поражения (NILM). В случае инфицирования типами ВПЧ 35 и 66 концентрация вируса значимо отличалась только для состояний интраэпителиального поражения легкой степени (LSIL) и отсутствия интраэпителиального поражения (NILM). При инфицировании ВПЧ 45, 18, 39, 59 и 68 типов не было определено значимых различий средних концентраций при различных степенях интраэпителиального поражения и в норме. Данные о достоверности различий концентрации ДНК ВПЧ в зависимости от степени трансформации эпителия представлены в таблице 7.2.

Аналогичным способом с исключением микст инфекций согласно значениям PPV произведена оценка различия средних концентраций ДНК ВПЧ, кроме типов 59, 56, 51, 68 и 66 ввиду недостаточного количества случаев для анализа после исключения микст-инфекции. При расчете суммарной ДНК ВПЧ, а также ДНК ВПЧ 16, 33, 58 и 31 типов наблюдалось значимое различие средних концентраций при разных степенях неоплазии цервикального эпителия и в норме. В случае инфицирования ВПЧ 52, 45 и 35 типов наблюдались различия средних концентраций ДНК только при переходе от нормального состояния эпителия (NILM) к интраэпителиальной неоплазии легкой степени (LSIL). Для ВПЧ 18 и 39 типов не было найдено значимых различий средних концентраций ДНК ВПЧ в зависимости от состояния эпителиальных клеток. Описанные закономерности и уровень значимости представлены в таблице 7.3.

Таблица 7.2 – Сравнение средних значений вирусной нагрузки при различной степени интраэпителиального поражения шейки матки и в норме

		без иерархии PPV											
		N	M	m	Me	min	max	p (ANOVA)		p (МИ)		p (КС)	
								NILM	LSIL	NILM	LSIL	NILM	LSIL
ВПЧ сум	NILM	217	4,64	0,09	4,67	1,00	8,20						
	LSIL	217	6,37	0,09	6,52	3,08	9,45	<0,001*		<0,001*		<0,001*	
	HSIL	184	6,09	0,08	6,11	3,00	8,60	<0,001*	0,103	<0,001*	0,009*	<0,001*	0,001*
16	NILM	28	4,27	0,21	4,32	2,00	7,23						
	LSIL	62	5,49	0,16	5,60	2,92	8,20	<0,001*		<0,001*		<0,001*	
	HSIL	117	6,04	0,09	6,10	3,29	8,10	<0,001*	0,005*	<0,001*	0,004*	<0,001*	0,014*
33	NILM	8	3,77	0,34	3,59	2,68	5,95						
	LSIL	27	5,41	0,29	5,26	1,62	8,31	0,017*		0,003*		0,001*	
	HSIL	29	6,01	0,25	6,10	2,84	8,60	0,001*	0,275	<0,001*	0,125	0,001*	0,138
58	NILM	17	3,75	0,30	3,55	1,80	6,79						
	LSIL	17	6,15	0,38	6,55	2,81	8,21	<0,001*		<0,001*		0,002*	
	HSIL	16	5,86	0,33	6,19	3,39	8,10	<0,001*	0,840	<0,001*	0,423	0,003*	0,558

Продолжение таблицы 7.2

		без иерархии PPV											
		N	M	m	Me	min	max	p (ANOVA)		p (MII)		p (KC)	
								NILM	LSIL	NILM	LSIL	NILM	LSIL
35	NILM	10	4,58	0,47	4,34	2,71	7,74						
	LSIL	10	6,59	0,50	7,18	4,07	8,37	0,017*		0,023*		0,055*	
	HSIL	7	4,94	0,41	5,00	3,00	6,29	0,876	0,089	0,475	0,055	0,480	0,103
45	NILM	15	4,29	0,31	4,60	2,00	5,95						
	LSIL	14	5,57	0,42	5,71	2,79	7,74	0,097		0,037*		0,050	
	HSIL	11	3,67	0,56	4,20	1,00	6,40	0,600	0,089	0,443	0,021*	0,733	0,116
31	NILM	28	4,38	0,23	4,71	1,97	4,71						
	LSIL	30	6,07	0,29	6,35	2,87	6,35	<0,001*		<0,001*		<0,001*	
	HSIL	18	5,33	0,38	5,27	2,42	5,27	0,112	0,245	0,032*	0,148	0,033*	0,263
18	NILM	11	4,70	0,30	4,74	2,96	6,30						
	LSIL	19	4,35	0,31	4,48	2,10	7,11	0,4905		0,497		0,761	
	HSIL	5	4,15	0,73	3,70	2,50	6,70	0,6982	0,6507	0,320	0,679	0,530	0,906
52	NILM	21	4,39	0,29	4,23	1,33	4,23						
	LSIL	21	5,70	0,38	6,14	1,75	6,14	0,023*		0,010*		0,042*	
	HSIL	12	5,66	0,35	5,84	1,20	5,84	0,070	0,997	0,014*	0,868	0,037*	0,726

Продолжение таблицы 7.2

		без иерархии PPV											
		N	M	m	Me	min	max	p (ANOVA)		p (MII)		p (KC)	
								NILM	LSIL	NILM	LSIL	NILM	LSIL
39	NILM	17	4,79	0,31	4,77	2,67	6,78						
	LSIL	19	5,44	0,46	5,52	0,50	8,03	0,516		0,165		0,175	
	HSIL	3	4,67	0,84	5,30	3,00	5,70	0,993	0,758	0,921	0,464	0,980	0,606
59	NILM	13	4,09	0,33	3,77	2,44	6,05						
	LSIL	16	4,88	0,49	4,67	2,50	8,63	0,460		0,308		0,215	
	HSIL	5	5,36	0,79	4,90	3,10	7,90	0,366	0,855	0,173	0,548	0,192	0,699
56	NILM	22	3,74	0,30	3,55	2,00	6,11						
	LSIL	36	5,18	0,34	5,44	0,50	8,24	0,020*		0,003*		0,012*	
	HSIL	11	5,78	0,57	6,30	1,10	7,90	0,015*	0,643	0,002*	0,351	0,012*	0,443
51	NILM	23	4,15	0,29	3,78	1,90	6,91						
	LSIL	26	6,03	0,33	6,08	2,65	8,51	0,001*		0,001*		<0,001*	
	HSIL	10	5,28	0,68	5,75	2,20	8,10	0,208	0,483	0,207	0,303	0,078	0,534
68	NILM	22	4,28	0,36	3,94	2,00	7,78						
	LSIL	20	4,49	0,37	4,09	1,64	7,37	0,925		0,650		0,701	
	HSIL	8	5,18	0,72	5,41	1,60	7,50	0,453	0,633	0,256	0,354	0,311	0,486

Продолжение таблицы 7.2

		без иерархии PPV											
		N	M	m	Me	min	max	p (ANOVA)		p (МН)		p (КС)	
								NILM	LSIL	NILM	LSIL	NILM	LSIL
66	NILM	16	4,54	0,36	4,45	2,46	7,69						
	LSIL	22	5,69	0,35	6,06	2,16	8,11	0,086		0,024*		0,022*	
	HSIL	3	4,52	0,60	4,17	3,70	5,70	1,000	0,471	1,000	0,151	0,997	0,315

*- различие статистически значимо ($p < 0,05$)

Таблица 7.3 – Сравнение средних значений вирусной нагрузки в зависимости от степени интраэпителиального поражения шейки матки и в норме при исключении влияния типов с превосходящим значением PPV в соответствии с иерархическим ранжированием

		с иерархией PPV											
		N	M	m	Me	min	max	p (ANOVA)		p (MI)		p (KC)	
								nilm	LSIL	nilm	LSIL	nilm	LSIL
ВПЧ сум	NILM	217	4,64	0,09	4,67	1,00	8,20	-					
	LSIL	217	6,37	0,09	6,52	3,08	9,45	<0,001*	-	<0,001*		<0,001*	
	HSIL	184	6,09	0,08	6,11	3,00	8,60	<0,001*	0,103	<0,001*	0,009*	<0,001*	0,001*
16	NILM	28	4,27	0,21	4,32	2,00	7,23						
	LSIL	62	5,49	0,16	5,60	2,92	8,20	<0,001*		<0,001*		<0,001*	
	HSIL	117	6,04	0,09	6,10	3,29	8,10	<0,001*	0,005*	<0,001*	0,004*	<0,001*	0,014*
33	NILM	8	3,77	0,34	3,59	2,68	5,95						
	LSIL	20	5,45	0,32	5,22	1,62	8,31	0,012*		0,001*		0,001*	
	HSIL	22	6,31	0,26	6,15	3,89	8,60	<0,001*	0,110	<0,001*	0,041*	0,001*	0,117*
58	NILM	16	3,72	0,32	3,49	1,80	6,79						
	LSIL	13	6,32	0,42	6,63	2,81	8,21	0,012*		<0,001*		0,002*	
	HSIL	12	6,22	0,36	6,29	3,39	8,10	<0,001*	0,982	<0,001*	0,689	0,001*	0,73
35	NILM	10	4,58	0,47	4,34	2,71	7,74						
	LSIL	8	6,56	0,58	7,18	4,07	8,37	0,025*		0,055		0,047*	
	HSIL	6	5,27	0,31	5,20	4,12	6,29	0,643	0,258	0,220	0,142	0,236	0,137

Продолжение таблицы 7.3

		с иерархией PPV											
		N	M	m	Me	min	max	p (ANOVA)		p (МИ)		p (КС)	
								nilm	LSIL	nilm	LSIL	nilm	LSIL
45	NILM	13	4,10	0,32	4,50	2,00	5,63						
	LSIL	11	5,97	0,44	6,44	3,06	7,74	0,004*		0,002*		0,004*	
	HSIL	6	4,42	0,33	4,65	3,00	5,10	0,878	0,062	0,579	0,037*	0,990	0,033*
31	NILM	22	4,35	0,22	4,71	2,04	5,64						
	LSIL	23	6,48	0,29	6,50	3,52	8,70	<0,001*		<0,001*		<0,001*	
	HSIL	9	5,70	0,43	5,49	3,40	7,60	0,027*	0,275	0,005	0,157	0,010*	0,237
18	NILM	8	4,66	0,40	4,73	2,96	6,30						
	LSIL	14	4,54	0,34	4,51	2,64	7,11	0,976		0,714		0,908	
	HSIL	2	5,69	1,02	5,69	4,67	6,70	0,584	0,482	0,533	0,333	0,819	0,617
52	NILM	18	4,42	0,32	4,25	2,71	6,89						
	LSIL	9	6,13	0,42	6,34	3,47	7,30	0,013*		0,004*		0,010*	
	HSIL	4	5,28	0,64	5,76	3,40	6,20	0,501	0,562	0,300	0,106	0,322	0,171
39	NILM	16	4,81	0,33	4,98	2,67	6,78						
	LSIL	8	5,40	0,91	6,24	0,50	8,03	0,747		0,320		0,139	
	HSIL	2	5,50	0,20	5,50	5,30	5,70	0,874	0,997	0,641	0,889	0,627	0,819

* -различие статистически значимо (p<0,05)

Оценка порогового уровня концентрации ДНК ВПЧ для предсказания наличия интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени и РШМ проведена посредством ROC-кривых. Площадь под кривой (AUC) была рассчитана для исходов тяжелой дисплазии и выше. Пороговые значения концентрации ДНК ВПЧ рассчитаны исходя из оптимальных сочетаний чувствительности (Se) и специфичности (Sp) теста. Расчет произведен с исключением влияния типов ВПЧ с превосходящим PPV согласно иерархическому ранжированию. С учетом возможностей метода ПЦР в режиме реального времени изучены значения нормализованных концентраций ДНК ВПЧ выраженных в lg с шагом в 1lg.

Прогностическая модель была статистически значима только для суммарной концентрации ДНК ВПЧ 14-и типов и концентрации ДНК ВПЧ 16, 33, 58 типов. Оптимальное значение порогового уровня составило 4 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток человека для суммарной концентрации и концентрации ДНК ВПЧ 16, 33 и 58 типов. При пороговых значениях равных 4 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток человека характеристики модели составили: для суммарной концентрации ДНК ВПЧ – Se 97,3%, Sp 21,2%, AUC 0,611(ДИ 95%: 0,567 – 0,655), p <0,001; для ДНК ВПЧ 16 типа – Se 98,3%, Sp 23,8%, AUC 0,713 (ДИ 95%: 0,640 – 0,785), p <0,001; для ДНК ВПЧ 33 типа – Se 95,5%, Sp 25,0%, AUC 0,760 (ДИ 95%: 0,627 – 0,892), p=0,002; для ДНК ВПЧ 58 типа – Se 91,7%, Sp 37,9%, AUC 0,701 (ДИ 95%: 0,539 – 0,863), p=0,045 (рисунки 7.1, 7.2).

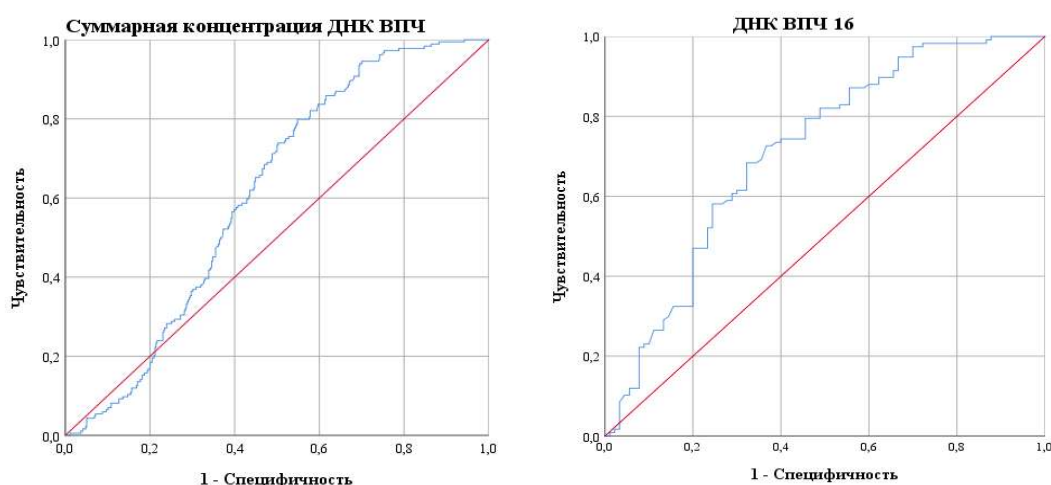


Рисунок 7.1 – ROC-кривые, характеризующие зависимость вероятности обнаружения HSIL от концентрации ДНК ВПЧ 14-и типов суммарно и типа 16

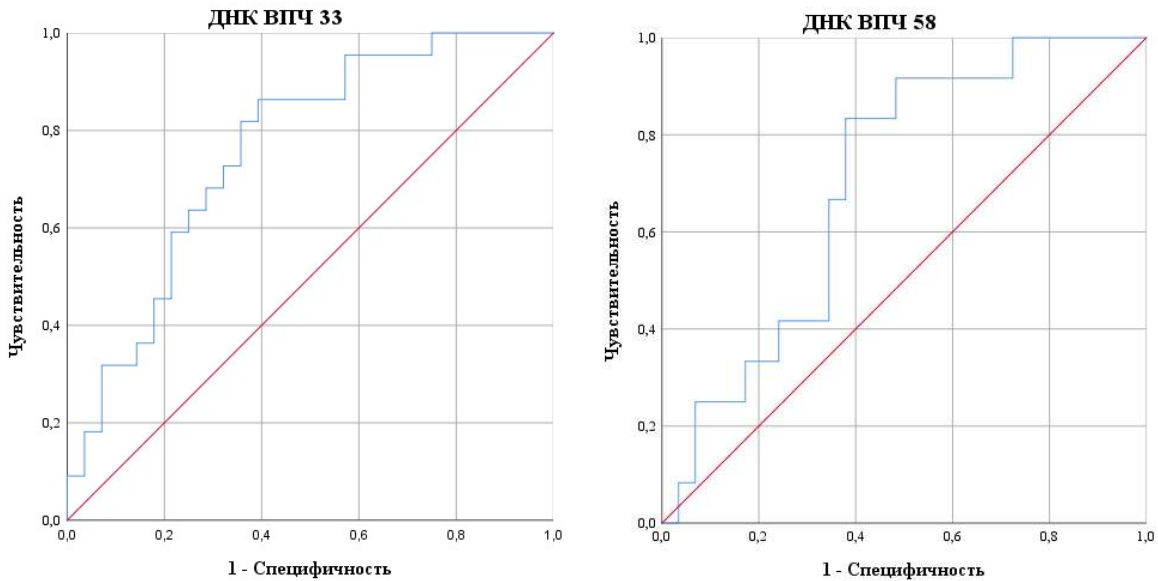


Рисунок 7.2 – ROC-кривые, характеризующие зависимость вероятности обнаружения HSIL от концентрации ДНК ВПЧ типов 33 и 58

В целом, произведенный анализ показывает наличие зависимости концентрации ДНК ВПЧ 16, 33 и 58 типов, а также суммарной концентрации ДНК ВПЧ от степени тяжести интраэпителиального поражения шейки матки. Однако, при установлении индивидуальной пороговой концентрации для каждого типа или суммарной концентрации ДНК ВПЧ 14-и типов, позволяющей дискриминировать случаи HSIL и выше, показано, что точность прогноза недостаточна, ввиду недостаточной специфичности. Это обуславливает необходимость создания многофакторной математической модели, учитывающей несколько количественных характеристик для повышения диагностической эффективности.

Для предсказания наличия цервикального интраэпителиального поражения высокой степени с анализом всех значимых параметров, полученных в результате применения разработанной ПЦР-методики, была разработана многофакторная прогностическая модель методом бинарной логистической регрессии. Наблюдаемая зависимость описывается уравнением (7.1, 7.2):

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\% \quad (7.1)$$

$$z = -5,749 + 0,057 \times X_{\text{ВОЗ}} + 2,072 \times X_{\text{сумм}} + 0,38 \times X_{16} + 0,243 \times X_{33} + 0,144 \times X_{58} - 0,4 \times X_{66} \quad (7.2)$$

где P – вероятность наличия интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени (HSIL) (%), $X_{\text{ВОЗ}}$ – возраст (полных лет), $X_{\text{сумм}}$ – суммарная концентрация ДНК ВПЧ 14 типов выше $4 \text{ Lg}/10^5$ клеток человека (0 – ниже, 1 – равно или выше), X_{16} – концентрация ДНК ВПЧ 16 типа ($\text{Lg}/10^5$ клеток человека), X_{33} – концентрация ДНК ВПЧ 33 типа ($\text{Lg}/10^5$ клеток человека), X_{58} – концентрация ДНК ВПЧ 58 типа ($\text{Lg}/10^5$ клеток человека), X_{66} – концентрация ДНК ВПЧ 66 типа ($\text{Lg}/10^5$ клеток человека), e – число Эйлера, математическая константа ($\approx 2,718$).

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p < 0,001$). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, 41,6% дисперсии вероятности выявления HSIL определяются факторами, включенными в модель.

Исходя из значений регрессионных коэффициентов, предикторы: возраст, суммарная концентрация ДНК ВПЧ 14-и типов, концентрация ДНК ВПЧ 16 типа, концентрация ДНК ВПЧ 33 типа, концентрация ДНК ВПЧ 58 типа имеют прямую связь с вероятностью выявления HSIL. Предиктор концентрация ДНК ВПЧ 66 типа отличается обратной связью с вероятностью наличия HSIL. Характеристики каждого из факторов представлены в таблице 7.4.

Таблица 7.4 – Характеристики связи предикторов модели (1) с вероятностью выявления HSIL

Предикторы	Скорректированное ОШ; ДИ 95%	p
Возраст	1,059; 1,036-1,082	<0,001*
Суммарная концентрация ДНК ВПЧ	7,937; 2,72-23,163	<0,001*
ДНК ВПЧ 16 типа	1,462; 1,353-1,579	<0,001*
ДНК ВПЧ 33 типа	1,276; 1,144-1,423	<0,001*
ДНК ВПЧ 58 типа	1,115; 1,019-1,31	<0,024*
ДНК ВПЧ 66 типа	0,67; 0,493-0,912	<0,011*

* - влияние предиктора статистически значимо ($p < 0,05$)

Пороговое значение логистической функции P составило 12%. При значениях $P \geq 12\%$ определялся высокий риск выявления HSIL. При значениях $P < 12\%$ – низкий риск выявления HSIL. Чувствительность и специфичность модели при данном пороговом значении составили Se 93,5% и Sp 50,0%, соответственно.

7.2 Апробация прогностической модели при обследовании пациентов медицинских учреждений города Москвы

Разработанная прогностическая модель была валидирована с использованием данных обследования женщин за один календарный месяц, полученных из базы данных «Распространенность вируса папилломы человека различного канцерогенного риска среди населения Московского региона» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, свидетельство о государственной регистрации №2022621655) и тестированием соответствующих образцов из архива ФБУН ЦНИИ эпидемиологии.

Архивные образцы соскобов эпителия шейки матки в транспортной среде от 3842 женщин ($M=35,51$ год, от 17 до 80 лет, $Me=34$ года, IQR 29 – 41 лет) с наличием данных цитологического исследования были протестированы с применением разработанной количественной методики генотипирования ВПЧ. Анализ результатов ПЦР-исследования интерпретировали при помощи разработанной программы для ЭВМ. Риск рассчитывали на основании разработанной прогностической модели. Пороговым значением высокого риска наличия интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени (HSIL) считали результат $P \geq 12\%$.

Среди 3842 обследованных, 957 (24,91%, ДИ 95%: 23,57 – 26,3) ($M=32,19$ год, от 18 до 80 лет, $Me=30$ лет, IQR 25 – 36 лет) женщин были инфицированы одним или несколькими типами онкогенных ВПЧ, включая ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68. Согласно цитологическому заключению, 486 женщин (50,78%, ДИ 95%: 47,62 – 53,94) не имели интраэпителиального

поражения или злокачественного новообразования (NILM), 34 женщины (3,55%, ДИ 95%: 2,55 – 4,92) имели в заключении сведения о наличии атипических клеток (ASCUS), 353 женщины (36,89%, ДИ 95%: 33,89 – 39,99) имели интраэпителиальное поражение низкой степени (LSIL) и 84 женщины (9,58%, ДИ 95%: 7,80% – 11,73%) имели заключение об интраэпителиальном поражении шейки матки высокой степени (HSIL). Среднее значение суммарной концентрации ДНК ВПЧ/10⁵ клеток человека в образцах при NILM составило 4,14 lg (от 1,6 до 8,22 lg, Me=4,01 lg, IQR: 3,13 – 5,16), при ASCUS – 5,08 lg (от 2,02 до 7,4 lg, Me=5,51 lg, IQR: 4,52 – 6,08), LSIL – 5,94 lg (от 2,27 до 8,52 lg, Me=6,1 lg, IQR: 5,09 – 6,88), HSIL – 5,91 lg (от 3,2 до 8,06 lg, Me=6,03 lg, IQR: 5,29 – 6,51).

Прогнозируемое наличие неоплазии тяжелой степени ($P \geq 12\%$), было определено для 80/84 случаев HSIL, что обусловило чувствительность модели равную 95,2%. Прогнозируемое отсутствие HSIL ($P < 12\%$) определено для 420/839 случаев (NILM+LSIL), что обусловило диагностическую специфичность модели на уровне 50,1%. Таким образом, предсказательная ценность положительного результата (PPV) модели составила 16,0%, предсказательная ценность отрицательного результата (NPV) составила 99,1%. Среди пациенток с заключением о наличии атипичных клеток неясного генеза (ASCUS) вероятность наличия HSIL рассчитывалась во всех случаях более порогового значения ($P > 12\%$) (M=40,92% от 12,27% до 85,09%), что причисляет данных женщин к группе повышенного риска выявления HSIL риска и соответствует требованиям о необходимости расшифровки степени атипии уточняющими методами. Среди 4 случаев, в которых цитологическим методом были выявлены признаки интраэпителиальной неоплазии высокой степени, но P рассчитано менее 12% ни в одном случае не было известно результатов гистологического исследования. Среди них в 2 из 4 была выявлена ДНК ВПЧ 18 типа, в 2 из 4 ДНК ВПЧ 16 типа. В связи со вторым ранговым местом по частоте встречаемости ВПЧ 18 типа в раках шейки матки, при сортировке результатов обследования пациенток для решения о дополнительном обследовании целесообразно в дополнение к расчету вероятности наличия HSIL ($P \geq 12\%$) по результатам расширенного ВПЧ-теста учитывать

дополнительно наличие ВПЧ 18 типа как фактор повышенного риска наличия интраэпителиального поражения высокой степени.

В результате апробации прогностической модели среди ВПЧ-инфицированных женщин полученные диагностические характеристики: Se 95,2% и Sp 50,1% не уступают расчетным характеристикам: Se 93,5% и Sp 50%, что подтверждает пригодность модели для прогнозирования наличия интраэпителиальной неоплазии шейки матки высокой степени. При расчете диагностических характеристик применения прогностической модели в скрининге среди всех женщин (ВПЧ-положительных и ВПЧ-отрицательных) и учете дополнительного параметра – наличия ВПЧ 18 типа получены следующие характеристики: Se 97,62%, Sp 87,59%, PPV 15,07%, NPV 99,9%, диагностическая эффективность 87,82%.

Таким образом, разработана прогностическая модель, учитывающая результаты обследования женщин, полученные с применением разработанной лабораторной методики. Модель позволяет прогнозировать риск наличия интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени. Статистическая значимость модели составила $p < 0,001$.

Прогностическая модель апробирована на большом массиве результатов обследования пациенток диагностического центра ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. При применении комплекса разработанной лабораторной методики и прогностической модели для всех женщин в нашем исследовании диагностические характеристики составили: Se 97,62%, Sp 87,59%, PPV 15,07%, NPV 99,9%, диагностическая эффективность 87,82%. Учитывая высокую предсказательную ценность отрицательного результата (NPV 99,9%), применение данного диагностического комплекса может быть полезно для ранжирования пациентов с определением группы, не нуждающейся в расширенном обследовании.

Внедрение разработанной лабораторной методики и модели прогнозирования риска наличия интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени позволит оптимизировать алгоритмы скрининга, основанные на применении ВПЧ-теста на первой ступени.

ГЛАВА 8. РАЗРАБОТКА МЕР ПО СОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ СИСТЕМЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ВПЧ- АССОЦИИРОВАННЫМИ ПАТОЛОГИЯМИ ШЕЙКИ МАТКИ НА ОСНОВЕ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

В 2020 г. Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) призвала мировое сообщество интенсифицировать усилия по увеличению эффективности борьбы с раком шейки матки (РШМ), назвав заболевание проблемой общественного здравоохранения [6]. ВОЗ обозначила глобальную стратегию, следование которой позволит снизить заболеваемость РШМ до минимальных значений (менее 4 случаев на 100 тыс. женщин) и считать заболевание полностью контролируемым. Основными задачами глобальной стратегии являются: первичная профилактика (охват вакцинацией не менее 90% девушек к 15-летнему возрасту), вторичная профилактика (охват скринингом не менее 70% женщин с использованием высокопроизводительного теста как минимум дважды в течение жизни) и третичная профилактика (эффективное лечение не менее 90% женщин с выявленным предраком и РШМ) [6]. Для осуществления и контроля эффективности триады профилактических мероприятий необходимы структурированные данные, полученные в системе эпидемиологического надзора. Эпидемиологический надзор за РШМ в Российской Федерации традиционно осуществляется посредством взаимодействия диагностической, информационной и управленческой подсистем.

Информационная подсистема

Особенность информационной подсистемы эпидемиологического надзора за РШМ в Российской Федерации состоит в том, что заболевание учитывается как неинфекционное. Сбор данных согласно учетной форме федерального статистического наблюдения №7 «Сведения о злокачественных

новообразованиях» производится о случаях I-IV стадий РШМ (С53.0) и о случаях карциномы *in situ* (D-06), учет интраэпителиальной неоплазии высокой степени (N87.1, N87.2), являющейся облигатным предраком не производится. Оценка информационной подсистемы, проведенная в настоящей работе, показала, что неполный объем собираемых данных приводит к ограничениям при проведении эпидемиологического анализа и неточностям при постановке эпидемиологического диагноза, что также препятствует разработке и корректировке профилактических мер. Для совершенствования информационной подсистемы эпидемиологического надзора необходимо проводить учет случаев интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени (HSIL) в полном объеме, включая умеренную (N87.1) и резко выраженную дисплазии (N87.2), в связи с чем требуются дополнения к документам системы учета и регистрации. Нами разработаны дополнения к сигнальным формам: «Извещение о больном с впервые в жизни установленным диагнозом злокачественного новообразования» №090/У и «Выписка из медицинской карты стационарного больного злокачественным новообразованием» N027-1/У, а также отчетной форме федерального статистического наблюдения №7 «Сведения о злокачественных новообразованиях». (Рисунки 8.1, 8.3, 8.4)

Отсутствие эпидемиологического мониторинга за ВПЧ-инфекцией на данном этапе эпидемиологического надзора за РШМ препятствует планированию, проведению и контролю эффективности целенаправленных профилактических мероприятий распространения ВПЧ-инфекции. Организация мониторинга за ВПЧ-инфекцией будет способствовать разработке и проведению рациональной стратегии и тактики вакцинопрофилактики. Ввиду вышесказанного, необходимо организовать эпидемиологический мониторинг на территории Российской Федерации за ВПЧ-инфекцией и систему сбора информации о наличии, типе и концентрации ВПЧ среди женщин с интраэпителиальными ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки.

Для осуществления сбора информации о ВПЧ-инфекции разработаны дополнения к сигнальным формам №090/У, №027-1/У и № 030 – 6/ГРР, а также к

отчетной форме федерального статистического наблюдения №7 (Рисунки 8.1, 8.2, 8.3, 8.4)

16./15.4 Стадия опухолевого процесса:

<input type="checkbox"/> Ia	<input type="checkbox"/> IIa	<input type="checkbox"/> IIIa	<input type="checkbox"/> IVa	<input type="checkbox"/> HSIL
<input type="checkbox"/> Ib	<input type="checkbox"/> IIб	<input type="checkbox"/> IIIб	<input type="checkbox"/> IVб	<input type="checkbox"/> In situ
<input type="checkbox"/> Ic	<input type="checkbox"/> IIc	<input type="checkbox"/> IIIc	<input type="checkbox"/> IVc	<input type="checkbox"/> Не применимо
<input type="checkbox"/> I стадия	<input type="checkbox"/> II стадия	<input type="checkbox"/> III стадия	<input type="checkbox"/> IV стадия	<input type="checkbox"/> Не известно

Выявленные типы и концентрации ВПЧ (lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток):

<input type="checkbox"/> 16 _____	<input type="checkbox"/> 39 _____	<input type="checkbox"/> 58 _____
<input type="checkbox"/> 18 _____	<input type="checkbox"/> 45 _____	<input type="checkbox"/> 59 _____
<input type="checkbox"/> 31 _____	<input type="checkbox"/> 51 _____	<input type="checkbox"/> 66 _____
<input type="checkbox"/> 33 _____	<input type="checkbox"/> 52 _____	<input type="checkbox"/> 68 _____
<input type="checkbox"/> 35 _____	<input type="checkbox"/> 56 _____	суммарно _____

*предлагаемые дополнения выделены цветом

Рисунок 8.1 – Дополнения к сигнальным формам №090/У: «Извещение о больном с впервые в жизни установленным диагнозом злокачественного новообразования» и №027-1/У: «Выписка из медицинской карты стационарного больного злокачественным новообразованием»

Выявленные типы и концентрации ВПЧ (lg ДНК ВПЧ/10 ⁵ клеток):		
<input type="checkbox"/> 16 _____	<input type="checkbox"/> 39 _____	<input type="checkbox"/> 58 _____
<input type="checkbox"/> 18 _____	<input type="checkbox"/> 45 _____	<input type="checkbox"/> 59 _____
<input type="checkbox"/> 31 _____	<input type="checkbox"/> 51 _____	<input type="checkbox"/> 66 _____
<input type="checkbox"/> 33 _____	<input type="checkbox"/> 52 _____	<input type="checkbox"/> 68 _____
<input type="checkbox"/> 35 _____	<input type="checkbox"/> 56 _____	суммарно _____

*предлагаемые дополнения выделены цветом

Рисунок 8.2 – Дополнение в форму № 030 – 6/ГРР: «регистрационная карта больного злокачественным новообразованием»

Таблица 2010.							
Из общего числа впервые в жизни выявленных злокачественных новообразований (таблица 2000, гр. 5, <u>стр. 1, 2</u>): Выявлено у сельских жителей, чел.		Число первично-множественных злокачественных новообразований, ед.	из них (из гр. 3): у пациентов с впервые в жизни установленным диагнозом в отчетном году, ед.	Число впервые выявленных новообразований in situ (D00-D09), ед.	из них:		Число впервые выявленных цервикальных цервикальных интраэпителиальных поражений высокой степени степени (N87., N87.2)
мужчин	женщин				молочной железы (D05)	шейки матки (D06)	
1	2	3	4	5	6	7	8

*предлагаемые дополнения выделены цветом

Рисунок 8.3 – Дополнения в отчетную форму федерального статистического наблюдения №7

Число впервые выявленных цервикальных интраэпителиальных неоплазий тяжелой степени (N87.2) и карцином in situ (D06)	Из них:													
	ВПЧ 16	ВПЧ 18	ВПЧ 31	ВПЧ 33	ВПЧ 35	ВПЧ 39	ВПЧ 45	ВПЧ 51	ВПЧ 52	ВПЧ 56	ВПЧ 58	ВПЧ 59	ВПЧ 66	ВПЧ 68
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15

*предлагаемые дополнения выделены цветом

Рисунок 8.4 – Дополнения в отчетную форму федерального статистического наблюдения №7

Собираемая с применением разработанных дополнений информация позволит оценить в масштабах государства и на различных территориях частоту встречаемости различных типов ВПЧ у женщин с предраком и раком шейки матки и оценить их роль в развитии данной патологии.

Накопление данных об этиологии РШМ является неотъемлемым этапом для проведения последующего анализа и осуществления эпидемиологического мониторинга за ВПЧ-инфекцией. В качестве прототипа и для консолидации данных, получаемых с применением молекулярно-биологических методик, в рамках диссертационной работы создана и внедрена в работу ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии база данных «Распространенность вируса папилломы человека различного канцерогенного риска среди населения Московского региона». База данных предназначена для обработки, хранения систематизированной информации по распространенности вируса папилломы человека различного канцерогенного риска среди мужчин и женщин Московского региона. База содержит информацию о выделенных клинических изолятах: источник (деперсонализированная информация о пациентах, с указанием возраста, пола, исследуемого анатомического локуса, вида биологического материала, результатов ПЦР, цитологического, иммуноцитохимического, гистологического исследований, наличия интеграции); дата и регион обнаружения. База данных предназначена для изучения распространенности ВПЧ различного канцерогенного риска в целях совершенствования эпидемиологического мониторинга за папилломавирусной инфекцией, в том числе выбора тактики вакцинации, корректировки проводимых профилактических мероприятий, а также прогноза развития эпидемиологической ситуации.

Диагностическая подсистема

Реализация предложений по модернизации информационной подсистемы эпидемиологического надзора в рамках проведения эпидемиологического анализа и в целях постановки эпидемиологического диагноза предоставит возможность

осуществлять наблюдение за динамикой выявления предрака шейки матки. На основании результатов диссертационного исследования предложена формула уточненной оценки эффективности ранней диагностики РШМ, включающая стадии карциномы *in situ* и интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени, позволяющая более объективно оценивать вклад вторичной профилактики – скрининга в борьбу с РШМ.

Динамическая оценка частоты встречаемости различных типов ВПЧ среди женщин с предраком и РШМ позволит оценить эффективность планируемой и проводимой в перспективе на территории Российской Федерации вакцинопрофилактики. Совокупность результатов эпидемиологического анализа послужит целям управленческой подсистемы эпидемиологического надзора.

Управленческая подсистема

Данные, собираемые в рамках информационной подсистемы и анализируемые в рамках диагностической подсистемы дают основания для принятия управленческих решений с целью корректировки профилактических мероприятий.

Первичная профилактика РШМ должна проводиться в Российской Федерации на основании данных о распространенности различных типов ВПЧ на территории РФ, в частности, в случаях предрака и РШМ. Вакцины, применяемые с целью снижения заболеваемости РШМ должны содержать антигены наиболее распространенных типов ВПЧ с наибольшим потенциалом онкогенности, как показано в диссертационной работе, к таким типам относятся помимо ВПЧ 16 и 18, еще 33 и 58. Контроль за эффективностью вакцинопрофилактики должен осуществляться путем оценки динамики частоты встречаемости различных типов ВПЧ при различных неопластических изменениях эпителия шейки матки и в норме.

Проведенное в рамках диссертационной работы исследование демонстрирует, что использование одного цитологического метода при первичном обследовании женщин на РШМ сопровождается диагностическими ошибками, в

том числе упущениями своевременного обнаружения предрака шейки матки, что в перспективе приводит к росту заболеваемости РШМ. Для повышения эффективности своевременного выявления и лечения предрака необходимо широкомасштабное применение современных инструментов на основе молекулярно-биологических методов. На основании вышесказанного в документацию, регламентирующую проведение обследования на РШМ должны быть внесены требования об обязательном проведении исследования на основе ПЦР с расширенным генотипированием.

Разработанная в рамках настоящей работы расширенная методика на основе ПЦР-РВ для проведения генотипирования ВПЧ с количественной оценкой каждого из 14-и присутствующих типов вируса, положена в основу набора реагентов «АмплиСенс[®] ВПЧ ВКР генотип-титр FL», производимого ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, зарегистрированного как медицинское изделие на территории РФ в установленном порядке, позволяет с высокой чувствительностью выявлять предрак и РШМ, а также позволяет определить их этиологическую причину. Масштабное применение предложенной технологии будет способствовать дальнейшему изучению структуры популяции циркулирующих ВПЧ и позволит совершенствовать направления борьбы с заболеванием и внедрить оптимальные профилактические решения в Российской Федерации.

По результатам, полученным в диссертационном исследовании разработан алгоритм прогнозирования наличия интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени на основе данных количественной ПЦР-РВ с расширенным генотипированием ВПЧ для применения при проведении скрининга РШМ с целью сортировки результатов обследования пациентов для определения тактики ведения. Применение предлагаемого алгоритма позволит усовершенствовать мероприятия вторичной профилактики РШМ за счет прицельного определения группы риска наличия предрака шейки матки на первом этапе, а также снизит уровень гипердиагностики (Рисунок 8.5).

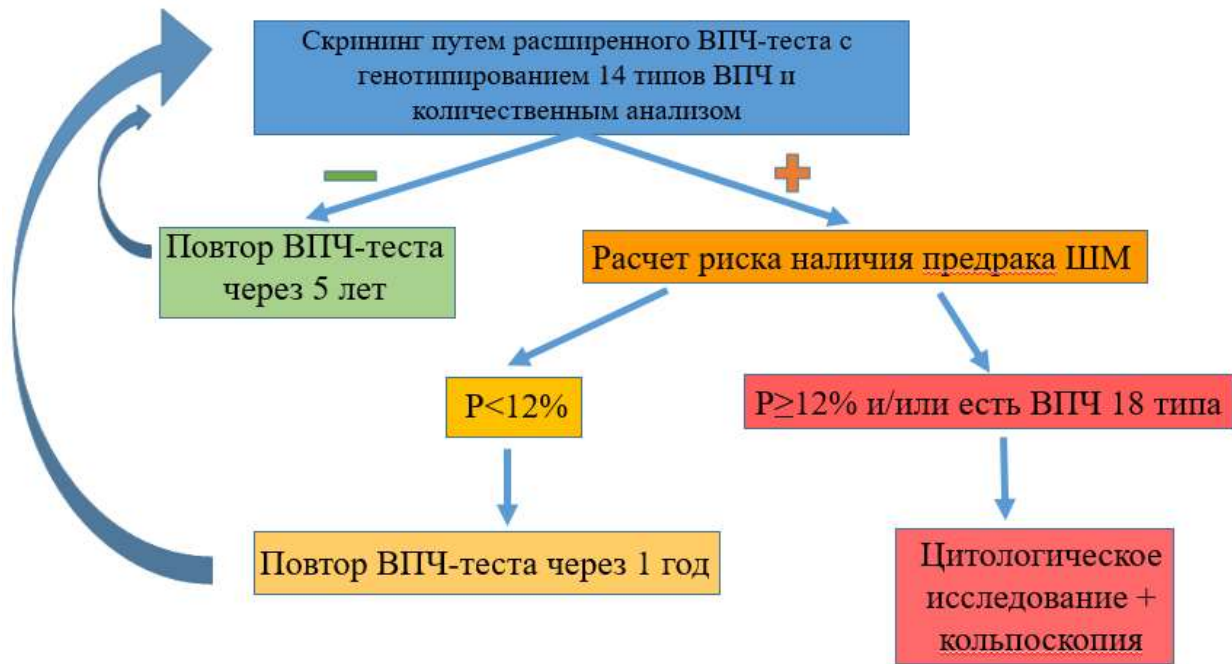


Рисунок 8.5 – Алгоритм скрининга РШМ с применением расширенного ВПЧ-теста с количественным генотипированием на первом этапе

Диагностические характеристики данного алгоритма при применении для всех женщин в рамках оппортунистического скрининга в нашем исследовании составили: Se 97,62%, Sp 87,59%, PPV 15,07%, NPV 99,9%, диагностическая эффективность 87,82% (глава 7.2). Учитывая высокую предсказательную ценность отрицательного результата (NPV 99,9%) применение данного алгоритма перспективно для ранжирования результатов скрининга с целью определения группы женщин, не нуждающихся в расширенном обследовании.

Комплекс разработанных мер по совершенствованию эпидемиологического надзора за патологией шейки матки папилломавирусной этиологии на основе молекулярно-биологических методов представлен на рисунке 8.6.

		Цель усовершенствования	Разработанные меры
Эпидемиологический надзор	Информационная подсистема	Расширение сведений, подлежащих учету и регистрации: сбор данных о предраке, ВПЧ инфекции	Дополнения к: <i>Форма N 090/У, Форма N 027-1/У, РК №030 – 6/ГРР, Форма N7</i>
		Консолидация анамнестических данных и результатов лабораторного обследования	Прототип базы данных: <i>«Распространенность вируса папилломы человека различного канцерогенного риска среди населения Московского региона»</i>
	Диагностическая подсистема	Данные для эпидемиологического анализа	оценка распространенности, структуры популяции ВПЧ, значение отдельных типов в норме и при патологии
		Совершенствование оценки эффективности ранней диагностики	Усовершенствованные варианты формулы ранней диагностики
	Управленческая подсистема	Интенсификация и повышение эффективности вторичной профилактики	Внедрение расширенного ВПЧ-теста на 1м этапе скрининга совместно с алгоритмом прогнозирования предрака и РШМ
		Планирование вакцинопрофилактики	Новые данные о ВПЧ, собираемые в информационной и анализируемые в диагностической подсистемах

Рисунок 8.6 – Меры, направленные на совершенствование эпидемиологического надзора за патологией шейки матки папилломавирусной этиологии

Таким образом, на основании результатов полученных в диссертационном исследовании предложены направления совершенствования всех подсистем эпидемиологического надзора за ВПЧ-ассоциированными патологиями шейки матки, которые позволят в рамках информационной, диагностической и управленческой подсистем эпидемиологического надзора осуществлять сбор, обработку, анализ данных об эпидемиологической ситуации, в целях осуществления эпидемиологического контроля за результативностью проводимых противоэпидемических мероприятий и своевременной обоснованной их корректировки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рак шейки матки является угрозой для женщин во всем Мире, особенно остро проблема касается женщин репродуктивного трудоспособного возраста. В Российской Федерации РШМ занимает 5е место по заболеваемости злокачественными новообразованиями среди женщин всех возрастов, 2е место по заболеваемости ЗНО среди женщин возраста 30-59 лет, 1е место в структуре женской смертности от рака в возрастной категории 30-34 года. В мировой практике существуют 3 основных направления борьбы с РШМ – вакцинопрофилактика, скрининг, своевременное лечение предрака и РШМ. Для эффективной реализации обозначенных направлений необходим комплекс мер по сбору, анализу и оценке динамических эпидемиологических данных и последующего их использования при осуществлении эпидемиологического контроля.

Анализ основных показателей, характеризующих состояние и динамику развития эпидемического процесса при РШМ за 2011 – 2021 гг., проведенный в диссертационной работе и описанный в главе 3 настоящей рукописи позволил выявить тенденцию к замедлению роста, а затем и снижению показателей заболеваемости в 2011 – 2021 гг.: темп прироста 1,35% - 3,40% - 2,82% - -0,41% (2012 – 2015 – 2018 – 2021 гг.). Общемировая тенденция заболеваемости РШМ за 1990 – 2019 гг. имела тренд на снижение со среднегодовым темпом снижения заболеваемости -0,39%. Тенденция к снижению заболеваемости наблюдалась во всех регионах Мира кроме стран Восточной Азии и Южной Африки где был отмечен прирост заболеваемости со средним темпом 1,34% и 0,36% [98]. Успехи в борьбе с РШМ объясняются введением мер первичной и вторичной профилактики, а различия в уровнях заболеваемости среди разных стран обусловлены временем введения и масштабами профилактических мероприятий.

Мировые тенденции динамики заболеваемости в зависимости от возраста за 1990 – 2019 гг. характеризуются следующими особенностями: среднегодовой темп

прироста заболеваемости среди женщин возраста 15 – 49 лет составил 0,28%, среднегодовой темп снижения заболеваемости среди женщин возраста 50-69 лет – -0,42%, 70 лет и старше – -0,94% [98].

Исследование заболеваемости РШМ в зависимости от возраста в 2008 – 2021 гг., проведенное в диссертационной работе выявило слабовыраженную динамику снижения заболеваемости в молодой группе женщин 20-29 лет (интенсивный показатель 5,54 – 4.30 ‰/0000), вероятно, связанную с отсутствием масштабной первичной профилактики и ограниченным спектром диагностических мероприятий, регламентированным для данной возрастной группы в рамках вторичной профилактики (только цитологическое обследование женщин возраста 21-29 лет). Сходная тенденция наблюдается в Финляндии, США: 3,4 – 3,1 ‰/0000 (2008 – 2020 гг.), 3,3 – 2,91 ‰/0000 (2008 – 2017 гг.) - соответственно [3]. В Австралии наблюдалось более выраженное снижение заболеваемости 5,1 – 2,9 ‰/0000, такой результат вероятно связан с ранним (1991 г.) включением вакцинации от ВПЧ в национальную программу вакцинопрофилактики, использованием ВПЧ-теста на первом этапе скрининга для женщин начиная с 25 лет.

Установленное в диссертационном исследовании резкое снижение заболеваемости в возрастной группе 50 лет и старше, в 2019 – 2020 гг. (29,52 – 26,0 ‰/0000), согласуется тенденцией, наблюдаемой в 2019 – 2020 гг. в Норвегии (17,0 – 15,1 ‰/0000), Исландии (18,7 – 11,7 ‰/0000), Дании (15,0 – 12,5 ‰/0000), что, вероятно, связано влиянием с пандемии COVID19 на масштабы обследования женщин, выявления патологии, правильность определения причин смерти, выживаемость и дожитие женщин с предраком до развития РШМ.

Показанная в диссертационной работе остановка роста заболеваемости среди женщин возраста 30-49 лет в Российской Федерации (34,58– 34,83 ‰/0000 в 2016 – 2018 гг.) и последующее снижение заболеваемости, начиная с 2019 г. (33,75 – 29,93 ‰/0000 в 2019 – 2021 гг.), сходна с ситуацией в Швеции: остановка роста заболеваемости 21,7 – 22,0 ‰/0000 (2014 - 2016гг.) и снижение заболеваемости. 21,2 – 18,3 ‰/0000 (2017 – 2020гг.) [3]. Остановка роста и последующее снижение заболеваемости вероятно, связаны с интенсификацией мер вторичной профилактики, в том числе активным

внедрением ВПЧ-теста в состав диагностических мероприятий, чувствительность которого, превышает чувствительность цитологического метода, ранее применявшегося в качестве единственного в рамках скрининга. При этом интенсивные показатели заболеваемости в России и Швеции отличаются в 1,6 раз (29,90/18,3, 2020 г.), что, предположительно, связано с масштабной вакцинацией от ВПЧ, проводимой в скандинавской стране с 2012г. и масштабным активным скринингом с применением первичного ВПЧ-теста для женщин старше 29 лет с 2015г.

В диссертационной работе установлено увеличение доли случаев, диагностированных на ранних стадиях, описываемых следующими параметрами (2011 – 2022 гг.): увеличение доли карциномы *in situ* и РШМ I-II ст. с 68,73% до 73,73%, показателя выявления карциномы *in situ* на 100 РШМ с 21 до 34,4, доли выявленных карцином *in situ* по отношению к РШМ I-II ст. с 25,8% до 34,7%, доли случаев РШМ, выявленных активно с 29,8 до 34,7%, снижение удельного веса случаев РШМ, выявленных на поздних стадиях (III-IV) с 35,9 до 22,2, снижение индекса одногодичной летальности с 17,4% до 11,9%. Данные эпидемиологических исследований в США за 1999 – 2015 гг., проведенных до и в начале внедрения масштабной вакцинации, то есть до проявления ее массового эффекта, но при активном массовом скрининге, показывают, что динамика заболеваемости для случаев, выявленных на локализованной стадии РШМ (стадии I-II) имела следующий характер: среднегодовой темп снижения заболеваемости в 2001 – 2004 гг. составил -5,7% (2001 – 2004 гг.), затем -2,3% (2004 – 2013 гг.), с последующим среднегодовым темпом прироста в 1,4% (2013 - 2015 гг.). Среднегодовой темп снижения количества случаев, выявленных на стадии регионарного метастазирования (стадия III) составил -1,3% (2001 - 2015 гг.). Среднегодовой темп прироста количества случаев, выявленных на стадии отдаленных метастазов (стадия IV) составил 1,8% (2001 - 2015 гг.). Интенсивный показатель заболеваемости на ранних стадиях РШМ превышает соответствующую величину РШМ на поздних стадиях [99]. Таким образом, несмотря на общее преобладание количества случаев РШМ выявленных на ранних стадиях, выявление РШМ на

поздних стадиях имеет тенденцию к возрастанию, а на ранних – к убыванию, что возможно свидетельствует о недостаточном охвате скринингом в США. В Российской Федерации скрининг на РШМ является оппортунистическим, однако за последние годы имеет тенденцию к увеличению охвата, как показано при проведении данной работы на примере Москвы и Московского региона, что положительно сказывается на увеличении доли случаев, выявленных на стадии карциномы *in situ* и ранних стадиях РШМ.

В результате анализа системы регистрации и учета ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки в Российской Федерации выявлено, что одним из ключевых несовершенств является отсутствие учета и мониторинга возбудителя РШМ – вируса папилломы человека, вследствие чего, невозможно в полной мере оценить эффективность первичной и вторичной профилактики, проводимых с учетом инфекционной этиологии заболевания. Отсутствие в ключевом документе системы учета - статистической форме №7 данных о предраке шейки матки CIN2 (N.87.2) затрудняет оценку эффективности ранней диагностики и ее вклад в динамику заболеваемости РШМ. В Норвегии с 1997 года проводится отдельный учет случаев цервикальной интраэпителиальной неоплазии тяжелой степени CIN2 на национальном уровне. Опыт, накопленный в этой стране показывает динамическое увеличение количества случаев CIN2 и CIN3 за 25 лет (1992 - 2016 гг.) со среднегодовым темпом прироста CIN2 в 4,7% и CIN3 в 1,6% [100].

Диагностика предрака и РШМ представляет собой по большей части поисковые обследования (активное выявление), поскольку клинические проявления вплоть инвазивных стадий РШМ не выражены [31]. Для оптимизации скрининга принята стратегия многоступенчатых обследований, при которых на следующий этап диагностики переходят только женщины, получившие на предыдущем этапе результат, отличающийся от нормы [11]. При таком подходе чувствительность скрининга определяется методом, используемом на первом этапе. В настоящее время первым этапом скрининга на РШМ является цитологическое исследование отделяемого цервикального канала. В ряде стран, как и в Российской Федерации, для женщин начиная с 30 лет рекомендован

дополнительно ВПЧ-тест, в странах с наиболее прогрессивным подходом ВПЧ-тест рекомендован на первом этапе начиная с 25 лет, а цитологическое исследование назначается по его результатам [45]. Наибольший вес среди диагностических методов имеет гистологическое исследование, по результатам которого устанавливается окончательный диагноз [31]. Таким образом, точность диагностики интраэпителиальной неоплазии шейки матки во многом обусловлена конкордантностью результатов цитологического и гистологического исследований. Сходимость результатов цитологического и гистологического исследований при диагностике HSIL (CIN2, CIN3, P16) оценена в диссертационной работе, описана в главе 4 и составила 67,12%. В исследованиях, проведенных в России в 2017, 2020 и 2021 гг., доля совпадающих результатов цитологического и гистологического исследований по отношению к HSIL составила 62,2% [94], 57,9% [101] и 46,74% [102] соответственно. В зарубежных источниках отмечаются дискорданты порядка 11–27% [12, 13]. Количество расхождений связывают, главным образом, с опытом и специализацией врачей-клинических цитологов, а также со способом взятия и окраски препаратов [94,101]. Одной из наиболее частых причин расхождений результатов является наличие воспаления на момент взятия материала для исследования, которое может маскировать дисплазию, обуславливая ложноотрицательные заключения или, наоборот, способствовать гипердиагностике [48, 94]. В проведенном нами исследовании 58% женщин с наличием признаков воспаления получили ложноотрицательное заключение цитологического исследования с последующей верификацией HSIL гистологическим исследованием, что суммарно составило 10% от всех дискордантных случаев. Общее количество ложноотрицательных результатов–составило 41,7% (30/72) среди дискордантных случаев, полученных при использовании двух методов, и 13,7% (30/219) среди всех случаев, для которых известен результат обследования двумя методами.

Диагностическая чувствительность цитологического метода составила 83,78%. При учете любого положительного результата цитологического исследования, отличного от NILM, совпадающего с положительным заключением

гистологического исследования, отличного от NILM диагностическая чувствительность цитологического метода составила 94,34%. В исследовании, проведенном А. Асатуровой и соавторами в России в 2022 г., была получена диагностическая чувствительность цитологического метода равная 87,6% [101]. Различие в значениях изучаемого показателя может быть обусловлено использованием нами исключительно жидкостной методики для проведения исследования, в отличии от упомянутой работы, где применялся также и традиционный способ. По данным, консолидированным зарубежными исследователями, диагностическая чувствительность цитологического исследования варьирует от 52 до 94% [103]. Для повышения чувствительности активных мероприятий вторичной профилактики во многих странах мира с успехом применяют ВПЧ-тест на основе метода ПЦР-РВ [45].

Диагностические характеристики ВПЧ-теста во многом определяются количеством и составом определяемых типов вируса (диагностических мишеней). В целом, проведенное нами и описанное в главе 4 исследование показало, что иерархия ВПЧ онкогенных типов по значимости их для выявления HSIL согласуется с филогенетической классификацией: наблюдается снижение роли типов ВПЧ в соответствии с принадлежностью к филогенетическим ветвям: $\alpha 9$ (ВПЧ 16 – первая, ВПЧ 33 – вторая, ВПЧ 58 – третья, ВПЧ 35 – четвертая иерархические позиции) $> \alpha 7$ (ВПЧ 45 – пятая, ВПЧ 18 – седьмая, ВПЧ 39 – девятая, ВПЧ 59 – десятая иерархические позиции) $> \alpha 5/\alpha 6$ (ВПЧ 56 – одиннадцатая, ВПЧ 51 – двенадцатая иерархические позиции). Сходная тенденция была отмечена и в зарубежном исследовании, проведенном в 2019 г. [125].

В связи с распространенным представлением о наибольшей ассоциации РШМ с ВПЧ 16 и 18 типов [95] существуют ПЦР-методики, основанные на выявлении только данных двух типов, либо их отдельном определении среди других типов. На ведущей роли ВПЧ 16 и 18 типов в развитии РШМ основаны рекомендации Американского общества кольпоскопии и патологии шейки матки (ASCCP) по ведению пациентов в случае аномальных результатов скрининга РШМ [19]. Однако, для эффективного предотвращения развития РШМ, необходимо

выявлять заболевание на стадии предрака – HSIL [11]. Примечательно, что ранговое распределение типов в образцах предрака отличается от такового при карциномах [95, 104, 105, 117]. В представленном исследовании ВПЧ 18 типа занимает лишь восьмое ранговое место по частоте выявления при HSIL среди женщин Московского региона и седьмое место по значимости (по результатам иерархического ранжирования PPV) для обнаружения HSIL. В зарубежных исследованиях также показано, что 18 тип вируса уступает другим онкогенным типам по частоте встречаемости при HSIL и имеет более низкий PPV по сравнению с некоторыми другими типами ВПЧ [104, 125]. Разрыв между ранговыми местами ВПЧ 18 типа при HSIL и РШМ может объясняться тем, что неоплазия, вызванная данным типом вируса, развивается преимущественно в цилиндрическом эпителии цервикального канала и не визуализируется при кольпоскопическом обследовании вплоть до этапа инвазивного рака, затрудняя своевременную диагностику и лечение. Таким образом, несмотря на установленное седьмое иерархическое место ВПЧ 18 типа по значимости для выявления HSIL, его отдельное определение при проведении ВПЧ-тестирования представляется чрезвычайно важным в связи со вторым местом по значимости после ВПЧ 16 типа в развитии карцином.

В диссертационном исследовании установлено, что существенная доля случаев HSIL, ассоциировано с ВПЧ 33 типа (16% (29/185) в общем и 12% (22/185) при исключении случаев сочетанной инфекции с ВПЧ 16 типа); ВПЧ 33 типа достоверно более часто встречается среди женщин с HSIL, чем среди женщин с NILM, инфицированных ВПЧ ($p < 0,001$); ВПЧ 33 типа второе место по значимости (по результатам иерархического ранжирования PPV) для выявления HSIL. По данным других исследований, проведенных на разных территориях России, отмечается также высокое распространение ВПЧ 33 типа в образцах пациенток с интраэпителиальной неоплазией шейки матки высокой степени [105 - 109]. В зарубежных исследованиях, аналогично, показана значимая роль ВПЧ 33 типа в развитии тяжелой дисплазии, в том числе второе или третье ранговое место по распространенности в HSIL, значимость для выявления HSIL и относительный риск на уровне второго места после ВПЧ 16 типа [110 – 112, 125].

Третье место в иерархии значимости для выявления HSIL занимает в представленном исследовании ВПЧ 58 типа, часто именуемый «азиатским». Его распространенность в HSIL определяется на уровне пятого рангового места. Относительно встречаемости ВПЧ 58 типа на разных территориях и его роли в развитии HSIL имеются несколько разнящиеся данные. Так, в американском исследовании он занимает шестое место в иерархии PPV для выявления случаев HSIL [125], результаты мета-анализа (7094 случаев HSIL среди женщин из 38 стран) указывают на четвертое ранговое место по частоте встречаемости [95], в японском и итальянском исследованиях – третье место [111, 126], в российском – четвертое ранговое место по распространенности в HSIL [113, 105, 106]. Ввиду того, что PPV является более значимой характеристикой, чем распространенность, поскольку отражает роль в развитии патологии редко встречающихся типов, по совокупности данных ВПЧ 58 типа является кандидатом на третье место по значимости для развития HSIL в России.

Из вышеизложенного следует, что при проведении скрининга в Российской Федерации необходимо определять наличие ВПЧ 16 и 33 типов ввиду их особенной значимости при HSIL, а также ВПЧ 18 типа ввиду его распространенности в карциномах. Однако, выявление всего трех основных типов недостаточно (кумулятивная чувствительность – 77%). При выявлении 12–14 типов ВПЧ чувствительность диагностического инструмента составляет более 99%, в то время, как чувствительность цитологического исследования составляет 83,78% (рисунок 3). Стоит отметить что, при определении наличия ВПЧ широкого спектра без дифференциации типов, оценить вероятность наличия HSIL в каждом конкретном случае и скорректировать тактику ведения пациента невозможно (PPV существенно варьирует между разными типами). Для повышения диагностической специфичности ВПЧ-теста следует рассматривать дополнительные возможности ПЦР-исследования, такие как определение значимой концентрации вируса.

Разработка диагностического инструмента, позволяющего проводить генотипирование и определять концентрацию каждого из 14 типов ВПЧ (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) проведена в рамках диссертационной работы

и описана в главе 5 настоящей рукописи. Создана методика, на основе которой во ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии производится набор реагентов для выявления и количественного определения 14 типов ВПЧ с коммерческим названием «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-титр FL». В ходе проведенных апробационных клинических испытаний подтверждены аналитические и диагностические характеристики набора: предел детекции 1×10^3 , диапазон измерения $3 \times 10^3 - 1 \times 10^8$ копий ДНК ВПЧ/мл исследуемого образца, аналитическая специфичность 100%, диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 90 %), в интервале 97% - 100% и 99,5% -100% соответственно. Для интерпретации результатов ПЦР исследования создана программа для ЭВМ, номер государственной регистрации № 2024617242 с коммерческим названием «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-титр». Дата государственной регистрации в Реестре программ для ЭВМ – 29 марта 2024 года.

С применением разработанной методики в рамках диссертационной работы проведено изучение структуры популяции ВПЧ среди женщин возраста 20-81 лет на территории Московского региона Российской Федерации, описанное в главе 6 настоящей рукописи.

Согласно результатам проведенного исследования, распространенность ВПЧ 14 онкогенных типов среди обследованных женщин составила 14,87%. Наиболее часто определяются ВПЧ 16, 31 и 52 типов (16,98%; 14,47%; 13,21%), что согласуется с исследованиями, проведенными в различных регионах страны [114]. При этом, базовый уровень распространенности ВПЧ, один из параметров, относительно которого оценивается эффективность проводимой вакцинации и выработки скрининговых стратегий [30], в нашем исследовании составил 11,81%; первые три ранговых места занимали ВПЧ 52, 16, 31 (1,66%, 1,56%, 1,56%) типов. Полученные данные согласуются с другими российскими исследованиями [115, 116]. В зарубежных исследованиях выявлены различия в частотах встречаемости типов ВПЧ по разным регионам, однако, выделено 5 лидирующих по распространенности типов среди женщин без патологии цервикального эпителия по всему миру: 16, 18, 52, 31, 58 (3,2%, 1,4%, 0,9%, 0,8%, 0,7%) [30]. Следует также

отметить, что среди случаев HSIL в нашем исследовании встречался ВПЧ только 16 и 31 типов. В крупном международном исследовании также отмечено преобладание ВПЧ 16 и 31 типов среди женщин с диагнозом HSIL в мире (45,4% и 8,7%) и Европе (51,8% и 10%) [117]. Базовая распространенность ВПЧ среди разных возрастных групп соответствует общемировой тенденции – наиболее инфицирована группа ≤ 25 лет: 20,21% в нашем исследовании и 19,2% в среднем по миру [30]. Для прогнозирования эффективности вакцинопрофилактики представляется интересным тот факт, что ВПЧ 31 типа широко распространен среди женщин Московского региона в целом и выявлен нами среди случаев HSIL. В данной ситуации целесообразным представляется увеличение спектра антигенов в составах вакцинных препаратов. Аналогичный путь, избранный зарубежными медицинскими сообществами, привел к разработке, испытаниям и внедрению 9-валентной вакцины против ВПЧ 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58 типов [118].

Важной составляющей на пути к элиминации РШМ является массовый скрининг женщин на выявление злокачественных новообразований шейки матки, проводимый с интервалом 3 или 5 лет в зависимости от возраста обследуемой. В нашем исследовании у 1/6 женщин с цитологическим заключением HSIL за год до выявления тяжелой патологии при проведении цитологического исследования измененных эпителиальных клеток не выявлено (возможно вследствие маскирования истинного состояния эпителия реактивными изменениями). Если бы скрининг проводился только с использованием цитологического обследования, то последующие 3 года были бы упущены для диагностики и лечения. Наличие данных о наличии ВПЧ онкогенных типов позволило контролировать ситуацию. Проведенное G. Ronco с соавт. (2014) масштабное международное исследование показало, что при динамическом наблюдении за женщинами, прошедшими скрининг с применением только одного метода на первой ступени, количество случаев развития инвазивного рака через 3,5 года после обследования с негативным результатом ВПЧ-теста как первичного было в 4 раза меньше, чем при первичном цитологическом обследовании с отрицательным результатом за тот же промежуток времени. На дистанции в 5,5 лет, кумулятивная заболеваемость отличалась в 6 раз

при тех же исходных условиях [119]. Таким образом, цитологическое обследование обладает более низкой предсказательной ценностью отрицательного результата, чем ВПЧ-тестирование, что приводит к диагностическим и лечебным промедлениям в тех случаях, когда данные о наличии ВПЧ-инфицировании отсутствуют.

Согласно российским клиническим рекомендациям [11] женщины с атипичными результатами цитологии (ASCUS, ASC-H, AGC) на фоне присутствия ВПЧ онкогенных типов подлежат направлению на кольпоскопическое обследование. В нашем исследовании в половине случаев цитологическое заключение о наличии атипично измененных клеток (ASCUS, ASC-H, AGC), являлось маркером развития патологии в краткосрочном периоде. В то же время, информация об отсутствии ВПЧ у части женщин помогала отделить случаи неопасных состояний.

Цитологическое исследование в данной работе продемонстрировало ложноположительные результаты для: 1/7 HSIL, 4/76 LSIL; ложноотрицательные для: 1/11 AGC, который, вероятно, был недооценен по степени имеющихся изменений и 1/83 случая неопластической трансформации, по-видимому, замаскированного реактивными изменениями. В то же время, ВПЧ-тест надежно со 100% чувствительностью определил наличие этиологического агента во всех случаях тяжелой дисплазии, продемонстрировал эффективность при динамическом наблюдении, был эффективен при стратификации сомнительных результатов. В связи со схожими данными, описанными в зарубежных литературных источниках, одной из рекомендуемых стратегий дальнейшего увеличения эффективности скрининговых мероприятий является использование ВПЧ-тестирования в качестве первичного, а цитологического исследования на втором этапе для стратификации пациентов, инфицированных онкогенными ВПЧ [6].

В Российской Федерации организованный скрининг проводится в рамках диспансеризации определенных групп взрослого населения и, по данным А.Д. Каприна с соавт. (2018), в 2015–2016 гг. вклад диспансеризации в активную

выявляемость РШМ оказался невысоким, что требует анализа качества исследований, оснащенности лабораторий, уровня подготовки специалистов и пересмотра модели скрининга в сторону первичного ВПЧ-теста [55]. Модель первичного ВПЧ-теста оценена с точки зрения клинической и экономической эффективности и уже принята за основу цервикального скрининга в некоторых странах в том числе Австралии, Новой Зеландии, США, Нидерландах, Англии, Шотландии, Уэльсе [120 - 122].

Новейшие выпуски руководств касаются также изменения возраста начала проведения ВПЧ-тестирования. За последние годы в Российской Федерации, наблюдается тенденция к «омоложению» случаев РШМ (максимальный удельный вес заболевания приходится на возраст 30–34 года) [72], а соответственно, и предшествующие ему стадии предрака приходятся на более молодой возраст. Более того, по последним данным среди российских женщин в возрастной группе 25–29 лет РШМ занимает второе место (16,67%)–в структуре женской смертности от онкологических заболеваний по данным на 2020 г., уступая лишь ракам лимфатической и кроветворной ткани [72], что является свидетельством неэффективной диагностики на ранних стадиях заболевания. В нашем исследовании 4/6 случаев HSIL выявлены у женщин моложе 30 лет. В связи со схожими тенденциями повышения частоты заболевания предраком и РШМ среди молодых женщин до 30 лет в ряде стран, в том числе Австралии, Новой Зеландии, США, рекомендуется снижение возраста начала скрининга с использованием первичного ВПЧ-теста с 30 до 25 лет. В этой связи, представляется важным рассмотрение экономической эффективности при снижении возраста начала скрининга с использованием ВПЧ-теста для женщин Российской Федерации.

Одной из особенностей ВПЧ-теста в первичном скрининге является его высокая чувствительность, позволяющая выявлять все случаи инфицирования, которая является как преимуществом, так и недостатком, поскольку определяется большое количество случаев NILM и LSIL, не нуждающихся в лечении. В этой связи перспективным является определение не только наличия ВПЧ онкогенных типов, но и учет главных кофакторов прогрессии от инфекции к

интраэпителиальной неоплазии и раку, таких как концентрация ДНК вируса и тип ВПЧ [123 - 125]. Установление адекватного порога клинической значимости количества ДНК ВПЧ при проведении ВПЧ-тестирования современными высокотехнологичными методиками, и канцерогенного потенциала отдельных типов ВПЧ является важнейшей задачей, требующей углубленного исследования случаев онкологической патологии шейки матки среди женщин Российской Федерации.

Оценка значения вирусной нагрузки для обнаружения интраэпителиальной неоплазии шейки матки, проведенная в диссертационной работе описана в главе 7 настоящей рукописи.

В результате диссертационного исследования установлены: возрастание суммарной концентрации ДНК ВПЧ, а также концентрации ДНК ВПЧ типов 16, 33, 58, 52, 51, 56 при увеличении тяжести интраэпителиального поражения. В исследовании, проведенном Dong B. et al. отмечена положительная корреляция значений концентраций ДНК ВПЧ 16, 31, 33, 52, 58 типов с тяжестью интраэпителиальной патологии [124]. В исследовании, проведенном в Италии, средняя вирусная нагрузка при отсутствии HSIL была оценена, как 3,7 lg копий ДНК ВПЧ/10⁴ клеток человека, а при наличии HSIL - 4,3 lg копий ДНК ВПЧ/10⁴ клеток человека [126]. В исследовании, проведенном в Китае, среднее значение суммарной концентрации ДНК ВПЧ/10⁴ клеток человека при заключении NILM составила 3,34 lg, ASC – 3,80 lg, LSIL – 4,28 lg, HSIL – 4,76 lg [124]. В нашем исследовании среднее значение суммарной концентрации ДНК ВПЧ/10⁵ клеток человека в образцах при заключении NILM составило 4,14 lg, ASC – 5,08 lg, LSIL – 5,94 lg, HSIL – 5,91 lg. В исследовании, выполненном в Китае, определено, что вирусные нагрузки для ВПЧ 16, 31, 33, 52 и 58 типов, превышающие 4,26, 4,46, 4,48, 4,36 и 4,26 lg копий ДНК ВПЧ/10⁴ клеток человека соответственно сигнализируют о наличии HSIL [124]. Проведенные нами расчеты показали, что пороговый уровень концентрации ДНК ВПЧ для предсказания наличия HSIL был статистически значим только для значений суммарной концентрации ДНК ВПЧ 14 типов и индивидуальной концентрации ДНК ВПЧ 16, 33, 58 типов. Оптимальное

значение порогового уровня составило $4 \lg$ копий ДНК ВПЧ/ 10^5 клеток человека для суммарной концентрации и индивидуальных концентраций ДНК ВПЧ 16, 33 и 58. Однако, в нашем исследовании данные прогностические факторы по отдельности имеют невысокую специфичность, что потребовало разработки многофакторной модели, учитывающий несколько количественных характеристик.

В рамках диссертационной работы разработана многофакторная прогностическая модель (статистическая значимость модели $p < 0,001$) методом бинарной логистической регрессии, включающая следующие предикторы, оцененные как значимые: возраст женщины, суммарная концентрация ДНК ВПЧ 14 типов выше $4 \lg/100\ 000$ клеток человека, индивидуальная концентрация ДНК ВПЧ 16, 33, 58 и 66 типов. Предикторы возраст, суммарная концентрация ДНК ВПЧ, концентрация ДНК ВПЧ 16 типа, ДНК ВПЧ 33 типа, ДНК ВПЧ 58 типа имеют прямую связь с вероятностью выявления HSIL, предиктор концентрация ДНК ВПЧ 66 типа – обратную. При значениях вероятности $P \geq 12\%$ риск выявления HSIL высокий, при $P < 12\%$ – низкий. Прогнозируемые чувствительность и специфичность модели при данном пороговом значении составили Se 93,5% и Sp 50,0%, соответственно. В результате апробации модели на данных обследования 957 ВПЧ-инфицированных пациенток с различными состояниями эпителия шейки матки, получены диагностические характеристики: Se 95,2% и Sp 50,1%.

Оценка индивидуального риска наличия HSIL для назначения тактики обследования/лечения женщине является современной практикой за рубежом и описана в документе комитета по выработке консенсусных руководящих принципов управления, основанных на оценке рисков. Индивидуальный риск, согласно данному документу, рассчитывается на основании совокупности факторов: возраста, цитологического заключения и ВПЧ-теста на момент обследования и данных предыдущих обследований. При анализе результатов ВПЧ-теста учитывается наличие ВПЧ 16 и 18 типов в отдельности и остальных типов в совокупности. Количественные параметры ВПЧ-инфекции не учитываются. Кольпоскопическое исследование согласно данному документу рекомендуется всем пациенткам чей риск наличия карциномы *in situ* (CIN3+) составляет 4% и

выше [53]. Наш подход в отличие от зарубежного предлагает оценку риска только на основании возраста женщины и результатов ВПЧ-теста, однако результат ВПЧ-теста оценивается в расширенном формате - с учетом суммарной концентрации ДНК ВПЧ 14 типов (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) и концентраций отдельных типов ВПЧ: 16, 33, 58 и 66. Благодаря такому подходу предлагаемый алгоритм, основанный только на данных о возрасте и результатах разработанной лабораторной методики с 99,9% прогностической ценностью отрицательного результата позволяет отсортировать результаты обследования женщин, не нуждающихся в расширенном обследовании на момент получения положительного результата ВПЧ-теста. Алгоритм скрининга, основанный на применении разработанной лабораторной методике и прогностической модели в результате валидации обладал следующими диагностическими характеристиками: Se 97,62%, Sp 87,59%, PPV 15,07%, NPV 99,9%, диагностическая эффективность 87,82%

Результатом исследований и анализа, проведенных в диссертационной работе явилось предложение по модернизации всех подсистем эпидемиологического надзора за ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки, описанное в главе 8 настоящей рукописи.

Осуществление мониторинга ВПЧ-инфекции при помощи молекулярно-биологических методов значительно расширит объем данных, собираемые в рамках информационной подсистемы эпидемиологического надзора. Данные, получаемые при применении разработанной в диссертационной работе методики с определением и количественной оценкой 14 типов онкогенных ВПЧ, полностью соответствуют объему требуемой для анализа информации. Для сбора данных разработан и внедрен в практику ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора прототип базы данных «Распространенность вируса папилломы человека различного канцерогенного риска среди населения Московского региона» (ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, свидетельство о государственной регистрации № 2022621655). Для учета и регистрации информации о типах ВПЧ, ассоциированных с предраком и РШМ разработаны дополнения к сигнальным

формам №090/У «Извещение о больном с впервые в жизни установленным диагнозом злокачественного новообразования» и N027-1/У «Выписка из медицинской карты стационарного больного злокачественным новообразованием» и формам статистического наблюдения №7 «Сведения о злокачественных новообразованиях», № 030 – 6/ГРР: «Регистрационная карта больного злокачественным новообразованием».

Полнота собираемых данных с информацией о случаях предрака и результатах ВПЧ-теста, а также применение предложенной в диссертационной работе усовершенствованной формулы ранней диагностики РШМ позволит в рамках диагностической подсистемы эпидемиологического надзора осуществлять полный анализ причин динамических изменений заболеваемости и формулировать обоснованный эпидемиологический диагноз.

В свою очередь, в рамках управленческой подсистемы эпидемиологического надзора необходимо осуществлять контроль и корректировку профилактических мероприятий, основанных на результатах эпидемиологического диагноза. В том числе, необходима организация масштабного активного скрининга, внедрение расширенного ВПЧ-теста и осуществление мониторинга за ВПЧ-инфекцией. В диссертационной работе обосновано усовершенствование скрининга путем внедрения первичного расширенного ВПЧ-теста и расчета на основании результатов его применения индивидуального риска наличия предрака и РШМ для назначения углубленного обследования.

Внедрение предложенных мер по совершенствованию эпидемиологического надзора за ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки позволит интенсифицировать борьбу с раком шейки матки в Российской Федерации

ВЫВОДЫ

1. Динамика заболеваемости раком шейки матки за наблюдаемые годы характеризовалась волнообразным течением, с ростом показателей (19,30 - 22,57⁰/₀₀₀₀, $p < 0,001$) в 2011 - 2018 гг. и снижением (22,25 - 19,67⁰/₀₀₀₀, $p < 0,001$) в 2019 - 2021 гг. Среди возрастных групп динамика заболеваемости разнонаправленна. В возрастной группе женского населения 30-49 лет отмечена тенденция к снижению, начиная с 2019 г. (34,83⁰/₀₀₀₀ – 2018 г., 29,93⁰/₀₀₀₀ – 2021 гг.). За период 2011 - 2021 гг. увеличилась доля активно выявленных случаев рака шейки матки на 4,9% ($p < 0,001$), возросла интенсивность ранней диагностики: увеличилась доля впервые выявленных ранних форм рака шейки матки и карциномы *in situ* на 5% ($p < 0,001$), увеличилась доля карцином *in situ* в сравнении с раком шейки матки I+II стадий на 8,9% ($p < 0,001$), снизился индекс одногодичной летальности на 5,5% ($p < 0,001$).

2. Система учета и регистрации ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки преимущественно направлена на мониторинг злокачественных новообразований и недостаточно отражает уровень заболеваемости предраком шейки матки. В системе эпидемиологического надзора полностью отсутствует мониторинг за возбудителем предрака и рака шейки матки – вирусом папилломы человека.

3. Сходимость результатов цитологического и гистологического исследования составляет 67,12%, диагностическая чувствительность цитологического исследования на уровне 83,78%, чувствительность выявления любых результатов отличных от нормы в пределах 94,34%. Чувствительность ВПЧ-теста достигает 99,5% (при определении не менее 12 онкогенных типов ВПЧ). Случаи интраэпителиальной неоплазии шейки матки высокой степени чаще всего ассоциированы с ВПЧ 16 (63,24%, ДИ 95%: 56,41–69,69%), 33 (15,68%, ДИ 95%: 11,22–21,13%) и 31 (9,73%, ДИ 95%: 6,30–14,30%) типов, при общей тенденции снижения вклада ВПЧ онкогенных типов в соответствии с их принадлежностью к филогенетическим группам: $\alpha 9 > \alpha 7 > \alpha 5 / \alpha 6$. Значимость выявления отдельных типов

ВПЧ для прогнозирования наличия интраэпителиальной неоплазии шейки матки высокой степени убывает в следующем порядке: 16>33>58>35>45>31>18>52>39>59>56>51>68>66.

4. Разработана методика для качественного и количественного определения ВПЧ 14-и типов (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68), позволяющая выявлять ДНК ВПЧ не менее 1000 копий/мл, с линейным диапазоном измерения $3 \times 10^3 - 1 \times 10^8$ копий/мл.

5. Установленная при применении разработанной методики распространенность ВПЧ онкогенных типов среди женщин, проживающих в Московском регионе составила 14,87% (ДИ 95%: 12,86–17,13%) с наибольшей частотой встречаемости 16 (16,98%), 31 (14,47%), 52 (13,21%) типов. Базовая распространенность ВПЧ среди женщин без патологии цервикального эпителия составила 11,82% (ДИ 95%: 9,98–13,94%). Наиболее инфицированы женщины до 25 лет - 20,21% (ДИ 95%: 15,15–26,43%).

6. Разработана и апробирована прогностическая модель, позволяющая определять риск наличия интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени с применением результатов разработанной методики на основе ПЦР-РВ. Разработанная модель статистически значима ($p < 0,001$), обладает диагностической чувствительностью 97,6%, специфичностью - 87,6%, прогностической ценностью положительного результата - 15,1%, прогностической ценностью отрицательного результата - 99,9%, диагностической эффективностью - 87,82%.

Внедрение разработанной методики на основе ПЦР-РВ для выявления, генотипирования и оценки вирусной нагрузки ВПЧ и модели прогнозирования риска наличия интраэпителиального поражения шейки матки высокой степени позволит оптимизировать программы скрининга рака шейки матки, основанные на применении ВПЧ-теста как единственной методики обследования на первом этапе.

7. Научно обоснованы направления совершенствования подсистем эпидемиологического надзора за патологиями шейки матки папилломавирусной этиологии в части проведения сбора, обработки, учета и анализа данных для

осуществления контроля за качеством проводимых профилактических мероприятий и своевременной их корректировки.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для совершенствования эпидемиологического надзора за ВПЧ-ассоциированными заболеваниями рекомендуется:

1) Осуществлять мониторинг за предраком шейки матки:

- Внести дополнения в формы №090/У, №027-1/У, №030 – 6/ГРР, №7
- Усовершенствовать расчет показателя ранней диагностики путем применения дополненной формулы с целью получения объективных данных об эффективности проводимых мероприятий

2) Внедрить мониторинг за ВПЧ-инфекцией:

- Проводить обязательное тестирование на ВПЧ-инфекцию на первом этапе скрининга с использованием методики на основе ПЦР-РВ с возможностью генотипирования и количественного определения 14-и типов вируса папилломы человека (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68).
- Обеспечить в практику здравоохранения использование электронной базы данных для консолидации информации о ВПЧ-инфекции в Российской Федерации
- Организовать в работу медицинских учреждений оптимизированные формы по учету и регистрации ВПЧ-инфекции у пациенток с предраком и раком шейки матки

3) Проводить планирование и контроль эффективности вакцинопрофилактики с использованием результатов молекулярно-генетического мониторинга ВПЧ-инфекции

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

- 1) Мониторинг за ВПЧ-инфекцией среди всех женщин, включая условно здоровых
- 2) Изучение особенностей распространения ВПЧ-инфекции среди мужчин
- 3) Изучение генетического разнообразия и частоты встречаемости ВПЧ среди уязвимых групп населения
- 4) Оценка целесообразности снижения рекомендуемого возраста начала проведения ВПЧ-тестирования с 30 до 25 лет

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВПЧ	вирус папилломы человека
РШМ	рак шейки матки
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
Se	<i>англ.</i> Sensitivity
Sp	<i>англ.</i> Specificity
NPV	<i>англ.</i> Negative predictive value
PPV	<i>англ.</i> Positive predictive value
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора	Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
ЭВМ	электронно-вычислительные машины
ПЦР-РВ	полимеразная цепная реакция в режиме реального времени
ВКР	высокий канцерогенный риск
HPV	<i>англ.</i> Human papilloma virus
ЗНО	злокачественные новообразования
ПВИ	папилломавирусная инфекция
NILM	<i>англ.</i> negative for intraepithelial lesion or malignancy - отсутствие интраэпителиальных поражений
ASCUS	<i>англ.</i> atypical squamous cells of undetermined significance - атипические клетки плоского эпителия неясного значения
ASC - H	<i>англ.</i> atypical squamous cells can not exclude HSIL - атипические клетки

	плоского эпителия, нельзя исключить тяжелое поражение
LSIL	<i>англ.</i> low-grade squamous intraepithelial lesions – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени
HSIL	<i>англ.</i> high-grade squamous intraepithelial lesions – плоскоклеточное интраэпителиальное поражение высокой степени
VIA	<i>англ.</i> visual inspection acetic acid
РУ	Регистрационной удостоверение

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sung, H. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. / H. Sung, J. Ferlay, R. Siegel // *CA Cancer J. Clin.* – 2021. – Vol. 71, № 3. – P. 209-249. – doi: 10.3322/caac.21660.
2. Глобальная стратегия по ускорению ликвидации рака шейки матки как проблемы общественного здравоохранения [Global strategy to accelerate the elimination of cervical cancer as a public health problem]. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2022. [Электронный ресурс]. – URL: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/359005/9789240048652-rus.pdf>
3. Bray, F. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray, M. Laversanne, H. Sung [et al.] // *CA Cancer J. Clin.* – 2024. – Vol. 74, № 3. – P. 229-263. – doi: 10.3322/caac.21834.
4. Злокачественные новообразования в России в 2022 году (заболеваемость и смертность) /под ред. А.Д. Каприна [и др.] – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2023. – илл. – 275 с.– ISBN 978-5-85502-290-2.
5. Global Burden of Disease 2019 Cancer Collaboration: Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life Years for 29 Cancer Groups From 2010 to 2019: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 / J. Kocarnik, K. Compton, F. Dean [et al.] // *JAMA Oncol.* – 2022. – Vol. 8, №3. – P. 420-444. – doi: 10.1001/jamaoncol.2021.6987.
6. World Health Organization. WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention, second edition. Geneva, 2021. – 97p. – ISBN 978-92-4-003083-1.
7. Smith, M. Impact of the Australian National Cervical Screening Program in women of different ages / M. Smith, K. Canfell // *Med. J. Aust.* – 2016. – Vol. 205, № 8. – P. 359-364. – doi: 10.5694/mja16.00289.

8. Национальный проект «Здоровье», Федеральный проект «Борьба с онкологическими заболеваниями», 2019. [Электронный ресурс]. – URL: <https://minzdrav.gov.ru/poleznye-resursy/natsproektzdravooхранenie/onko> (дата обращения 26.03.2024).
9. Распоряжение правительства Российской Федерации от 29.03.2021 №744-Р "Об утверждении Плана мероприятий по реализации стратегии развития иммунопрофилактики инфекционных болезней до 2035 г." [Электронный ресурс]. – URL: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=447826> (дата обращения 26.03.2024).
10. Нанолек [Электронный ресурс]. Доступно по: – URL: <https://nanolek.ru/news/companynews/Rossiiskaya-vaktsina-ot-VPCH-uspeshno-proshla-3-fazu-klinicheskikh-issledovaniy/> (дата обращения 26.03.2024).
11. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Рубрикатор клинических рекомендаций: клинические рекомендации Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки 2024. [Электронный ресурс]. – URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/597_3 (дата обращения 15.12.2024).
12. Joste, N.E. Cytologic/histologic correlation for quality control in cervicovaginal cytology. Experience with 1,582 paired cases / N. Joste, C. Crum, E. Cibas // *Am. J. Clin. Pathol.* –1995. – Vol. 103, № 1. – P. 32-4. – doi: 10.1093/ajcp/103.1.32.
13. Gupta, R. Hariprasad R, Dhanasekaran K, Sodhani P, Mehrotra R, Kumar N, Gupta S. Reappraisal of cytology-histology correlation in cervical cytology based on the recent American Society of Cytopathology guidelines (2017) at a cancer research centre/ R. Gupta, R. Hariprasad, K. Dhanasekaran [et al.] // *Cytopathology.* – 2020. – Vol. 31, № 1. – P. 53-58. doi: 10.1111/cyt.12774.
14. Arbyn, M. 2020 list of human papillomavirus assays suitable for primary cervical cancer screening / M. Arbyn, M. Simon, E. Peeters [et al.] // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2021. – Vol. 27, № 8. – P. 1083-1095. – doi: 10.1016/j.cmi.2021.04.031.
15. Zerbini, F.M. Changes to virus taxonomy and the ICTV Statutes ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2023) / F. Zerbini, S. Siddel, E.

Lefkowitz [et al.] // Arch. Virol. 2023. – Vol. 168, № 7. – P. 175. – doi: 10.1007/s00705-023-05797-4. Erratum in: Arch Virol. – 2023. – Vol. 168, № 11. – P.269. – doi: 10.1007/s00705-023-05880-w.

16. Bouvard, V. WHO International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. A review of human carcinogens--Part B: biological agents / V. Bouvard, R. Baan, K. Straif [et al.] // Lancet Oncol. – 2009. – Vol. 10, № 4. – P. 321-2. – doi: 10.1016/s1470-2045(09)70096-8.

17. Iwanowski D. Uber die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze // Bulletin scientifique publie par l'Academie imperial des sciences de Saint-Petersbourg. Nouvelle Serie III. – 1892. – Vol. 35. – P. 67-70. URL: <https://www.biodiversitylibrary.org/page/57676337#page/7/mode/1up> (дата обращения 15.12.2024).

18. Зильбер Л. А. Вирусная теория происхождения злокачественных опухолей / Л. А. Зильбер. – Москва : Медгиз, 1946. –72 с.

19. Зильбер Л.А. Вирусно-генетическая теория возникновения опухолей – М., изд-во Наука, 1968. – 284 стр.

20. zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. // Virology. – 2009. – Vol. 384, № 2. – P. 260-5. – doi: 10.1016/j.virol.2008.11.046.

21. Doorbar, J. Human papillomavirus molecular biology and disease association / J. Doorbar, N. Egawa, H. Griffin [et al.] // Rev Med Virol. – 2015. – Vol. – 25, Suppl. 1. – P.2-23. – doi: 10.1002/rmv.1822.

22. National Institute of Allergy and Infectious Diseases, PaVe: The Papillomavirus Episteme [Электронный ресурс]. – URL: https://pave.niaid.nih.gov/locus_viewer?seq_id=HPV16REF (дата обращения 08.12.2022).

23. Van Doorslaer, K. The Papillomavirus Episteme: a major update to the papillomavirus sequence database / K. Van Doorslaer, Z. Li, S. Xirasagar [et al.] //Nucleic Acids Res. – 2017 – Vol. 45, № D1. – P. – D499-D506. doi: 10.1093/nar/gkw879.

24. de Villiers, EM. Classification of papillomaviruses / EM. de Villiers, C. Fauquet, T. Broker [et al.] // *Virology*. – 2004. – Vol. 324, № 1. – P. 17-27. – doi: 10.1016/j.virol.2004.03.033.
25. Burk, R.D. Human papillomavirus genome variants / R. Burk, A. Harari, Z. Chen [et al.] // *Virology*. – 2013. – Vol. 445, № 1-2. – P. 232-43. doi: 10.1016/j.virol.2013.07.018.
26. Muñoz, N. International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer / N. Muñoz, FX. Bosch, S. de Sanjosé [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2003 – Vol. 348, № 6. – P. 518-27. – doi: 10.1056/NEJMoa021641.
27. Chesson, H.W. The estimated lifetime probability of acquiring human papillomavirus in the United States / H. Chesson, E. Dunne, S. Hariri [et al.] // *Sex. Transm. Dis.* – 2014. – Vol. 41, № 11. – P. 660-4. – doi: 10.1097/OLQ.0000000000000193.
28. Bruni, L. ICO/IARC information centre on HPV and cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. / L. Bruni, G. Albero, B. Serrano [et al.] / Summary Report 17 June 2019. [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.hpvcentre.net/statistics/reports/XWX.pdf>
29. de Sanjosé, S. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis / S. de Sanjosé, M. Diaz, X. Castellsagué [et al.] // *Lancet Infect. Dis.* – 2007. – Vol. 7, № 7. – P. 453-9. – doi: 10.1016/S1473-3099(07)70158-5. PMID: 17597569.
30. Bruni, L. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings / L. Bruni, M. Diaz, X. Castellsagué [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 202, № 12. – P. 1789-99. – doi: 10.1086/657321.
31. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Рубрикатор клинических рекомендаций: клинические рекомендации Рак шейки матки 2020. [Электронный ресурс]. – URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/597_3 (дата обращения 15.12.2024)
32. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна [и др.] – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена –

филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. – илл. – 276 с. – ISBN 978-5-85502-298-8.

33. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна [и др.] – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. – илл. – 252 с. – ISBN 978-5-85502-260-5.

34. Bray, F. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram [et al.] // *CA Cancer J. Clin.* – 2018. – Vol. 68, № 6. – P. 394-424. – doi: 10.3322/caac.21492. Erratum in: *CA Cancer J. Clin.* – 2020. – Vol.70, № 4. – P. 313. – doi: 10.3322/caac.21609.

35. Короленкова, Л. И. Зона трансформации шейки матки как объект канцерогенного действия вирусов папилломы человека при возникновении цервикальных интраэпителиальных неоплазий и инвазивного рака / Л. Короленкова, В. Ермилова // *Архив патологии.* – 2011. – Т. 73, № 6.

36. de Martel, C. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type / C. de Martel, M. Plummer, J. Vignat [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2017. – Vol. 141, № 4. – P. 664-670. – doi: 10.1002/ijc.30716.

37. Scarth, J.A. The human papillomavirus oncoproteins: a review of the host pathways targeted on the road to transformation / J. Scarth, M. Patterson, E. Morgan [et al.] // *J. Gen. Virol.* – 2021. – Vol. 102, № 3. – P. 001540. – doi: 10.1099/jgv.0.001540.

38. Руководство для практикующих врачей. Шейка матки, влагалище, вульва: физиология, патология, кольпоскопия, эстетическая коррекция / под ред. С. И. Роговской, Е. В. Липовой. – 2014. – С.52-71.

39. National strategy for the elimination of cervical cancer in Australia. A pathway to achieve equitable elimination of cervical cancer as a public health problem by 2035 / Australian Centre for the prevention of Cervical Cancer. [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.health.gov.au/sites/default/files/2023-11/national-strategy-for-the-elimination-of-cervical-cancer-in-australia.pdf> (дата обращения 15.12.2024).

40. Ferris, D. Long-term study of a quadrivalent human papillomavirus vaccine / D. Ferris, R. Samakoses, S. Block [et al.] // *Pediatrics*. – 2014. – Vol. 134, № 3. – P. e657-65. – doi: 10.1542/peds.2013-4144.
41. Bruni, L. HPV vaccination introduction worldwide and WHO and UNICEF estimates of national HPV immunization coverage 2010-2019 / L. Bruni, A. Saura-Lázaro, A. Montoliu [et al.] // *Prev. Med.* – 2021. – Vol. 144:106399. – doi: 10.1016/j.ypmed.2020.106399. – Erratum in: *Prev. Med.* – 2022. – Vol. 155:106925. – doi: 10.1016/j.ypmed.2021.106925.
42. Human papillomavirus vaccines: WHO position paper, October 2014-Recommendations // *Vaccine*. – 2015. – Vol. 33, № 36. – P. 4383-4. – doi: 10.1016/j.vaccine.2014.12.002.
43. Spayne, J. Estimate of global human papillomavirus vaccination coverage: analysis of country-level indicators / Spayne J, Hesketh T. // *BMJ Open*. – 2021. – Vol. 11, № 9. – P. e052016. – doi: 10.1136/bmjopen-2021-052016.
44. Зароченцева, Н. В. Успехи вакцинопрофилактики ВПЧ-ассоциированных заболеваний и рака шейки матки в мире и в России. Обзор литературы / Н. В. Зароченцева, В. И. Краснополяский, Ю.М. Белая // *Вопросы практической кольпоскопии. Генитальные инфекции*. – 2022. – № 1. – С. 8–16. – DOI 10.46393/27826392_2022_1_8.
45. Bruni, L. Cervical cancer screening programmes and age-specific coverage estimates for 202 countries and territories worldwide: a review and synthetic analysis / L. Bruni, B. Serrano, E. Roura [et al.] // *Lancet Glob Health*. – 2022 – Vol. 10, № 8. – P. e1115-e1127. – doi: 10.1016/S2214-109X(22)00241-8. – Erratum in: *Lancet Glob Health*. – 2023. – Vol. 11, № 7. – P. e1011. doi: 10.1016/S2214-109X(23)00240-1.
46. Nayar, R. The Pap test and Bethesda 2014 / R. Nayar, D. Wilbur // *Cancer Cytopathol.* – 2015. – Vol. 123, № 5. – P. 271-81. – doi: 10.1002/cncy.21521.
47. Сушинская, Т. В. Эффективность цитологической диагностики цервикальной интраэпителиальной неоплазии и рака шейки матки в зависимости от способа взятия материала / Т. В. Сушинская, Н. Н. Волченко, Ю. Э. Доброхотова [и др.] // *Онкогинекология*. – 2017. – №3. – С. 51–59.

48. Tritz, D.M. Etiologies for non-correlating cervical cytologies and biopsies / D. Tritz, J. Weeks, S. Spires [et al.] // *Am. J. Clin. Pathol.* – 1995. – Vol. 103, № 5. – P. 594-7. – doi: 10.1093/ajcp/103.5.594. PMID: 7741105.
49. Tzeng, J.E. Discordance between uterine cervical cytology and biopsy: results and etiologies of a one-year audit / J. Tzeng, J. Chen, M. Chang [et al.] // *Kaohsiung J. Med. Sci.* – 1999. – Vol. 15, № 1. – P. 26-31.
50. Cuzick, J. New Mexico HPV Pap Registry Steering Committee. Uptake of co-testing with HPV and cytology for cervical screening: A population-based evaluation in the United States / J. Cuzick, R. Du, R. Adcock [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2021. – Vol. 162, № 3. – P. 555-559. – doi: 10.1016/j.ygyno.2021.06.029.
51. Meijer, C.J. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older / C. Meijer, J. Berkhof, P. Castle [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2009. – Vol. 124, № 3. – P. 516-20. doi: 10.1002/ijc.24010.
52. Arbyn, M. VALGENT: A protocol for clinical validation of human papillomavirus assays / M. Arbyn, C. Depuydt, I. Benoy [et al.] // *J. Clin. Virol.* – 2016. – Vol. 76, Suppl. 1. – P. S14-S21. – doi: 10.1016/j.jcv.2015.09.014.
53. Perkins, R. B. 2019 ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines Committee. 2019 ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines for Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors / R. Perkins, R. Guido, P. Castle [et al.] // *J. Low Genit. Tract Dis.* – 2020. Vol. 24, № 2. – P. 102-131. – doi: 10.1097/LGT.0000000000000525. – Erratum in: *J. Low Genit. Tract Dis.* – 2020. – Vol. 24, – № 4. – P. 427. – doi: 10.1097/LGT.0000000000000563.
54. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 27.04.2021 № 404н "Об утверждении Порядка проведения профилактического медицинского осмотра и диспансеризации определенных групп взрослого населения".
55. Каприн, А. Д. Диспансеризация определенных групп взрослого населения России как инструмент раннего выявления злокачественных новообразований (итоги 2015-2016 гг.) / А. Д. Каприн, Л. М. Александрова, В. В. Старинский [и др.] // *Профилактическая медицина.* – 2018. – Т. 21, № 4. – С.13 19. – doi: 10.17116/profmed201821413.

56. Höhn, A.K. 2020 WHO Classification of Female Genital Tumors / A. Höhn, C. Brambs, G. Hiller [et al.] // *Geburtshilfe Frauenheilkd.* – 2021. – Vol. 81, № 10. – P. 1145-1153. – doi: 10.1055/a-1545-4279.
57. Лопухов, П.Д. Научно-методическое обоснование направлений оптимизации эпидемиологического надзора и профилактики папилломавирусной инфекции: дис. ... канд. мед.наук: 14.02.02. Эпидемиология. – М., 2018. – 117с.
58. Беляева, Е. В. Особенности распространения папилломавирусной инфекции в различных регионах Российской Федерации (обзор литературы) / Е.В. Беляева, О. А. Токарская, Т. А. Баирова // *Acta Biomedica Scientifica.* – 2018. – Т. 3, – № 3. – С. 127-135. – doi: <https://doi.org/10.29413/ABS.2018-3.3.20>.
59. Злокачественные новообразования в России в 2008 году (заболеваемость и смертность) / под ред. В. И. Чиссова, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: ФГУ «МНИОИ им. П. А. Герцена Росмедтехнологий», 2010.– 256 с.: ил. – ISBN 5-85502-024-X.
60. Злокачественные новообразования в России в 2009 году (заболеваемость и смертность) / под ред. В. И. Чиссова, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: ФГУ «МНИОИ им. П. А. Герцена Минздравсоцразвития России», 2011.– 260 с.: ил. – ISBN 9785-85502-046-0.
61. Злокачественные новообразования в России в 2010 году (заболеваемость и смертность) / под ред. В. И. Чиссова, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: ФГБУ «МНИОИ им. П. А. Герцена» Минздравсоцразвития России. – 2012.– ил. – 260 с. – ISBN 978-5-85502-154-7.
62. Злокачественные новообразования в России в 2011 году (заболеваемость и смертность) / под ред. В. И. Чиссова, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: ФГБУ «МНИОИ им. П. А. Герцена» Минздрава России. – 2013. – ил. – 289 с. – ISBN 978-5-85502-179-0.
63. Злокачественные новообразования в России в 2012 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: ФГБУ «МНИОИ им. П. А. Герцена» Минздрава России. – 2014. – илл. – 250 с. – ISBN 978-5-85502-193-6.

64. Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России. – 2015. – илл. – 250 с. – ISBN 978-5-85502-205-6.

65. Злокачественные новообразования в России в 2014 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, – 2016. – илл. – 250 с. – ISBN 978-5-85502-219-3.

66. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, – 2017. – илл. – 250 с. – ISBN 978-5-85502-227-8.

67. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, – 2018. – илл. – 250 с. – ISBN 978-5-85502-234-6.

68. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, – 2018. – илл. – 250 с. – ISBN 978-5-85502-243-8.

69. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, – 2019. – илл. – 250 с. – ISBN 978-5-85502-251-3.

70. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, – 2020. – илл. – 252 с. – ISBN 978-5-85502-260-5.

71. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой – М.:

МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, – 2021. – илл. – 252 с. – ISBN 978-5-85502-268-1.

72. Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, – 2022. – илл. – 252 с. – ISBN 978-5-85502-280-3.

73. Состояние онкологической помощи населению России в 2011 году / под ред. В. И. Чиссова, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: ФГБУ «МНИОИ им. П. А. Герцена» Минздравсоцразвития России, 2012. – илл. - 240 с. – ISBN 978-5-85502-170-7.

74. Состояние онкологической помощи населению России в 2012 году / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: ФГБУ «МНИОИ им. П. А. Герцена» Минздрава России, 2013. – илл. - 232 с. – ISBN 978-5-85502-187-5.

75. Состояние онкологической помощи населению России в 2013 году / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: ФГБУ «МНИОИ им. П. А. Герцена» Минздрава России, 2014. – илл. - 235 с. – ISBN 978-5-85502-200-1.

76. Состояние онкологической помощи населению России в 2014 году / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2015. – илл. - 236 с. – ISBN 978-5-85502-210-0.

77. Состояние онкологической помощи населению России в 2015 году / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2016. – илл. - 236 с. – ISBN 978-5-85502-226-1.

78. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. – илл. - 236 с. – ISBN 978-5-85502-231-5.

79. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена

– филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. – илл. - 236 с. – ISBN 978-5-85502-237-7.

80. Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. – илл. - 236 с. – ISBN 978-5-85502-250-6.

81. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. – илл. – 239 с. – ISBN 978-5-85502-255-1.

82. Состояние онкологической помощи населению России в 2020 году / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021. – илл. – 239 с. – ISBN 978-5-85502-262-9.

83. Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. – илл. – 239 с. – ISBN 978-5-85502-275-9.

84. Расчет медико-статистических показателей учреждений и территорий в краткосрочной динамике, применяемых в онкологии. Методические рекомендации №97. –М.: ГБУ НИИ ОЗММ, 2019. –20 с. [Электронный ресурс]. – URL: <https://niioz.ru/upload/iblock/e59/e59abf35cec8c91dc8141c7fce41bed8.pdf> (дата обращения 12.03.2023).

85. Nayar, R. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: A Historical Perspective / R. Nayar, D. Wilbur // Acta Cytol. – 2017. – Vol. 61, № 4-5. – P. 359-372. – doi: 10.1159/000477556.

86. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 23.12.1996 г. № 420 «О создании Государственного ракового регистра».

87. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.04.999 г. №135 «О совершенствовании системы Государственного ракового регистра».

88. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 15.11.2012 г. №915н «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи взрослому населению по профилю «Онкология»».

89. Приказ Федеральной службы государственной статистики от 30.08.2019 г. №479 «Об утверждении формы федерального статистического наблюдения с указаниями по ее заполнению для организации Министерством здравоохранения Российской Федерации федерального статистического наблюдения в сфере охраны здоровья». (утратил силу)

90. Приказ Федеральной службы государственной статистики от 27.12.2022 г. № 985 «Об утверждении форм федерального статистического наблюдения с указаниями по их заполнению для организации Министерством Здравоохранения Российской Федерации федерального статистического наблюдения в сфере охраны здоровья» с изменениями от 27.10.2023 г.

91. Кулешова, О. Б. Эпидемиологическая характеристика рака шейки матки в Российской Федерации / О. Б. Кулешова, Э. А. Домонова, В. Г. Акимкин // Acta biomedica scientifica – 2024. – Т. 9, № 5 – С. 22-33. – DOI 10.29413/ABS.2024-9.5.3.

92. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.02.2021 г. №116н «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи взрослому населению при онкологических заболеваниях» с изменениями и дополнениями от 24.02.2022 г.

93. Кулешова, О. Б. Направления совершенствования лабораторного компонента вторичной профилактики рака шейки матки / О. Б. Кулешова, Э. А. Домонова, Г. Н. Минкина [и др.] // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика – 2024. – Т. 23, № 4. – С. 44-54. – DOI <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-4-44-54>.

94. Баринава, И. В. Сопоставление результатов гистологического и цитологического исследования при патологии шейки матки. Взгляд патологоанатома / И. В. Баринава, С. О. Кан, И. Н. Волощук [и др.] // Новости клинической цитологии России. – 2020. – Т. 24, № 4. – С. 26-30. – doi: <https://doi.org/10.24412/1562-4943-2020-4-0005>.

95. de Sanjose, S. Retrospective International Survey and HPV Time Trends Study Group. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study / S. de Sanjose, W. Quint, Alemany L. [et al.] // *Lancet. Oncol.* – 2010. – Vol. 11, № 11. – P. 1048-56. – doi: 10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
96. Кулешова, О. Б. Практические аспекты реализации скрининга на выявление злокачественных новообразований шейки матки при проведении диспансеризации определенных групп взрослого населения / О. Б. Кулешова, Э. А. Домонова, Т. Н. Романюк [и др.] // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика* – 2023. – Т. 22, № 4. – С. 75-85. – doi: 10.31631/2073-3046-2023-22-4-75-85.
97. Кулешова, О. Б. Оптимизация скрининга рака шейки матки на основе результатов расширенного ВПЧ-теста / О. Б. Кулешова, В. Г. Акимкин, Э. А. Домонова [и др.] // *Медицинский алфавит.* – 2024. – № 31. – С. 14–19. – doi: <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-31-14-19>.
98. Yang, M. Global trends and age-specific incidence and mortality of cervical cancer from 1990 to 2019: an international comparative study based on the Global Burden of Disease / M. Yang, J. Du, H. Lu [et al.] // *BMJ Open.* – 2022. – Vol. 12, № 7. – P. e055470. – doi: 10.1136/bmjopen-2021-055470.
99. Islami, F. Trends in cervical cancer incidence rates by age, race/ethnicity, histological subtype, and stage at diagnosis in the United States / F. Islami, S. Fedewa, A. Jemal // *Prev. Med.* – 2019. – Vol. 123. – P. 316-323. – doi: 10.1016/j.ypmed.2019.04.010.
100. Orumaa, M. Recent increase in incidence of cervical precancerous lesions in Norway: Nationwide study from 1992 to 2016 / M. Orumaa, M. Leinonen, S. Campbell // *Int. J. Cancer.* – 2019. – Vol. 145, № 10. – P. 2629-2638. – doi: 10.1002/ijc.32195.
101. Asaturova, A. Cervical Cytology-Histology Correlation Based on the American Society of Cytopathology Guideline (2017) at the Russian National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology / A. Asaturova, D. Dobrovolskaya, A. Magnaeva [et al.] // *Diagnostics (Basel).* – 2022. – Vol. 12, № 1. – P. 210. – doi: 10.3390/diagnostics12010210.

102. Аттоева Д.И., Асатурова А.В., Прилепская В.Н., Стародубцева Н.Л., Шешко П.Л., Уруймагова А.Т. Сопоставление результатов клинических и морфологических методов исследований при ВПЧ-ассоциированных заболеваниях шейки матки (ретроспективное исследование) // Гинекология. - 2021. - Т. 23, № 1. - С. 78-82. – doi: 10.26442/20795696.2021.1.200647.
103. Koliopoulos, G. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population / G. Koliopoulos, V. Nyaga, N. Santesso [et al.] // Cochrane Database Syst Rev. – 2017. – Vol. 8. № 8. – P. CD008587. – doi: 10.1002/14651858.CD008587.pub2.
104. Guan, P. Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: a meta-analysis from cervical infection to cancer / P. Guan, R. Howell-Jones, N. Li [et al.] // Int. J. Cancer. – 2012. – Vol. 131, № 10. P. 2349-59. – doi: 10.1002/ijc.27485.
105. Мкртчян, Л.С. Распространённость вируса папилломы человека высокого канцерогенного риска при неопластических патологиях шейки матки / Л. С.Мкртчян, А. Д. Каприн, С. А. Иванов, [и др.] // Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). – 2018. – Т. 27, № 3. – С.55-64 – doi: 10.21870/0131-3878-2018-27-3-55-64.
106. Смолякова, Р. М. Молекулярно-генетическая диагностика вирусов папилломы человека при дисплазиях и раке шейки матки / Р. М.Смолякова, О. П.Матылевич, Е. А. Гутковская [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. – 2010. – Т. 1S. – С. 52-54. – doi: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2010-7-1s-18>.
107. Вязовая, А. А. Выявление вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска и оценка физического статуса вирусной ДНК методом полимеразноцепной реакции при поражении цервикального эпителия / А. А. Вязовая, Д. А. Куевда, О. Б. Трофимова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – Т.8. – С. 24-26.
108. Бруснигина, Н.Ф. Частота выявления вируса папилломы человека, ассоциированного с онкопатологией шейки матки, у женщин Нижнего Новгорода / Н. Ф. Бруснигина, М. А. Махова, О. М. Черневская [и др.] // Здоровье населения и

среда обитания – ЗНиСО. – 2020. – Т3. – С. 44-47. – doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2020-324-3-44-47>.

109. Долгушина, В.Ф. Распространенность различных генотипов вируса папилломы человека при патологии шейки матки / В. Ф.Долгушина, О. С. Абрамовских // *Акушерство и Гинекология*. – 2011. – №4. – С.69-74.

110. Cuzick, J. Individual detection of 14 high risk human papilloma virus genotypes by the PapType test for the prediction of high grade cervical lesions / J. Cuzick, L. Ho, G. Terry [et al.] // *J. Clin Virol.* – 2014. – Vol. 60, № 1. – P. 44-9. – doi: [10.1016/j.jcv.2014.02.002](https://doi.org/10.1016/j.jcv.2014.02.002).

111. Nakamura, Y. HPV genotyping for triage of women with abnormal cervical cancer screening results: a multicenter prospective study / Y. Nakamura, K. Matsumoto, T. Satoh [et al.] // *Int. J. Clin. Oncol.* – 2015, – Vol. 20, № 5. – P. 974-81. – doi: [10.1007/s10147-015-0789-4](https://doi.org/10.1007/s10147-015-0789-4).

112. Tao, X. Risk stratification for cervical neoplasia using extended high-risk HPV genotyping in women with ASC-US cytology: A large retrospective study from China / X. Tao, R. Austin, T. Yu [et al.] // *Cancer Cytopathol.* – 2022. – Vol. 130, № 4. – P. 248-258. – doi: [10.1002/cncy.22536](https://doi.org/10.1002/cncy.22536).

113. Назарова, Н. М. Распространенность типов вируса папилломы человека аногенитальной области у пациенток с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки / Н. М. Назарова, О. В. Бурменская, Л. А. Суламанидзе [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2015. – Т.12. – С.89-96.

114. Роговская С. И. Распространенность папилломавирусной инфекции в России (обзор литературы) / С. И. Роговская, И. В. Михеева, О. Ю. Шипулина [и др.] // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. – 2012. – №1 (62). – С.25-33.

115. Зыкова, Т. А. Распространенность, вирусная нагрузка и типовое разнообразие ВПЧ высокого онкогенного риска среди больных с воспалительными и опухолевыми заболеваниями / Т.А. Зыкова, Г. А. Неродо, О. А. Богомолова // *Медицинский вестник Юга России*. – 2018. – Т. 9, № 1. – С. 42-50. – doi: <https://doi.org/10.21886/2219-8075-2018-9-1-42-50>.

116. Чимитдоржиева, Т. Н. Распространенность вируса папилломы человека высокого онкогенного риска среди женского населения Республики Бурятия / Т. Н. Чимитдоржиева, А. М. Шмакове, Х. У. Ахматханов [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2021. – Т. 17, № 15. – С.10-14. – doi: 10.33978/2307-3586-2021-17-15-10-14
117. Bosch, F. X. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia / F. Bosch, A. Burchell, M. Schiffman [et al.] // Vaccine. – 2008. – Vol. 26, Suppl. 10. – P. K1-16. – doi: 10.1016/j.vaccine.2008.05.064.
118. Huh, W.K. Final efficacy, immunogenicity, and safety analyses of a nine-valent human papillomavirus vaccine in women aged 16-26 years: a randomised, double-blind trial / W. Huh, E. Joura, A. Giuliano [et al.] // Lancet. – 2017. – Vol. 390, № 10108. – P. 2143-2159. – doi: 10.1016/S0140-6736(17)31821-4.
119. Ronco, G. International HPV screening working group. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials / G. Ronco, J. Dillner, K. Elfström [et al.] // Lancet. – 2014. – Vol. 383, № 9916. P. 524-32. – doi: 10.1016/S0140-6736(13)62218-7.
120. Kim, J.J. Cost-effectiveness of human papillomavirus DNA testing in the United Kingdom, The Netherlands, France, and Italy / J. Kim, T. Wright, S. Goldie [et al.] // J. Natl. Cancer Inst. – 2005. – Vol. 97, № 12. – P. 888-95. – doi: 10.1093/jnci/dji162.
121. Burger, E.A. Cost-effectiveness of cervical cancer screening with primary human papillomavirus testing in Norway / E. Burger, J. Ortendahl, S. Sy [et al.] // Br. J. Cancer. – 2012. – Vol. 106, № 9. – P. 1571-8. – doi: 10.1038/bjc.2012.94.
122. Kim, J.J. New Mexico HPV Pap Registry Steering Committee. Inefficiencies and High-Value Improvements in U.S. Cervical Cancer Screening Practice: A Cost-Effectiveness Analysis / J. Kim, N. Campos, S. Sy [et al.] // Ann. Intern. Med. – 2015. – Vol. 163, № 8. – P. 589-97. – doi: 10.7326/M15-0420.
123. de Sanjosé, S. The natural history of human papillomavirus infection / S. de Sanjosé, M. Brotons, M. Pavón // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. – 2018. – Vol. 47. – P. 2-13. – doi: 10.1016/j.bpobgyn.2017.08.015. Epub 2017 Sep 6. PMID: 28964706.

124. Dong, B. Type-specific high-risk human papillomavirus viral load as a viable triage indicator for high-grade squamous intraepithelial lesion: a nested case- control study / B. Dong, P. Sun, G. Ruan // *Cancer Manag. Res.* – 2018. – Vol. 10. – P. 4839-4851. – doi: 10.2147/CMAR.S179724.
125. Adcock, R. New Mexico HPV Pap Registry Steering Committee. Role of HPV Genotype, Multiple Infections, and Viral Load on the Risk of High-Grade Cervical Neoplasia / R. Adcock, J. Cuzick, W. Hunt // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2019. – Vol. 28, № 11. – P. 1816-1824. – doi: 10.1158/1055-9965.EPI-19-0239.
126. Martinelli, M. Evaluation of Human Papilloma Virus (HPV) Genotyping and Viral Load Determination as Diagnostic Biomarkers of Cervical Cancer Risk / M. Martinelli, C. Giubbi, L. Saderi // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol. 24, № 2. – P. 1320. – doi: 10.3390/ijms24021320.