

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования "Северо-Западный государственный медицинский
университет имени И.И. Мечникова"
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный
медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова"
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

ВЕРБИТСКАЯ

Евгения Анатольевна

**ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ЦЕРВИКАЛЬНОЙ
ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИИ У БЕРЕМЕННЫХ**

14.01.12 – онкология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор Е.А.Ульрих

Санкт-Петербург

2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА I ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Современные мировые тенденции в заболеваемости преинвазивным и инвазивным раком шейки матки.....	11
1.2. Характеристика цервикальных неоплазий.....	13
1.3. Физиологические и патологические изменения шейки матки при беременности	19
1.4. Этиологическая роль ВПЧ в развитии CIN.....	23
1.5. ВПЧ инфицированность у новорожденных	30
1.6. Альтернативные методы исследования в скрининге рака шейки матки, его организация.	33
1.6.1. Тесты для выявления ВПЧ	35
1.6.2. Жидкостная цитология	43
1.6.3. Биомаркеры p16 и Ki-67 и их роль в идентификации онкогенной трансформации	44
1.7. Иммуноцитохимическое исследование во время беременности	47
1.8. «Естественная история» развития CIN.....	48
1.9. «Естественная история» развития CIN на фоне беременности	52
ГЛАВА II МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	61
2.1. Характеристика методов статистической обработки результатов исследования.	62
2.2. Характеристика методов цитологического исследования	62
2.3. Протокол иммуноцитохимического исследования.....	63
2.4. Протокол иммуногистохимического исследования.....	67
2.5. Протокол выявления ВПЧ методом ПЦР.....	68
ГЛАВА III РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	70
3.1. Клинико-морфологические особенности цервикальной интраэпителиальной дисплазии, ассоциированной с беременностью	70
3.2. Основные методы верификации дисплазии шейки матки во время беременности	75

3.3. Иммуноцитохимический, иммуногистохимический методы в дифференциальной диагностике цервикальной интраэпителиальной дисплазии во время беременности	81
3.4. Лечебная тактика ведения беременных, отягощенных цервикальной интраэпителиальной неоплазией, основанная на анализе «биологического поведения» опухоли	83
3.5. Риск передачи вируса папилломы человека от матери к ребенку	89
ГЛАВА IV ЗАКЛЮЧЕНИЕ	91
ВЫВОДЫ	99
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	101
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	102

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Инвазивный рак шейки матки занимает первое место среди гинекологических опухолей, ассоциированных с беременностью, и выявляется по данным различных авторов в среднем от 0,8 до 1,2 случаев на 10 000 беременностей [15,112]. Рак шейки матки, обнаруженный в течение 6 месяцев после прерывания беременности и 12 месяцев после родов, относится к опухолям, ассоциированным с беременностью, т.к. клинические и морфологические проявления опухолевого процесса присутствуют уже во время беременности. Среди больных раком шейки матки частота сочетания с беременностью составляет 1-3%. Средний возраст больных раком шейки матки в сочетании с беременностью – 30 лет [11,12,13].

Актуальность сочетания злокачественных опухолей с беременностью возрастает с каждым годом. В первую очередь это связано с отсрочкой деторождения. Так, в 2014 году средний возраст российских женщин при рождении ребенка приходился на 28,1 лет в отличие от 24,9 лет в 1995 году [1]. Именно в этой возрастной группе (25-29 лет) рак шейки матки занимает лидирующие позиции (19,17%) среди всех онкологических заболеваний в этом возрасте, опережая лимфопролиферативные заболевания и рак молочной железы. В возрасте 30-34 лет удельный вес рака шейки матки также остается высоким (23,76%), оставляя эту опухоль на первом месте среди всех онкологических заболеваний у молодых [3,4].

Цервикальная интраэпителиальная неоплазия (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) II, III степени, Ca in situ, приравненная по современной классификации к выраженной дисплазии (HSIL, high grade squamous intraepithelial lesions), является преинвазивным раком шейки матки с риском прогрессирования в инвазивный процесс у беременных женщин от 1,1 до 3,6% [59,89,132].

Распространенность CIN среди беременных в отличие от инвазивного рака шейки матки выше и составляет 13,0 случаев на 10 000. [18].

Вмешательство по поводу CIN на фоне беременности опасно в связи с угрозой ее прерывания, откладывание же лечения может нести риск прогрессирования заболевания. Эта дилемма диктует необходимость выявления предиктивных факторов, позволяющих адекватно определить прогноз CIN с целью выработки лечебной тактики.

Степень разработанности темы

Важный вклад в изучение проблемы сочетания гинекологического рака и беременности внесли отечественные исследования, выполненные еще в 1980-х годах Урманчеевой А.Ф. Однако, учитывая увеличение возраста первородящих женщин на протяжении последних десятилетий, перераспределение структуры онкологической заболеваемости в Российской Федерации, клинко-морфологические характеристики, а также «биологическое поведение» интраэпителиальных поражения шейки матки на фоне беременности требуют углубленного изучения. Большое внимание в литературе уделяется рассмотрению тактики и стандартизации ведения беременных женщин с патологией шейки матки. Кроме того, недостаточно освещены предиктивные факторы прогноза заболевания на фоне беременности, вопросы дополнительных методов диагностики. Анализ литературы по данной теме позволяет сделать вывод о том, что проблема предрака шейки матки, ассоциированного с беременностью, остается актуальной, порождает серьезные дискуссии и требует дальнейших исследований.

Цель исследования

Выявление клинических и морфологических особенностей цервикальной интраэпителиальной неоплазии, ассоциированной с беременностью, для оптимизации диагностики и лечения заболевания.

Задачи исследования

1. Определить клинко-морфологические особенности цервикальной интраэпителиальной неоплазии, ассоциированной с беременностью.

2. Оценить информативность цитологического метода исследования в качестве первичной диагностики и мониторинга цервикальной интраэпителиальной неоплазии, ассоциированной с беременностью.

3. Выявить предиктивные факторы течения цервикальной интраэпителиальной неоплазии, ассоциированной с беременностью.

4. Выработать лечебную тактику у беременных с цервикальной интраэпителиальной неоплазией.

5. Определить риск передачи вируса папилломы человека (ВПЧ) ребенку от матери с цервикальной интраэпителиальной неоплазией, инфицированных ВПЧ.

Научная новизна исследования

1. Впервые, на достаточно большом материале, изучены клинко-морфологические особенности цервикальной интраэпителиальной неоплазии шейки матки в сочетании с беременностью за период с 2000 по 2017гг.

2. Определены предиктивные факторы прогноза заболевания во время беременности, после родов.

3. В работе впервые оценена прогностическая значимость иммуноцитохимического анализа путем «двойного окрашивания» у беременных женщин с CIN.

4. Определен риск передачи вируса папилломы человека детям от инфицированных беременных женщин в сочетании с CIN.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные данные о предиктивных факторах прогноза CIN могут быть использованы в клинической практике при выборе оптимальной тактики ведения беременности на фоне CIN. Выработана лечебная тактика у беременных с цервикальной интраэпителиальной неоплазией.

Методология и методы исследования

Материалом исследования послужили клинко-морфологические данные 228 пациенток, направленных в ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России с диагнозом цервикальная интраэпителиальная неоплазия

шейки матки в сочетании с беременностью. Обследование и лечение проведены в период с 2000 по 2017 гг. в клинко-диагностическом отделении и отделении малой хирургии ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России.

В исследовании анализированы анамнестические, клинические, морфологические, в том числе иммуноцитохимические, иммуногистохимические, и молекулярные данные. С целью получения необходимой информации изучены амбулаторные карты пациентов, пересмотрены цитологические образцы и гистологические срезы биопсийной ткани с использованием патоморфологических классификаций CIN и Bethesda system. В клинических группах зарегистрированы сведения о среднем возрасте наступления менархе, сексуальном дебюте, контрацептивном поведении, репродуктивном анамнезе, перенесенных гинекологических и экстрагенитальных заболеваниях.

В результате пересмотра цитологического материала подтверждение заболевания было зарегистрировано в 196 случаях, в двух случаях обнаружен инвазивный рак шейки матки и выполнено радикальное лечение. После подтверждения диагноза и исключения инвазивного процесса всем женщинам (n=196) было рекомендовано пролонгирование беременности с цитологическим исследованием в течение беременности каждые 2 месяца и после родоразрешения. В дальнейшем в исследование были проанализированы результаты клинко-морфологического обследования 131/196 беременной женщины; 65 случаев не включены в исследование: данные не прослежены.

Верификация диагноза и цитологический мониторинг проведен методами традиционного и жидкостного цитологического исследования эпителия экзоцервикса и эндоцервикса. С помощью иммуногистохимического и иммуноцитохимического метода изучены качественные признаки маркеров пролиферативной и антипролиферативной активности Ki-67 и p16 при CIN у беременных женщин. С этой целью гистологическое исследование с иммуногистохимическим анализом выполнено на биоптатах шейки матки во время беременности (n= 23), послеоперационном материале (n=57), а именно соскобах из цервикального канала и конусах резецированной шейки матки после

родоразрешения или прерывания беременности. Иммуноцитохимический анализ CINtec PLUS на стейнере VENTANA выполнен на образцах с жидкой средой BD SurePath (n=10).

С помощью метода полимеразной цепной реакции выявлена частота инфицирования ВПЧ среди женщин с CIN в сочетании с беременностью. Определен риск орофарингеальной колонизации ВПЧ у детей от ВПЧ-инфицированных матерей. С этой целью выделена группа детей, родившихся от ВПЧ-инфицированных женщин, страдающих цервикальной интраэпителиальной дисплазией во время беременности, которая представлена 10-ю новорожденными до 2-х суток от рождения и 20-ю детьми в возрасте от 1,1 до 3,4 лет.

В результате исследования проанализировано течение и исход заболевания во время беременности, после родоразрешения или прерывания беременности.

Критериями включения в исследование являлись: впервые установленный диагноз CIN во время настоящей беременности.

Критерии исключения: ВИЧ-инфекция, инвазивный рак шейки матки.



Рисунок 1. Дизайн исследования

Положения, выносимые на защиту

1. Активное лечение CIN во время беременности может быть отложено на послеродовой период в виду низкого риска прогрессирования за период гестационного срока.
2. Во время беременности необходимы тщательный мониторинг с цитологическим исследованием и в спорных случаях иммуноцитохимическим анализом, оценка предиктивных факторов (возраст, степень CIN, ВПЧ-статус, наличие эктопии шейки матки).
3. Путь родоразрешения не влияет на «биологическое поведение» CIN.

Степень достоверности и апробация результатов

Материалы диссертации докладывались и обсуждались на Ежегодной VII научно-практической конференции «Амбулаторная акушерско-гинекологическая служба. Сохранение и восстановление фертильности» (Санкт-Петербург, 2015г.), семинаре для врачей "Вопросы ранней диагностики и профилактики рака молочной железы и рака шейки матки" (Санкт-Петербург, 2016г.), IV Национальном конгрессе "Дискуссионные вопросы современного акушерства" (Санкт-Петербург, 2017г.), на II Национальном Научно-Образовательном конгрессе «Онкологические проблемы от менархе до менопаузы» (Москва, 16 февраля 2018г.).

По теме диссертации опубликовано 8 работ в отечественной печати, в том числе 3 в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК при Минобрнауки России.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно выполнен анализ отечественной и зарубежной литературы. Произведена оценка результатов обследования и лечения беременных женщин в сочетании с CIN. Автор участвовал в лечебно-диагностических вмешательствах у обратившихся беременных женщин в ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 116 страницах машинописного текста и состоит из введения, глав, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Библиографический указатель включает 14 отечественных и 120 зарубежных источников. Диссертация иллюстрирована 27 таблицами и 21 рисунком.

ГЛАВА I ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные мировые тенденции в заболеваемости преинвазивным и инвазивным раком шейки матки

Заболеваемость раком шейки в России составляет 14,47 на 100 000 женского населения (2014г). Ежегодно в мире регистрируется 371 000 новых случаев рака шейки матки, ежегодно умирают от этого заболевания 190 000 женщин. В России рак шейки матки занимает 2-е место по распространенности среди злокачественных новообразований женщин до 45 лет. Заболеваемость раком шейки матки неуклонно растет и за последние 10 лет увеличилась в среднем на 28%. К сожалению, в РФ в 2015 году абсолютное число выявленных инвазивных форм рака шейки матки составило 16710, а Ca in situ шейки матки - 4637. В это же время в Санкт-Петербурге выявлено 583 новых случаев рака шейки матки и тенденции к снижению не наблюдается [3,4]. Период развития рака шейки матки последовательный, бессимптомный и достаточно длительный процесс, который может и должен быть остановлен на этапе дисплазии. Средний возраст женщин, страдающих раком шейки матки, составляет 50-54 лет. Однако, в 2016 году в возрастных группах 25-29 и 30-34 рак шейки матки занял первые лидирующие позиции в структуре онкологической заболеваемости у молодых, составляя 19,17% и 23,76%, соответственно, опережая рак молочной железы и лимфопролиферативные заболевания. Актуальность сочетания злокачественных опухолей с беременностью возрастает с каждым годом. В первую очередь это связано с откладыванием деторождения. Согласно данным Евростата демографической статистики наблюдается тенденция в увеличении среднего возраста женщин при родах (Таблица 1). Средний возраст при рождении первого ребенка значительно варьируют в разных странах, в США, например, средний возраст женщины при рождении первого ребенка составил 26,3, в то время как в Корее достиг 31,0 год. В 2013 году средний возраст матерей при рождении их первого ребенка увеличился среди государств ЕС. Средний возраст женщин при

рождении первого ребенка в Италии 30,6 лет, в Испании -30,4 лет, в Люксембурге- 30,0 лет, в Греции-29,9 лет [43].

Таблица 1. Средний возраст матери при рождении первого ребенка в ЕС, 2013

	Общее количество первых родов	Возрастные группы				Средний возраст рождения первого ребенка
		Младше 20	20-29	30-39	40 и старше	
Страны ЕС	2 340 627	5,4%	51,2%	40,6%	2,8%	28,7
Бельгия	54 580	3,5%	60,2%	34,4%	1,8%	28,5
Чехия	51 224	4,7%	55,6%	38,6%	1,0%	28,1
Германия	337 175	4,1%	49,8%	43,7%	2,5%	29,3
Ирландия	26 081	4,7%	39,2%	52,7%	3,4%	29,4
Греция	47 674	3,2%	40,8%	51,9%	4,1%	29,9
Испания	223 843	3,5%	32,0%	59,4%	5,1%	30,4
Франция	343496	4,8%	60,3%	32,8%	2,1%	28,1
Хорватия	18 420	5,7%	58,0%	34,6%	1,7%	28,0
Италия	251 450	1,8%	38,0%	54,1%	6,1%	30,6
Кипр	4469	2,4%	57,0%	38,7%	1,9%	29,0
Люксембург	3 251	2,4%	43,9%	49,9%	3,8%	30,0
Мальта	2 086	6,6%	52,3%	39,9%	1,2%	28,4
Нидерланды	79 460	2,2%	53,5%	42,1%	2,1%	29,4
Австрия	28 168	4,4%	53,3%	39,8%	2,5%	28,8
Португалия	45 787	5,7%	43,5%	48,2%	2,6%	28,9
Словения	10 469	1,9%	58,7%	38,0%	1,4%	28,5
Финляндия	23 558	4,5%	56,5%	37,0%	1,9%	28,5
Швеция	49 247	2,6%	56,3%	38,9%	2,3%	29,1
Великобритания	304 153	8,2%	51,6%	37,5%	2,7%	28,3
Исландия	1 689	4,6%	68,4%	25,0%	2,0%	27,4
Норвегия	25 402	3,3%	59,2%	35,7%	1,8%	28,6
Швейцария	40 058	1,5%	43,2%	51,5%	3,7%	30,4
...	...					

В Российской Федерации в 2014 году средний возраст матери при рождении ребенка приходился на 28,1 лет в отличие от 24,9 лет в 1995г. (Таблица 2) [1].

Кроме того, самая высокая рождаемость достигла в 2012 году у женщин в возрасте 25-29 лет [14].

Таблица 2. Средний возраст матери при рождении детей в данном году, 2015

Годы	Средний возраст женщин, родивших ребенка в данном году	
	Городское население	Сельское население
1995	24,9	24,6
1996	25,1	24,8
1997	25,3	25,0
1998	25,5	25,1
1999	25,7	25,2
2000	25,9	25,3
2001	26,1	25,4
2002	26,3	25,5
2003	26,5	25,6
2004	26,7	25,7
2005	26,8	25,8
2006	26,9	25,9
2007	27,3	26,3
2008	27,5	26,5
2009	27,8	26,5
2010	28,1	26,7
2011	28,2	26,6
2012	28,4	26,6
2013	25,5	26,7
2014	28,7	26,9

1.2. Характеристика цервикальных неоплазий

Инвазивному раку шейки матки обычно предшествует длительный период преинвазивного заболевания. Микроскопически это характеризуется как ряд происходящих событий от клеточной атипии до различных классов дисплазии или цервикальной интраэпителиальной неоплазии (Cervical Intraepithelial neoplasia, CIN) и до прогрессирования в инвазивную карциному. Знание этиологии, патофизиологии и естественной истории CIN с точки зрения регресса, персистенции и частоты прогрессирования обеспечивает понимание принципов лечения этих поражений. Классификация цервикальных изменений имеет свою собственную историю. Описание предшественников рака шейки матки датируется

концом девятнадцатого века, когда фокусы неинвазивных атипичных эпителиальных изменений были обнаружены в образцах тканей, прилегающих к инвазивному раку.

В 1927 году румынский врач по имени Аурел Бабеш использовал платиновую петлю для сбора клеток из шейки матки женщин для выявления раковых клеток. Большой вклад в разработку классификации принадлежит Папаниколау. В классификации описано 5 категорий, начиная с I (нормальной) до V (инвазивная карцинома) категории. Поэтому, исторически создателем теста является Георгиос Папаниколау. Однако, в честь Бабеша в Румынии тест именуется как *Methode Babeş-Papanicolaou*.

С 1939 года начато применение «Пап-Теста». В 1941 и 1943 годах издается статья и монография, после чего запускается широкомасштабная программа простого, дешевого и безболезненного метода Папаниколау, а также в это время происходит развитие метода для диагностики рака легких, желудка, мочевого пузыря и других органов, опубликовано 160 научных трудов, включая пять монографий. В 1954 году Папаниколау издает «Атлас эксфолиативной цитологии», трактат, содержащий исчерпывающую информацию о цитологии как здоровой, так и патологической ткани, и не только в женской репродуктивной системе, но также и других органов. Термин «дисплазия» введен в конце 1950-х годов для обозначения цервикальной эпителиальной атипии, которая является промежуточной между нормальным эпителием и *Ca in situ* [96]. Дисплазия далее была разделена на три группы - легкая, умеренная и тяжелая - в зависимости от степени поражения толщины эпителия. Впоследствии, на протяжении многих лет ранние предраковые поражения шейки матки регистрировались с использованием категорий дисплазии и *Ca in situ* и по-прежнему широко используются во многих развивающихся странах.

Система классификации дисплазии и *Ca in situ* все чаще воспринималась как произвольная форма, основанная на результатах ряда исследований с участием женщин с такими поражениями. Было отмечено, что некоторые случаи дисплазии регрессируют, некоторые сохраняются, а другие развиваются в *Ca in situ*.

Наблюдалась прямая корреляция между прогрессирующим и гистологическим уровнем поражения. Эти наблюдения привели к концепции единого непрерывного процесса, при котором последовательно из диспластических изменений развивается инвазивный рак. Исходя из вышеприведенных наблюдений, термин цервикальная интраэпителиальная неоплазия был введен в 1968 году для обозначения всего диапазона клеточной атипии, ограниченной эпителием. CIN был разделен на классы 1, 2 и 3 [99]. CIN 1 соответствовал легкой дисплазии, CIN 2 - умеренной дисплазии, а CIN 3 соответствовал как тяжелой дисплазии, так и *Ca in situ*.

В 1980-х годах все чаще признавались патологические изменения, такие как койлоцитарная или кондиломатозная атипия, связанная с инфекцией папилломавируса человека (ВПЧ). Койлоциты являются атипичными клетками с перинуклеарной зоной просветления и многочисленными вакуолями в цитоплазме, что указывает на цитопатические изменения, вызванные ВПЧ-инфекцией. Это привело к созданию бинарной гистологической системы двух классов. Таким образом, в 1990 году гистопатологическая терминология, основанная на двух классах заболеваний, предложила: LSIL (Low grade Squamous Intraepithelial Lesions), включающий койлоцитарную атипию и поражения CIN 1, и HSIL (High grade Squamous Intraepithelial Lesions), которые считались истинными предшественниками инвазивного рака [100].

В 1988 году по инициативе национального онкологического института США (National Cancer Institute, NCI) было созвано рабочее совещание, чтобы предложить новую схему отчетности о результатах цервикального цитологического исследования [113]. Рекомендации этого семинара и последующий пересмотр, проведенный в 1991 году, стали известны, как система Бетесда, 2001 (The Bethesda System, TBS). Главной особенностью TBS было создание термина плоскоклеточного интраэпителиального поражения (Squamous Intraepithelial Lesions, SIL) и бинарная схема, состоящая из LSIL и HSIL (Таблица 3,4).

Таблица 3. Классификация патологических состояний шейки матки , Система Бетесда, 2001 (The Bethesda System, TBS)

NIL	Negative for intraepithelial lesion or malignancy	Отсутствие интраэпителиальных изменений или злокачественной опухоли
ASC	Atypical squamous cells	Атипичные клетки плоского эпителия
ASC-US	Atypical squamous cells of undertermined significance	Атипичные клетки плоского эпителия неясного значения
ASC-H	Atypical squamous cells cannot exclude HSIL	Атипичные клетки плоского эпителия, не позволяющие исключить высокую степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения
SIL	Squamous intraepithelial lesion	Плоскоклеточное интраэпителиальное поражение
HSIL	High grade squamous intraepithelial lesion	Высокая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения
LSIL	Low grade squamous intraepithelial lesion	Низкая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения
AGC	Atypical glandular cells	Атипичные железистые клетки
AGC, favor neoplastic	Atypical glandular cells, favor neoplastic	Атипичные железистые клетки, похожие на неопластичные
AGUS-NOS	Atypical glandular cells of undertermined significance not otherwise specified	Атипичные железистые клетки неясного значения, неопределенные
AIS	Adenocarcinoma <i>in situ</i>	Аденокарцинома <i>in situ</i>

Таблица 4. Классификации патологических состояний шейки матки: Папаниколау, ВОЗ, CIN, Бетесда.

Система Папаниколау, 1954	Описательная система ВОЗ, 1968	Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, 1968	Система Бетесда, 2001
Класс 1 (норма)	Отсутствие злокачественных клеток	Отсутствие неопластических изменений	Норма
Класс 2 (метаплазия эпителия, воспалительный тип)	Атипия, связанная с воспалением		Реактивные изменения клеток ASC: ASC-US, ASC-H
Класс 3 («дискератоз»)	Слабая дисплазия	CIN 1 Койлоцитоз	LSIL
	Умеренная дисплазия	CIN 2	HSIL
	Тяжелая дисплазия	CIN 3	
Класс 4 (клетки, подозрительные на рак или карцинома in situ)	Карцинома in situ		
Класс 5 (рак)	Инвазивная карцинома	Карцинома	Карцинома

Патогномоничных симптомов или клинических признаков, указывающих на наличие у пациентки CIN, нет. Однако при вагинальном исследовании в зеркалах многие из этих повреждений при применении 3-5% уксусной кислоты могут стать ацетобелыми или могут быть йод-отрицательными при применении раствора Люголя, поскольку эпителий CIN содержит мало или вообще не содержит гликогена. Диагноз CIN можно идентифицировать путем микроскопического исследования цервикальных клеток в цитологическом мазке, окрашенном техникой Папаниколау. В цитологических препаратах для диагностики CIN оцениваются индивидуальные изменения клеток. Напротив, гистологическое исследование тканей позволяет рассмотреть несколько других признаков. Цитологическая оценка CIN, основанная на ядерных и цитоплазматических изменениях, часто довольно сложна. Изменение размера и формы ядра является

особенностью всех диспластических клеток. Повышенная интенсивность окрашивания (гиперхромазия) - еще одна важная особенность. Нерегулярное распределение хроматина также всегда присутствует в диспластических клетках. В цитологических мазках определяются патологические митозы. Аномальные ядра в поверхностных или промежуточных клетках указывают на LSIL, тогда как аномалия в ядрах парабазальных и базальных клетках указывает на HSIL. Размер цитоплазмы по отношению к размеру ядра (ядерно-цитоплазматическое соотношение) является одним из самых важных признаков для оценки степени CIN. Чем больше это соотношение, тем более тяжелая степень CIN. Чаще всего цервикальный образец содержит клетки с рядом изменений. Поэтому опыт цитолога имеет критически важное значение в окончательной оценке.

Окончательный диагноз CIN устанавливается путем гистопатологического исследования биопсийного материала шейки матки. Пропорция толщины эпителия, содержащая зрелые и дифференцированные клетки, используется для классификации CIN. Более тяжелые степени CIN будут иметь большую долю поражения толщины эпителия, состоящего из недифференцированных клеток и узкого слоя зрелых, дифференцированных клеток на поверхности. При постановке диагноза оцениваются ядерные аномалии, такие как увеличенные ядра, увеличенное ядерно-цитоплазматическое соотношение, повышенная интенсивность ядерного окрашивания (гиперхроматика), ядерный полиморфизм и изменение размера ядер (анизокариоз). В клетках наблюдаются патологические митозы, находящиеся в клеточном делении, которые редко встречаются в нормальном эпителии, и, если они присутствуют, то только в парабазальном слое. По мере увеличения тяжести CIN число митотических фигур также увеличивается; они могут быть замечены в поверхностных слоях эпителия.

При CIN 1 наблюдается хорошее созревание клеток с минимальными ядерными аномалиями и несколькими митотическими фигурами. Недифференцированные клетки ограничиваются более глубокими слоями (нижняя треть) эпителия. Митотические фигуры присутствуют, но не очень

многочисленны. Цитопатические изменения, вызванные ВПЧ-инфекцией, могут наблюдаться во всей толщине эпителия.

CIN 2 характеризуется диспластическими клеточными изменениями, которые в основном ограничиваются нижней половиной или нижними двумя третями эпителия, с более выраженными ядерными аномалиями, чем при CIN 1. Митотические фигуры можно увидеть по всей нижней половине эпителия.

В CIN 3 дифференциация и стратификация могут полностью отсутствовать или присутствовать только на поверхности эпителия с многочисленными митотическими фигурами. Ядерные аномалии распространяются по всей толщине эпителия. Многие митотические фигуры имеют патологические формы.

1.3. Физиологические и патологические изменения шейки матки при беременности

Проблемы, затрудняющие диагностику предраковых заболеваний шейки матки, связаны с физиологическими изменениями шейки матки при беременности. Во время беременности слизистая шейка матки претерпевает такие изменения, как утолщение базального слоя многослойного плоского эпителия, гиперплазия и пролиферация резервных клеток, увеличение количества и размеров желез, усиление секреции, обильная васкуляризация стромы, её децидуальная трансформация, смещение стыка эпителиев в сторону эктоцервикса. Физиологическая эктопия во время беременности сопровождается выраженной гипертрофией, интерстициальным отеком и васкуляризацией сосочков, в которых наблюдаются извитые терминальные сосуды.

Цианотичный цвет слизистой оболочки шейки матки во время беременности обусловлен застоем крови, особенно в венозных сплетениях малого таза, а также увеличением размера и количества кровеносных сосудов, приводящих к гиперемии шейки матки. Увеличение лимфатических сосудов шейки матки во время беременности также может способствовать этим изменениям. Кроме того, строма становится размягченной и отечной вследствие задержки жидкости и сопутствующей гиперплазии слизистой оболочки эндоцервикса. Пролиферация столбчатых клеток приводит к увеличению

столбчатых ворсинок, железистая ткань может представлять собой «сотовый» вид. Характерным изменением во время беременности является децидуальная реакция стромы, которая может быть ограниченной и очаговой или довольно обширной, и вызывать полиподобные поражения, называемые децидуальными полипами. Консистенция и появление цервикальной слизи также претерпевают характерные изменения во время беременности с превращением в более вязкие и мутные, с беловатым или желтоватым цветом. Хорошо известно, что оценивать шейку матки легче примерно через 16-18 недель гестации, чем при ранней беременности, из-за выворота эндоцервикального эпителия, когда зона трансформации более доступна для кольпоскопического обследования.

Кольпоскопическая оценка во время беременности затруднена из-за физиологических, связанных с беременностью метапластических изменений, которые могут напоминать вид интраэпителиального поражения шейки матки после применения уксусной кислоты. Типичными изменениями во время беременности являются как цианоз шейки матки и гипертрофия, так и отек эндоцервикальных желез. Кроме того, обширная незрелая метаплазия часто вызывает интенсивное ацетобелое окрашивание после применения уксусной кислоты.

Также обращает на себя внимание увеличение сосудистости и мелкая пунктуация, а также мозаичные картины ацетобелых областей метаплазии. Эти изменения могут быть легко истолкованы как HSIL. Децидуальная реакция беременной матки является следствием высокого уровня прогестерона, который увеличивает клетки как эндометрия, так и эндоцервикса. Реакция является предпосылкой для имплантации и дальнейшего прогрессирования беременности. Эта децидуальная реакция эндоцервикальных желез в сочетании с сосудистыми изменениями может имитировать инвазивный рак. Грубая мозаичная картина и пунктуация HSIL обычно можно отличить от физиологических изменений. Повышенный отек и васкуляризация шейки матки могут способствовать кровоточивости и этот факт необходимо учитывать.

Гормональные изменения во время беременности затрудняют интерпретацию цитологического образца, а также резко влияют на кольпоскопический вид шейки матки. Кроме того, гормональная стимуляция эндоцервикальных желез увеличивает выработку слизи, которая может затруднять кольпоскопическую визуализацию шейки матки. Кольпоскопически поля дисплазии во время беременности могут симулировать поля метаплазии призматического эпителия на фоне зоны незаконченной трансформации или на границе призматического и многослойного плоского эпителия. Отмечается полиморфизм образований и разный уровень их расположения по отношению к соседнему полю и окружающему эпителию. Во время беременности наблюдается реакция Ариаса-Стеллы, при которой децидуальные клетки представляют собой большие гипервакулированные клетки с перемененно окрашенной цитоплазмой и большими ядрами, которые часто могут быть распознаны как диспластические. Незрелые метапластические клетки также присутствуют в больших количествах и могут толковаться как тяжелая внутриэпителиальная неоплазия. Кроме того, клетки цитотрофобласта и синцитиотрофобласта могут встречаться в цитологических образцах. Активная незрелая метаплазия часто вызывает большие участки тонких ацетобелых изменений, которые могут содержать мелкую пунктуацию или мозаичность, что затрудняет отличить от легкой дисплазии. По мере развития беременности децидуализация стромы может быть более выраженной, появляются плотные ацетобелые поражения с кружевными поверхностными кровеносными сосудами. Нормальные капилляры могут также иметь тонкое кольцо децидуализированной стромы в виде ацетобелых участков, вызывая появление «звездного неба» [25, 73].

В 2010 году был опубликован крупнейший анализ, включавший 51079 беременных женщин с аномальной кольпоскопической картиной и атипическими изменениями в цитологических мазках шейки матки. Fader A. и ее коллеги обнаружили, что кольпоскопические признаки цервикальной интраэпителиальной неоплазии легкой степени были сопоставимы с гистологическим заключением биоптата в 81,5% случаев. Гистологическое исследование биоптата шейки матки

при CIN2-3 коррелировало с кольпоскопическими признаками в 100% случаев [44].

Основной целью кольпоскопии для беременных женщин является исключение инвазивного рака и отложить биопсию и окончательное лечение до послеродового периода. Во время беременности оптимальным методом диагностики является только цитологическое и кольпоскопическое исследование без гистологического подтверждения. Согласно рекомендациям NHSCSP (The National Health Service of Cervical Screening Programme), женщинам, у которых цитологически выявляется LSIL во время беременности, необходимо повторить кольпоскопию через 3 месяца после родов. Если имеется подозрение на HSIL, рекомендована кольпоскопия в конце второго триместра, если же срок гестации миновал 2-ой триместр, то исследование провести через три месяца после родоразрешения. Если клинически или кольпоскопически имеется подозрение на инвазивный процесс, рекомендована биопсия [83].

Ретроспективное исследование Economos (1993г) продемонстрировало сравнительный анализ цитологического, кольпоскопического и гистологического исследования у 112 женщин с аномальным цитологическим результатом во время беременности [42]. При сравнении цитологического и кольпоскопического исследования в пределах одной степени тяжести соответствие составило 91%, при сравнении кольпоскопического и гистологического диагноза - 95%. Кольпоскопическая прицельная биопсия показала себя как безопасный и надежный метод у беременных женщин. Аналогичные результаты были представлены среди работ Hunter MI, Palle C, Jain AG [52,89]. Несмотря на это, практические рекомендации в Великобритании и континентальной Европе регламентируют выполнение биопсии шейки матки в случаях, когда подозревается инвазивный процесс, как клинически, так и кольпоскопически [83].

Согласно руководящим принципам Американского общества кольпоскопии и патологии шейки матки (American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, ASCCP) для беременных женщин с CIN 1, у которых при начальной кольпоскопии цитологически или гистологически исключен CIN2+,

рекомендовано наблюдение после родов. Дополнительное кольпоскопическое или цитологическое исследование не является необходимым. В случаях CIN 2-3 и исключении инвазивного процесса рекомендовано кольпоскопическое и цитологическое исследование с интервалом не чаще 12 недель. Повторная биопсия выполняется при ухудшении клинической картины или подозрении на инвазивный рак цитологически. После исключения инвазивного рака лечение считается неприемлемым, рекомендовано повторное обследование через 6 недель после родов [72].

1.4. Этиологическая роль ВПЧ в развитии CIN

Распространенность ВПЧ обусловлена многочисленными факторами, а также во многом определяется социально-экономическими, поведенческими и медико-гигиеническими условиями. Так, например, минимальная частота инфицированности вирусом папилломы человека наблюдается в Испании и составляет 5% [24]. На Филиппинах этот показатель выше и составляет 9,2%. Наибольший уровень выявления наблюдается в Аргентине и Гондурасе и приближается к 40% [51,116]. С другой стороны, в США, Канаде - странах с высоким социально-экономическим и образовательным уровнем - частота инфицирования ВПЧ у женщин составляет 26%, 21,8%, соответственно [24]. Среди здоровых и больных раком шейки матки женщин наиболее часто обнаруживается ВПЧ 16 типа. В 1,5-2 раза реже выявляется ВПЧ 18 типа. Суммарно, на их долю приходится 45% от общей ВПЧ-инфицированности. В Европе и США среди других типов ВПЧ чаще выявляются 31, 33, 35 типы и, в совокупности, составляют приблизительно 8% от всех генитальных папилломавирусов. Для азиатских стран характерна высокая встречаемость 52, 58 типов ВПЧ. Распределение и выявление тех или иных типов ВПЧ крайне важно в диагностических и превентивных целях.

На основании данных исследования Александровой Ю.Н. и соавторов, в котором распространенность вируса папилломы человека оценивалась у женщин Санкт-Петербурга, представленность генотипов ВПЧ среди российских женщин

находится в диапазоне мировых вариаций, и около 29% здоровых женщин репродуктивного возраста Санкт-Петербурга являются носителями ВПЧ. В исследовании, проведенном в Санкт-Петербурге и Республике Карелия, использовали тест для выявления только семи типов ВПЧ высокого онкогенного риска: 16, 18, 31, 33, 35, 45 и 56. Несмотря на ограниченное количество выявляемых типов, доля положительных результатов составила в Санкт-Петербурге и Республике Карелия 31,5% и 35%, соответственно [7]. По результатам Шипулиной О.Ю. 2011 года в исследовании группы 823 женщин 30-65 лет города Санкт-Петербурга, генотипы ВПЧ встречались: 16 тип в 3,9%, 31 тип - в 2,8%, 52 тип - в 1,7 % и 33 тип - в 1,3% [8]. В 2015 году опубликовано исследование ВПЧ генотипирования при CIN шейки матки на основании биоптатов 95 женщин 19-62 лет, находившихся на обследовании и/или лечении в Санкт-Петербургском городском клиническом онкологическом диспансере с октября 2014 года по октябрь 2015 года. Результаты исследования представлены в следующих значениях: ВПЧ 16 генотипа - в 50 (52,6 %) случаях, ВПЧ 33 генотипа – в 9 (9,5 %) случаях, сочетание ВПЧ 33 с ВПЧ 31 и 56 генотипов – в 5 (5,3 %) [2].

Ценные наблюдения по вопросам эпидемиологии рака шейки матки были сделаны еще в 19 веке. Итальянский врач Ригони-Штерн еще в 1842 году опубликовал анализ статистики летальных исходов от рака шейки матки в Вероне за период с 1760 по 1830 г. Смертность от рака шейки матки была только у женщин, ведущих регулярную половую жизнь. Однако смерти из рака шейки матки среди девственниц и монахинь зафиксировано не было.

В период с 1974 по 1976 год zur Hausen постулировал возможную роль ВПЧ в развитии рака шейки матки. Meisels А. опубликовал доклад о появлении койлоцитов в цервикальном мазке, которые указывали на наличие папилломавирусной инфекции [74]. С 80-ых годов 20 века были идентифицированы несколько типов вируса папилломы человека. Уже тогда этиология рака шейки матки связывали с несколькими типами ВПЧ, кроме того, с высоким преобладанием 16 типа. В 1980-м году папилломавирусная этиология генитальных плоских кондилом была выявлена с помощью электронно-

микроскопических, иммуногистохимических и ДНК – гибридизационных методов исследований. Первые типы ВПЧ были выделены непосредственно при биопсии рака шейки матки – ВПЧ 16 и ВПЧ 18, они были клонированы в 1983 и 1984 годах [41]. В течение 4-ех лет поставленный эксперимент разъяснил роль ВПЧ в этиологии возникновения рака шейки матки за счет экспрессии специфических вирусных генов, таких как Е6 и Е7. Ранние эпидемиологические исследования показали высокую частоту инфекции у молодых девушек и снижение уровня инфицирования с возрастом, что представляет собой фактор высокого риска для развития рака шейки матки у женщин старшего возраста. Последующие 14 лет привели к более глубокому пониманию функции вирусных онкогенов и более детальному изучению естественной истории ВПЧ-инфекции. Большое число перспективных эпидемиологических исследований и исследований случай-контроль указали, что сохраняющаяся ВПЧ-инфекция является наиболее значимым фактором риска развития рака шейки матки [24].

Жизненный цикл папилломавируса отличается от других семейств вирусов: для развития инфекции необходимо наличие эпидермальной или эпителиальной клетки слизистой оболочки. Для цервикального канцерогенеза присуще сочетание неконтролируемой клеточной пролиферации и геномной нестабильности, за которую в значительной степени ответственны вирусные гены Е6 и Е7. Увеличение онкогенов Е6 и Е7 в базальном слое клеток инициирует неконтролируемую клеточную пролиферацию и отсутствие апоптоза клеток, при этом в клетке возникает хромосомная нестабильность и, следовательно, большая вероятность злокачественной прогрессии. Этот тип инфекции известен как «трансформирующая инфекция» и ассоциируется почти исключительно с ВПЧ высокого онкогенного класса. Существенной особенностью вируса является их способность переключаться с инфекции непродуктивного типа к инфекции продуктивного типа. В первом случае ВПЧ размножается синхронно с клеткой, не нанося ей вреда. Во втором случае он быстро реплицируется и, разрушая клетку, высвобождает массу новых вирионов, способных инфицировать другие клетки. Результатом прямого повреждения ДНК клетки-хозяина является геномная

нестабильность, в итоге, пролиферирующая популяция клеток развивается в соответствии с хромосомными aberrациями [39, 80]. Однако, многие авторы приходят к выводу, что инфицирование эпителиальных клеток ВПЧ необходимый, но недостаточный этап для канцерогенеза [129].

ВПЧ 16 типа является преобладающим онкогенным генотипом и выявляется в 59,3% плоскоклеточного рака и 36,3% аденокарциномы шейки матки по всему миру. ВПЧ 18 типа - второй распространенный генотип, частота инфицированности при аденокарциноме и плоскоклеточном раке составляет 36,8% и 13,2%, соответственно. ВПЧ 16 и 18 типа имеют самый высокий онкогенный потенциал и являются наиболее вирулентными. Lungu в своем исследовании провел корреляцию относительно связи типа ВПЧ со степенью интраэпителиального поражения (CIN). Оказалось, что CIN I является наиболее гетерогенным повреждением: 19% CIN I были ассоциированы с ВПЧ 6 или 11 типа; 29% содержали ВПЧ 16, 18, 33 тип и 19% ассоциировались с другими типами вируса; 22% CIN I включали более одного типа ВПЧ. CIN II и CIN III были относительно гомогенными в ассоциации с ВПЧ: 88% из них содержали ВПЧ 16,18 или 33 и только 7% ассоциировались с множественными типами.

Кроме того, распространенность ВПЧ-инфекции зависит от возраста и выше у женщин в возрасте от 15 до 25 лет с последующим снижением приблизительно до 3% среди женщины старше 30 лет. Так, первый пик инфицированности ВПЧ приходится на репродуктивный возраст женщин 25-30 лет, а второй пик - у женщин после 55 лет [98].

Исследования показали, что такие факторы, как возраст при первом половом контакте, число сексуальных партнеров, сексуальное поведение партнера, генитальные хронические инфекции, использование оральных контрацептивов, курение, связаны с повышенным риском развития и персистенции ВПЧ-инфекции. Предрасполагающим фактором для развития интраэпителиального поражения шейки матки является продолжительное инфицирование вирусом папилломы человека [30,46,47]. Женщины, которые начинают вступать в половую связь в возрасте до 16 лет, более уязвимы к ВПЧ

инфекции, так как в период полового созревания шейка матки претерпевает клеточные изменения в зоне трансформации. Более того, эти женщины имели в 2,2 раза более высокий риск развития CIN и рака шейки матки [98].

Поскольку рак шейки матки вызван персистенцией ВПЧ высокого онкогенного риска (ВПЧ-ВР), вероятно, тестирование на ВПЧ-ВР может повысить эффективность скрининга.

В исследовании ATHENA по данным рутинного цитологического скрининга в 23 штатах Америки с 2008 по 2009 гг. с достоверными результатами проанализировано 40 901 женщин в возрасте ≥ 21 года. Распространённость ВПЧ-ВР среди женской популяции составила 10,3% (4220 из 40 901), которая уменьшалась с возрастом: 17,8% у женщин в возрасте 25-29 лет, 6,5% у женщин в возрасте ≥ 50 лет [79].

Распространенность ВПЧ-ВР у женщин с негативным цитологическим результатом составляла 9%, наиболее высокие показатели наблюдались у женщин в возрасте 25-29 лет. Эти результаты аналогичны данным Wheeler CM, наивысшая распространенность (21,8%) любого канцерогенного типа ВПЧ была обнаружена у женщин в возрасте 25-29 лет и самой низкой распространенностью (6,9%) у женщин старше 50 лет [127].

Обзор литературных данных также представил риски развития CIN у ВПЧ-инфицированных женщин. У ВПЧ 16- положительных женщин 3-летний риск развития CIN3 составлял 10,6%, тогда как у ВПЧ 16-отрицательных женщин этот риск был гораздо ниже - 2,4%. У ВПЧ 18, 33-положительных женщин 3-летний риск развития CIN3 составил 5,9% для каждого типа. У женщин с аномальным цитологическим исследованием распространенность разных типов ВПЧ-ВР составила 29,7%, что примерно в 3 раза больше чем у женщин с отрицательным цитологическим результатом [107].

По данным Joseph Monsonogo, 2015г., распространенность ВПЧ 16 и 18 типов возрастала с тяжестью заболевания CIN. В целом, ВПЧ 16 типа был выявлен в 45,6% случаев \geq CIN3 (125 из 274), тогда как ВПЧ 18 типа в 8,4% (23 из 274). Распространенность ВПЧ 16 среди CIN2 и \geq CIN3 была значительно выше,

чем распространенность ВПЧ 18 типа, особенно у женщин в возрасте 25-29 лет. Тем не менее, ВПЧ 18 отвечал за 50% аденокарциномы *in situ* (8 из 16), а также 50% инвазивного рака. ВПЧ 31 типа определялся в 12,0% CIN2 (33 из 274), но с прогрессированием от CIN2 до \geq CIN3 наблюдалось его уменьшение. Интересно, что распространенность ВПЧ 45 среди \geq CIN3 составляла всего 2,6% (7 из 274) [79].

Согласно Mingzhu Liu, Xiaolong Yan, 2017, в 34 исследованиях риск прогрессирования заболевания CIN1 в ВПЧ-положительной группе был в 3,4 раза выше, чем в ВПЧ-отрицательной группе [67]. Двадцать три исследования оценили влияние инфекции ВПЧ на стойкость поражений CIN1, объединенный анализ показал, что риск персистенции CIN 1 был в 1,48 раза выше в ВПЧ-положительной группе, чем в ВПЧ-отрицательной группе. Двадцать семь исследований оценили влияние инфекции ВПЧ на регресс CIN1: регресс CIN1 был в 0,65 раз ниже в ВПЧ-положительной группе, чем в ВПЧ-отрицательной группе [67].

Исследования о влиянии типа ВПЧ и продолжительности инфекции на поведение CIN1 показали, что персистенция ВПЧ-ВР является основным фактором риска развития CIN2+, тогда как ВПЧ-НР и транзитная инфекция в значительной степени не связаны с повышенным риском прогрессирования CIN1. [67].

По результатам Mittal S, Basu P, 2017г., риск вирусной персистенции у женщин в возрасте 50-60 лет был в 2 раза выше по сравнению с женщинами в возрасте 40-49 лет и в 3 раза выше по сравнению с женщинами в возрасте 30-39 лет [77]. Прогрессирование заболевания в CIN2+ наблюдалось в 51,2% в группе женщин 50-60 лет. В более ранних исследованиях наблюдалось, что встречаемость CIN2+ у женщин с положительным результатом ВПЧ увеличивается с возрастом, инфицированием ВПЧ 16 типа и более длительной продолжительностью наблюдения. В дополнение к возрасту и вирусной персистенции, независимым фактором риска прогрессирования заболевания является возрастающая вирусная нагрузка ВПЧ [102].

Origoni M. и соавторы наблюдали значительную корреляцию между вирусной нагрузкой с вероятностью возникновения CIN2+ у пациентов с атипичными плоскоклеточными клетками (ASCUS). Они пришли к выводу, что вирусная нагрузка может быть прогностически значимым фактором в развитии HSIL. У женщин с увеличением вирусной нагрузки был в четыре раза выше риск развития CIN2+ (20,9% против 4,8%, $p < 0,001$) [84].

Вопросы распространённости и влияния вируса папилломы человека на риск развития CIN среди молодых женщин 15-25 лет проанализированы в многоцентровом контролируемом исследовании PATRICIA. Наиболее распространёнными типами ВПЧ были ВПЧ-16, ВПЧ-31, ВПЧ-18, ВПЧ-33 и ВПЧ-45. Персистирующая ВПЧ-инфекция определялась, как обнаружение одного и того же типа ВПЧ при двух последовательных оценках в течение 6 месяцев. Длительность инфицирования ВПЧ оказала заметное влияние на риск развития поражения, при этом 6-месячная персистенция ВПЧ продемонстрировала наивысший риск развития CIN. Выявлены риски развития поражения CIN, связанного с 6-месячной стойкой инфекцией. Группы сравнения представлены женщинами с 6-месячной персистенцией ВПЧ онкогенного и не онкогенного типа. Риск прогрессирования в CIN3 у женщин с ВПЧ-16 и ВПЧ-33 типа был в 25 раз более высокий, с ВПЧ-31 типа - в 10 раз, с ВПЧ-18 и ВПЧ-45 типа - в 6 раз, а у пациентов с любым другим онкогенным типом - в 4 раза выше, чем у женщин с не онкогенным типом ВПЧ.

В исследовании PATRICIA была произведена оценка распространённости ВПЧ, рисков прогрессирования в CIN и элиминации из организма для онкогенных видов. В целом, среди молодых женщин 15-25 лет инфекция ВПЧ была элиминирована в 53%, 79%, 87% и 89% через 12, 24, 36 и 48 месяцев, соответственно. ВПЧ-16 и ВПЧ-31 были менее склонны к элиминации из организма, чем не онкогенные типы ВПЧ. ВПЧ-16 обладал высокой распространённостью, высоким риском прогрессирования и низкой вероятностью элиминации, ВПЧ-33 демонстрировал более низкую распространённость, высокий риск прогрессирования и среднюю вероятность элиминации. ВПЧ-31 имел

среднюю распространенность, средний риск прогрессирования и небольшую вероятность элиминации. ВПЧ-18 имел среднюю распространенность, прогрессию и элиминацию. Выводы для других типов ВПЧ в данном исследовании не приводились [56].

1.5. ВПЧ инфицированность у новорожденных

Наряду с тем, что папилломавирус человека является центральным этиологическим агентом для развития большинства случаев рака шейки матки, а также злокачественных новообразований вульвы, влагалища, ануса и ротоглотки, вместе с тем, вирус способствует развитию ряда доброкачественных изменений [65,24]. Наиболее часто встречаемыми являются генитальные бородавки, а менее распространенным - жизненно угрожающий рецидивирующий респираторный папилломатоз, который может стать причиной механической обструкции дыхательных путей [24,70].

Рецидивирующий респираторный папилломатоз - вирусиндуцированное заболевание верхних дыхательных путей, которое характеризуется появлением папилломатозных поражений обычно гортани, но при агрессивном течении приводит к вовлечению носоглотки, трахеобронхиального дерева и, реже, легочной паренхимы. Болезнь чаще встречается среди детского населения. К сожалению, отечественная статистика не располагает достоверными сведениями о распространенности заболевания. Однако, в Дании заболеваемость ювенильным рецидивирующим респираторным папилломатозом составляет 3,62 случая на 100 000 детского населения. По данным национального института в г.Бетесда (NIDCD) в Соединенных Штатах насчитывается около 20 000 случаев заболевания рецидивирующим респираторным папилломатозом, среди детей заболеваемость составляет примерно 4,3 на 100 000 человек; среди взрослых - около 1,8 на 100 000 человек [50]. Основной пик заболеваемости приходится на 2-3 года, но предполагают и возможность врожденного папилломатоза [71]. Типы вируса папилломы человека классифицируются как имеющие высокий и низкий риск в соответствии с их потенциалом для злокачественной трансформации

эпителиальных клеток [26]. Подтипы 6 и 11 отвечают за развитие более чем 90% случаев респираторного рецидивирующего папилломатоза [61,45]. Более агрессивное течение заболевания развивается у пациентов, инфицированных 11 типом ВПЧ [38]. Подтипы 16, 18, 31 и 33 реже выявляются при респираторном папилломатозе, однако их потенциал для злокачественной трансформации в частности в плоскоклеточную карциному выше [26]. По данным Syrjänen S., 2010, трансформация респираторного папилломатоза в злокачественную гортанную карциному происходит в 3-5% случаев [115].

ВПЧ-инфекция у детей встречается чаще всего при рождении, во время прохождения через родовые пути инфицированных матерей [45,26,61]. Трансплацентарный путь инфицирования плода описан примерно в 12% случаев [104]. Систематический обзор литературы не показал статистически значимой разницы в частоте инфицирования вирусом в зависимости от пути родоразрешения [127]. Тем не менее, результаты исследований вызывают острые споры, поэтому определение факторов риска, частоты и механизмов передачи вируса имеет клиническую значимость для понимания последствий инфекции для ребенка.

Систематический обзор P.Liu, L.Xu 2014 года объединил 28 исследований, который включил 13 640 беременных и небеременных женщин соответствующего возраста [68]. Исследовательские группы были из Азии, Европы, Северной Америки и Австралии. Обе группы были сопоставимы с точки зрения социально-демографических данных, таких как возраст, количество половых партнеров, гестационного срока. Метод обнаружения ДНК ВПЧ был идентичный в каждом исследовании. Следовательно, группы имели небольшую гетерогенность. Распространенность ВПЧ у беременных женщин варьировала от 16% до 82%, а у небеременных женщин соответствующего возраста составила от 12% до 25%. Приведенные результаты указывают на высокую распространенность ВПЧ-инфекции у беременных женщин по сравнению с общей популяцией, что многими учеными объясняется относительной иммуносупрессией у беременных женщин.

Кроме того, мета-анализ свидетельствует, что беременные женщины, особенно в возрасте <25 лет, более восприимчивы к ВПЧ-инфекции [68].

Принимая во внимание текущие эпидемиологические данные, можно сделать вывод, что передача ВПЧ от матери к новорожденному возможно до, во время и после родов. Несмотря на половой путь передачи вируса папилломы человека, кожные бородавки и оральные папилломы характерны и описаны у детей, что указывает на другие пути передачи инфекции. Потенциальные пути заражения ВПЧ от матери к новорожденным могут быть следующими: 1) во время прохождения плода через инфицированный родовой канал, 2) восходящая инфекция после преждевременного разрыва околоплодных оболочек, 3) гематогенное распространение. Проведенные проспективные исследования показывают, что риск перинатальной передачи существует, но инфицированность может носить транзиторный характер. Согласно литературным данным, наличие ДНК ВПЧ в образцах новорожденных и младенцев широко варьирует в диапазоне от 0 до 80%. В исследовании María Soledad Sánchez-Torices, 2014г. вирусную ДНК зарегистрировали в 9 образцах амниотической жидкости, что составляло 10% пациентов; в образцах пупочной венозной крови вирусная ДНК была идентифицирована только в 6 случаях- 7% [105]. Полное соответствие по количеству и типу в отношении серотипов, выделенных в каждой среде. Что касается неонатальной орофарингеальной колонизации ВПЧ, вирус был выделен сразу после родов у 53 (58,24%) из 91 новорожденных, однако через 7-10 дней после рождения только у 27 (24,57%) из 91 сохранялась колонизация ДНК ВПЧ.

Исследование Jach R. 2015г. зарегистрировало ДНК ВПЧ после родов у 16 (53,3%) из 30 новорожденных. ДНК ВПЧ при рождении отмечено у 8 (5,2%) из 153 новорожденных. Семь из этих восьми младенцев были рождены от ВПЧ-положительных матерей [66].

Park H. в 2012г. доложил о частоте инфицирования ВПЧ у новорожденных в мазках слизистой оболочки полости рта в неонатальном периоде в 10 (3,4%) из 291 случаев [91]. Генотипы были идентичны во всех парах матери-новорожденного. Наиболее частыми типами были 16 и 53. Частота вертикальной

передачи ВПЧ оценивалась в 18,2% (10/55), однако через 6 месяцев после родов ДНК ВПЧ, обнаруженные при рождении, не определялись ни в одном случае.

Исследование Tseng CJ, 1998г. продемонстрировало общую частоту передачи ВПЧ от ВПЧ 16,18-положительных матерей к новорожденным в 39,7% (27/68) [118]. Значительно более высокий показатель ВПЧ 16/18 инфекции был обнаружен после влагалищных родов, чем после операции кесарево сечение (51,4% против 27,3%, $P = 0,042$). Мета-анализ K. Chatzistamatiou K., 2015г продемонстрировал более низкие показатели ВПЧ среди новорожденных после операции кесарево сечение по сравнению с влагалищными родами 14,9% и 28,2% соответственно с минимальной гетерогенностью между исследованиями [31]. Более высокая частота вертикальной передачи вируса папилломы человека около 70-80%, была получена из ранних небольших исследований, когда метод обнаружения ДНК ВПЧ с помощью ПЦР был на стадии развития [28,94].

Так как результаты исследований зависят от критериев отбора, размера выборки, периода наблюдения и, в частности, метода анализа, интерпретация извлеченных из каждого исследования данных затруднена, неоднозначна и требует дальнейшего изучения.

1.6. Альтернативные методы исследования в скрининге рака шейки матки, его организация.

Рак шейки матки до сих пор остается проблемой общественного здравоохранения, так как является третьей по значимости причиной смерти от гинекологического рака среди женщин в РФ. Однако карцинома шейки матки является предотвратимым заболеванием. Раннее выявление и лечение являются ключом к снижению заболеваемости и смертности от рака. В развитых странах скрининг карциномы шейки матки уже более 50 лет проводится обычными мазками по Папаниколау, что значительно уменьшает заболеваемость, успешно выявляя бессимптомных женщин с ранней цервикальной неоплазией. Однако эти показатели остаются очень высокими в развивающихся странах, где цервикальный скрининг либо отсутствует, либо недостаточно охватывает

население. В России программа организованного скрининга также отсутствует, что негативно отражается в статистике данного заболевания [4,6].

Цитологический скрининг относится к вторичной профилактике рака шейки матки, задачей которого является выявление опухоли шейки матки на стадии интраэпителиальной неоплазии. Эффективность цитологического исследования при выявлении карциномы шейки матки подтверждена многочисленными исследованиями и признана экспертами ВОЗ в качестве скрининга злокачественных неоплазий шейки матки. Организованная программа скрининга помимо целевых групп населения, метода исследования, интервалов, протокола программы, основана на твердых доказательствах эффективности. Организация программы скрининга должна быть утверждена на национальном или региональном уровне, который отвечает за реализацию скрининга, поддержание необходимого качества и отчетности о производительности и результатах, это обеспечивает надзор и мониторинг скрининга. Таким образом, для усиления эффективности программы скрининга на уровне населения необходима высокая степень организации. В РФ регламентированы лишь общие положения: ежегодные профилактические осмотры всех женщин старше 18 лет с проведением цитологического исследования мазков с поверхности шейки матки и цервикального канала. Вопрос о периодичности проведения скрининга остается спорным и зависит от метода исследования.

Самые продолжительные в мире программы скрининга рака шейки матки на уровне населения существуют в Финляндии и Швеции с 1963 и 1967г, соответственно. В Германии и Нидерландах цервикальный скрининг применяется с 70-х годов. Начало проведения скрининга в отношении возраста также варьирует в различных странах. В Чешской Республике и Словении самый широкий диапазон возраста при начале скрининга от 25-30 до 64-69 лет. Однако, оппортунистический скрининг в отличие от популяционного ориентирован на более широкие возрастные группы, что не рекомендовано для включения в программы скрининга. В Эстонии более узкий интервал возрастной группы 30-59лет. Некоторые страны приняли первичный скрининг в виде ВПЧ-тестирования

в качестве национальных скрининговых программ: в Дании, Финляндии, Италии (4 региона с 2012 года, с 2018-все регионы страны), Швеции (в качестве самостоятельного скринингового теста), Румынии и Мальте (совместно с цитологическим методом), Португалии (как самостоятельный, так и совместно с цитологическим методом), Нидерландах, Мексике, Руанде, США (как самостоятельный, так и совместно с цитологическим методом). Кроме того, в странах ЕС тест на ВПЧ используется для наблюдения после лечения CIN. В популяционных программах скрининг в качестве ВПЧ-тестирования начинается в более позднем возрасте, чем цитологическое исследование. Интервал скрининга составляет 3 или 5 лет для популяционных программ цитологического скрининга (кроме Чехии) и 5 лет для программ на основании ВПЧ-тестирования. При цитологическом тестировании, несвязанном с популяцией, интервал отбора часто намного короче рекомендуемого интервала 3 или 5 лет.

Всемирная организация здравоохранения рекомендует в странах с ограниченными ресурсами организовать хотя бы одноразовый скрининг всех женщин 35-40 лет, а при наличии больших возможностей частоту скрининга повысить до 1 раза в 10 или в 5 лет для всех женщин 35-55 лет. Вместе с тем, профилактическое обследование должно носить массовый поточный характер, так как за счет активного привлечения женщин, не проходивших обследование, можно существенно повысить эффективность скрининга в противораковой борьбе, поэтому самой большой проблемой скрининга является его организация.

1.6.1. Тесты для выявления ВПЧ

Внедрение идентификации вируса папилломы человека методом ПЦР-Hybrid Capture 2 в клиническую практику породило надежды на дальнейшее улучшение эффективности скрининга патологии шейки матки. В рандомизированных клинических испытаниях было продемонстрировано, что ВПЧ-тестирование может быть эффективно интегрировано, как дополнение к цитологическому методу исследования, либо в качестве единственного первичного теста. Кроме того, было продемонстрировано, что ВПЧ тестирование

может быть дополнительным методом исследования при выявлении женщин с повышенным риском рецидива заболевания после лечения CIN [19,20,90].

В настоящее время разработано множество анализов для обнаружения нуклеиновых кислот онкогенных и неонкогенных типов ВПЧ в образцах шейки матки. Основным преимуществом использования ВПЧ-тестирования является высокая чувствительность, так как отсутствие канцерогенного ВПЧ указывает на низкий риск развития цервикальной интраэпителиальной неоплазии тяжелой степени или инвазивного рака [27]. Однако остается проблема в недостаточной специфичности анализа в связи с невозможностью дифференцировать транзиторный или стойкий характер инфекции. Тем не менее, данные проспективных когортных исследований и рандомизированных клинических испытаниях показали, что метод ВПЧ тестирования является высокоспецифичным и чувствительным для выявления тяжелых неоплазий у женщин в возрасте старше 30 лет.

Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) одобрено 4 теста анализа ДНК ВПЧ:

1. The Hybrid Capture 2 (HC2) для обнаружения 13 типов ВПЧ ВР и ВПЧ 68;
2. Cervista HPV HR (Hologic), обнаружение 14 типов ВПЧ ВР;
3. Cervista ВПЧ 16/18 (Hologic), определение 16 и 18 типов ВПЧ;
4. Cobas 4800 ВПЧ (Roche Diagnostics), принцип ПЦР в режиме реального времени, обнаружение 12 типов ВПЧ ВР, также специфичен в отношении 16 и 18 типов.

Наиболее часто используемым анализом ДНК ВПЧ во всем мире является тест на ДНК ВПЧ с гибридным захватом (The Hybrid Capture 2, QIAGEN), называемый также Digene-тест ВПЧ, который представляет собой анализ на основе гибридизации, захвата антител и амплификации сигнала для обнаружения 13 канцерогенных типов ВПЧ и ВПЧ 68 типа. HC2 был одобрен FDA в 1999 году, затем с дополнением в 2003 году:

1. Для выявления ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 и 68, как основного этиологического фактора в развитии рака шейки матки.
2. В качестве скрининга в сочетании с цитологическим исследованием (co-testing).
3. Использование теста на ВПЧ при ведении пациенток с ASC-US
4. В качестве мониторинга после терапии для пациентов с интраэпителиальным поражением шейки матки.

По данным Arbyn M., 2012г., при оценке последних мета-анализов и систематических обзоров имеются доказательства, свидетельствующие о том, что использование «гибридного захвата» имеет преимущество среди инновационных методов [20]. HC2 обладает высокой чувствительностью и в среднем на 23-43% выше, чем цитологический метод в зависимости от степени неоплазии (CIN2+ или CIN3+), но специфичность ВПЧ-тестирования (82-97 %) уступает специфичности цитологического метода (78-99%). Несколько других тестов показывают, по меньшей мере, аналогичную точность, но анализ мРНК с тестом АРТІМА было столь же чувствительным, но более специфичным для идентификации CIN2 + по сравнению с анализом HC 2.

Анализ РНК ВПЧ предназначен для обнаружения вирусных мРНК, кодирующих белки Е6 и Е7, которые являются наиболее важными аспектами в канцерогенезе рака шейки матки. Сверхэкспрессия мРНК является маркером злокачественной трансформации клетки под влиянием ВПЧ. Поскольку белки Е6 и Е7 экспрессируются на более поздних стадиях трансформации инфекций по сравнению с транзитными формами, которые спонтанно регрессируют, определение экспрессии Е6/Е7 может обеспечить выявление клинически значимых инфекций ВПЧ. Для выявления мРНК ВПЧ Е6/Е7 в образцах шейки матки доступно 4 анализа. Анализы АРТІМА (GenProbe) и OncoTect (IncellDX) основаны на методе обратной транскриптазы и полимеразной цепной реакции. Однако АРТІМА ВПЧ Assay обнаруживает мРНК Е6/Е7 из 14 генотипов ВПЧ (13 канцерогенов плюс ВПЧ 66), но не различает типы.

В 2011 году FDA одобрило АРТІМА для 1) скрининга женщин в возрасте старше 21 года с ASC-US по результатам цитологического исследования для решения вопроса о необходимости кольпоскопии и 2) скрининга женщин в возрасте 30 лет и старше в сочетании с цитологическим методом.

Другие два анализа PreTect ВПЧ-Proofer (Norchip) и NucliSENS EasyQ (Biomerieux), основанные на технологии амплификации нуклеиновых кислот, способны обнаруживать транскрипты Е6/Е7 из пяти наиболее распространенных вирусных типов высокого риска при карциноме шейки матки (ВПЧ 16, 18, 31, 33 и 45). Однако методы не были одобрены федеральным управлением по контролю за качеством пищевых продуктов (FDA) для использования при скрининге рака шейки матки. Так как анализ обнаруживает небольшое количество канцерогенных типов ВПЧ, чувствительность этого метода более низкая, и, напротив, тест PreTect ВПЧ-proofer имеет гораздо более высокую специфичность по сравнению с HC2.

Метод обнаружения онкобелка Е6, кодируемого ВПЧ 16, 18 и 45 типами, претендовал на роль в скрининге патологии шейки матки. В настоящее время доступно два теста, а именно OncoE6 (Arbor Vita Corporation) и Cytoactiv (Cytoimmun Diagnostics). OncoE6 способен идентифицировать белок Е6 и, согласно экспериментальным данным, его экспрессия более специфична для обнаружения CIN3+, чем HC2 (98,9% против 86,8%, соответственно), но отмечается более низкая чувствительность (67,3% против 98% соответственно) [35]. Анализ Cytoactiv предназначен для измерения потери экспрессии L1, однако клиническое значение такого анализа до сегодняшнего дня не определено.

До настоящего времени во всем мире нет единых скрининговых программ по выявлению рака и предрака шейки матки. В США и ЕС используются такие скрининговые программы как традиционное цитологическое исследование, Co-testing (сочетание ВПЧ теста+ПАП тест) или только ВПЧ-тестирование. Рекомендации по скринингу рака шейки матки согласно обществ ACS, ASCCP, ASCP, ACOG на основании сочетанного цитологического исследования и ВПЧ-тестирования (Таблица 5):

- Женщины в возрасте 21-29 лет должны подвергаться цитологическому исследованию каждые 3 года. ВПЧ-тестирование не рекомендуется.

- Женщины в возрасте 30-65 лет должны подвергаться co-testing (ВПЧ тест+ПАП-тест) каждые 5 лет (предпочтительно). Или проводить ПАП-тест каждые 3 года (приемлемо).

Скрининг не проводится после 65 лет, если:

- В анамнезе отсутствуют аномальные цервикальные клетки или рак шейки матки

- Три отрицательных результата на Пап-тест или двух отрицательных co-testing в течение последних 10 лет с последним тестом, проведенным за последние 5 лет.

- Наличие вакцинации против ВПЧ не изменяет рекомендации по скринингу. Женщины, которые были вакцинированы против ВПЧ по-прежнему должны следовать рекомендациям по скринингу для своей возрастной группы.

Женщины с ВПЧ-положительным/ПАП-отрицательным тестом, как отмечено в рекомендациях ASCCP, должны либо 1) повторить co-testing через 12 месяцев, либо 2) ВПЧ тестирование специфичное для 16/18 генотипа. Если положительный результат любого теста: следует выполнить кольпоскопию, если отрицательный тест: возврат к рутинному скринингу.

Распространенность ВПЧ-положительного/ПАП-отрицательного результата co-testing скрининга, представленная в девяти исследованиях, составила от 3,4% до 8,2% в возрасте женщин 30 лет и старше. В скрининговой популяции женщин в возрасте 30 лет и старше доля этого результата (3,7%) была выше в два раза, чем у ВПЧ-положительных/ПАП-положительных результатов (1,4%) [6059,130]. Выбранный интервал ре-скрининга 12 месяцев подтверждается когортными исследованиями, где зарегистрировано элиминация транзиторных инфекций через этот период [60].

Таблица 5. Программа скрининга рака шейки матки в государствах ЕС

Возраст, лет	Рекомендации	Примечание
<21	Нет скрининга	
21-29	Цитологическое исследование один раз в 3 года	(ВПЧ тестирование не должно использоваться в качестве скрининга в этой группе)
30-65	Цитологическое исследование+ВПЧ "Co-testing" один раз в 5 лет (Предпочтительно) Цитологическое исследование один раз в 3 года (Приемлемо)	ВПЧ+, Цит иссл-: Вариант 1) контроль через 12 мес; Вариант 2) Тест для ВПЧ 16 или Генотипы ВПЧ 16 / 18
		Если ВПЧ16 или ВПЧ16 / 18 +: Кольпоскопия
		Если ВПЧ16 или ВПЧ16 / 18 -: контроль через 12 мес
		Если ВПЧ – Цит иссл -: Ре-скрининг через 5 лет
>65	Нет скрининга	Женщины в анамнезе CIN2+ должны продолжить рутинный скрининг не менее 20 лет

Таблица 6. Программа скрининга рака шейки матки в государствах ЕС

Страны ЕС	Начало программы скрининга, год	Целевой возраст, лет	Интервал скрининга, лет
Австрия	NA	18+	1
Бельгия	2013	25-64	3
Болгария	NA	-	-
Хорватия	2012	25-64	3
Кипр	NA	-	-
Чешская Республика	2008	15+	1
Дания	2006	23-59 (ВПЧ тест:60-65)	3(23-59);5(60-64)
Эстония	2006	30-59	5
Финляндия	1963	30-64	5
Франция	1991	25-64	3
Германия	1971	20+	1
Греция	NA	Сексуальный дебют+	-
Венгрия	2003	25-65	3
Ирландия	2008	25-60	3(25-44);5(45-60)
Италия	1989	25-64	3
Латвия	2009	25-69	3
Литва	2004	25-59	3
Люксембург	NA	18+	1
Мальта	2015	25-35	3
Нидерланды	1970	30-64	5
Польша	2006	25-29 (Ко-тест: 30-59)	3
Швеция	1967	23-60	3(23-50);5(51-60)
Великобритания	1988	25-64	3(23-49);5(50-64)

Крупнейшее американское проспективное регистрационное клиническое исследование ATHENA оценило эффективность первичного скрининга ВПЧ-тестирования с помощью Cobas теста у женщин в возрасте 25 лет и старше. В исследовании также был определен количественный риск рака и предрака шейки матки у женщин с ВПЧ 16+ и/или ВПЧ 18+, которые имели ASC-US или у которых была нормальная цитология.

Результаты исследования ATHENA:

- Цитологическое исследование не выявило приблизительно 50% CIN3+ у женщин 25-29 лет.
- Результаты отрицательного ВПЧ предсказывают половину риска развития CIN3+ в течение 3 лет, чем результат отрицательного ПАП-теста.

В качестве основного скрининга у женщин старше 25 лет ВПЧ-тестирование продемонстрировало самую высокую чувствительность в выявлении CIN3+ (76,1%). Чувствительность для CIN3+ при традиционном ПАП-тесте составила 47,8% по сравнению с Hybrid Capture 2 - 61,7%. ПАП-тест у женщин старше 25 обладал самой высокой специфичностью для CIN3+ и составил 97,1%. ВПЧ-тестирование продемонстрировало более низкие показатели специфичности - 93,5%. По сравнению с цитологическим исследованием у женщин старше 30 лет HC2 и ВПЧ-тестирование обладали одинаковой чувствительностью в обнаружения CIN2+.

В январе 2016 года Американский колледж акушеров и гинекологов (ACOG) опубликовал «Практический бюллетень 157», который рекомендует первичный скрининг ВПЧ в качестве альтернативы существующим методам скрининга рака, основанные на цитологическом исследовании у женщин 25 лет и старше. Бюллетень ACOG подкрепляет временное руководство, выпущенное в 2015 году SGO и ASCCP.

Общество гинекологической онкологии (SGO), Американское общество кольпоскопии и цервикальной патологии (ASCCP), а также пять других национальных медицинских организаций США (ACOG, ACS, ASCP, ASC, CAP) выпустили промежуточный руководящий отчет после одобрения FDA теста Cobas

HPV как первичного и основного скрининга рака шейки матки. Это новое руководство в дополнение к существующим руководящим принципам 2012 года конкретно касается внедрения тестов на ВПЧ при первичном скрининге (Рисунок1):

- Первичное тестирование на ВПЧ показано женщинам с 25 лет.
- Женщины с отрицательным результатом первичного ВПЧ не должны повторно тестироваться в течение как минимум трех лет. Этот же интервал показан при цитологическом скрининге.
- Положительный тест на ВПЧ 16 или 18 типа должен сопровождаться кольпоскопией. Тестирование, которое положительно для остальных типов ВПЧ, должно сопровождаться цитологическим исследованием.

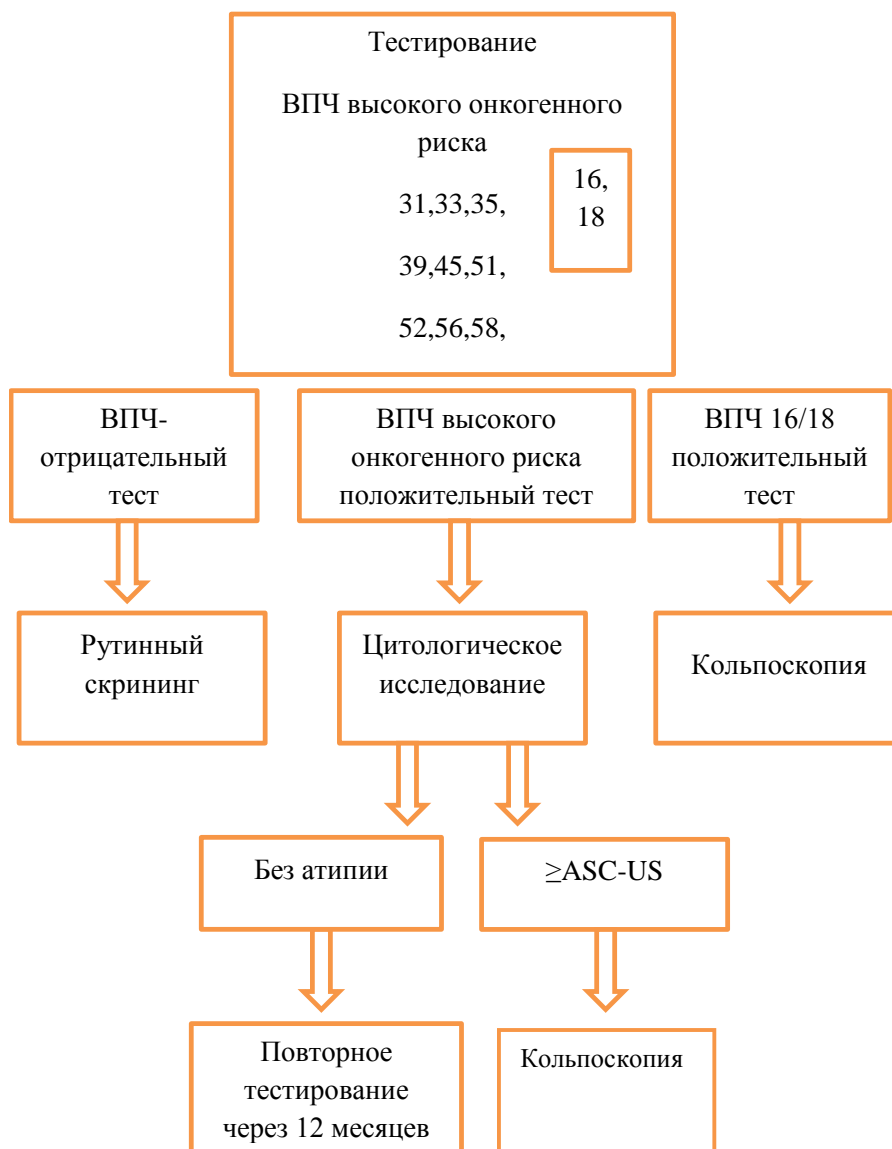


Рисунок 2. ВПЧ-тестирование в качестве скрининга (Cobas Test)

1.6.2. Жидкостная цитология

После классических работ Папаниколау и других авторов было показано, что цитологический метод исследования является высоко чувствительным и специфичным в диагностике интраэпителиальных повреждений и начального преклинического рака шейки матки (карциномы *in situ*, микроинвазивного и скрытого инвазивного рака), это позволило значительно снизить заболеваемость и смертность от рака шейки матки.

В последнее время все большее распространение получила жидкостная цитология. Материал, полученный с помощью щеточек, помещается в жидкую транспортную среду. С помощью центрифуги Цитоспин приготавливаются тонкие мазки с монослойным расположением клеток. Цитологический материал может быть использован для иммуноцитохимического метода исследования, либо ДНК-тестирования. В Великобритании метод жидкостной цитологии используется наряду с традиционным методом скрининга рака шейки матки. Сравнение метода жидкостной цитологии с традиционным методом исследования, проводившееся в многочисленных международных исследованиях, не демонстрируя однозначных результатов. В некоторых публикациях сообщалось, что жидкостная цитология, вероятно, уменьшает число ложноотрицательных ответов и неудовлетворительных препаратов и сокращает время исследования. Однако большие затраты на оборудование и расходные материалы, трудоемкость обработки материала делают его применение при цитологическом скрининге проблематичным. Скорее всего, этот метод найдет широкое распространение при дополнительной цитологической диагностике на этапе углубленного обследования выявленных больных [6].

Несмотря на то, что с появлением цитологического метода исследования достигнут огромный успех в диагностике патологии шейки матки, по данным различных исследований, чувствительность этого метода составляет от 66% до 83%. Кроме того, зарегистрировано большое количество ложноположительных результатов теста из-за наличия гиперплазии резервных клеток, атипичной незрелой метаплазии или воспалительной атипии [110].

1.6.3. Биомаркеры p16 и Ki-67 и их роль в идентификации онкогенной трансформации

Морфологические особенности интраэпителиального поражения отражают баланс между факторами, приводящими к прогрессированию патологического процесса и оказывающими ингибирующее воздействие на его развитие. Степень тяжести патологических изменений, выявляемая при гистологическом исследовании биопсийного материала, определяет лечебные мероприятия. Тем не менее, при гистологическом исследовании биопсийной ткани иногда сложно провести дифференциальную диагностику между тяжестью интраэпителиального поражения, а также доброкачественными процессами эпителия. Помимо этого, в случаях, когда патологический очаг находится в промежуточном слое многослойного плоского эпителия, возникают трудности в детекции тяжести патологического процесса. Исследования в настоящее время сосредоточены на разработке объективных биомаркеров, которые могут спрогнозировать тяжесть заболевания. В качестве возможных кандидатов для оптимизации точности диагностики изучены маркеры p16 и Ki67.

Нормальный клеточный цикл состоит из G1, S, G2 и M фаз. Эпителий шейки матки представляет собой динамическую ткань с постоянным клеточным обновлением. Фермент E2F обеспечивает прохождение клетки из G1 в S фазу клеточного цикла. В физиологическом состоянии он неактивен и связан с белком-супрессором Rb. Белок p16^{INK4a} осуществляет контроль разобщения комплекса E2F-Rb, не допуская безудержной пролиферации клетки. Однако синтез p16^{INK4a} в норме по механизму обратной связи сдерживается, таким образом, концентрация данного белка в нормальной клетке чрезвычайно мала, что проявляется негативной иммуноцитохимической реакцией. С тяжестью процесса, p16^{INK4a} накапливается в ядре и цитоплазме пораженных клеток и может быть обнаружен путем иммунологического окрашивания. Суперэкспрессия p16 предполагает наличие онкопротеина E7 вируса, а одновременное присутствие Ki-67 свидетельствует об изменении контроля клеточного цикла.

Гиперэкспрессия p16^{INK4a}, а именно, диффузное и интенсивное окрашивание увеличивается с тяжестью поражения и составляет 2% среди клеток без атипии, 38% - при CIN1, 68% и 82% - при CIN 2 и 3, соответственно [20,119].

Большой мета-анализ, включивший семнадцать исследований, показал, что чувствительность p16^{INK4a} для обнаружения CIN2 + была в среднем 83% для ASCUS и LSIL, а специфичность составила 71% и 65,7% среди ASCUS и LSIL соответственно [103]. Исследования, проведенные на основе тестов Hybrid Capture 2 и p16^{INK4a}, показали, что они обладают сходной чувствительностью, но p16^{INK4a} имеет статистически значимую более высокую специфичность у женщин с ASCUS. Более того, было показано, что гиперэкспрессия p16^{INK4a} является прогностическим фактором в развитии CIN2 в течение 3 лет среди женщин, инфицированных ВПЧ, особенно в возрасте 35-60 лет [27].

Антиген Ki-67 является ядерным протеином, его экспрессия позволяет выделить опухолевые клетки, находящиеся в активной фазе клеточного цикла на всём его протяжении (G1-, S-, G2- и M-фазы). Ki-67 отсутствует только в G0-периоде. В нормальной эпителии шейки матки экспрессия Ki-67 ограничивается пролиферирующими базальными и парабазальными клетками, а при интраэпителиальном поражении Ki-67-позитивные клетки находятся в промежуточном и поверхностном слоях эпителия. Это позволяет использовать маркер для верификации и дифференцировки степени тяжести патологического процесса.

Результаты исследования Кондрикова Н.И., 2009 свидетельствуют, что по мере прогрессирования патологического процесса экспрессия Ki-67 повышается. Поэтому определение экспрессии Ki-67 способствует более точной оценке степени тяжести поражения. Reuschenbach M. проанализировал 138 биоптатов конуса шейки матки, при этом маркеры p16^{INK4a} и Ki-67 определялись только при диспластических поражениях [97].

В физиологически нормальной клетке экспрессия p16^{INK4a} и Ki-67 должны взаимно исключать друг друга, так как p16^{INK4a} - маркер антипролиферативной активности, Ki-67 - маркер пролиферации, поэтому одновременное выявление

этих маркеров в одной клетке является сигналом о нарушении клеточного цикла и может быть использован для объективного критерия выявления женщин с интраэпителиальным поражением. В настоящее время доступен двойной иммуноцитохимический анализ p16^{INK4a} / Ki-67 для использования в качестве дополнительного теста при скрининге рака шейки матки (CINtec Plus). Чувствительность цитологического исследования с двойным окрашиванием p16^{INK4a} / Ki67 (CINtec Plus) была оценена в 776 ретроспективно собранных случаях ASCUS/LSIL и составила 92,2% для ASCUS и 94,2% для LSIL. Показатель специфичности составил 80,6% для ASCUS и 68,0% для LSIL [109]. Аналогичные показатели чувствительности и специфичности были обнаружены у женщин в возрасте <30 лет против женщин в возрасте > 30 лет. Таким образом, метод двойного окрашивания показал сравнимую чувствительность, но значительно более высокую специфичность по сравнению с тестированием на ВПЧ высокого риска и только на p16^{INK4a}.

По данным мультицентрового исследования была продемонстрирована диагностическая эффективность маркеров p16^{INK4a} /Ki 67 среди ASC-US и LSIL в сопоставлении с ВПЧ-тестированием Hybrid Capture 2. Конечной точкой исследования были HSIL(CIN 2-3). Чувствительность метода двойного окрашивания цитологического мазка для выявления маркеров p16^{INK4a} / Ki-67 была сопоставима с ВПЧ тестированием для LSIL и ASC-US, однако был отмечен более высокий уровень специфичности по сравнению с ВПЧ-тестированием Hybrid Capture 2 в обоих случаях, при этом при ASC-US (78,7% против 60,4%) и LSIL (53,3% против 15,6%) [126].

На основании данных исследования Hans Ikenberg, 2013г. у женщин всех возрастов для обнаружения CIN2+ чувствительность метода двойного окрашивания цитологического мазка была сопоставимо выше, чем Пап-тест (86,7% против 68,5%), но специфичность обоих методов сохранялась высокой (95,2% против 95,4%) [53]. Кроме того, частота положительного p16^{INK4a} / Ki-67 была значительно выше в зависимости от тяжести интраэпителиального

поражения, подтвержденного цитологически и гистологически ($p < 0,05$ в обоих случаях) [53].

В результате обзора современных методов диагностики в скрининге рака шейки матки можно сделать вывод, что традиционное цитологическое исследование остается высокоинформативным методом исследования, однако иммуноцитохимический анализ методом двойного окрашивания p16^{INK4a} / Ki-67 может быть инструментом в качестве предиктивного дополнительного метода исследования.

1.7. Иммуноцитохимическое исследование во время беременности

Во время беременности диагностическая точность цитологического исследования как традиционным методом, так и с помощью жидкостной технологии может быть снижена в виду гравидарных изменений в эпителии шейки матки, таких как физиологическая гипертрофия, метаплазия призматического эпителия, выраженная васкуляризация, децидуоз стромы.

Среди литературных данных последних лет эффективность двойного окрашивания, как прогностического фактора развития интраэпителиального поражения, доказана. Приведенные исследования свидетельствуют, что положительный тест p16^{INK4a} / Ki-67 тесно связан с наличием трансформации ВПЧ-инфекции в клетку. Чувствительность и специфичность метода были продемонстрированы на основании многоцентровых исследований. Однако масштабных исследований по эффективности и применению метода у беременных не представлено.

Небольшое ретроспективное экспериментальное исследование было проведено среди 27 беременных женщин Медицинского университета г. Грац, Австрия, анализ данных показал статистически значимую разницу между результатами двойного окрашивания и гистологическим исследованием после родов [117]. Анализу подверглись 20 образцов, из которых у 14 пациентов с положительным двойным окрашиванием цитологического мазка для p16^{INK4a} / Ki-67 впоследствии был диагностирован CIN1 (21,4%), CIN2 (14,3%) и CIN3 (69,2%).

В отличие от этого, у 5-ти (83%) из 6-ти пациентов с отрицательным результатом окрашивания для p16^{INK4a} / Ki-67 в послеродовом периоде отмечался регресс поражения до нормы и в 1-ом случае сохранялся CIN1. Семь образцов в виду технических сложностей выполнения двойного окрашивания были исключены из исследования. Результаты данного исследования ограничены небольшим размером выборки, ретроспективным дизайном и относительно большим количеством безрезультатных исходов (n=7 из 27 образцов). В дополнение стоит отметить, что исследование проводилось ретроспективно на архивном материале, что могло оказать влияние на качество и результаты исследования. Однако, чувствительность и специфичность данного метода исследования для CIN2 + у женщин с патологическим ПАП- тестом были 100% и 66,7%, соответственно. Однако, дальнейшее изучение и применение иммуноцитохимического метода двойного окрашивания среди беременных, вероятно, может способствовать улучшению диагностики патологии шейки матки и прогнозированию отдаленных результатов у беременных женщин.

1.8. «Естественная история» развития CIN

В связи с трудностью лечения CIN во время беременности важным аспектом становится вопрос длительности «задержки» лечения дисплазии. Поэтому понимание прогноза динамики CIN является ключевым моментом в тактике ведения таких пациенток.

Легкая дисплазия была изучена наиболее интенсивно из-за низкого риска прогрессирования в инвазивный рак. Мета-анализ Melnikow J, Nuovo J, 1998 года включил 81 исследование: период наблюдения 27 929 пациентов составил более 6 месяцев, при этом исследования до 1970 года были исключены из анализа [75]. Регресс заболевания до нормального эпителия был следующим: для ASCUS- составил 68,19%, для LSIL- 47,39% и для HSIL- 35,03%. Однако, проспективное исследование среди бразильских женщин с цитологически верифицированным LSIL свидетельствует, что более 90% поражений регрессируют в течение 24

месяцев [108]. В целом, по данным зарубежных исследований регресс легкой дисплазии варьирует в диапазоне от 7,0% до 61,6% (Таблица 7).

Таблица 7. Частота регресса LSIL во время беременности

Автор	Публикация, год	Метод исследования	Диагноз	Абс число	Регресс, абс	Регресс, %	Время наблюдения, месяцев
Fu et al	1981	Гистологический	CIN 1	50	30	60	58,8
Lindgren et al	1985	Гистологический	Mild displasia	47	23	48,9	18
Campion et al	1986	Цитологический/Кольпоскопия	CIN 1	100	7	7	19
Nasiell et al	1986	Цитологический	Mild displasia	555	342	61,6	39
Robertson et al	1988	Цитологический	Mild displasia	1347	625	46,4	24
Bibbo	1989	Гистологический	CIN 1	106	8	7,5	60
Weaver et al	1990	Гистологический	HPV/CIN 1	15	8	53,3	26
Jones et al	1992	Цитологический	Mild displasia	144	54	37,5	27
Flannell et al	1994	Гистологический	Mild dyskaryosis	538	158	29,4	0–24,0
Paraskevadis et al	1999	Цитологический	Койлоцитоз	256	46	17,9	76,8

При анализе исследований по изучению динамики дисплазии отмечено, что в некоторых исследованиях для гистологической оценки выполнялась punch-биопсия шейки матки, размер которой составлял примерно 40мм. Авторы в своем докладе предположили о способности одной punch-биопсии не только удалять поражение, но и изменять естественное развитие оставшегося эпителия. Кроме того, исследования имели несколько общих особенностей. Большинству пациентам выполнялась 1 и более биопсии шейки матки, следовательно, можно предположить, что показатель прогрессирования или регресса поражения зависел

от числа и объема вмешательства, поэтому корреляция между результатами исследований в зависимости от методов диагностики была со значительными расхождениями. Различия между высокой частой регресса после биопсии и без нее говорит о том, что диагностическая процедура могла стать средством лечения от заболевания, и, следовательно, изменять результат в течение наблюдения и исхода заболевания. Кроме того, для оценки динамики дисплазии не учитывались ВПЧ инфицированность, как этиологическая причина заболевания, также отличалась периодичность наблюдения во время беременности и после родов.

Так как интраэпителиальное поражение легкой степени, как правило, является следствием инфицирования ВПЧ, высокая доля заболевания, по данным Monnier-Benoit S, 2006, обычно спонтанно регрессирует, если не проводить лечение, однако при персистенции ВПЧ высокого онкогенного риска заболевание может сохраняться и прогрессировать в HSIL. Также было отмечено, что более высокие темпы регресса встречаются у подростков и молодых женщин: 91% спонтанного регресса через 36 месяцев независимо от инфицированности типа ВПЧ [78].

Таблица 8. Частота прогрессирования LSIL в HSIL во время беременности

Автор	Публикация, год	Метод исследования	LSIL	Абс число	HSIL	Прогрессирование, Абс/%	Время наблюдения, месяцев
Nasiell et al	1975	Гистологический	Mild dysplasia	555	Moderate/severe dysplasia/CIS	128/ 23,1	25.2
Lindgren et al	1985	Гистологический	Mild dysplasia	47	Severe dysplasia	12/ 25,5	24.0
Nasiell et al	1986	Цитологический	Mild dysplasia	555	Moderate dysplasia	66/ 11,9	52.0
Campion et al	1986	Цитологический/Кольпоскопия	CIN 1	100	CIN 3	26/ 26	10.0–20.0

Luthra et al	1987	Гистологический	Mild dysplasia	118	CIS	1/0,8	30
Bibbo et al	1989	Гистологический	CIN 1	29	CIN2/3/ CIS	8/27,6	60.0
Jones et al	1992	Гистологический	Mild dysplasia	144	CIN 2	8/5,5	27.0
Montz et al	1992	Цитологический	LSIL	203	HSIL	7/3,4	3.0–9.0
Mikhail et al	1992	Гистологический	Mild dysplasia	49	Moderate dysplasia	4/8,2	12.0

Согласно мета-анализу Melnicow J, 1998, за 24 месяца частота прогрессирования в HSIL составила 7% для ASCUS и 21% для LSIL [75]. Частота инвазивного рака за 24 месяцев составила 0,25% для ASCUS, 0,15% для LSIL и 1,44% для HSIL. Прогрессирование в пределах интраэпителиального поражения отмечалась в 11% случаев [87]. Обращает на себя внимание зависимость персистенции или прогрессирования предракового поражения шейки матки от возраста женщины. По данным исследования Oortmarssen GJ., статистически значимым выявлено различие между возрастными группами в оценке персистенции и прогрессирования заболевания. Так, среди женщин старше 30 лет более чем в 40 % наблюдается персистенция CIN по сравнению с более молодыми женщинами. Кроме того, прогрессирование заболевания среди женщин до 29 лет наблюдается всего лишь в 1,1%, возрастает до 9,5% среди женщин 30-49 лет и достигает 31,8% среди женщин старше 50 лет. Эпидемиологические данные из большого реестра в Британской Колумбии предполагают, что возраст определяет риск прогрессирования [122].

CIN 3 шейки матки является самым высоким риском развития инвазивного рака. Согласно литературным данным, период прогрессирования предракового поражения в инвазивный рак может достигать десятилетия и является следствием ряда факторов, которые воздействуют в течение многих лет. В исследовании был рассчитан период до прогрессирования в инвазивный рак: 10-летний риск прогрессирования для ВПЧ-16-позитивных CIN 2-3 составил 2,4%, а для ВПЧ-16-негативных CIN 2-3 всего 0,6% [54,123]. Более агрессивное поведение ВПЧ-16

также было продемонстрировано Wentzensen N, Khan MJ.: женщины, инфицированные ВПЧ-16 типа, имели самый высокий риск развития CIN3 [62,125,126].

С помощью данных скрининга (1966-1982гг) проведен анализ интраэпителиальных поражений (n=1595) у голландских женщин в возрасте 25-50 лет, из которых у 24% отмечено прогрессирование заболевания, у 39%- регресс, у 38% - персистенция заболевания. Предполагаемая средняя продолжительность предрака была оценена в 16 лет. Период времени от выявления слабой или умеренной дисплазии до развития выраженной дисплазии или карциномы *in situ* составил примерно 3,5 - 4,5 года [23, 93].

1.9. «Естественная история» развития CIN на фоне беременности

Карцинома шейки матки является наиболее часто диагностированным раком в структуре онкологической заболеваемости у беременных. Тем не менее, эта ситуация возникает с меньшей долей частоты, чем внутриэпителиальные поражения шейки матки. Инвазивный рак шейки матки, ассоциированный с беременностью, выявляется по данным различных авторов в среднем 0,8-1,2 на 10 000 беременностей [15,112]. В то время, как аномальный мазок Папаниколау во время беременности является гораздо более распространенным явлением.

Согласно данным Xavier-Júnior JC,2014, Morice P,2012 заболеваемость CIN у беременных сопоставима с таковой у небеременных женщин независимо от возраста [81,131]. Частота выявления CIN3 среди небеременных, по данным Wanless JF, составляет 0,025 %, в то время, как Hacker NF и соавт. на основании реанализа 14 исследований приводит сводную цифру 0,13 % [48]. По данным масштабного исследования 8,8 млн. родов, опубликованного в 2013 году, частота встречаемости CIN в США составила 13 случаев на 10 000 родов [18]. Creasman WT приводит данные цервикальной атипии в 5 % во время беременности [33]. Суммарно по данным зарубежной литературы атипия шейки матки (ASC-US, ASC-H, SIL) во время беременности варьирует между 0.13% и 6.8% (Таблица 9).

Таблица 9. Частота цитологической атипии шейки матки (ASC,SIL) во время беременности

Год	Автор	Абс	%	Диагноз
1973	Abitbol MM	13000	0,3	Abnormal pap
1991	Kashimura M	967	1,6	Abnormal pap
1995	Ueki M	7725	0,8	SIL
2000	Palle C	21850	1,4	Abnormal pap
2002	Morimura Y	1593	1,63	Abnormal pap
2002	Demeter A	19807	0,22	CIN
2014	Xavier-Júnior JC	15190	0,4	SIL
2014	Xavier-Júnior JC	15190	1,1	ASC-US
2014	Al-Halal H	8,8млн	0,13	CIN

Согласно всемирным рекомендациями пренатальная помощь включает цитологический мониторинг, кольпоскопическое исследование с прицельной биопсией при подозрении на инвазивный процесс и является безопасным и надежным методом, по мнению зарубежных и отечественных экспертов.

В 1970-80-х годах женщины с HSIL были подвержены конус-биопсии во время беременности. Однако проведенные исследования свидетельствуют, что конусовидная биопсия во время беременности связана с осложнениями, как выкидыш, кровотечение, преждевременные роды. Частота тяжелого кровотечения составляет от 5,2% до 14%, выкидыша - от 16,7% до 26,7%, преждевременных родов и перинатальной смертности - от 3% до 7,3%, неполного иссечения- 52%, рецидива заболевания- 89% [21, 36,49].

Несмотря на всемирный консенсус в отношении консервативной тактики во время беременности, небольшое количество авторов настаивают о необходимости и безопасности электроэксцизии шейки матки при HSIL до 15-16 недель гестации, демонстрируя, что риск выкидыша и сильного кровотечения является незначительным, а риски инвазивного процесса существуют (Таблица 10).

Таблица 10. Обзор электроэксцизий шейки матки и осложнений во время беременности

Год	Автор	n	Гестационный срок, нед	HSIL, n	Инвазивный рак, n	Срочные роды	Осложнения
2000	Mitsuhashi	9	<13	7	2	9 (100%)	0
2005	Robova	23	13-23	17	6	22 (96%)	1 (Выкидыш)
2007	Frega	5	<16	4	1	5 (100%)	0
2012	Schaefer	18	<14	16	2	16 (88%)	2 (Преждевременные роды)
2013	Kärrberg	9	<22	8	1	9 (100%)	0
2017	Siegler	37	<15	35	2	34 (91,8%)	2 (Преждевременные роды, выкидыш)

Согласно рекомендациями Американского колледжа акушерства и гинекологии, американского общества по кольпоскопии, европейским рекомендациям, диагностическая эксцизионная процедура рекомендуется только при подозрении на инвазивный рак.

В исследовании Corpolillo EF в результате хирургического лечения в виде эксцизии шейки матки верификация диагноза проводилась, как в послеродовом периоде, так и во время беременности. Прогрессирование в микроинвазивную карциному шейки матки после родов зарегистрировано у 4/30 пациентов (13,3%), у которых CIN2 / 3 была обнаружена в первом триместре [32]. Схожие данные получены в результате эксцизии в послеродовом периоде в исследовании Kaplan KJ, микроинвазивный рак зарегистрирован у 3/27 (11%), где HSIL персистировал на протяжении всей беременности [58]. При электроэксцизии во время беременности на сроке до 17 недель описано 3/27 случая микроинвазивного и инвазивного рака шейки матки в исследовании Schaefer K., 2012г.[106]. Инвазивная цервикальная карцинома была окончательным диагнозом у 5/93 (5,4%) женщин, у которых CIN2 / 3 диагностирована во время беременности, стоит отметить, что в результате электроэксцизии 3 случая инвазивного рака

диагностировано в послеродовом периоде и 2 случая во время беременности до 15 недель гестации.

Согласно данным Sood АК. прогноз инвазивного рака шейки матки, диагностированного после родов, был значительно хуже, чем у небеременных женщин [114]. Группа этих больных подвергалась значительному риску рецидива, особенно после вагинальных родов. Многие исследователи на основании своих результатов наблюдения в виду существующих рисков выявления инвазивного рака шейки матки (если инвазивный рак не может быть исключен кольпоскопией, цитологическим методом исследования или биопсией), настоятельно рекомендуют в качестве диагностической и лечебной тактики электроэксцизию во время беременности.

Тем не менее, в двух крупных мета-анализах Kyrgiou M. и Arbyn M. продемонстрировали, что лечебные манипуляции (электроэксцизия, ножевая эксцизия, лазерная эксцизия) шейки матки связаны с неблагоприятными акушерскими исходами [63]. Kyrgiou M. и соавт. проанализировали в общей сложности 27 ретроспективных когортных исследований женщин с CIN и обнаружили, что ножевая конизация, лазерная конизация, петлевая электроэксцизия в значительной степени повышают риск преждевременных родов и, следовательно, низкий вес при рождении, но не оказали значительного влияния на перинатальную смертность. И, наоборот, абляционный метод, как лазерная вапоризация, не была связана с неблагоприятными акушерскими исходами. Было также отмечено, что, если эксцизионная биопсия имеет глубину менее 10 мм, относительный риск преждевременных родов до 37 недель был значительно ниже, чем если глубина иссечения превышала 10 мм [64].

Arbyn M. и соавт. провели аналогичный мета-анализ для оценки риска перинатальной смертности и преждевременных родов у женщин, которым выполнено абляционное и эксцизионное лечение CIN. В этом анализе ножевая и лазерная конизация были связаны со значительно повышенным риском перинатальной смертности и преждевременных родов до 28 недель. С другой стороны, петлевая электроэксцизия и абляционное лечение с использованием

криотерапии или лазера не были связаны со значительно повышенным риском серьезных неблагоприятных исходов беременности [19].

Albrechtsen S. и соавт. в когортном исследовании зарегистрировали 17,2% преждевременных родов до 37 недель у женщин, родивших после конизации шейки матки, по сравнению с 6,7% у женщин, родивших до конизации шейки матки, и у 6,2% у женщин без хирургической процедуры [17]. В последующей публикации было доложено, что резецирование шейки матки для лечения CIN, превышающее 15 мм в глубину, было связано с удвоением риска преждевременных родов [29].

В когортном популяционном исследовании Ortoft G. и соавт. отметили увеличение в 2,8 раза перинатальной смертности после одной конизации и 10-кратное увеличение преждевременных родов после двух конизаций [86].

Систематический обзор и мета-анализ о влиянии лечения цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) на акушерские исходы в зависимости от глубины конуса был опубликован Kyrgiou M, Athanasiou A. в 2016г, в обзор было включено 71 исследование [63]. Методы эксцизии или удаление большего объема шейки матки были связаны с худшими результатами. По сравнению с отсутствием лечения риск преждевременных родов был выше у женщин, которым выполнялось более одного иссечения (13,2% против 4,1%) и с увеличением глубины конуса ($\leq 10-12$ мм: 7,1% против 3,4%, $\geq 10-12$ мм: 9,8% против 3,4%, $\geq 15-17$ мм: 10,1% против 3,4%, ≥ 20 мм: 10,2% против 3,4%). Риск преждевременных родов (< 37 недель) был выше при ножевой конизации (ОР: 3,53), широкой петлевой электроэксцизии зоны трансформации (ОР: 1,6) и абляции (ОР: 1,42). Частота проведения цервикального циркуляжа (наложение шва на шейку матки) была выше у женщин после конизации, чем в общей популяции (восемь исследований: 141 300 женщин, 4,0% против 0,7%, ОР: 14,29), для ножевой конизации (ОР: 31,42), для широкой петлевой электроэксцизии зоны трансформации (ОР: 11,0) [63].

Анализ результатов исследований изучаемой области раскрывает противоречивые данные о динамике заболевания во время беременности и после

родов. В течение последних десятилетий многие авторы изучали естественную историю CIN в сочетании с беременностью, их результаты разнятся между собой. Так, частота регресса CIN 1 колеблется между 32% и 69%, CIN 2-3 от 16,7% до 70% [32,44,59,90]. Стоит отметить, что динамика регресса, прогрессирования или персистенции заболевания отличалась в различных возрастных группах.

Несмотря на динамические показатели в оценке регресса заболевания по данным приведенной литературы, вариация показателей наблюдается при прогрессировании тяжелой дисплазии в инвазивный рак. У беременных женщин с диагнозом HSIL частота прогрессирования в инвазивный рак по одним исследованиям документирована в диапазоне от 1,1 до 3,6%, другие авторы зарегистрировали более высокие показатели - от 5,4 до 13,6% [32,34,132].

У беременных женщин моложе 25 лет данных за прогрессирование CIN2 / 3 не получено [34,44]. Однако в возрасте старше 25 лет прогрессирование CIN2 / 3 в инвазивный рак отмечался от 2,5% до 22% случаев [76]. Частота регресса среди молодых пациентов составила 52,6% против 26,2% среди лиц старше 25 лет. У пациентов с HSIL старше 25 лет отмечалось 2-кратное увеличение частоты прогрессирования и персистенции, чем в группе моложе 25 лет [34]. Высокий уровень инвазивного рака шейки матки у пациентов с CIN2/3 в некоторых исследованиях, вероятно, объясняется более старшим возрастом (средний возраст 32 года) по сравнению с возрастной категорией других исследований (средний возраст 24 года) [76,132]. Частота регресса составила 45% (18/40) в группе CIN 1(LSIL) и 20% (8/40) в группе CIN2-3 (HSIL). В группе пациентов с LSIL регресс наблюдался примерно у 50% пациентов в возрасте 25 лет и младше и в 42,8% среди пациентов старше 25 лет [34].

Проанализированные исследования отличались по дизайну, объему выборки исследуемых групп, методам диагностики заболевания, интервалам скрининга, что вероятно является причиной значительных расхождений полученных результатов. Другим менее определяющим фактором противоречивых данных является использование в исследовании той или иной классификации и последующей морфологической интерпретации результатов. Второстепенным

фактором дискуссии может быть гетерогенная распространенность типов ВПЧ среди изучаемой популяции, а также отсутствие данных об инфицированности ВПЧ.

Обращают внимание исследования, когорта которых составляет большое количество пациентов (Таблица 6-7). По данным литературы, частота спонтанного регресса HSIL после родов колеблется от 16,7 до 70 %. Согласно исследованию, Yost A. 153-х женщин в послеродовом периоде частота регресса CIN 2 и 3 составляет 68% и 70%, соответственно [132]. Высокие показатели регресса HSIL (из 104 женщин) продемонстрированы в исследовании A. Fader- 69%, из которых полный регресс составил 53% [44]. В исследовании Vlahos G. (n=78) частота регресса составила 61,6% [124]. В исследовании Karrberg C. частота регресса CIN3 составила значительно ниже- 26%, наименьший показатель регресса заболевания наблюдается в исследовании Corpolillo EF. - 16,7 % (n=30) [32,59]. Можно предполагать, что значительные различия, скорее всего, объясняются изменениями в шейке матки после обширных биопсии, например, при петлевой эксцизии, которые применялись в диагностических манипуляциях в некоторых исследованиях, тем самым «улучшая» послеродовые результаты при цитологическом исследовании. Другим объяснением могут послужить различия в чувствительности методов диагностики. Во всех исследованиях динамика LSIL благоприятна как во время беременности, так и после родов.

Высокая частота послеродового регресса CIN отмечается в группе беременных пациенток, чем у небеременных [69]. Авторы данного исследования зарегистрировали 89% регресса при поражении CIN1, число наблюдаемых – 51 человек.

Таблица 11. Обзор исследований «эволюции» HSIL шейки матки после родов

Год	Автор	Диагноз при беременности	Абс	Регресс, %	Персистенция, %	CIN2 - CIN3	Инвазивный рак, %
1997	Coppola A	CIS (HSIL)	26	15	77	0	8
1999	Yost NP	HSIL	153	69	24	7	0
2001	Siddiqui	HSIL	30	63	37	0	0
2002	Vlahos G	HSIL	78	61,6	38,4	0	0
2002	Strinić T	HSIL	33	48,25	49,35	2,4	0
2002	Paraskeva idis E	HSIL	52	48,1	50	0	1,9
2004	Kaplan KJ	HSIL	28	0	89,2	0	10,7
2005	Robova H	HSIL	62	50	40,3	0	9,7
2006	Ackerman	HSIL	77	34,2	63,1	0	2,7
2008	Serati M	HSIL	36	47,3	52,7	0	0
2010	Fader AN	HSIL	104	69	31	0	0
2012	Coppolillo EF	HSIL	30	16,7	70	0	13,3
2012	Cubo-Abert M	HSIL	40	20	80	0	0
2013	Kaarrberg C	CIN3	42	26	72	0	2
2015	Mariella M-Pocorny	HSIL	34	54,2	38,65	7,15	0
	ВСЕГО		825	41,49	54,18		

Таблица 12. Обзор исследований «эволюции» LSIL шейки матки после родов

Год	Автор	Диагноз при беременности	Абс	Регресс, %	Персистенция, %	LSIL- HSIL	Инвазивный рак, %
2001	Siddiqui	LSIL	53	64	36	0	0
2002	Strinić T	LSIL	74	62,2	35,1	2,7	0
2002	Paraskeva idis E	LSIL	39	35,9	59	5,1	0
2004	Kaplan KJ	LSIL	129	62	32	6	0
2005	Robova H	LSIL	82	48,8	29,2	22	0
2008	Serati M	LSIL	42	69	16,6	14,3	0
2010	Fader AN	ASC/LSIL	511	64	29	6	1
2012	Cubo- Abert M	LSIL	40	45	55	0	0
2013	Kaarrberg C	LSIL	29	59	41	0	0
2015	Mariella MP	LSIL	17	82,4	11,8	5,9	0
	ВСЕГО		1016	59,23	34,47	6,2	

Спорным остается вопрос регресса дисплазии шейки матки в зависимости от пути родоразрешения. Выбор метода родоразрешения при CIN основывается на работах Ahdoot D, Paraskevaïdis E, Ueda Y. и соавт [16,90,120]. Вышеуказанные наблюдения не демонстрируют преимущества выполнения кесарева сечения. В работе Ahdoot D. не было зарегистрировано ни одного случая регресса заболевания после кесарева сечения [16]. Регресс после влагалищных родов имел место в 60%. По данным Paraskevaïdis E. и соавт. частота регресса CIN превалировала после влагалищных родов, что объясняет автор травмой шейки матки во время прохождения плода через родовой канал и как следствие десквамацией измененного эпителия, послеродового местного репаративного иммунного ответа [90]. Исследование Ueda Y. и соавт. продемонстрировало регресс CIN в 69% (24/35) после влагалищных родов и в 25% (2/8) после кесарева сечения [120]. Представлены данные Askerman S. об отсутствии различия между путями родоразрешения позволяют рекомендовать родоразрешение через естественные родовые пути [15].

Глава II МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования послужили клиничко-морфологические данные 228 пациенток, направленных в ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России с диагнозом цервикальная интраэпителиальная неоплазия шейки матки в сочетании с беременностью. Обследование и лечение проведены в период с 2000 по 2017 гг. в клиничко-диагностическом отделении и отделении малой хирургии ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России.

В исследовании анализированы анамнестические, клинические, морфологические, в том числе иммуноцитохимические, иммуногистохимические, и молекулярные данные. С целью получения необходимой информации изучены амбулаторные карты пациентов, пересмотрены цитологические образцы и гистологические срезы биопсийной ткани с использованием патоморфологических классификаций CIN и Bethesda system. В клинических группах зарегистрированы сведения о среднем возрасте наступления менархе, сексуальном дебюте, контрацептивном поведении, репродуктивном анамнезе, перенесенных гинекологических и экстрагенитальных заболеваниях.

Верификация диагноза и цитологический мониторинг проведен методами традиционного и жидкостного цитологического исследования эпителия экзоцервикса и эндоцервикса. С помощью иммуногистохимического и иммуноцитохимического метода изучены качественные признаки маркеров пролиферативной и антипролиферативной активности Ki-67 и p16 при CIN у беременных женщин. С этой целью гистологическое исследование с иммуногистохимическим анализом выполнено на биоптатах шейки матки во время беременности (n=23), послеоперационном материале (n=57), а именно соскобах из цервикального канала и конусах резецированной шейки матки после родоразрешения или прерывания беременности. Иммуноцитохимический анализ CINtec PLUS на стейнере VENTANA выполнен на образцах с жидкой средой BD SurePath (n=10).

С помощью метода полимеразной цепной реакции выявлена частота инфицирования ВПЧ среди женщин с CIN в сочетании с беременностью. Определен риск орофарингеальной колонизации ВПЧ у детей от ВПЧ-инфицированных матерей. С этой целью выделена группа детей, родившихся от ВПЧ-инфицированных женщин, страдающих цервикальной интраэпителиальной дисплазией во время беременности, которая представлена 10-ю новорожденными до 2-х суток от рождения и 20-ю детьми в возрасте от 1,1 до 3,4 лет.

2.1. Характеристика методов статистической обработки результатов исследования

Полученные клинические и морфологические данные заносились в базу данных Microsoft Excel 2016. Статистический анализ проводился с помощью программы SPSS и Statistica, версия 10.

При анализе полученных данных решались такие задачи, как описание изучаемых параметров в группах, оценка значимости различия количественных и качественных показателей в группах, оценка связи между показателями. В ходе статистического анализа для оценки значимости ассоциации между двумя категориальными переменными мы использовали критерий Хи-квадрат, точный критерий Фишера; для количественной оценки зависимости вероятности исхода от наличия фактора рассчитан показатель отношения шансов с 95% доверительным интервалом.

2.2. Характеристика методов цитологического исследования

Цитологическое исследование образцов с влагалищной части шейки матки и из цервикального канала выполнялось традиционным способом и применением тонкослойных препаратов с помощью технологии «жидкостной» цитологии. Взятие биологического материала с экто- и эндоцервикса проводилось с помощью цитощетки (CervixBrush), которую вводили в наружный зев шейки матки и осторожно поворачивали на 360° (до 8 раз по часовой стрелке) с целью забора достаточного количества клеток с влагалищной части шейки матки и с зоны

трансформации. Затем цитощетку выводили и материал распределяли на стекле. Перенос образца на предметное стекло производили быстро, без подсушивания и потери прилипших к инструменту слизи и клеток. В случае приготовления тонкослойного препарата с помощью метода жидкостной цитологии, после взятия материала головку щетки отсоединяли от ручки и помещали в контейнер с жидкой средой BD SurePath. Забор материала проводили в соответствии с рекомендациями д.м.н., профессора В.И.Новика. Препараты, приготовленные традиционным способом, после тщательного высушивания и фиксации клеточного материала 96° этиловым спиртом в течение 15 минут окрашивали гематоксилин и эозином. Для интерпретации результатов цитологического исследования использовали описательную классификацию ВОЗ, классификацию CIN, терминологическую систему Bethesda, 2001 г. Критериями папилломавирусного поражения являлось наличие койлоцитарной атипии в цитологическом материале, а также акантоз, паракератоз, гиперкератоз и различные степени цервикальной интраэпителиальной неоплазии.

2.3. Протокол иммуноцитохимического исследования

Исследование было направлено на одновременное качественное определение белков p16^{INK4a} и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах. Для этого нами был проведен иммуноцитохимический анализ «двойного окрашивания» на 10 образцах цитологического материала с поверхности шейки матки беременных женщин. Совместное выявление белков p16 и Ki-67 в одной и той же клетке является явным индикатором дерегулирования клеточного цикла и является взаимоисключающим.

CINtec PLUS Cytology включает комплект реагентов для одновременного иммуноцитохимического выявления белков p16^{INK4a} и Ki-67 в цитологических образцах, полученных из шейки матки. Белки обнаруживаются с помощью готовой к применению смеси первичных моноклональных антител, содержащей мышинные моноклональные антитела к белку человека p16^{INK4a} (клон E6H4™) и первичные рекомбинантные кроличьи антитела к белку человека Ki-67 (клон 274-

11 АСЗ). На основании предварительной обработки клеток, ингибирования активности эндогенной пероксидазы и инкубации с помощью первичной смеси антител в тесте применяются две готовые к применению системы обнаружения, оптимизированные для использования на цервикальных образцах для цитологических исследований:

- козье анти-мышинное вторичное антитело, ковалентно связанное с HQ гаптенами (собственный гаптен) и anti-HQ гаптенем, конъюгированное с пероксидазой (HRP) третичное антитело, оптимизированное для обнаружения клона моноклонального мышинового антитела Е6Н4;
- козье анти-кроличье вторичное антитело, ковалентно связанное с NP гаптенами (собственный гаптен) и anti-NP гаптенем, конъюгированное с щелочной фосфатазой (AP) третичное антитело, оптимизированное для обнаружения клона рекомбинантного кроличьего антитела 274-11 АСЗ.

Хромогенные реакции основаны на HRP-опосредованной конверсии 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорида (DAB) и AP-опосредованной конверсии Fast Red с фосфатом нафтола, что приводит к образованию коричневого осадка в месте обнаружения антигена p16^{INK4a} и красного осадка в месте обнаружения антигена Ki- 67 соответственно.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

Контейнер с жидкой средой BD SurePath и биологическим материалом встряхивали с помощью аппарата VORTEX, центрифугирование осадка для изготовления монослойных препаратов выполняли на центрифуге Cytospin 4 в течение 5 мин со скоростью 1000 оборотов. Далее мазки окрашивали гематоксилином и эозином, производилась оценка клеточности, фиксация раствором этанола 96%. Инкубация стекла в этаноле в течение минимум 15 мин. После извлечения из раствора фиксации сушка стекла в горизонтальном положении на плоской поверхности.

Двухэтапная процедура заливки: вначале стекло покрывали водорастворимой заливочной средой. Затем стекло накрывали покровным

стеклом с постоянной заливочной средой. При получении образца подлежащего качества выполнялся иммуноцитохимический анализ CINtec PLUS на стейнере VENTANA. Результаты окрашивания оценивались методом световой микроскопии.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ОКРАШИВАНИЯ

В результате окрашивания комплектом CINtec PLUS Cytology образуются два различно окрашенных продукта реакции: коричневый осадок в местах скопления антигена p16^{INK4a} и красный осадок в местах расположения антигена Ki-67. Коричневое окрашивание клеток (цитоплазмы и/или ядра) указывает на повышенную экспрессию p16^{INK4a}. Красное окрашивание клеток (ядра) указывает на экспрессию Ki-67. Клетки, содержащие оба антигена, имеют коричневую окраску цитоплазмы с красными выделяющимися ядрами. В иммуноцитохимическом методе применялись две готовые к применению системы обнаружения, оптимизированные для использования на цервикальных образцах для цитологических исследований.

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ ТЕСТА

Положительным результатом теста CINtec PLUS Cytology согласно протоколу, считали наличие одной или большего количества клеток с одновременным присутствием особого коричневого иммуноокрашивания цитоплазмы и особого красного иммуноокрашивания ядра в пределах одной клетки (Рисунок 3,4).

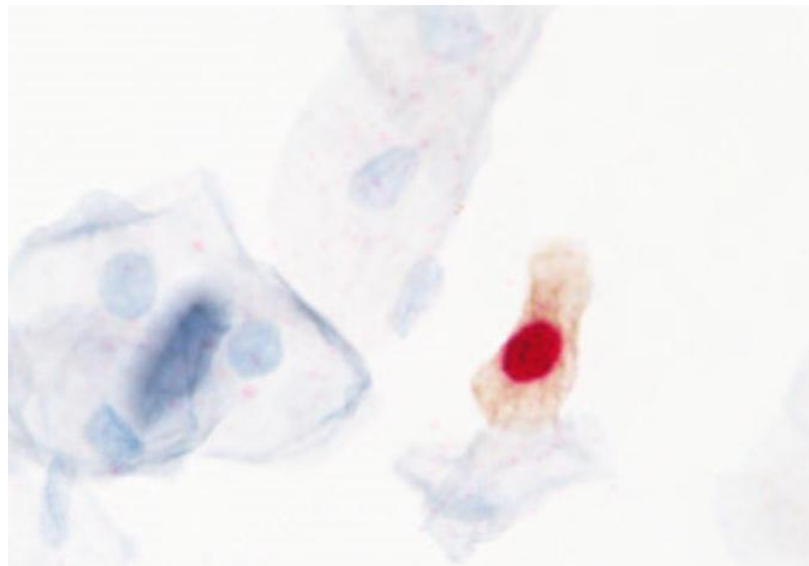


Рисунок 3. Двойное окрашивание клетки с цитоплазматическим окрашиванием p16 и ядерным окрашиванием Ki-67

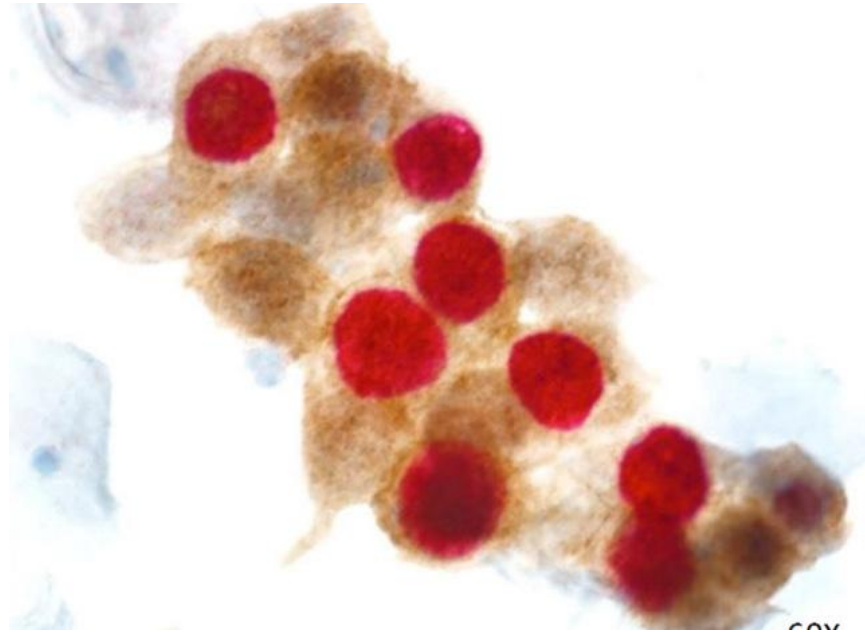


Рисунок 4. Двойное окрашивание клеток с цитоплазматическим окрашиванием p16 и ядерным окрашиванием Ki-67

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ ТЕСТА

Отрицательным результатом теста CINtec PLUS Cytology считали отсутствие цервикальных клеток эпителия, имеющих одновременное коричневое иммуноокрашивание цитоплазмы и красное иммуноокрашивание ядра. Наличие цервикальных клеток эпителия, проявляющих иммунореактивность только в отношении одного, а не двух маркеров (например, только коричневое окрашивание с указанием на p16^{INK4a} или только красное окрашивание, свидетельствующее о Ki-67), не считается положительным результатом теста CINtec PLUS Cytology (Рисунок 4,5).

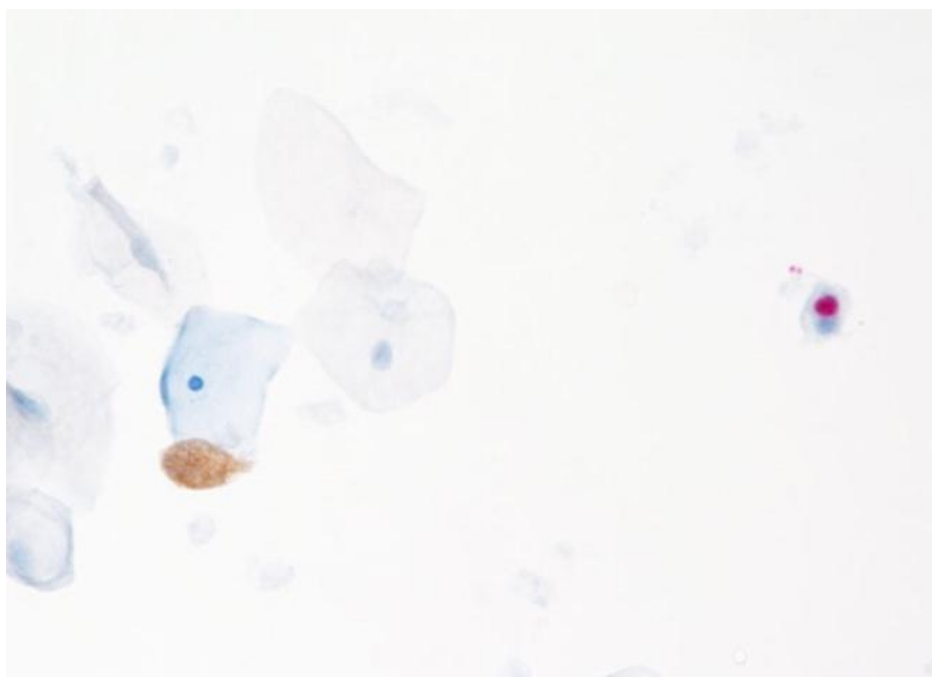


Рисунок 5. Плоская метапластическая клетка слева окрашивается только p16; ядро плоской метапластической клетки справа окрашивается только Ki-67

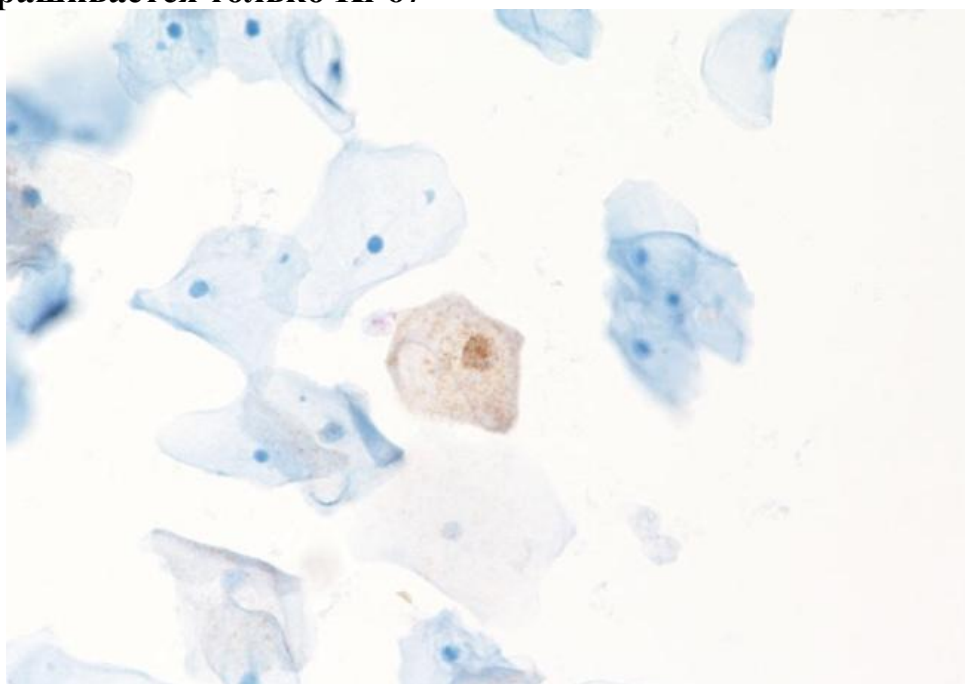


Рисунок 6. Плоская метапластическая клетка окрашивается только p16

2.4. Протокол иммуногистохимического исследования

Для иммуногистохимического исследования были доступны парафиновые блоки послеоперационного материала конусов шейки матки (n=57) и биоптатов, взятых во время беременности (n=23). Произведена оценка окрашивания

эпителиального пласта при экспрессии белка пролиферации Ki-67 и антипролиферативного онкобелка p16^{ink4a}. После производства срезов с парафиновых блоков, подготовленные срезы толщиной 3-4 микрона окрашивались на автоматизированной платформе Ventana (BenchMark Ultra) с использованием реактивов Ventana Medical Systems (Таблица 13).

Таблица 13. Процедура окрашивания подготовленных срезов

Антитело	Процедура	Режим	Клон
Ki67	Ultra-View Universal DAB Detection Kit(760- 500)	CC1(S) 370C 24 мин	Ki67(30-9)Rabbit Monoclonal(790- 4286)
p16	Ultra-View Universal DAB Detection Kit(760- 500)	CC1(S) 360C 20мин	P16INK4a(CINtec p16 Histology)(825- 4713)

ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ Ki-67 и p16^{ink4a}

Окрашивание оценивалось для каждого маркера по шкале от 1/3 до 3/3 (полного диффузного окрашивания) толщины эпителиального пласта.

2.5. Протокол выявления ВПЧ методом ПЦР

С помощью ПЦР в режиме реального времени исследовано 30 образцов из ротовой полости детей, рожденных от ВПЧ-инфицированных матерей. Возраст 20-ти детей находился в диапазоне от 1,1 до 3,4 лет, также были обследованы 10 новорожденных до 2-х суток для исключения самостоятельной элиминации вируса у детей старшего возраста.

Мазки получали с помощью одноразовой цито щетки (типа CervixBrush) из слизистой оболочки ротовой полости детей. Материал помещали в стерильные пробирки эппендорф с последующим установлением наличия или отсутствия вирусной ДНК ВПЧ в каждом из образцов и вирусных серотипов, соответствующих ДНК. Тестирование проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени с использованием набора реагентов

для выявления ДНК вирусов папилломы человека. Идентификация, обработка и хранение образцов надлежащим образом контролировались в лаборатории ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России. Все образцы были отправлены в лабораторию в пробирках эппендорф. Центрифугирование пробирок осуществлялось со скоростью 13 тысяч оборотов в 1 минуту. В каждую пробирку с готовой реакционной смесью для ПЦР (ГРС 1 и ГРС2) пипеткой с отдельным наконечником с фильтром вносили 50 мкл соответствующего раствора. Пробирки помещали в амплификатор «CFX-96». Прибор запрограммировали для проведения амплификации специфических фрагментов ДНК и ВКО (внутренний контрольный образец) и детекции флуоресцентных сигналов: 1 стадия: 50°С-2 мин, 2 стадия: 95°С-2 мин, 3 стадия: 50 циклов (94°С-10сек, 60°С-25сек). Измерение флуоресценции проводили при 60°С. Процесс амплификации заключался в повторяющихся циклах: температурная денатурация ДНК-матрицы, отжиг праймеров с комплементарными последовательностями ДНК-матрицы, синтез комплементарной цепи с этих праймеров Таq-полимеразой.

ГЛАВА III РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Клинико-морфологические особенности цервикальной интраэпителиальной дисплазии, ассоциированной с беременностью

По данным ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России из 228 обратившихся беременных женщин за консультацией с диагнозом цервикальная интраэпителиальная неоплазия на фоне беременности за период с 2000 по 2017гг, подтверждение заболевания было зарегистрировано в 196 случаях, в двух случаях обнаружен инвазивный рак шейки матки, и выполнено радикальное лечение. Гестационный срок при обращении составил в среднем $12,6 \pm 6,7$ недель. Большинство беременных с CIN были первородящими (64,3%, $n=126/196$) и крайне заинтересованными в сохранении беременности, при этом в 44% имели отягощенный гинекологический анамнез: медицинский аборт, замершая беременность, самопроизвольный выкидыш, внематочная беременность, хронический аднексит, миома матки, синдром поликистозных яичников, апоплексия яичника, инфекции, передаваемые половым путем (Таблица 14).

Таблица 14. Клиническая характеристика беременных, обследованных в ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России, направленных по поводу цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN), 2000-2017гг, $n=228$

Клинические данные	n (%)
Диагноз цервикальной интраэпителиальной дисплазии (CIN) не подтвержден	32/228
Диагноз цервикальной интраэпителиальной дисплазии (CIN) подтвержден ($n=196$)	196/228
CIN1	28/196 (%)
CIN2	35/196 (%)
CIN3	133/196 (%)
Средний возраст	$29,3 \pm 4,3$ лет
Гестационный срок при обращении	$12,6 \pm 6,7$ недели
Первобеременные	92/196 (47%)
Первородящие	126/196 (64,3%)
Отягощенный гинекологический анамнез ($n=56$)	
Медицинский аборт	37/56 (66,3%)

Замершая беременность	5/56(6,8%)
Самопроизвольный выкидыш	4/56 (5,7%)
Инфекции, передающиеся половым путем	5/56 (6,8%)
Внематочная беременность	3/56 (4,6%)
Хронический аднексит	3/56 (4,6%)
Миома матки	2/56 (2,3%)
Синдром поликистозных яичников	2/56 (2,3%)
Апоплексия яичника	1/56 (1,1%)

После подтверждения диагноза и исключения инвазивного рака всем женщинам (n=196) было рекомендовано пролонгирование беременности с цитологическим исследованием в течение беременности каждые 2 месяца и после родоразрешения. В дальнейшем, в исследовании были проанализированы результаты клинко-морфологического обследования 131/196 беременной женщины; 65 случаев не были включены в исследование: данные не прослежены. Среди 131 беременной распределение по степени CIN было следующим: CIN1 -15 случаев, CIN2 -20 случаев, CIN3 -96 случаев (Таблица 15, Рисунок 7,8).

Таблица 15. Распределение цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) среди беременных, наблюдавшихся в ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России, n=131, 2000-2017гг

CIN	N	%
CIN1	15	11,5
CIN2	20	15,3
CIN3	96	73,2
Всего	131	100

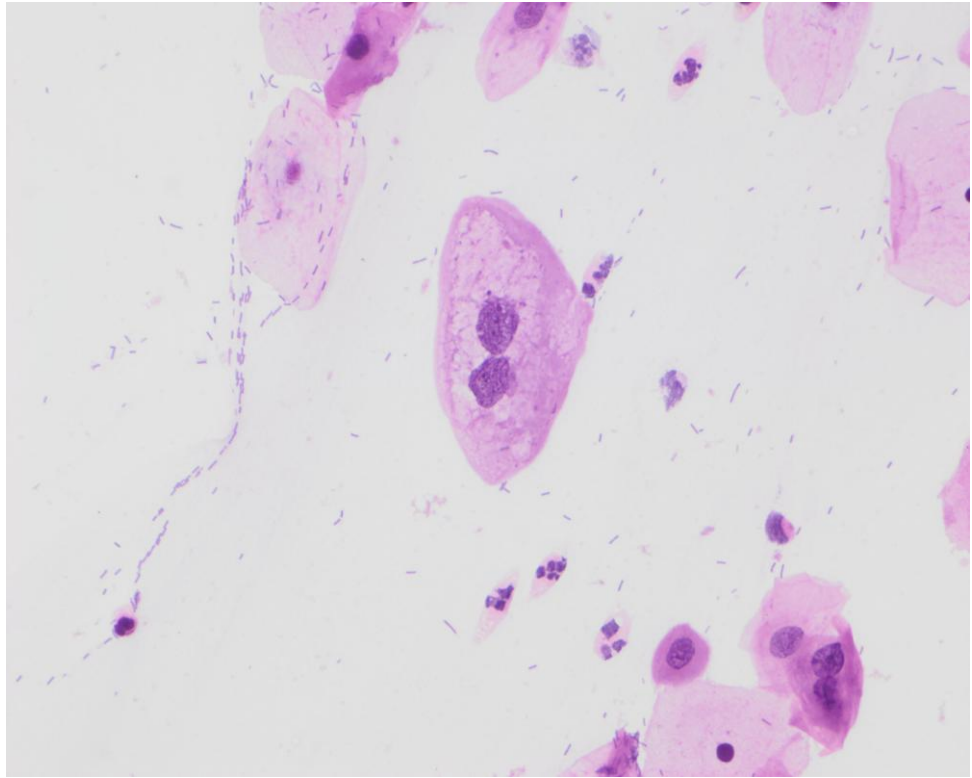


Рисунок 7. Цитологическое исследование. Окраска гематоксилином и эозином, ув. x40. LSIL (CIN 1) на фоне беременности

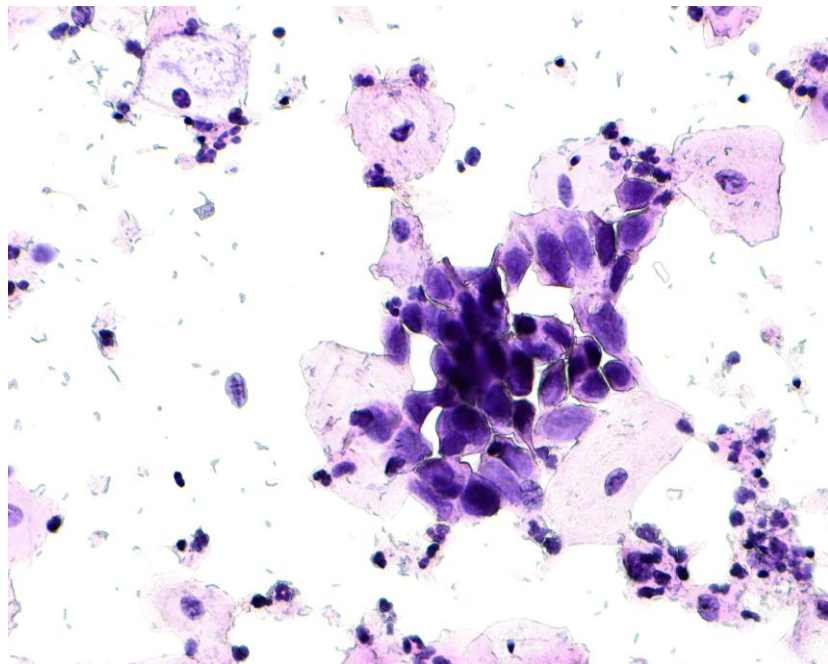


Рисунок 8. Цитологическое исследование. Окраска гематоксилином и эозином, ув. x20. HSIL (CIN 3) на фоне беременности

Средний возраст беременных женщин с CIN составил $29,3 \pm 4,3$ лет (от 20 до 40 лет). При этом, возраст женщин с CIN 1 в среднем составил $27,4 \pm 3,8$ лет, с CIN 2-3 был старше и составил $30,0 \pm 3,6$ лет (Рисунок 9).

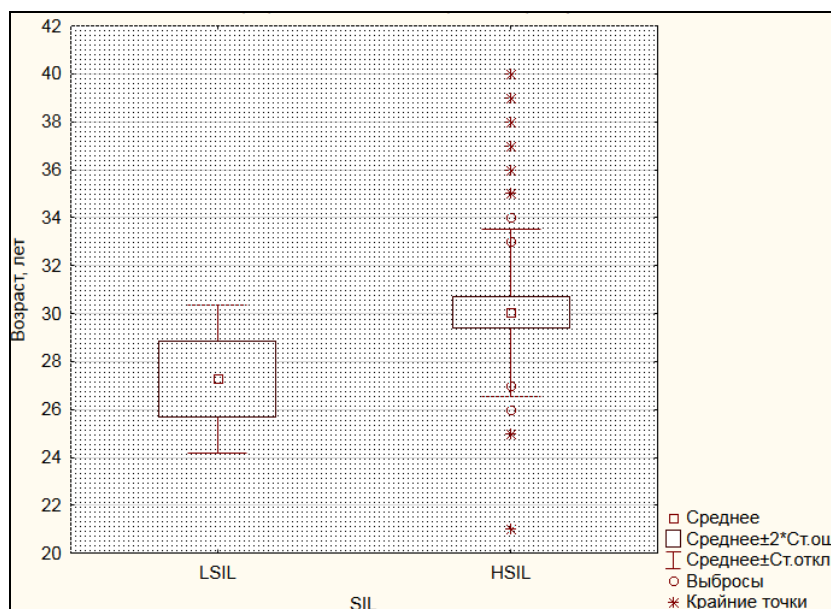


Рисунок 9. Возраст беременных женщин в сочетании с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (LSIL и HSIL)

При анализе результатов цитологического исследования на протяжении беременности установлено, что персистенция CIN регистрировалась в 97,2%(107/110), при этом, прогрессирования заболевания в инвазивный рак за период гестационного срока не наблюдалось ни в одном случае, что позволяет отсрочить лечебные манипуляции после завершения беременности.

В 16% случаях (n=21/131) по социальным (желание женщины) или по медицинским показаниям [замершая беременность (n=1), самопроизвольный аборт (n=3)] было выполнено прерывание беременности (Таблица 16).

Таблица 16. Показания к выскабливанию полости матки среди беременных, наблюдавшихся в ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России, n=21

Показание	Количество случаев
-----------	--------------------

Замершая беременность	1
Подозрение на инвазивный рак шейки матки	1
Самопроизвольный аборт	3
Социальные показания	16
ВСЕГО	21

Всем женщинам после прерывания беременности (n=21) через 2,7±0,8 месяцев произведена электроконизация шейки матки. Согласно гистологическому исследованию резецированного конуса шейки матки CIN3 подтвердилось в 90% (n=19/21) (Рисунок 10). В одном случае цервикальная неоплазия не была обнаружена. В другом случае выявлен микроинвазивный рак шейки матки. Больной проведено хирургическое лечение в объеме радикальной экстирпации матки с тазовой лимфаденэктомией. Окончательный диагноз: Микроинвазивный рак шейки матки pT1a1N0M0. В настоящее время у пациентки клиническая ремиссия (медиана наблюдения 11 лет) (Таблица 17, 18).

Таблица 17. Распределение цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) среди беременных, наблюдавшихся в ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России в зависимости от исхода беременности, n=131, 2000-2017гг

CIN	Всего, n	Прерывание беременности	Пролонгирование беременности
CIN1	15	0	15
CIN2	20	1	19
CIN3	96	20	76
Всего	131	21	110

Таблица 18. Результаты гистологического исследования шейки матки после прерывания беременности, n=21

CIN, ассоциированный с беременностью	N	Гистологическое заключение после диатермоэлектроконизации шейки матки после прерывания беременности		
		CIN2/3,	МПЭ без	Микроинвазивн

		n, (%)	признаков атипии, n, (%)	ый рак, n, (%)
CIN2	1	1 (4,75)	0	0
CIN3	20	18 (85,75)	1 (4,75)	1 (4,75)
Всего	21	19 (90,5)	1 (4,75)	1 (4,75)

МПЭ* - многослойный плоский эпителий

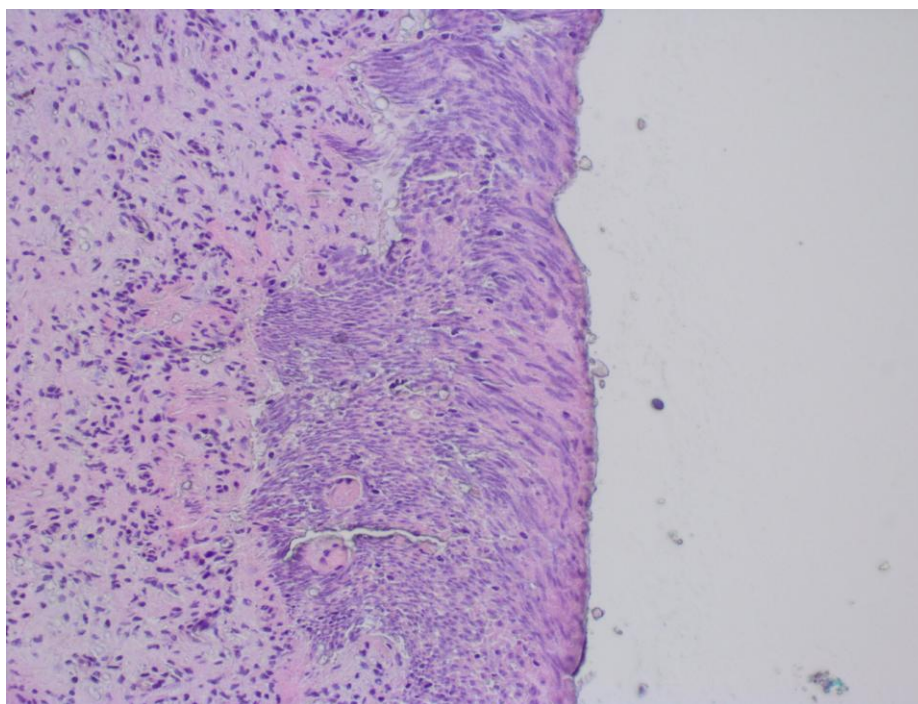


Рисунок 10. Гистологическое исследование. Окраска гематоксилином и эозином, ув. x200. HSIL (CIN 3) после прерывания беременности

3.2. Основные методы верификации дисплазии шейки матки во время беременности

При сопоставлении результатов цитологического исследования во время беременности и гистологического исследования конуса после конизации шейки матки установлена высокая информативность традиционного цитологического исследования во время беременности: чувствительность цитологического метода

исследования в выявлении CIN составила 95,0%, прогностическая ценность положительного результата 95,0%, а диагностическая точность метода составила 90,5% (Таблица 19).

Таблица 19. Показатели информативности цитологического метода исследования шейки матки во время беременности, n=21

Показатели метода исследования	Цитологическое исследование (окраска гематоксилином и эозином)
Истинные	19
-положительные	19
-отрицательные	0
Ложные	2
-положительные	1
-отрицательные	1
Чувствительность	95,0%
Специфичность	-
Прогностическая ценность положительного результата	95,0%
Диагностическая точность	90,5%

В нашем исследовании родоразрешение через естественные родовые пути было у 74/110 (67,3%) женщин, путем кесарева сечения - у 36/110 (32,7%).

Таблица 20. Характеристика беременных с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (CIN) в зависимости от степени CIN и пути родоразрешения, n=110

CIN	Пролонгирование беременности, n	Влагалищные роды, n	Кесарево сечение, n
CIN1	15	11	4
CIN2	19	14	5
CIN3	76	49	27

Всего	110	74	36
-------	-----	----	----

Акушерскими показаниями для родоразрешения путем кесарева сечения среди 25/110 (22,7%) женщин являлись: преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, низкая плацентация, анатомически узкий таз, поздний гестоз, полное предлежание плаценты, тазовое предлежание плода, слабость родовой деятельности, неподдающаяся медикаментозной терапии, острая внутриутробная гипоксия плода. В 11/110 (10%) случаях, несмотря на рекомендации онколога, женщинам выполнена операция кесарево сечение без акушерских показаний, в связи с выявленной CIN (Таблица 21).

Таблица 21. Показания для родоразрешения путем операции кесарево сечение, n=36

Показание	Количество случаев
Поздний гестоз	6
Слабость родовой деятельности	4
Острая внутриутробная гипоксия плода	4
Анатомически узкий таз	2
Миопия высокой степени	2
ПОНРП	3
Тазовое предлежание плода	2
Низкая плацентация	1
Полное предлежание плаценты	1
Неакушерские	11
ВСЕГО	36

Всем женщинам был рекомендован повторный осмотр через 2 месяца после родоразрешения. В среднем, женщины явились на прием к врачу через $3,4 \pm 2,7$ месяца (от 1 до 18 месяцев) после родов. При цитологическом исследовании у 84-х женщин из 110 случаев было подтверждено интраэпителиальное поражение шейки матки после родов (6 - CIN1/LSIL, 78 - CIN2-3/HSIL), в остальных 26-ти случаях интраэпителиальное поражение шейки матки не было обнаружено. Электроконизация шейки матки с выскабливанием

цервикального канала была выполнена всем женщинам с диагнозом CIN2-3/HSIL (n=78) и в 2-х случаях с CIN1/LSIL в сочетании с рубцовой деформацией шейки матки (Таблица 22).

Таблица 22. Результаты гистологического исследования шейки матки после родов, n=80

Цитологическое исследование после родов	N	Гистологическое исследование после диатермоэлектроконизации шейки матки				
		Без атипии	CIN1	CIN2	CIN3	Инвазивный рак
CIN1*	2	-	2	-	-	-
CIN2	8	2	-	6	-	-
CIN3	70	2	-	-	67	1
Всего	80	4	2	6	67	1

*Рубцовая деформация шейки матки

При сопоставлении результатов цитологического исследования после родов и гистологического исследования конуса после конизации шейки матки в послеродовом периоде также подтверждена высокая информативность традиционного цитологического исследования после родов: чувствительность цитологического метода исследования в выявлении CIN составила 98,7%, прогностическая ценность положительного результата 94,9%, а диагностическая точность метода составила 93,8% (Таблица 23, 24). Таким образом, нет необходимости в выполнении травматичной процедуры, как конибиопсия для гистологического подтверждения диагноза, если можно ориентироваться на результаты цитологического исследования в диагностике интраэпителиальных неоплазий и для мониторинга на протяжении беременности. Только при подозрении на инвазивный опухолевый процесс по клиническим данным и результатам цитологического исследования показана биопсия для гистологического исследования.

Таблица 23. Показатели информативности цитологического метода исследования шейки матки после родов, n=80

Показатели	метода	Цитологическое исследование
------------	--------	-----------------------------

исследования	(окраска гематоксилином и эозином)
Истинные	75
-положительные	75
-отрицательные	0
Ложные	5
-положительные	4
-отрицательные	1
Чувствительность	98,7%
Специфичность	-
Прогностическая ценность положительного результата	94,9%
Диагностическая точность	93,8%

Таблица 24. Сводные показатели информативности цитологического метода исследования шейки матки во время беременности и после родов, n=101

Цитологическое исследование (окраска гематоксилином и эозином)	Чувствительность, %	Прогностическая ценность положительного результата, %	Диагностическая точность, %
Во время беременности (n = 21)	95,0	95,0	90,5
После родов (n = 80)	98,7	94,9	93,8
Всего (n = 101)	97,9	94,9	93,1

По данным нашего исследования особенностью выполнения конизации шейки матки через 2 месяца в послеродовом периоде являлась повышенная кровоточивость тканей, что потребовало наложения гемостатических швов у 5-ти женщин (4,5%). В случаях установленного регресса CIN после родов для исключения возможного кровотечения при выполнении конизации шейки матки в первые 2 месяца после родов, рекомендуется проведение операции в отсроченном порядке, спустя 6 месяцев после родов. Необходимость выполнения

электроконизации даже при отсутствии CIN2/3 в послеродовом периоде объясняется возможностью рецидива заболевания. При прослеживании в течение 1-3-х лет за пациентками с регрессом HSIL/CIN2-3 после родов без выполнения рекомендуемой конизации шейки матки у 3/25 зарегистрирован рецидив HSIL (12,0%).

В таблице 24 представлено «биологическое поведение» CIN после родов в зависимости от степени тяжести CIN: наибольшая частота регресса зарегистрирована при CIN1 - 67% (10/15) случаях, при CIN2-в 47% (9/19) случаях и CIN3- в 21% (16/76) случаях, $p < 0,05$; наибольшая частота персистенции отмечена при CIN 3 - в 59/76 (78%) случаях ($p < 0,05$) (Рисунок 11). При статистическом анализе риск персистенции CIN2-3/HSIL после родов был выше в 9,78 раза, чем при CIN1/LSIL (95% ДИ: 1.465-65.400).

При статистическом анализе частоты регресса CIN в зависимости от пути родоразрешения нами не было зарегистрировано достоверного различия: регресс CIN отмечался в 22,7% случаев после кесарева сечения и в 33,8% - после влагалищных родов, $p > 0,05$.

Таблица 25. Динамика CIN после родов по данным цитологического исследования, n=110

CIN	Родоразрешение	n	Регресс	n	Персистенция	n	Прогрессирование до CIN2-3	n	Инвазивный рак	n
CIN1: n=15	Влагалищные роды	11	10	6	1	1	4	4	0	0
	Кесарево сечение	4		4				0		
CIN2: n=19	Влагалищные роды	14	9	7	3	1	7	6	0	0
	Кесарево сечение	5		2				2		
CIN3: n=76	Влагалищные роды	49	16	12	59	36	-	-	1	1
	Кесарево сечение	27		4				23		-
Всего: n=110	Влагалищные роды	74	35	25	63	38	11	10	1	1
	Кесарево сечение	36		10				25		1

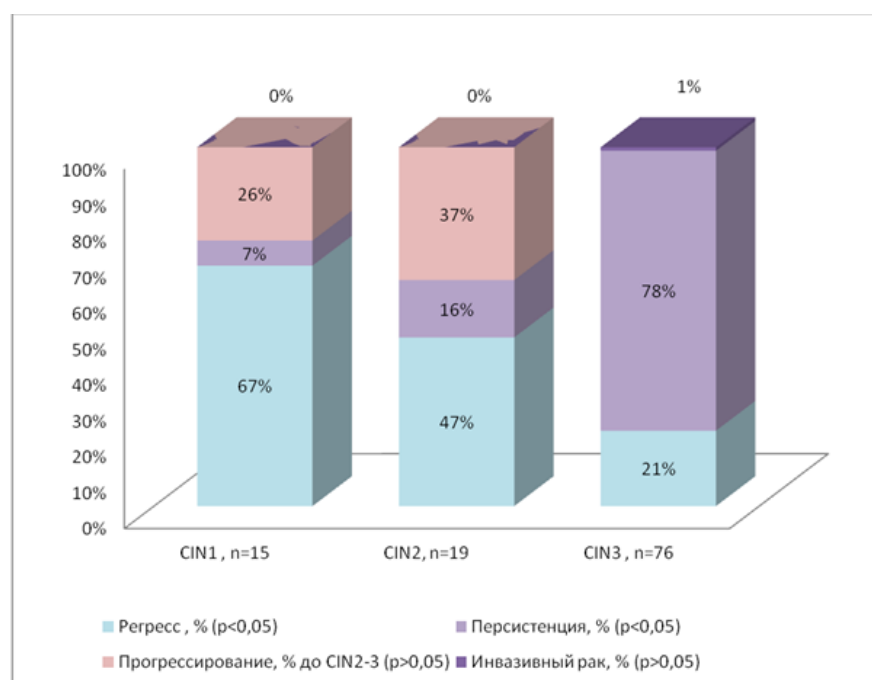


Рисунок 11. «Биологическое поведение» интраэпителиальной неоплазии шейки матки после родов в зависимости от степени тяжести CIN

Прогрессирование CIN в микроинвазивный рак шейки матки было зарегистрировано после влагалищных родов у 1/110 (0,9%) женщины с первичным диагнозом CIN3 в сочетании с беременностью. В последующем пациентке в хирургическом отделении ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России выполнена видео-ассистированная влагалищная трахелэктомия. В настоящее время у пациентки ремиссия заболевания (медиана наблюдения 4,5лет).

3.3. Иммуноцитохимический, иммуногистохимический методы в дифференциальной диагностике цервикальной интраэпителиальной дисплазии во время беременности

В качестве дополнительного метода диагностики во время беременности с целью прогнозирования заболевания нами был проведен иммуноцитохимический анализ «двойного окрашивания» на 10 образцах цитологического материала. Положительный результат, а именно, двойное окрашивание цитологического мазка для p16/Ki-67 во время беременности, получен у семи пациенток: CIN2 (n=2) и CIN3 (n=5) (Рисунок 12). Отрицательный результат в виде отсутствия

одновременного коричневого иммуноокрашивания цитоплазмы и красного иммуноокрашивания ядра клеток цервикального эпителия обнаружен в 3 случаях CIN2. Во всех 3-х случаях отрицательного окрашивания после родов зафиксирован регресс интраэпителиального поражения шейки матки.

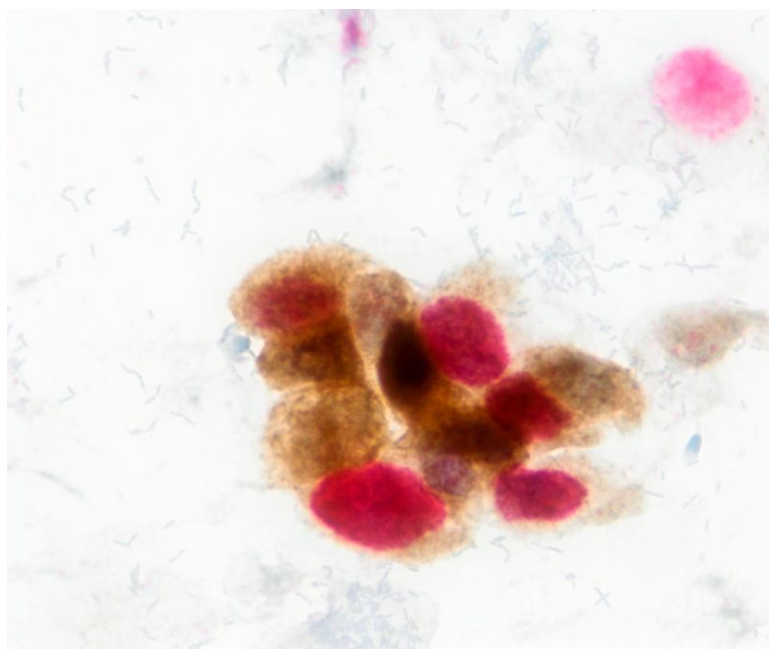


Рисунок 12. ИЦХ-исследование. Цервикальная эпителиальная p16INK4a (коричневое цитоплазматическое окрашивание) и Ki-67 (красное окрашивание ядер) положительная клетка. CIN 3 на фоне беременности

При иммуногистохимическом анализе экспрессия маркеров p16/Ki-67 в виде окрашивания эпителиального пласта наблюдалась в 74 образцах, представленных: CIN2-3 (n=72) и инвазивным раком шейки матки (n=2) (Рисунок 13). Отсутствие иммунного окрашивания было зафиксировано в 6 случаях, из них: в биоптатах шейки матки во время беременности (CIN1, n=1; CIN2, n=2) и конусах шейки матки после родоразрешения (CIN3, n=3). В случаях отсутствия окрашивания – в гистологических материалах регистрировался регресс заболевания после беременности. Исходя из полученных данных, иммуноцитохимический и иммуногистохимический методы целесообразно дополнять к традиционному цитологическому исследованию при выявлении CIN2-3 в ассоциации с беременностью, особенно в спорных случаях, с целью прогнозирования заболевания.

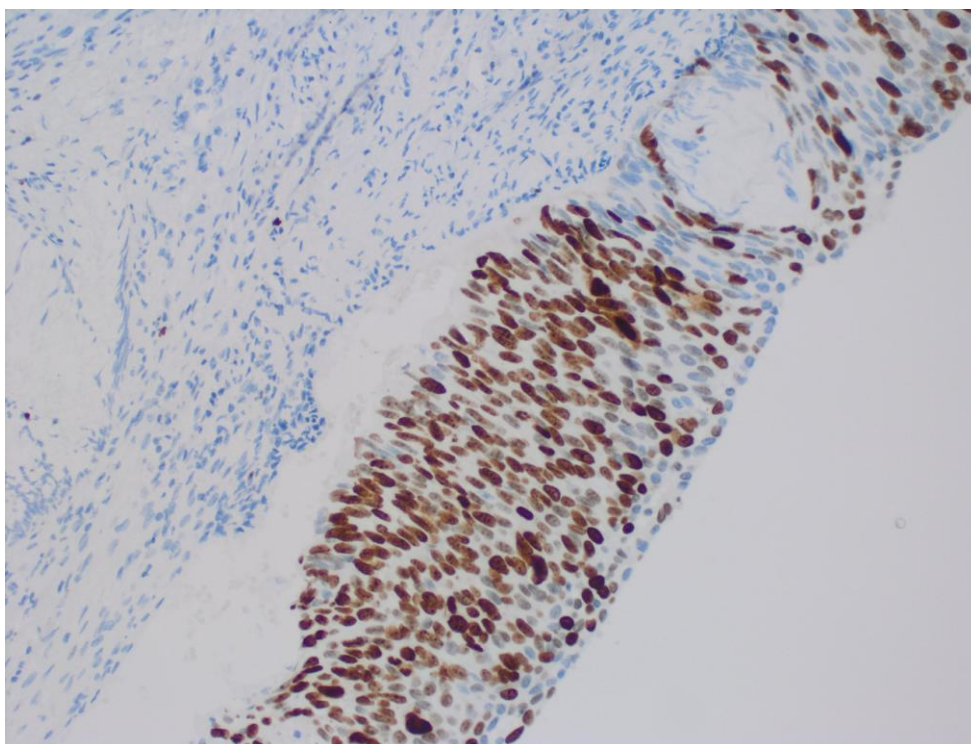


Рисунок 13. ИГХ-исследование, реакция Ki-67. CIN 3 на фоне беременности

3.4. Лечебная тактика ведения беременных, отягощенных цервикальной интраэпителиальной неоплазией, основанная на анализе «биологического поведения» опухоли

В ходе статистического анализа выявлена зависимость между возрастом женщин и течением заболевания после родов. Так, персистенция CIN после родоразрешения среди женщин старше 27 лет отмечалась в 50 случаях (65,8%), а в группе женщин младше 27 лет - в 13 случаях (38,2%). Различия показателей, оцененные с помощью точного критерия Фишера, были статистически значимы ($p < 0,05$). Риск развития персистенции CIN после родов среди женщин старше 27 лет был выше в 1,72 раза, чем в группе женщин младше 27 лет (95% ДИ: 1.090-2.717) (Рисунок 14).

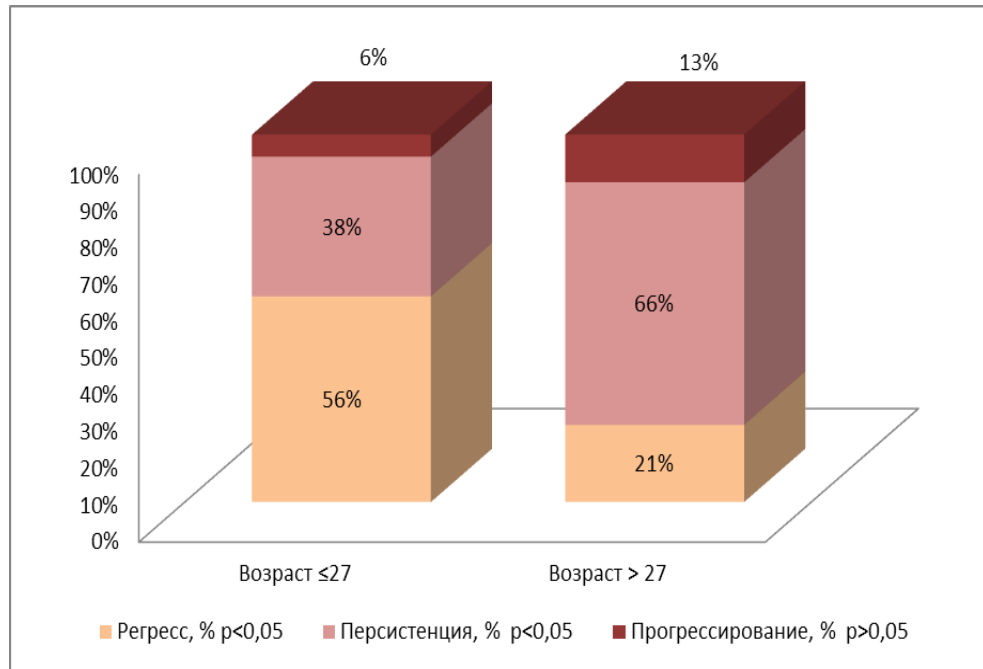


Рисунок 14. «Биологическое поведение» интраэпителиальной неоплазии шейки матки в зависимости от возраста женщины

При изучении клинических данных выявлена зависимость между наличием эктопии шейки матки и тяжестью интраэпителиального поражения во время беременности. Частота обнаружения эктопии шейки матки у беременных возрастала с тяжестью интраэпителиального поражения: среди CIN 1 эктопия шейки матки выявлялась в 8% случаев, среди CIN2-в 14,7%, среди CIN 3-в 77,3% ($p < 0,05$) (Рисунок 15).

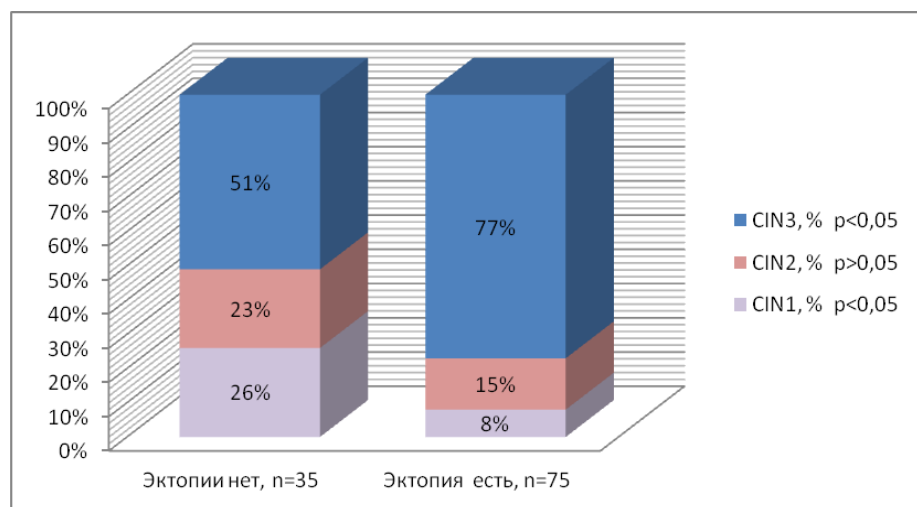


Рисунок 15. Цервикальная интраэпителиальная неоплазия на фоне беременности в зависимости от наличия эктопии шейки матки

При анализе «биологического поведения» CIN после родоразрешения в зависимости от наличия/отсутствия эктопии шейки матки во время беременности различия показателей, оцененные с помощью критерия хи-квадрат, были статистически значимы ($p < 0,001$). Наибольшая частота эктопии шейки матки была выявлена в группе персистенции CIN3, составляя 70,7% (Рисунок 16). Риск персистенции CIN после родов при наличии эктопии шейки матки на фоне беременности был выше в 2,47 раза, чем при визуально неизменной шейке матки (95% ДИ: 1.436-4.260).

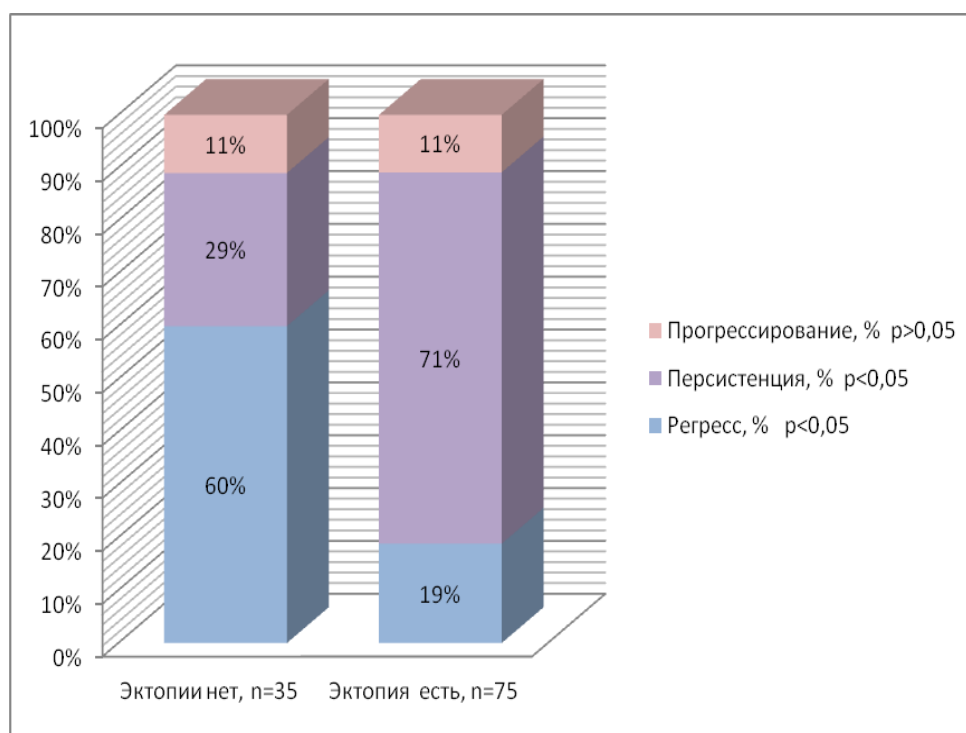


Рисунок 16. «Биологическое поведение» интраэпителиальной неоплазии шейки матки после родоразрешения в зависимости от состояния шейки матки во время беременности

Этиологическим фактором рака шейки матки является вирус папилломы человека (ВПЧ) канцерогенных типов. В нашем исследовании среди беременных женщин с CIN инфицирование онкогенными типами ВПЧ было зарегистрировано в 79,6% (156/196) случаев. При этом, женщины преимущественно были заражены двумя и более типами вируса (64%) (Рисунок 17). На первом месте по частоте встречаемости был 16 онкогенный тип вируса (62%), далее следовал 18 тип (21%), 31 (18%) и 33 -(18%) типы (Рисунок 18). Кроме того, обращает на себя внимание

увеличение частоты инфицированности ВПЧ в зависимости от степени тяжести CIN (Рисунок 19).

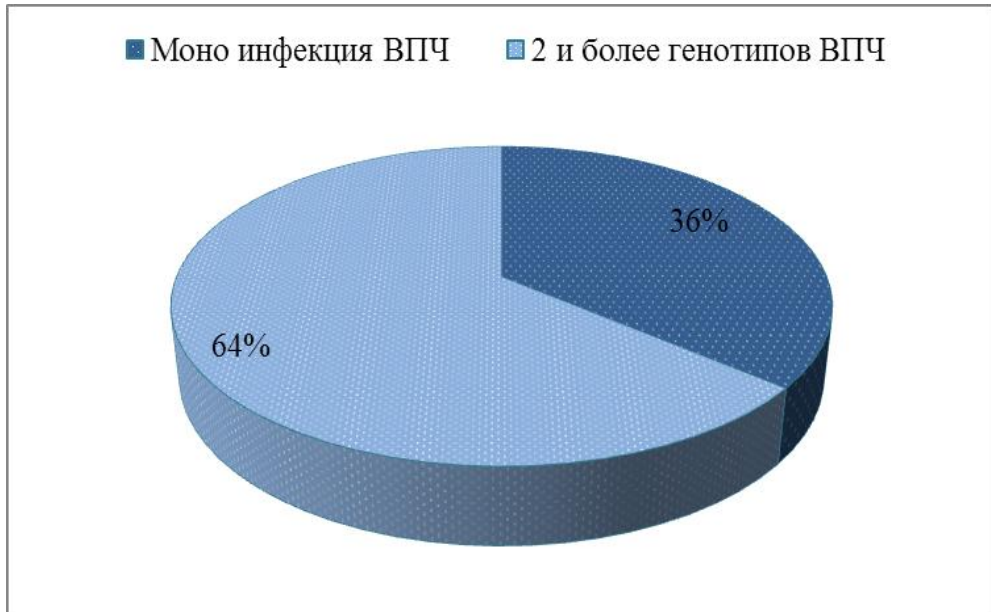


Рисунок 17. Частота инфицированности ВПЧ среди CIN в сочетании с беременностью, %

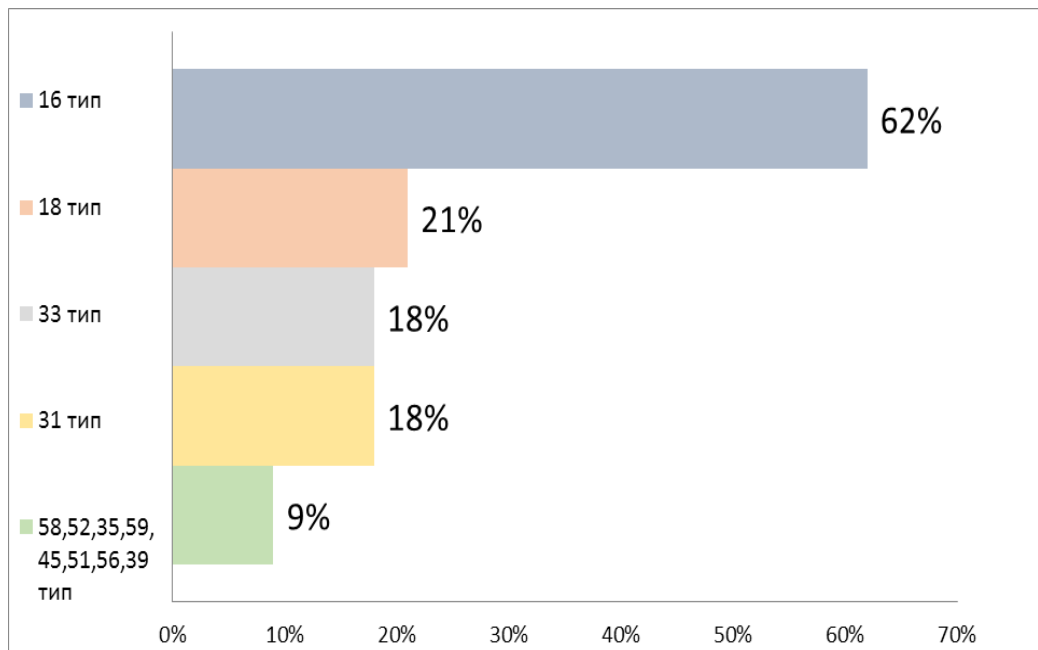


Рисунок 18. Распространенность канцерогенных типов ВПЧ среди инфицированных беременных женщин, %

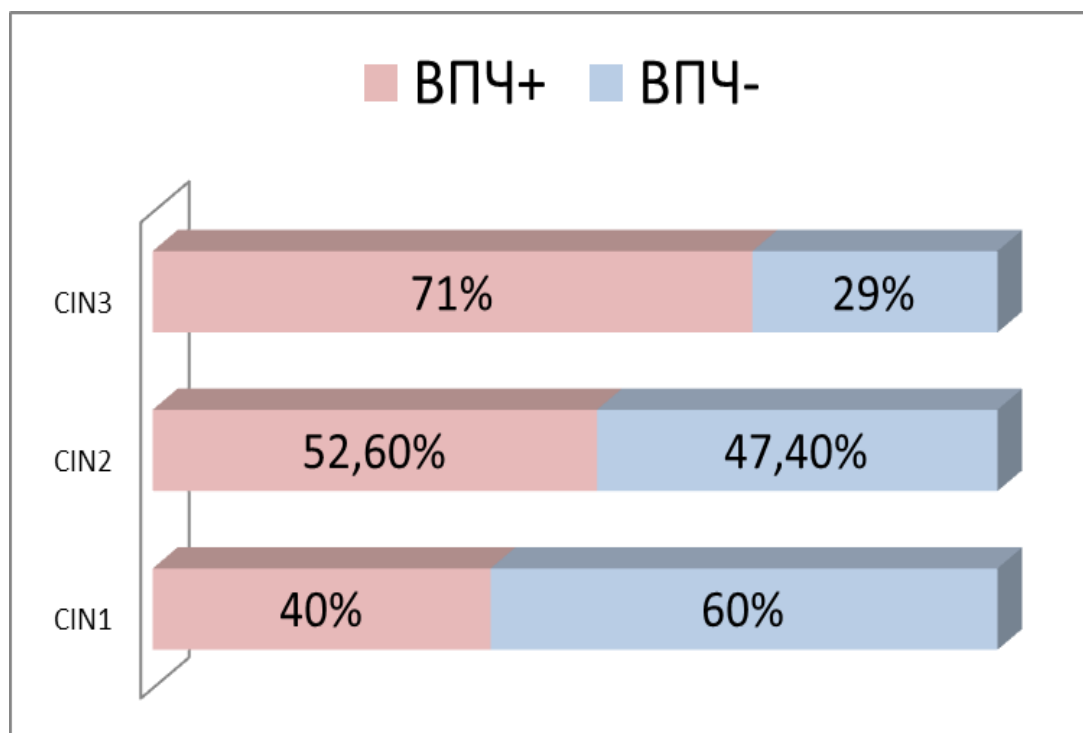


Рисунок 19. ВПЧ инфицированность женщин во время беременности в сочетании с CIN, %

Статистический анализ установил взаимосвязь между ВПЧ - статусом беременных женщин и "биологическим поведением" CIN после родов. Различия показателей, оцененные с помощью критерия хи-квадрат, были достоверными ($p < 0,001$). Регресс CIN после родов среди ВПЧ-негативных женщин составил 55%, в то время, как среди ВПЧ-позитивных женщин - в 18,6% случаях. Персистенция CIN после родоразрешения среди ВПЧ инфицированных женщин отмечалась в 49 случаях (70%), среди ВПЧ-негативных женщин - в 14 случаях (35%). Кроме того, риск персистенции CIN после родов у ВПЧ инфицированных женщин был в 2,0 раза выше, чем у ВПЧ-негативных женщин (95% ДИ:1.276-3.134) (Рисунок 20, 21).

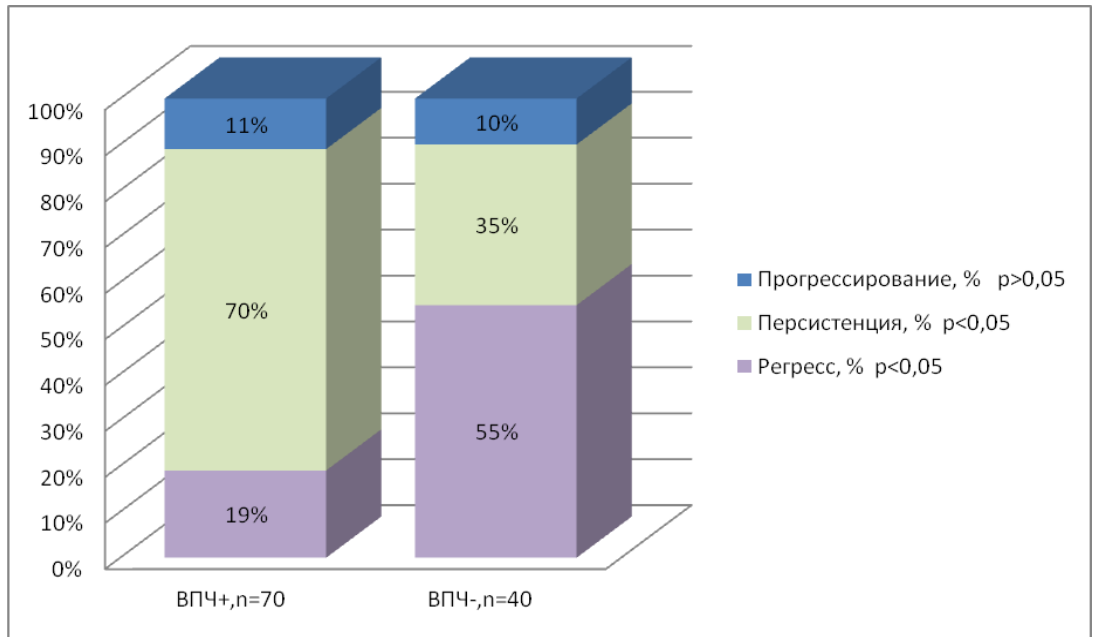


Рисунок 20. «Биологическое поведение» интраэпителиальной неоплазии шейки матки после родоразрешения в зависимости от ВПЧ статуса женщин

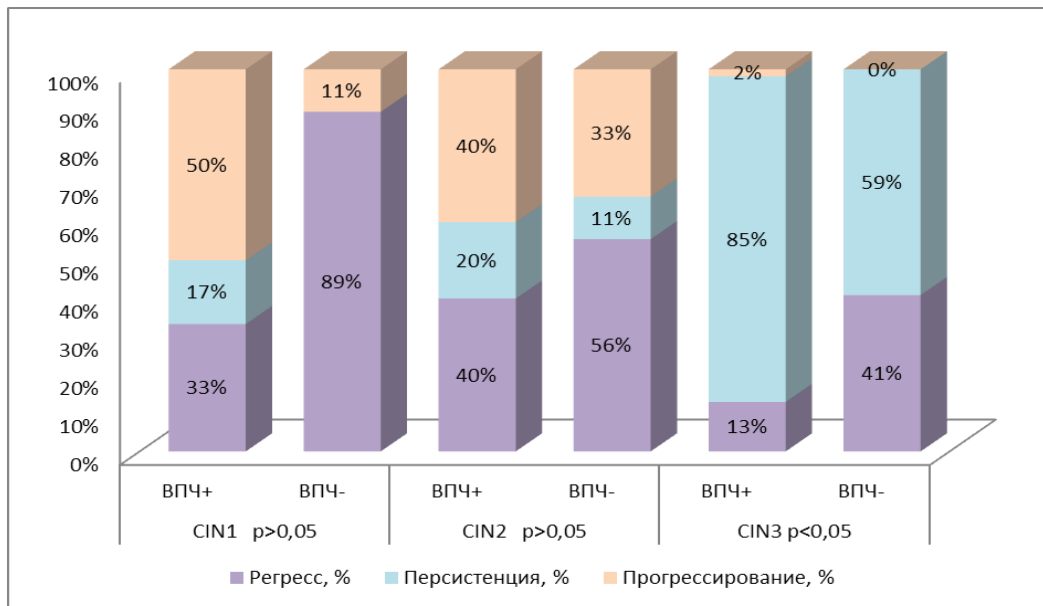


Рисунок 21. «Биологическое поведение» интраэпителиальной неоплазии шейки матки после родоразрешения в зависимости от тяжести интраэпителиального поражения и ВПЧ статуса

В результате унивариантного анализа бинарных переменных определены относительный риск (ОР) персистенции цервикальной интраэпителиальной неоплазии после родов и статистическая значимость выявленной прямой связи между фактором и исходом заболевания. В результате анализа установлено, что

такие факторы, как HSIL, возраст старше 27 лет, ВПЧ инфицированность, эктопия шейки матки на фоне беременности, способствуют персистенции заболевания во время беременности и после родов (Таблица 26).

Таблица 26. Предиктивные факторы риска персистенции цервикальной интраэпителиальной неоплазии во время беременности и после родоразрешения

Фактор	Абсолютное число	%	ОР (относительный риск)	95%ДИ	Значение критерия χ^2	Уровень значимости
HSIL (CIN2-3) LSIL (CIN1)	62/95 1/15	65.2 6.7	9.78	1.465- 65.400	18.177	<0.001
ВПЧ+ ВПЧ-	49/70 14/40	70 35	2.0	1.276- 3.134	12.742	<0.001
Возраст > 27 лет Возраст ≤ 27 лет	50/76 13/34	65.8 38.2	1.72	1.090- 2.717	7.288	0.007 Рткф <0.05
Эктопия есть Эктопии нет	53/75 10/35	70.7 28.6	2.47	1.436- 4.260	17.280	<0.001
Кесарево сечение Влагалищные роды	25/36 38/74	69.4 51.4	1.35	0.992- 1.844	3.240	>0.05 (0.072)

3.5. Риск передачи вируса папилломы человека от матери к ребенку

Дополнительно в исследовании с помощью ПЦР в режиме реального времени исследовано 30 образцов из ротовой полости детей, рожденных от ВПЧ-инфицированных матерей. Генотипы ВПЧ, выявленные у матерей, были представлены как высокого, так и низкого канцерогенного риска. Родоразрешение женщин было, в основном, через естественные родовые пути - 83,3% (25/30). Среди 20 детей в возрасте от 1,1 до 3,4 лет ДНК ВПЧ не было выявлено ни в одном случае. Для исключения вероятности самостоятельной элиминации вируса в этой возрастной группе, нами также были обследованы 10 новорожденных до 2-х суток, рожденных от ВПЧ позитивных женщин. Проведенный анализ не обнаружил ДНК вируса ни в одном случае у новорожденных, что

свидетельствовало также об отсутствии вертикальной и трансплацентарной передачи вируса от матери к ребенку (Таблица 27).

Таблица 27. Генотипы ВПЧ среди инфицированных беременных женщин (n=29) и родившихся детей (n=30)

Типы ВПЧ	ВПЧ инфицированные женщины, n=29	%	Дети, рожденные от ВПЧ инфицированных женщин, n=30
6,11	6	21	0
16	5	17	0
16,18	4	14	0
16,31	3	10	0
33	3	10	0
16,58	2	7	0
16,51	2	7	0
35	2	7	0
58	2	7	0

ГЛАВА IV ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рак шейки матки является самой распространенной гинекологической опухолью, сочетающейся с беременностью. Показатели заболеваемости инвазивным раком шейки матки составляют в среднем 0,8-1,2 на 10.000 беременностей [18,40,112]. Для преинвазивного рака (цервикальной интраэпителиальной неоплазии, CIN) распространенность выше и в среднем составляет 13,0 на 10.000 беременностей [18]. В 2016 году в России в возрастной группе (25-29 лет) рак шейки матки занимает лидирующие позиции (19,17%) среди всех онкологических заболеваний, опережая лимфопролиферативные заболевания и рак молочной железы. В возрасте 30-34 лет удельный вес рака шейки матки также высокий (23,76%), оставляя эту опухоль на первом месте среди всех онкологических заболеваний у молодых [3,4]. **Ошибка! Источник ссылки не найден.** Учитывая увеличение возраста первородящих женщин на протяжении последних десятилетий, перераспределение онкологической заболеваемости в Российской Федерации, клинико-морфологические характеристики, а также «биологическое поведение» интраэпителиальных поражения шейки матки на фоне беременности требуют углубленного изучения.

По рекомендациям большинства зарубежных и отечественных экспертов тактика ведения беременных с CIN выжидательная, поскольку частота прогрессирования CIN2-3 (HSIL) в инвазивный рак после родов варьирует в диапазоне от 1,1 до 3,6% [59,89,90,132], однако, ряд авторов регистрируют более высокие показатели от 5,4 до 13,6% [32,34,106]. По результатам нашего исследования прогрессирование CIN в инвазивный рак шейки матки было выявлено после влагалищных родов у 1/110 (0,9%) женщины с первичным диагнозом CIN3 в сочетании с беременностью. Поэтому всем женщинам с CIN в сочетании с беременностью мониторинг заболевания проводился с помощью цитологического исследования шейки матки во время беременности и после родов с последующим решением вопроса о проведении конизации шейки матки.

Цитологическое исследование является эффективным методом диагностики и мониторинга CIN, что доказано многочисленными исследованиями и признано экспертами ВОЗ, как обязательная процедура в профилактике рака шейки матки. Однако во время беременности диагностическая точность цитологического исследования традиционным методом может быть снижена в виду гравидарных изменений в эпителии шейки матки, таких как физиологическая гипертрофия, метаплазия призматического эпителия, выраженная васкуляризация, децидуоз стромы. Поэтому, в настоящей работе была произведена оценка эффективности цитологического метода исследования. Нами установлена высокая информативность традиционного цитологического исследования, как во время беременности, так и после родов. Чувствительность в выявлении CIN составила 95,0-98,7%, прогностическая ценность положительного результата- 94,9-95,0%, а диагностическая точность метода - 90,5-93,8%. Таким образом, учитывая высокую информативность исследования, необходимости в выполнении конибиопсии для гистологического подтверждения диагноза во время беременности нет. Работы, выполненные в 1970-80-х годах, свидетельствуют, что конусовидная биопсия во время беременности связана с такими осложнениями, как выкидыш, кровотечение, преждевременные роды. Частота тяжелого кровотечения составляет от 5,2% до 14%, выкидыша - от 16,7% до 26,7%, преждевременных родов и перинатальной смертности - от 3% до 7,3%, неполного иссечения- 52%, рецидива заболевания- 89% [21,36,49]. Согласно современным рекомендациям Американского колледжа акушерства и гинекологии, американского общества по кольпоскопии, европейским рекомендациям, диагностическая эксцизионная процедура рекомендуется только при подозрении на инвазивный опухолевый процесс. Поэтому в настоящее время хирургическое лечение при CIN2-3 во время беременности считается неприемлемым, а тактика ведения ограничена цитологическим мониторингом [72].

Наиболее новыми методами исследования, возлагающими надежды в прогностическом отношении, являются иммунологические реакции антигена и антитела, которые среди беременных женщин в сочетании с диспластическими

изменениями шейки матки меньше всего изучены. Чувствительность иммуноцитохимического исследования с двойным окрашиванием p16^{INK4a}/Ki67 (CINtec Plus) была оценена в 776 ретроспективных исследованиях. Среди женщин всех возрастов для обнаружения CIN2+ чувствительность метода двойного окрашивания цитологического мазка составила 86,7%, специфичность 95,2% [125]. Частота положительного результата p16^{INK4a} / Ki-67 была значительно выше в зависимости от тяжести интраэпителиального поражения, подтвержденного цитологически и гистологически ($p < 0,05$ в обоих случаях) [53]. Чувствительность и специфичность метода были продемонстрированы на основании многоцентровых исследований, однако масштабных исследований по эффективности и применению метода у беременных не представлено. Лишь Trutnovsky G. в 2014 провел ретроспективное экспериментальное иммуноцитохимическое исследование среди беременных женщин с CIN в Медицинском университете г. Грац, Австрия [117]. Стоит отметить, что исследование проводилось на архивном материале и треть покровных стекол по техническим причинам не были оценены, вероятно, как следствие несовершенной методики. Анализ полученных результатов демонстрировал отсутствие «двойного окрашивания» маркеров при регрессе CIN и, наоборот, позитивность теста при персистенции заболевания после родов. Согласно протоколу исследования, описанного в данной работе, под руководством профессора Виктора Ивановича Новика ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России был проведен эксперимент в воспроизведении данной методики на архивном материале, однако результаты не были получены, так как архивный материал для данного исследования был неудовлетворительного качества.

Поэтому нами выполнен проспективный анализ иммуноцитохимического исследования методом «двойного окрашивания» цервикального эпителия с помощью CINtec PLUS Cytology на аппарате VENTANA в ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России. В результате окрашивания комплектом CINtec PLUS Cytology образуются два различно окрашенных продукта реакции: коричневый осадок в местах скопления антигена p16^{INK4a} и

красный осадок в местах расположения антигена Ki-67. Коричневое окрашивание клеток (цитоплазмы и/или ядра) указывает на повышенную экспрессию p16^{INK4a}. Красное окрашивание клеток (ядра) указывает на экспрессию Ki-67. Клетки, содержащие оба антигена, имеют коричневую окраску цитоплазмы с красными выделяющимися ядрами. При этом, совместное выявление белков p16^{INK4a} и Ki-67 в одной и той же клетке является взаимоисключающим, но при обнаружении является явным индикатором дерегулирования клеточного цикла.

Особенностью исследования было изучение цитологического материала с поверхности шейки матки у беременных женщин методом «двойного окрашивания». По результатам цитологического исследования в послеродовом периоде регресс поражения до нормы или CIN1 отмечался в случаях, где иммуноокрашивание было отрицательным на фоне беременности (отсутствие цервикальных клеток эпителия, имеющих одновременное коричневое иммуноокрашивание цитоплазмы и красное иммуноокрашивание ядра). Двойное окрашивание цитологического мазка для p16^{INK4a}/Ki-67 во время беременности получено среди HSIL, при этом, в послеродовом периоде по результатам гистологического исследования во всех случаях наблюдалось стабилизация либо прогрессирование в пределах CIN. В дополнение к иммуноцитохимическому (ИЦХ) анализу, иммуноокрашивание было выполнено на гистологическом материале биоптатов шейки матки во время беременности и резецированных конусах после прерывания беременности/родоразрешения. Нами было зафиксировано отсутствие окрашивания p16^{INK4a}/Ki-67 в случаях регресса дисплазии шейки матки. Следовательно, иммуноцитохимический анализ методом «двойного окрашивания» обеспечивает объективный результат в выявлении женщин, у которых, вероятно, будет персистенция/прогрессирование CIN и может быть рекомендован, как прогностический маркер развития заболевания, дополняющий традиционное цитологическое исследование.

В течение последних десятилетий многие авторы изучали естественную историю CIN на фоне беременности и после родов, их результаты противоречивы. Так, частота регресса CIN 1 после родов колеблется между 32% и 69%, CIN 2-3 от

16,7% до 70% [32,59,90]. Стоит отметить, что динамика заболевания в течение беременности и после родоразрешения отличалась и в различных возрастных группах. По результатам зарубежных исследований, показатель регресса CIN среди женщин младше 25 лет составил 52,6% (10/19) по сравнению с 26,2% (16/61) среди пациентов старше 25 лет. Ни одного случая прогрессирования не наблюдалось среди пациентов в возрасте 25 лет или младше. В группе пациентов с CIN1 регресс наблюдался примерно у 50% пациентов в возрасте 25 лет и младше и в 42,8% среди пациентов старше 25 лет [34].

В настоящем исследовании изучено «биологическое поведение» CIN во время беременности и после родов. При анализе результатов цитологического исследования на протяжении беременности установлено, что персистенция CIN регистрировалась в 97,2%(107/110), при этом, прогрессирования заболевания в инвазивный рак за период гестационного срока не наблюдалось ни в одном случае, что позволяет отсрочить лечебные манипуляции после завершения беременности. Цитологическое исследование после родоразрешения выявило наибольшую частоту регресса при CIN1 - 67% (10/15) случаях, при CIN2-в 47% (9/19) случаях и CIN3- в 21% (16/76) случаях, $p < 0,05$; наибольшая частота персистенции отмечена при CIN 3 - в 59/76 (78%) случаях ($p < 0,05$). При статистическом анализе риск персистенции CIN2-3(HSIL) после родов был выше в 9,78 раза, чем при CIN1 (LSIL1) (95% ДИ: 1.465-65.400). В настоящей работе также установлена зависимость «биологического поведения» заболевания от возраста женщин. Так, персистенция CIN после родоразрешения среди женщин старше 27 лет отмечалась в 65,8%, а в группе женщин младше 27 лет - в 38,2% ($p < 0,05$). Риск развития персистенции CIN после родов среди женщин старше 27 лет был выше в 1,72 раза, чем в группе женщин младше 27 лет (95% ДИ: 1.090- 2.717).

Высокий уровень инвазивного рака шейки матки у пациентов с CIN2/3 в некоторых зарубежных исследованиях, объясняется более старшим возрастом (средний возраст 32 года) по сравнению с возрастной категорией других исследований (средний возраст 24 года) [76,132]. Действительно, стоит отметить, что возраст женщин может быть предиктивным фактором прогноза заболевания,

поскольку, по результатам нашего исследования средний возраст беременных женщин с CIN 1 в среднем составляет $27,4 \pm 3,8$ лет, с CIN 2-3 - $30,0 \pm 3,6$ лет. При этом средний возраст беременных женщин, у которых был выявлен инвазивный рак шейки матки, составил 35,6 лет.

Выбор метода родоразрешения при CIN основывается на работах Ahdoot D, Paraskevoidis E, Ueda Y. и соавт. [16,90,120]. Вышеуказанные наблюдения не демонстрируют преимущества выполнения кесарева сечения. В работе Ahdoot D. не было зарегистрировано ни одного случая регресса заболевания после кесарева сечения. Регресс CIN после влагалищных родов был в 60% случаев [16]. По данным Paraskevoidis E. и соавт. частота регресса поражения шейки матки превалировала после влагалищных родов, что объясняет автор травмой шейки матки во время прохождения плода через родовой канал и как следствие десквамацией измененного эпителия, послеродового местного репаративного иммунного ответа [90]. Исследование Ueda Y. и соавт. продемонстрировало регресс CIN в 69% (24/35) после влагалищных родов и в 25% (2/8) после кесарева сечения [120]. В нашем исследовании родоразрешение через естественные родовые пути было у 74/110 (67,3%) женщин, путем кесарева сечения - у 36/110 (32,7%), при этом не зарегистрировано достоверного влияния пути родоразрешения на степень регресса CIN: 22,7% и 33,8%, соответственно, $p > 0,05$. Поэтому, на основании представленных данных об отсутствии различия между путями родоразрешения позволяют нам рекомендовать роды *per vias naturales*.

Этиологическим фактором рака шейки матки является вирус папилломы человека (ВПЧ) канцерогенных типов. Систематический обзор P.Liu, L.Xu, 2014г. года объединил 28 исследований, который включил 13 640 беременных и небеременных женщин соответствующего возраста [68]. Распространенность ВПЧ у беременных женщин варьировала от 16% до 82%, а у небеременных женщин соответствующего возраста составила от 12% до 25%. Нами также была оценена частота распространенности ВПЧ-инфекции онкогенных типов среди беременных женщин с CIN, которая составила 79,6% (156/196) случаев. При этом женщины преимущественно были заражены двумя и более типами вируса (64%).

На первом месте по частоте встречаемости был 16 онкогенный тип вируса (62%), далее следовал 18 тип (21%), 31 (18%) и 33 -(18%) типы. Приведенные результаты указывают на высокую распространенность ВПЧ-инфекции у беременных женщин по сравнению с общей популяцией по результатам зарубежных исследований, что многими учеными объясняется относительной иммуносупрессией у беременных женщин.

Наряду с тем, что папилломавирус человека является центральным этиологическим агентом для развития большинства случаев рака шейки матки, а также злокачественных новообразований вульвы, влагалища, ануса и ротоглотки, вместе с тем вирус способствует развитию ряда доброкачественных изменений [66,25]. Рецидивирующий респираторный папилломатоз - вирусиндуцированное заболевание верхних дыхательных путей, которое характеризуется появлением папилломатозных поражений обычно гортани. Болезнь чаще встречается среди детского населения. Основной пик заболеваемости приходится на 2-3 года, но предполагают и возможность врожденного папилломатоза [72]. ВПЧ-инфекция у детей встречается чаще всего при рождении, во время прохождения через родовые пути инфицированных матерей [45,27,61]. Трансплацентарный путь инфицирования плода описан примерно в 12% случаев [104]. Систематический обзор литературы не показал статистически значимой разницы в частоте инфицирования вирусом в зависимости от пути родоразрешения [128]. Проведенные проспективные исследования показывают, что инфицированность вирусом папилломы человека может носить транзиторный характер. Согласно литературным данным, наличие ДНК ВПЧ в образцах новорожденных и младенцев широко варьирует в диапазоне от 0 до 80%. В исследовании María Soledad Sánchez-Torices, 2014г. вирусную ДНК зарегистрировали в 9 образцах амниотической жидкости, что составляло 10% случаев; в образцах пупочной венозной крови вирусная ДНК была идентифицирована только в 6 случаях (7%) - полное соответствие по количеству и типу в отношении серотипов, выделенных в каждой среде. В отношении неонатальной орофарингеальной колонизации ВПЧ, а одних работах ДНК вируса была выделена сразу после родов у 53 (58,24%) из 91

новорожденных, однако через 7-10 дней после рождения только в 24,57% сохранялась колонизация вируса. По данным других зарубежных исследований, частота передачи от матери к ребенку была оценена от 3,4 до 53,3%, однако, через 6 месяцев после родов ДНК ВПЧ не определялась ни в одном случае [66,105].

Для изучения возможности передачи ВПЧ от инфицированных матерей нами также были обследованы их дети. В настоящем исследовании анализ проводился среди 20-ти детей в возрасте 1,1-4,5 лет, а для исключения вероятности самостоятельной элиминации вируса у детей наблюдаемого возраста, обследована ротовая полость 10-ти новорожденных до 2-х суток, также рожденных от ВПЧ-инфицированных матерей с CIN. Генотипы ВПЧ, выявленные у матерей, были представлены как высокого, так и низкого канцерогенного риска. Родоразрешение женщин было, в основном, через естественные родовые пути - 83,3% (25/30). Проведенный анализ не обнаружил ДНК вируса ни в одном случае у новорожденных, что свидетельствовало также об отсутствии вертикальной и трансплацентарной передачи вируса от матери к ребенку.

Таким образом, цервикальная интраэпителиальная неоплазия (CIN/SIL), выявленная во время беременности, не является показанием для прерывания беременности, целью цитологического исследования является мониторинг заболевания и исключение инвазивного рака шейки матки. Цитологическое исследование является надежным и информативным методом диагностики. При сохраняющейся CIN через 2 месяца после родов рекомендуется незамедлительная электроконизация шейки матки. Особенностью электроконизации шейки матки в первые 2 месяца после родов является повышенная кровоточивость тканей, что может потребовать наложения гемостатических швов. Поэтому при регистрируемом регрессе CIN после родов, возможно отсрочить конизацию в течение нескольких последующих месяцев. Но выполнение конизации даже при регрессе HSIL/CIN2,3 необходимо планировать ввиду риска рецидива CIN (до 12,0%).

ВЫВОДЫ

1) Средний возраст беременных с CIN составил $29,3 \pm 4,3$ лет: CIN1/LSIL - $27,4 \pm 3,8$ лет, CIN 2-3/HSIL - $30,0 \pm 3,6$ лет, среди них: первородящих 64,3%, с отягощенным гинекологическим анамнезом - 44%, с эктопией шейки матки - 67%, инфицированных вирусом папилломы человека - 79,6%.

2) Цитологическое исследование - эффективный метод диагностики и мониторинга CIN, ассоциированного с беременностью. Чувствительность метода составила 97,9%. Иммуноцитохимическое исследование (ИЦХ) «двойного окрашивания» является дополнительным методом в диагностике и прогнозе течения CIN (во всех случаях отрицательного результата иммуноцитохимического «двойного окрашивания» наблюдался регресс заболевания после родов).

3) Прединдиктивными факторами неблагоприятного прогноза CIN являлись:

- ✓ возраст старше 27 лет (частота персистенции- 66% против 38% у беременных младше 27 лет, $p_{\text{ткф}} < 0,05$);
- ✓ тяжесть дисплазии: (при CIN3 частота персистенции- 78% против 16% при CIN2, $p < 0,001$);
- ✓ ВПЧ-позитивный статус (частота персистенции- 70% против 35% при ВПЧ-негативном статусе, $p < 0,001$);
- ✓ наличие эктопии шейки матки (частота персистенции- 70,7% против 29% при отсутствии эктопии шейки матки, $p < 0,001$);
- ✓ положительный результат иммуноцитохимического «двойного окрашивания» (частота персистенции в 100%).

4) Вид родоразрешения не влиял на «биологическое поведение» CIN (частота персистенции CIN3 после родов-74% против 85% после кесарева сечения, $p = 0,072$).

5) Особенностью тактики лечения женщин с CIN, выявленной во время беременности, при желании сохранить беременность, является цитологический мониторинг, родоразрешение per vias naturales, повторное цитологическое

исследование через 8 недель после родов (частота прогрессирования в инвазивный рак 0,9%); при нежелании сохранить беременность - конизация шейки матки через 2 месяца после медицинского аборта.

б) Риск передачи папилломавирусной инфекции от матери ребенку отсутствует. ДНК ВПЧ не была выявлена ни в одном случае среди детей, рожденных от ВПЧ-инфицированных матерей с CIN.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

При выявлении CIN во время беременности и желании сохранить беременность показано пролонгирование беременности с регулярным цитологическим мониторингом под наблюдением акушера-гинеколога и онколога. Иммуноцитохимическое исследование «двойного окрашивания» является дополнительным методом в диагностике и прогнозе течения CIN, особенно в спорных случаях. Только в случаях подозрения инвазивного процесса показано гистологическое исследование биоптата опухоли. Наличие CIN не является показанием к кесареву сечению.

Всем женщинам, сохраняющим беременность, рекомендуется повторный осмотр с цитологическим исследованием через 2 месяца после родов и последующей электроконизацией шейки матки. В случае регресса CIN после родов показана конизация шейки матки ввиду риска рецидива CIN (до 12,0%), однако возможно отсрочить конизацию на несколько последующих месяцев для минимизации риска кровотечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дианов М.А. Демографический ежегодник России. 2015 / Стат. сб. // Росстат. – Москва.– 2015.– 263. С 67.
2. Ершов В.А. Значение белков L1 вируса папилломы человека и NuMA1 в прогнозе цервикальной интраэпителиальной неоплазии, ассоциированной с вирусом папилломы человека высокого канцерогенного риска. / Ершов В.А., Лисянская А.С., Ронжина Е.А., Рахминова Е.Р. // Акушерство и гинекология: Научно-практический журнал. – 2017. – № 11. - С. 63 – 68.
3. Карпин А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность) / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2016. – 250 с.
4. Каприн А.Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году. – /А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2017. – 236 с.
5. Мерабишвили В.М. Онкологическая статистика (традиционные методы, новые информационные технологии): Руководство для врачей. Издание второе, дополненное. Часть I., 2015. — 223 с.
6. Новик В.И. Эпидемиология рака шейки матки, факторы риска, скрининг// Практическая онкология. – 2002. – Vol. 3. – №3. – С. 156-165.
7. Прилепская В.Н. Генитальные инфекции и патология шейки матки. Клинические лекции / Прилепская В.Н., Рудакова Е.Б.. — Омск: ИПЦ ОмГМА, 2004. – 212 с.
8. Роговская С. И. Практическая кольпоскопия /. - 4-е изд., испр. и доп. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 256 с.
9. Роговская С.И. Распространенность ВПЧ и профилактика рака шейки матки в России и странах бывшего Советского Союза. / С.И. Роговская, И.П. Шабалова, И.В. Михеева, Г.Н. Минкина, Н.И. Подзолкова, О.Ю. Шипулина //Материалы международного междисциплинарного форума «Шейка матки и вульвовагинальные болезни». Москва, 2012. С. 78-79.

10. Ульрих Е.А. Персонализация в лечении рака шейки матки во время беременности / Е.А. Ульрих, И.В. Берлев А.Ф., Урманчеева Е.А., Вербитская Н.А. Микая // Вопросы онкологии. – 2015. – Vol. 61. – №3. – С.486-493.
11. Урманчеева А.Ф. Цервикальные интраэпителиальные неоплазии и беременность / А.Ф. Урманчеева, Е.А. Ульрих //Журнал акушерства и женских болезней. – 2006. – № 4. – С.8-10.
12. Урманчеева А.Ф. Рак шейки матки и беременность //Практическая онкология. – 2002. – Vol. 3. – №3. – С.183 – 193.
13. Урманчеева А.Ф. Опухоли женских половых органов и беременность. Пособие для врачей / А.Ф. Урманчеева, Е.А. Ульрих – СПб.: Изд-во Н-Л, 2011. – 40 с.
14. Федеральная служба государственной статистики, 2013.<http://www.gks.ru/>
15. Ackermann, S. Management and course of histologically verified cervical carcinoma in situ during pregnancy / S. Ackermann, C. Gehrsitz, G. Mehlhorn, M.W. Beckmann // Acta Obstet Gynecol Scand. – 2006. – Vol. 85. – № 9. – P. 1134 – 1137.
16. Ahdoot, D. The effect of route of delivery on regression of abnormal cervical cytologic findings in the postpartum period / D. Ahdoot, K.M. Van Nostrand, N.J. Nguyen, D.S. Tewari // Am J Obstet Gynecol. – 1998. – Vol. 178. – № 6. – P. 1116 – 1120.
17. Albrechtsen, S. Pregnancy outcome in women before and after cervical conisation: population based cohort study / S. Albrechtsen, S. Rasmussen, S. Thoresen // BMJ. – 2008. – Vol. 337. – P. 1338 – 1343.
18. Al-Halal, H. Incidence and obstetrical outcomes of cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer in pregnancy: a population-based study on 8.8 million births / H. Al-Halal, A. Kezouh, H.A. Abenhaim // Arch Gynecol Obstet. – 2013. – Vol. – 287. – № 2. – P. 245 – 250.
19. Arbyn, M. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: meta-analysis / M. Arbyn, M. Kyrgiou, C. Simoens // BMJ. – 2008. – Vol 337. – P. 1284- 1287.

20. Arbyn, M. Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer / M. Arbyn, G. Ronco, A. Anttila // *Vaccine*. – 2012. – Vol. 30. – № 5. – P. 88-99.
21. Averette, H.E. Cervical conization in pregnancy. Analysis of 180 operations / H.E. Averette, N. Nasser, S.L. Yankow, W.A. Little // *Am J Obstet Gynecol*. – 1970. – Vol. 106. – № 4. – P. 543-549.
22. Basu, P. Status of implementation and organization of cancer screening in The European Union Member States-Summary results from the second European screening report / P. Basu, A. Antilla, G. Ronco. // – *Int J Cancer*. – 2018. – Vol. 142. № 1. – P. 44 – 56.
23. Bos, A. Non-progression of cervical intraepithelial neoplasia estimated from population-screening data / A. Bos, M. van Ballegooijen, G.J. van Oortmarssen // *Br J Cancer*. – 1997. – Vol. 75. – № 1. – P. 124-30.
24. Bosch, F.X. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases / F.X. Bosch, T.R. Broker, D. Forman, A.B. Moscicki // *Vaccine*. – 2013. – Vol. 31. – № 6. – P. 11-31.
25. Broderick, D. Histologic and colposcopic correlates of ASCUS Pap smears in pregnancy / D. Broderick, D. Matityahu, M. Dudhbhai // *J Low Genit Tract Dis*. – 2002. – Vol. 6. – № 2. – P. 116–119.
26. Carifi, M. Recurrent respiratory papillomatosis: current and future perspectives / M. Carifi, D. Napolitano, M. Morandi, D. Dall'Olio // *Ther Clin Risk Manag*. – 2015. – Vol. 11. – P. 731-738.
27. Carozzi, F. HPV testing in the follow-up of women with cytological abnormalities and negative colposcopy / F. Carozzi, C.B. Visioli, M. Confortini, A. Iossa // *Br J Cancer*. – 2013. – Vol. 109. – № 7. – P.1766-1774.
28. Cason, J. Perinatal infection and persistence of human papillomavirus types 16 and 18 in infants / J. Cason, J.N. Kaye, R.J. Jewers, P.K. Kambo // *J Med Virol*. – 1995. – Vol. 47. – № 3. – P. 209-218.

29. Castanon, A. Risk of preterm delivery with increasing depth of excision for cervical intraepithelial neoplasia in England: nested case-control study / A. Castanon, R. Landy, P. Brocklehurst, H. Evans // *BMJ*. – 2014. – Vol. 3. № 4. – P. 62-67.
30. Castellsagué, X. Intrauterine device use, cervical infection with human papillomavirus, and risk of cervical cancer: a pooled analysis of 26 epidemiological studies. X. Castellsagué, M. Díaz, S. Vaccarella, S. de Sanjosé // *Lancet Oncol*. – 2011. – Vol. 12. – № 11. – P.1023-1031.
31. Chatzistamatiou, K. Effect of mode of delivery on vertical human papillomavirus transmission - A meta-analysis / K. Chatzistamatiou, A. Sotiriadis, T. Agorastos // *J Obstet Gynaecol*. – 2016. – Vol. 36. – № 1. P. 10– 14.
32. Coppolillo, E.F. High-grade cervical neoplasia during pregnancy: diagnosis, management and postpartum findings / E.F. Coppolillo, H.M. De Ruda Vega, J. Brizuela, M.C. Eliseth // *Acta Obstet Gynecol Scand*. – 2013. –Vol. 92. – № 3. – P. 293-297.
33. Creasman, W.T. Cancer and pregnancy // *Ann N Y Acad Sci*. – 2001. – № 943. – P. 281-286.
34. Cubo-Abert, M. Risk factors for progression or persistence of squamous intraepithelial lesions diagnosed during pregnancy / M. Cubo-Abert, C. Centeno-Mediavilla, P. Franco-Zabala // *J Low Genit Tract Dis*. – 2012. – Vol. 16. – № 1. –P. 34-38.
35. Cuzick, J. New technologies and procedures for cervical cancer screening / J. Cuzick, C. Bergeron, M. von Knebel Doeberitz, P. Gravitt // *Vaccine*. – 2012. – Vol. 30. – № 5. – P.107 – 116.
36. Daskal, J.L. Cone biopsy of the cervix during pregnancy / J.L. Daskal, R. M. Pitkin // *Obstet Gynecol*. – 1968. – Vol. 32. – № 1. – P. 1-5.
37. de Sanjose, S. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study / S. de Sanjose, W.G. Quint, L. Alemany, D.T. Geraets // *Lancet Oncol*. – 2010. – Vol. 11. – № 11. –P. 1048-1056.

38. Donne, A.J. Recurrent respiratory papillomatosis: an uncommon but potentially devastating effect of human papillomavirus in children / A.J. Donne, R. Clarke // *Int J STD AIDS*. – 2010. – Vol. 21. – № 6. – P. 381-385.
39. Doorbar, J. The biology and life-cycle of human papillomaviruses / J. Doorbar, W. Quint, L. Banks, I.G. Bravo, M. Stoler // *Vaccine*. – 2012. – Vol. 30. – № 5. – P. 55 – 70.
40. Duggan, B. Cervical cancer in pregnancy: reporting on planned delay in therapy / B. Duggan, L.I. Muderspach, L.D. Roman // *Obstet Gynecol*. – 1993. – Vol. 4. – № 1. – P. 598-602.
41. Dürst, M. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions / M. Dürst, L. Gissmann, H. Ikenberg, H. zur Hausen // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 1983. – Vol. 80. – № 12. – P. 3812-3815.
42. Economos, K. Abnormal cervical cytology in pregnancy: a 17-year experience / K. Economos, N. Perez Veridiano, I. Delke // *Obstet Gynecol*. – 1993. – Vol. 8. – № 1. – P. 915 – 918.
43. Eurostat database. Women in the EU gave birth to their first child at almost 29 years of age on average. 85/2015 - 13 May 2015
44. Fader, A.N. Cervical dysplasia in pregnancy: a multi-institutional evaluation / A.N. Fader, E.K. Alward, A. Niederhauser, C. Chirico // *Am J Obstet Gynecol*. – 2010. – Vol. 203. – № 2. – P.113 – 16.
45. Fusconi, M. Recurrent respiratory papillomatosis by HPV: review of the literature and update on the use of cidofovir / M. Fusconi, M. Grasso, A. Greco, A. Gallo, F. Campo // *Acta Otorhinolaryngol Ital*. – 2014. – Vol. 34. – № 6. – P. 375-381.
46. Gargano, J.W. Age-group differences in human papillomavirus types and cofactors for cervical intraepithelial neoplasia 3 among women referred to colposcopy / J.W. Gargano, R. Nisenbaum, D.R. Lee, M.T. Ruffin 4th, M. Steinau // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. – 2012. – Vol. 21. – № 1. – P. 111-121.
47. Gargano, J.W. Prevalence of human papillomavirus types in invasive vulvar cancers and vulvar intraepithelial neoplasia 3 in the United States before vaccine

introduction / J. W. Gargano, E.J. Wilkinson, E.R. Unger / *J Low Genit Tract Dis.* – 2012. – Vol. 16. – № 4. – P. 471-479.

48. Hacker, N.F. Carcinoma of the cervix associated with pregnancy / N.F. Hacker, J.S. Berek, L.D. Lagasse // *Obstet. Gynecol.* – 1982. – Vol. 59. – P. 735–746.

49. Hannigan, E.V. Cone biopsy during pregnancy / E.V. Hannigan, H.H. Whitehouse, W.D. Atkinson, S.N. Becker // *Obstet Gynecol.* – 1982. – Vol. 60. – № 4. – P. 450–455.

50. <https://www.nidcd.nih.gov/health/recurrent-respiratory-papillomatosis>

51. Huang, S. Human papillomavirus types 52 and 58 are prevalent in cervical cancers from Chinese women / S. Huang, I. Afonina, B.A. Miller, A.M. Beckmann // *Int J Cancer.* – 1997. – Vol. 70. № 4. – P. 408–411.

52. Hunter, M.I. Cervical neoplasia in pregnancy. Part 1: screening and management of preinvasive disease / M.I. Hunter, B.J. Monk, K.S. Tewari // *Am J Obstet Gynecol.* – 2008. – Vol. 199. – № 1. – P.3-9.

53. Ikenberg, H. Screening for cervical cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: results of the PALMS study / H. Ikenberg, C. Bergeron, D. Schmidt // *J Natl Cancer Inst.* – 2013. – Vol. 105. – № 20. – P. 1550–7.

54. Insinga, R.P. Epidemiologic natural history and clinical management of Human Papillomavirus (HPV) Disease: a critical and systematic review of the literature in the development of an HPV dynamic transmission model / R.P. Insinga, E.J. Dasbach, E.H. Elbasha // *BMC Infect Dis.* – 2009. – Vol. 9. – № 11 – P. 11-19.

55. Jach, R. Vertical transmission of HPV in pregnancy. A prospective clinical study of HPV-positive pregnant women / R. Jach, B. Galarowicz, H. Huras, D. Pawlik, T. Basta, J. Streb, H. Wolski // *Ginekol Pol.* – 2014. – Vol. 85. – № 9. – P. 672–676.

56. Jaisamrarn, U. HPV PATRICIA Study Group. Natural history of progression of HPV infection to cervical lesion or clearance: analysis of the control arm of the large, randomised PATRICIA study / U. Jaisamrarn, X Castellsagué, S.M. Garland // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8. – № 11. – P.79–101.

57. JNCI: Journal of the National Cancer Institute / Vol. 105. – № 20. – P. 1550–1557.

58. Kaplan, K.J. Prognosis and recurrence risk for patients with cervical squamous intraepithelial lesions diagnosed during pregnancy / K.J Kaplan, L.A. Dainty, B. Dolinsky, G.S.Rose, J. Carlson // *Cancer*. – 2004. – Vol. 104. – № 4. – P. 228–32.

59. Kärnberg, C. Colposcopically directed cervical biopsy during pregnancy; minor surgical and obstetrical complications and high rates of persistence and regression / C. Kärnberg, M. Brännström, B. Strander // *Acta Obstet Gynecol Scand*. – 2013. – Vol. 92. – № 6. – P. 692–699.

60. Katki, H.A. Cervical cancer risk for women undergoing concurrent testing for human papillomavirus and cervical cytology: a population-based study in routine clinical practice / H.A Katki, W.K. Kinney, B. Fetterman, T. Lorey // *Lancet Oncol*. – 2011. – Vol. 12. – №7. – P. 663–72.

61. Katsenos, S. Recurrent respiratory papillomatosis: a rare chronic disease, difficult to treat, with potential to lung cancer transformation: apropos of two cases and a brief literature review / S. Katsenos, H.D. Becker // *Case Rep Oncol*. – 2011. – Vol. 4. № 1. – P. 162-171.

62. Khan, M.J. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice / M.J. Khan, P.E. Castle, A.T. Lorincz, S. Wacholder // *J Natl Cancer Inst*. – 2005. – Vol. 97. – №. 14. – P. 1072-1079.

63. Kyrgiou, M. Adverse obstetric outcomes after local treatment for cervical preinvasive and early invasive disease according to cone depth: systematic review and meta-analysis / M. Kyrgiou, A. Athanasiou, M. Paraskevas, A. Mitra // *BMJ*. – 2016. – Vol. 35. – № 2. – P. 33–63.

64. Kyrgiou, M. Obstetric outcomes after conservative treatment for intraepithelial or early invasive cervical lesions: systematic review and meta-analysis / M. Kyrgiou, G. Koliopoulos, P. Martin-Hirsch, M. Arbyn // *Lancet*. – 2006. – Vol. 36. – P. 489–98.

65. Lajer, C.B. The role of human papillomavirus in head and neck cancer / C.B. Lajer, C. von Buchwald // *APMIS*. – 2010. – Vol. 118. – № 6. – P. 510-519.

66. Lee, S.M. Risk of vertical transmission of human papillomavirus throughout pregnancy: a prospective study / S.M Lee, J.S Park, E.R. Norwitz, J.N. Koo // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8. – № 6. – P. 66–68.
67. Liu, M. Influence of Human Papillomavirus Infection on the Natural History of Cervical Intraepithelial Neoplasia 1: A Meta-Analysis / M. Liu, X. Yan, M. Zhang, X. Li // *Biomed Res Int*. – 2017. – Vol. 2017. – P.89– 159.
68. Liu, P. The prevalence and risk of human papillomavirus infection in pregnant women / P. Liu, L. Xu, Y. Sun, Z. Wang // *Epidemiol Infect*. – 2014. – Vol. 142. – № 8. – P.1567-1578.
69. Mailath-Pokorny, M. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia in pregnancy: postpartum histo-pathologic outcome and review of the literature / Mailath-M. Pokorny Schwameis, C. Grimm, A. Reinthaller, S. Polterauer // *BMC Pregnancy Childbirth*. – 2016. – Vol.16. – P. 74-80.
70. Mammas, I.N. Human papilloma virus (HPV) infection in children and adolescents / I.N. Mammas, G. Sourvinos, D.A. Spandidos // *Eur J Pediatr*. – 2009. – Vol. 168. – № 3. – P. 267-273.
71. Marsico, M. Estimating the incidence and prevalence of juvenile-onset recurrent respiratory papillomatosis in publicly and privately insured claims databases in the United States / M. Marsico V. Mehta, B. Chastek // *Sex Transm Dis*. – 2014. – Vol. 41. – № 5. – P. 300-305.
72. Massad, L.S. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. 2012 ASCCP Consensus Guidelines Conference / L.S. Massad, M.H. Einstein, W.K. Huh // *J Low Genit Tract Dis*. – 2013. – Vol. 5. – № 1. – P.1–27.
73. McIntyre-Seltman, K. Cervical cancer screening in pregnancy / K. McIntyre-Seltman, J. Lesnock // *Obstet Gynecol Clin North Am*. – 2008. – Vol. 35. – P. 645–58.
74. Meisels, A. Dysplasias of uterine cervix: epidemiological aspects: role of age at first coitus and use of oral contraceptives / A. Meisels, R./Bégin, V. Schneider // *Cancer*. – 1977. – Vol. 40. – № 6. – P.3076–3081.

75. Melnikow, J. Natural history of cervical squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis / J. Melnikow, J. Nuovo, A.R. Willan, B.K. Chan // *Obstet Gynecol.* – 1998. – Vol. 92. – № 4. – P. 727-735.
76. Mitsuhashi, A. Loop electrosurgical excision procedure (LEEP) during first trimester of pregnancy / A. Mitsuhashi, S. Sekiya // *Int J Gynaecol Obstet.* – 2000. – Vol. 71. – № 3. – P. 22–79.
77. Mittal, S. Risk of high-grade precancerous lesions and invasive cancers in high-risk HPV-positive women with normal cervix or CIN 1 at baseline-A population-based cohort study / S. Mittal, P. Basu, R. Muwonge, D. Banerjee // *Int J Cancer.* – 2017. – Vol. 140. – № 8. – P.1850-1859.
78. Monnier-Benoit, S. Dynamics of HPV16 DNA load reflect the natural history of cervical HPV-associated lesions / S. Monnier-Benoit, V. Dalstein, D. Riethmuller // *J Clin Virol.* – 2006. – Vol. 35. – № 3. –P. 270-277.
79. Monsonogo, J. Prevalence of high-risk human papilloma virus genotypes and associated risk of cervical precancerous lesions in a large U.S. screening population: data from the ATHENA trial / J. Monsonogo, J.T. Cox, C. Behrens, M. Sandri // *Gynecol Oncol.* – 2015. – Vol. 137. – № 1. – P. 47– 54.
80. Moody, CA1. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation / LA. Laimins // *Nat Rev Cancer.* – 2010. –Vol 10. – 8. – P.550 –560.
81. Morice, P Cancer in pregnancy: a challenging conflict of interest / C. Uzan // *Lancet.* – 2012. –Vol 379. – 5. P. 495 – 496.
82. Naucler, P Human Papillomavirus and Papanicolaou Tests to Screen for Cervical Cancer / .W. Ryd, S. Tornberg // *The New England Journal of Medicine.* – 2008. – Vol 357. – P. 1589 – 1597.
83. NHS Cervical Screening Programme Colposcopy and Programme Management NHSCSP Publication number 20 Third Edition March 2016 Public Health England leads the NHS Screening Programmes
84. Origoni, M. Low-grade positivity" of HPV viral load after atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) cytology identifies women at

low-risk for cervical intraepithelial neoplasia grade 2 and 3/ G.Carminati, M. Sideri, M. Clementi // *Eur J Gynaecol Oncol.* – 2012. – Vol 33. – 3. – P. 261 – 264.

85. Origoni, M. Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) in pregnancy: the state of the art / S .Salvatore, A .Perino // *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* – 2014. – Vol 18. – 6. – P. 851-860.

86. Ortoft, G. After conisation of the cervix, the perinatal mortality as a result of preterm delivery increases in subsequent pregnancy / T. Henriksen, E. Hansen, L. Petersen. *BJOG.* – 2010. – Vol 117. – 3. –P. 258 – 267.

87. Östor, A.G. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review // *Int J Gynecol. Pathol.* – 1993. – Vol 12. – P. 186 – 192.

88. Owens, GL. Kitchener HC. Premalignant disease in the genital tract in pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* – 2016. – Vol 33. – P.33 – 43.

89. Palle, C. Cervical intraepithelial neoplasia in pregnancy / S. Bangsbøll, B. Andreasson // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 2000. – Vol 79. – 4. –P. 306 – 10.

90. Paraskevaidis, E. Management and evolution of cervical intraepithelial neoplasia during pregnancy and postpartum / G. Koliopoulos, S. Kalantaridou, L. Pappa // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2002. – Vol 104. –1. P. 67-69.

91. Park, H. Rate of vertical transmission of human papillomavirus from mothers to infants: relationship between infection rate and mode of delivery / SW. Lee, IH. Lee, HM. Ryu // *Virol J.* – 2012. – Vol 12. – 9. P. 80 –83.

92. Pettersson, BF. Cervical cancer in the screening era: who fell victim in spite of successful screening programs? / K.Hellman, R. Vaziri, S. Andersson // *J Gynecol Oncol.* –2011. – Vol 22. –2. P. – 76-82.

93. Ponten, J. Strategies for global control of cervical cancer / HO. Adami, R. Bergstrom // *Int.J.Cancer.* – 1995. – Vol 60. – 1. – P. 1– 26.

94. Puranen, MH. Exposure of an infant to cervical human papillomavirus infection of the mother is common / MH. Yliskoski, SV. Saarikoski, KJ. Syrjänen // *Am J Obstet Gynecol.* – 1997. – Vol 176. – 5. P 1039 – 1045.

95. Quint, W. One virus, one lesion--individual components of CIN lesions contain a specific HPV type / W.Quint, D. Jenkins, A. Molijn, L. Struijk // *J Pathol.* – 2012. – Vol 227. – 1. – P. 62 – 71.
96. Reagan, JW. The cellular morphology of carcinoma in situ and dysplasia or atypical hyperplasia of the uterine cervix / JW. Reagan, IL. Seidermann, Y. Saracusa // *Cancer.* – 1953. –Vol 6. – P. 224 –235.
97. Reuschenbach, M. Evaluation of cervical cone biopsies for coexpression of p16INK4a and Ki-67 in epithelial cells / M. Reuschenbach, M. Seiz, C. von Knebel Doeberitz // *Int J Cancer.* – 2012. – Vol 130. – 2. – P. 388–394.
98. Ribeiro, AA. HPV infection and cervical neoplasia: associated risk factors / AA. Ribeiro, MC. Costa, RR. Alves // *Infect Agent Cancer.* – 2015. – Vol 26. – 10. – P. 16.
99. Richart, RM. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia / RM. Richart // *Clin. Obstet. Gynecol.* – 1968. – Vol 5. – P. 748 – 784.
100. Richart, RM. A modified terminology for cervical intraepithelial neoplasia / RM. Richart // *Obstet. Gynecol.* – 1990. – Vol 75. – P. 131 – 133.
101. Robova, H. Squamous intraepithelial lesion-microinvasive carcinoma of the cervix during pregnancy / H. Robova, L. Rob, M. Pluta // *Eur J Gynaecol Oncol.* – 2005. – Vol 26. – 6. –P. 611 – 614.
102. Rodríguez, AC. Longitudinal study of human papillomavirus persistence and cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3: critical role of duration of infection / AC. Rodríguez, M. Schiffman, R. Herrero, A. Hildesheim // *J Natl Cancer Inst.* – 2010. – Vol 102. – 5. – P. 315 – 324.
103. Roelens, J. p16INK4a immunocytochemistry versus human papillomavirus testing for triage of women with minor cytologic abnormalities: a systematic review and meta-analysis / J. Roelens, M. Reuschenbach, N. Wentzensen, C. Bergeron // *Cancer Cytopathol.* – 2012. – Vol 120. – 5. – P. 294 – 307.
104. Rombaldi, RL. Transplacental transmission of human papillomavirus / RL. Rombaldi, EP. Serafini, J. Mandelli, E. Zimmermann, KP. Losquiavo // *Virol J.* – 2008. – Vol 25. – 5. – P. 106

105. Sánchez-Torices, MS. Oropharyngeal perinatal colonization by human papillomavirus / MS. Sánchez-Torices, R. Corrales-Millan, JJ. Hijona-Elosegui // *Acta Otorrinolaringol Esp.* – 2016. – Vol 67. – 3. – P. 135–141.
106. Schaefer, K. Value and feasibility of LLETZ procedures for pregnant women with suspected high-grade squamous intraepithelial lesions and microinvasive cervical cancer / K. Schaefer, D. Peters, S. Aulmann // *Int J Gynaecol Obstet.* – 2012. – Vol 118. – 2. – P. 141 – 144.
107. Schiffman, M. Human papillomavirus infection and the multistage carcinogenesis of cervical cancer / M. Schiffman, N. Wentzensen // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2013. – Vol 22. – 4. – P 553 – 560.
108. Schlecht, NF. Human papillomavirus infection and time to progression and regression of cervical intraepithelial neoplasia / NF. Schlecht, RW. Platt // *Journal of the National Cancer Institute.* – 2003. – Vol 17P. 1336–1343.
109. Schmidt, D. European CINtec Cytology Study Group. P16/ki-67 dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL papanicolaou cytology: results from the European equivocal or mildly abnormal papanicolaou cytology study / D. Schmidt, C. Bergeron, KJ. Denton, R. Ridder // *Cancer Cytopathol.* – 2011. – Vol 119. – 3. – P.158 –166.
110. Sherman, ME. Immunostaining of small cytologic specimens: Facilitation with cell transfer / ME. Sherman, D. Jimenez-Joseph , MD Gangi // *Acta Cytologica.* – 1994. – Vol 38. – 1. – P. 18 – 22.
111. Siegler, E. Cervical intraepithelial neoplasia 2, 3 in pregnancy: time to consider loop cone excision in the first trimester of pregnancy? / E. Siegler, A. Amit, O. Lavie // *J Low Genit Tract Dis.* – 2014. – Vol 18. – 2. –P. 162-168.
112. Smith, LH. Obstetrical deliveries associated with maternal malignancy in California, 1992 through 1997 // LH. Smith, JL. Dalrymple , GS. Leiserowitz // *Am J Obstet Gynecol.* – 2001. – Vol 184. – 7. – P. 1504-1512.
113. Solomon, D. The 2001 Bethesda system. Terminology for reporting results of cervical cytology / D. Solomon, D. Davey, R Kurman, Moriarty // *JAMA.* – 2002. – Vol 287. – P. 2114-2119.

114. Sood, AK. Cervical cancer diagnosed shortly after pregnancy: prognostic variables and delivery routes / AK. Sood, JI. Sorosky, N. Mayr, B. Anderson // *Obstet Gynecol.* – 2000. – Vol 95. – P. 832-838.
115. Syrjänen, S. Current concepts on human papillomavirus infections in children /S. Syrjänen // *APMIS.* – 2010. –Vol 118. – 6. – P. 494–509.
116. Tonon, SA. Human papillomavirus cervical infection and associated risk factors in a region of Argentina with a high incidence of cervical carcinoma / SA. Tonon, MA. Picconi, JB. Zinovich // *Infect Dis Obstet Gynecol.* – 1999. – Vol 7. – 5. – P. 237-243.
117. Trutnovsky, G. p16/Ki-67 dual-stained cytology testing may predict postpartum outcome in patients with abnormal papanicolaou cytology during pregnancy / G. Trutnovsky, V. Kolovetsiou-Kreiner, O. Reich // *Acta Cytol.* – 2014. – Vol 58. – 3. – P. 293-296.
118. Tseng, CJ. Perinatal transmission of human papillomavirus in infants: relationship between infection rate and mode of delivery / CJ. Tseng, CC. Liang, YK. Soong, CC. Pao // *Obstet Gynecol.* – 1998. – Vol 91. – 1. – P. 92 – 96.
119. Tsoumpou, I. p16^{INK4a} immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis / I. Tsoumpou, M. Arbyn, M. Kyrgiou // *Cancer Treat Rev.* – 2009. – Vol 35. – 3. –P. 210-220.
120. Ueda, Y. Postpartum outcome of cervical intraepithelial neoplasia in pregnant women determined by route of delivery / Y. Ueda, T. Enomoto, T. Miyatake // *Reprod Sci.* – 2009. –Vol 16. – 11. – P. 1034 – 1039.
121. Ueki, M. Cervical cytology and conservative management of cervical neoplasias during pregnancy / M. Ueki, M. Ueda, K. Kumagai // *Int J Gynecol Pathol.* – 1995. – Vol 14. – 1. – P. 63 –69.
122. van Oortmarssen, GJ. Epidemiological evidence for age-dependent regression of pre-invasive cervical cancer / GJ. van Oortmarssen, JD. Habbema // *Br J Cancer.* – 1991. – Vol 64. – 3. – P. 559-566.

123. Vink, MA. Clinical progression of high-grade cervical intraepithelial neoplasia: estimating the time to preclinical cervical cancer from doubly censored national registry data / MA. Vink, JA Bogaards, FJ. van Kemenade // *Am J Epidemiol.* – 2013. – Vol 178. – 7. – P. 1161-1169.
124. Vlahos, G. Conservative Management of Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN2-3) in Pregnant Women / G. Vlahos, A. Rodolakis, E. Diakomalis // *Gynecologic and Obstetric Investigation.* – 2002. – Vol 54. – P. 78 – 81.
125. Wentzensen, N. Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in a colposcopy referral population / N. Wentzensen, L. Schwartz, RE. Zuna // *Clin Cancer Res.* – 2012. – Vol 18. – 15. – P. 4154-4162.
126. Wentzensen, N. Heterogeneity of high-grade cervical intraepithelial neoplasia related to HPV16: implications for natural history and management / N. Wentzensen, J. Walker, M. Schiffman // *Int J Cancer.* – 2013. – Vol 132. – 1. – P.148–154.
127. Wheeler, CM. A population-based study of human papillomavirus genotype prevalence in the United States: baseline measures prior to mass human papillomavirus vaccination / CM. Wheeler, WC. Hunt, J. Cuzick // *Int J Cancer.* – 2013. – Vol 132. – 1. – P. 198-207.
128. Winckworth, LC. Question 2: do caesarean sections reduce the maternal-fetal transmission rate of human papillomavirus infection? / LC. Winckworth, R. Nichol // *Arch Dis Child.* – 2010. – Vol 95. – 1. – P. 70 – 73.
129. Woodman, CB. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study / CB. Woodman, S. Collins, H. Winter, A. Bailey // *Lancet.* – 2001. – Vol 357 – 9271. – P.1831 – 186.
130. Wright, TC. The ATHENA human papillomavirus study: design, methods, and baseline results / TC. Wright, MH. Stoler, CM. Behrens // *Am J Obstet Gynecol.* – 2012. – Vol 206. – 1. – P. 46-49
131. Xavier-Júnior, JC. High-grade squamous intraepithelial lesions in pregnant and non-pregnant women / JC. Xavier-Júnior, RM. Dufloth // . – 2014. – Vol 175. – P. 103-106.

132. Yost, NP. Postpartum regression rates of antepartum cervical intraepithelial neoplasia II and III lesions / NP. Yost, JT. Santoso, DD. McIntire, FA. Iliya // *Obstet Gynecol.* – 1999. – Vol 93. – 3. – P. 359-362.