



Эффективность элиминации вируса папилломы человека при лечении патологии шейки матки

О.П. Виноградова^{1, 2}, О.И. Артёмова²

¹ Пензенский институт усовершенствования врачей — филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации; Россия, г. Пенза

² ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет»; Россия, г. Пенза

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: оценка эффективности противовирусных препаратов при лечении заболеваний шейки матки на фоне папиллома-вирусной инфекции с использованием апоптотических маркеров — каспаз 3 и 9.

Дизайн: проспективное исследование.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 170 ВПЧ-положительных женщин от 18 до 45 лет: I группа — 60 женщин с гистологически подтвержденной лейкоплакией шейки матки; II группа — 55 пациенток с cervical intraepithelial neoplasia (CIN) I; III группа — 55 женщин с CIN II. Сформирована также группа контроля, в которую вошли 40 здоровых женщин. Проведено обследование всех участниц согласно общепринятым стандартам, у них исследовано изменение апоптотической программы путем оценки уровней каспаз 1, 3 и 9.

В ходе исследования пациентки с ВПЧ были разделены на подгруппы. Среди пациенток с лейкоплакией шейки матки 34 женщины (Ia подгруппа) находились под наблюдением, а 26 (Iб подгруппа) получали противовирусную терапию. Аналогично в группе с CIN I 27 пациенток (IIa подгруппа) были под наблюдением, а 28 (IIб подгруппа) получали противовирусное лечение. В группе CIN II всем пациенткам проведена эксцизия с иссечением пораженного участка. Согласно дизайну исследования, 28 женщин после эксцизии находились под наблюдением (IIIa подгруппа), а у 27 участниц хирургическое лечение проведено на фоне применения противовирусного препарата (IIIб подгруппа).

Оценку эффективности выбранной терапии проводили через 3 и 6 месяцев посредством цитологического исследования и проведения кольпоскопии, также измерялись уровни каспаз 3 и 9. Основными критериями эффективности лечения были наличие или отсутствие ВПЧ или уменьшение вирусной нагрузки ниже значимых величин.

Результаты. Через 3 и 6 месяцев во всех подгруппах женщин, получавших противовирусные препараты, вирусная нагрузка снижалась сильнее и было больше участниц, у которых ВПЧ отсутствовал (суммарная эффективность через 3 и 6 месяцев в подгруппах Ia и Ib составила 11,7% против 30,7% и 20,5% против 42,3% соответственно; в подгруппах IIa и IIб — 7,4% против 21,4% и 22,2% против 35,7%; в подгруппах IIIa и IIIб — 75% против 85,2% и 64,2% против 92,6%).

Концентрации каспаз 3 и 9 снизились как в подгруппах наблюдения, так и в подгруппах получавших комплексное лечение, но во втором случае они были более приближены к показателям группы контроля.

Корреляционный анализ показал, что между клинически значимой вирусной нагрузкой и уровнем каспазы 3 существует прямая и сильная связь ($r_{xy} = 0,79$), а между содержанием каспазы 9 и высокой вирусной нагрузкой — прямая средняя корреляционная связь ($r_{xy} = 0,58$).

Заключение. Предлагаемый комплексный подход к лечению ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки, таких как лейкоплакия, CIN I и CIN II, с использованием противовирусных препаратов имеет более высокую клиническую эффективность в сравнении с динамическим наблюдением или применением только деструкции патологических участков (у пациенток с CIN II) за счет влияния на систему естественных киллеров, стимуляции распознавания и лизиса дефектных клеток цитотоксическими лимфоцитами.

Ключевые слова: вирус папилломы человека, апоптоз, каспазы, дисплазия, лейкоплакия.

Вклад авторов: Виноградова О.П. — разработка дизайна исследования, обработка, анализ и интерпретация данных, утверждение рукописи для публикации; Артёмова О.И. — отбор, обследование и лечение пациенток, обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи, обработка, анализ и интерпретация данных.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

Источник финансирования: Статья подготовлена при поддержке Российского научного фонда (мероприятие «Проведение исследований научными группами под руководством молодых ученых» Президентской программы исследовательских проектов, реализуемых ведущими учеными, в том числе молодыми учеными, проект № 17-71-20029).

Для цитирования: Виноградова О.П., Артёмова О.И. Эффективность элиминации вируса папилломы человека при лечении патологии шейки матки. Доктор.Ру. 2020; 19(8): 80–85. DOI: 10.31550/1727-2378-2020-19-8-80-85



The Efficacy of Human Papillomavirus Elimination during Treatment of Cervical Disorders

O.P. Vinogradova^{1, 2}, O.I. Artemova²

¹ Penza Institute of Advanced Physician Training, a branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (a Federal Government-funded Educational Institution of Advanced Professional Education), Russian Federation Ministry of Health; 8A Stasov St., Penza, Russian Federation 440060

² Penza State University (a Federal Government-funded Educational Institution of Higher Education); 40 Krasnaya St., Penza, Russian Federation 440026

Виноградова Ольга Павловна (**автор для переписки**) — д. м. н., доцент, профессор кафедры акушерства и гинекологии ПИУВ — филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; профессор кафедры акушерства и гинекологии Медицинского института ФГБОУ ВО ПГУ. 440026, Россия, г. Пенза, ул. Красная, д. 40. <https://orcid.org/0000-0002-9094-8772>. E-mail: o_vinogradova69@mail.ru

Артёмова Ольга Игоревна — младший научный сотрудник Научно-исследовательского института фундаментальных и прикладных исследований ФГБОУ ВО ПГУ. 440026, Россия, г. Пенза, ул. Красная, д. 40. <https://orcid.org/0000-0002-4996-026X>. E-mail: artyomovaolg@gmail.com

ABSTRACT

Study Objective: To assess the efficacy of antiviral medications, using the apoptotic markers caspase-3 and caspase-9, in the treatment of cervical disorders accompanied by papillomavirus infection.

Study Design: This was a prospective study.

Materials and Methods: One hundred and seventy women with a positive human papillomavirus (HPV) test, aged 18 to 45, participated in the study. Group I consisted of 60 women with histologically confirmed cervical leukoplakia; Group II was made up of 55 patients with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) I; and Group III comprised 55 women with CIN II. The control group consisted of 40 healthy women. All participants underwent a standard examination and had measurements taken for levels of caspase-1, caspase-3, and caspase-9, which were used to assess changes in their apoptotic programs.

During the study, the patients with HPV were divided into subgroups. In the cervical leukoplakia group, 34 women (subgroup Ia) were only monitored and 26 women (subgroup Ib) received antiviral treatment. Similarly, in the CIN I group, 27 patients (subgroup IIa) were only monitored and 28 women (subgroup IIb) received antiviral drugs. In the CIN II group, all patients underwent excision of their lesions. According to the study design, 28 women who had undergone excision had monitoring alone (subgroup IIIa) and for 27 participants the surgical treatment was combined with an antiviral medication (subgroup IIIb).

The efficacy of the treatment regimens was assessed three and six later by cytology and colposcopy data and levels of caspase-3 and caspase-9. Treatment efficacy was assessed chiefly by the presence or absence of HPV or reduction in viral load below significant levels.

Study Results: After three and six months, viral load reduction in all subgroups of women who received antiviral treatment was greater and more of these women had a negative HPV test (after three and six months the overall efficacy was 11.7% vs. 30.7% and 20.5% vs. 42.3% in subgroups Ia and Ib, respectively; 7.4% vs. 21.4% and 22.2% vs. 35.7% in subgroups IIa and IIb, respectively; and 75% vs. 85.2% and 64.2% vs. 92.6% in subgroups IIIa and IIIb, respectively).

Caspase-3 and caspase-9 levels decreased in both the subgroups that had monitoring alone and the subgroups that received combination treatment, but in the latter case they were closer to the control group's levels.

Correlation analysis revealed a strong direct relationship between clinically significant viral load and caspase-3 levels ($r_{xy} = 0.79$) and a moderate direct relationship between caspase-9 levels and high viral load ($r_{xy} = 0.58$).

Conclusion: The proposed comprehensive approach, including antiviral therapy, to the treatment of HPV-associated cervical disorders such as leukoplakia, CIN I and CIN II, has higher clinical efficacy than monitoring over time alone or only the excision of lesions (in patients with CIN II). This is because of its effects on the system of natural killers and stimulation of the ability of cytotoxic lymphocytes to identify and destroy defective cells.

Keywords: human papillomavirus, apoptosis, caspases, dysplasia, leukoplakia.

Contributions: Dr. O.P. Vinogradova designed the study, processed, analyzed, and interpreted data, and approved the final version of the manuscript submitted for publication. O.I. Artemova was responsible for selection, examination, and treatment of patients, reviewed relevant publications, wrote the manuscript, and processed, analyzed, and interpreted data.

Conflict of interest: The authors declare that they do not have any conflict of interests.

Source of funding: Preparation of this article was supported by the Russian Science Foundation (the Studies by Research Groups Led by Young Scientists project under the Presidential program for research projects run by leading scientists, including young researchers, Project 17-71-20029).

For citation: Vinogradova O.P., Artemova O.I. The Efficacy of Human Papillomavirus Elimination during Treatment of Cervical Disorders. Doctor.Ru. 2020; 19(8): 80–85. (in Russian). DOI: 10.31550/1727-2378-2020-19-8-80-85

ВВЕДЕНИЕ

Патологические состояния, обусловленные папилломавирусной инфекцией, являются проблемой современной гинекологии. Это объясняется высокой контагиозностью вируса, ростом частоты данной патологии и возможностью инфекции индуцировать предраковые процессы в зоне трансформации шейки матки [1–3]. Ведущую роль в патогенетических механизмах прогрессирования папилломавирусной инфекции играют иммунные реакции, которые могут вызывать транскрипцию ДНК вируса и его интеграцию в клетку [4, 5].

Иммунная система человека способна к запоминанию и быстрому реагированию на вторичный контакт с опасным агентом. Однако существуют вирусы, которые могут «ускользнуть» от антиген-презентирующего агента при первом контакте и от клеток «иммунной памяти» при дальнейших взаимодействиях [6, 7], в результате чего иммунная система не может обеспечить адекватную защиту организма.

Скрининговые программы способны определять патологию лишь на более поздних этапах — под воздействием «незамеченного» ВПЧ продолжают происходить изменения в зоне трансформации шейки матки за счет нарушения процессов апоптоза [3, 7, 8], главными ферментами которого являются каспазы [9–11].

Цель исследования: оценка эффективности комплексного лечения заболеваний шейки матки на фоне папилломавирусной инфекции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 210 женщин от 18 до 45 лет (средний возраст — $29,1 \pm 2,7$ года).

На первом этапе была сформирована группа физиологического контроля из 40 здоровых женщин от 18 до 45 лет (средний возраст — $26,7 \pm 3,5$ года), которые обратились для профилактического осмотра в женские консультации г. Пенза в период с 2017 по 2019 г. Обследование данной группы позволило получить результаты физиологической нормы исследуемых параметров.

На втором этапе с 2017 по 2018 г. проведен тщательный отбор в группы исследования в амбулаторно-поликлиническом звене акушерско-гинекологической службы г. Пенза.

Критерии включения в группы с патологическими состояниями шейки матки: наличие ВПЧ-инфекции; лейкоплакия шейки матки, CIN I или CIN II, подтвержденные гистологически; отсутствие за последние 6 месяцев до начала исследования терапии препаратами, которые могли повлиять на результаты исследования; использование барьерного метода контрацепции; зона трансформации 1-го или 2-го типа; подписанное информированное согласие на участие в исследовании. Обязательным условием являлось заключение о нормоценозе по результатам микроскопического и микробиологического исследований.

Критерии исключения: возраст младше 18 и старше 45 лет; положительный тест на беременность; тяжелая

соматическая патология; прием лекарственных препаратов, которые могли повлиять на исследуемые показатели; невозможность следовать условиям протокола.

При проведении комплексного обследования были взяты мазки с шейки матки на микроскопическое и микробиологическое исследования и онкоцитологию, выполнено кольпоскопическое исследование. Для верификации диагноза произведена прицельная мультифокусная биопсия шейки матки.

В результате нами сформированы три группы женщин с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями: I группа — 60 пациенток с лейкоплакией шейки матки (средний возраст — $29,3 \pm 1,2$ года); II группа — 55 женщин с CIN I (средний возраст — $28,6 \pm 0,8$ года); III группа — 55 пациенток с CIN II (средний возраст — $27,1 \pm 1,1$ года).

Состояние местного иммунного статуса оценивали при исследовании соскоба клеток слизистой из цервикального канала для определения уровней экспрессии каспаз 1, 3 и 9 методом ИФА с набором реагентов компании Cloud-Clone Corp., предназначенным для количественного определения каспазы 3 сэндвич-методом ИФА в гомогенатах тканей, клеточных лизатах, супернатантах клеточных культур и других биологических жидкостях человека.

Статистическую обработку данных производили с помощью программы Statistica 6.0. В ходе обработки полученных данных использовалась описательная статистика. При проведении статистического анализа показателей применялся метод Фишера — метод углового преобразования. Разница между сравниваемыми показателями считалась статистически значимой при $p > 0,05$. Связь между изучаемыми параметрами оценивалась по результатам корреляционного анализа с вычислением коэффициента корреляции Спирмена и последующим установлением их значимости по критерию t.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Значимых различий в клинико-anamnestических данных между группами ВПЧ-положительных пациенток и группой контроля не было.

При определении ВПЧ в режиме реального времени установлено, что в исследуемых группах имело место только сочетание высокоонкогенных типов ВПЧ. Вирусная нагрузка во всех случаях составила $3-5 \lg > 5 \lg$. В *таблице 1* представлены наиболее часто встречаемые нами типы вируса.

Анализируя данные *таблицы 1*, можно сделать вывод о значимости ВПЧ 16-го, 18-го, 31-го, 33-го и 51-го типов в развитии патологического процесса в зоне трансформации на шейке матки.

При этом очевидно, что прогрессирование процесса происходит на фоне наличия нескольких типов ВПЧ и преобладания высокой вирусной нагрузки.

Для оценки степени выраженности апоптоза в клетках зоны трансформации определены уровни каспаз 1, 3 и 9 мето-

дом ИФА. Показатели каспазы 1 у ВПЧ-положительных пациенток с исследуемыми нозологиями и у участниц группы контроля представлены в *таблице 2*. Они статистически значимо не различались.

Каспаза 1 является одним из ведущих медиаторов при нормальной апоптозе [10, 12], однако последовательная чрезмерная активация каспазы 1, а затем ИЛ-1 β может приводить к воспалительному ответу [9, 11, 12]. Так как главным критерием включения в исследование был нормоценоз по результату оценки состояния нижнего отдела генитального тракта во всех группах, то воспалительный процесс не был зарегистрирован ни в группе контроля, ни в группах исследования.

Таким образом, полученные результаты позволяют констатировать отсутствие воспалительной реакции в эпителии шейки матки у участниц исследования.

При определении активности каспаз 3 и 9 отмечено повышение показателей у пациенток относительно значений группы контроля (*табл. 3*).

Рост уровней каспаз 3 и 9 по мере прогрессии поражения эпителия шейки матки позволяет судить об усилении апоптоз-резистентного процесса в клетках [11, 12], пораженных ВПЧ.

Согласно клиническим рекомендациям «Доброкачественные и предраковые заболевания шейки матки с позиции профилактики рака» от 2017 г., у пациенток с атипическими проявлениями на шейке матки, связанными с папилломавирусной инфекцией, возможно применение противовирусных препаратов.

На следующем этапе исследования пациентки с ВПЧ были разделены на подгруппы. Среди пациенток с лейкоплакией шейки матки 34 женщины (Ia подгруппа) находились под наблюдением, а 26 (Iб подгруппа) получали

Таблица 2 / Table 2

Уровни каспазы 1 в исследуемых группах, нг/мл Caspase-1 levels in the groups studied, ng/mL

Группы / Groups	Каспаза 1 / Caspase-1
Группа контроля / Control group	0,060 \pm 0,01
I группа / Group I	0,059 \pm 0,02
II группа / Group II	0,062 \pm 0,03
III группа / Group III	0,061 \pm 0,02

Примечание. Здесь и в таблицах 3–6: оценка статистической значимости изменений активности каспаз проводилась в соответствии с тестом Манна — Уитни.

Note: Here and in Tables 3 through 6: Statistical significance of changes in caspase levels was assessed by the Mann-Whitney test.

Таблица 1 / Table 1

Распределение вирусной нагрузки в группах исследования, n (%) Distribution of viral load in the groups studied, n (%)

Группы / Groups	16-й тип / Type 16	18-й тип / Type 18	31-й тип / Type 31	33-й тип / Type 33	51-й тип / Type 51
I группа / Group I	50 (83,3)	41 (68,3)	33 (55)	32 (53,3)	49 (81,7)
II группа / Group II	42 (76,4)	48 (87,3)	17 (31)	36 (65,4)	37 (67,3)
III группа / Group III	41 (74,5)	51 (92,7)	19 (34,5)	14 (25,4)	43 (78,2)

Таблица 3 / Table 3

Уровни каспаз 3 и 9 в исследуемых группах, нг/мл
Caspase-3 and caspase-9 levels in the groups studied, ng/mL

Группы / Groups	Каспаза 3 / Caspase-3	Каспаза 9 / Caspase-9
Группа контроля / Control group	0,188 ± 0,02	0,213 ± 0,03
I группа / Group I	0,742 ± 0,05*, **, ***	0,891 ± 0,04*, **, ***
II группа / Group II	2,772 ± 0,03*, **	2,311 ± 0,05*, **
III группа / Group III	3,192 ± 0,04*	2,713 ± 0,04*

* Здесь и в таблицах 4–6: отличия от группы контроля статистически значимы (p < 0,05).

** Отличия от II группы статистически значимы (p < 0,05).

*** Отличия от III группы статистически значимы (p < 0,05).

* Here and in Tables 4 through 6: Differences from the control group were statistically significant (p < 0.05).

** Differences from Group II were statistically significant (p < 0.05).

*** Differences from Group III were statistically significant (p < 0.05).

противовирусную терапию. Аналогично в группе с CIN I 27 пациенток (IIa подгруппа) были под наблюдением, а 28 (IIb подгруппа) получали противовирусное лечение.

В группе CIN II всем пациенткам проведена экцизия с иссечением пораженного участка. Согласно дизайну исследования, 28 женщин после экцизии находились под наблюдением (IIIa подгруппа), а 27 участницам хирургическое лечение проведено на фоне применения противовирусного препарата (IIIb подгруппа).

Эффективность выбранной тактики оценивали через 3 и 6 месяцев посредством цитологического исследования и проведения кольпоскопии, также измерялись уровни каспаз 3 и 9. Основными критериями эффективности лечения были наличие или отсутствие ВПЧ или уменьшение вирусной нагрузки ниже значимых величин.

Через 3 месяца вирусная нагрузка снизилась у 1 (2,9%) женщины подгруппы Ia и у 3 (11,5%) женщин подгруппы Ib, вирус не определялся у 3 (8,8%) и 5 (19,2%) соответственно (излеченность — 11,7% против 30,7%).

Среди пациенток с CIN I в подгруппе динамического наблюдения у 1 (3,7%) женщины наблюдалось уменьшение вирусной нагрузки и у 1 (3,7%) не было папилломавирусной инфекции (эффективность элиминации — 7,4%), в то время как в подгруппе IIb вирусная нагрузка снизилась у 2 (7,1%) и у 4 (14,3%) пациенток ВПЧ отсутствовал, т. е. эффективность лечения составила 21,4%.

В группе с CIN II в подгруппе IIIa у 1 (3,6%) участницы зафиксировано снижение вирусной нагрузки и у 20 (71,4%) обследуемых вирус не определялся (суммарно 75%). В подгруппе IIIb у 2 (7,4%) женщин диагностировано уменьшение вирусной нагрузки и у 21 (77,8%) не выявлен ВПЧ, что характеризует самое эффективное лечение — 85,2%.

Аналогичное обследование провели и через 6 месяцев. Среди пациенток с лейкоплакией у 1 (2,9%) из подгруппы Ia и у 2 (7,7%) подгруппы Ib снизилась вирусная нагрузка и не было папилломавирусной инфекции у 6 (17,6%) и у 9 (34,6%) соответственно.

Вирусная нагрузка уменьшилась в подгруппе IIa у 2 (7,4%) участниц и в подгруппе IIb у 4 (14,3%), ВПЧ отсутствовал у 4 (14,8%) и 6 (21,4%) соответственно.

Среди пациенток с CIN II в подгруппе динамического наблюдения через 6 месяцев снижение вирусной нагрузки наблюдалось у 6 (21,4%) и у 12 (42,8%) вирус не определился, то есть общая элиминация составила лишь 64,2%, в то время как в подгруппе противовирусной терапии у 25 (92,6%) женщин ВПЧ-тест был отрицательным.

При анализе полученных результатов после тщательного изучения анамнеза пациенток с сохраненной папилломавирусной инфекцией обращает на себя внимание тот факт, что женщины из подгруппы IIIb с повторно выявленной папилломавирусной инфекцией были в старшей возрастной группе (от 41 до 45 лет), имели вредные привычки (курение более 7 сигарет в день), а также отягощенный акушерский анамнез (более 3 аборт).

Сохранение папилломавирусной инфекции у пациенток с дисплазией II степени после деструктивного лечения объясняется, возможно, тем, что в криптах сохраняются эпителиальные клетки, пораженные вирусом [9, 11, 12], то есть остаточные явления. Это способствует в дальнейшем вовлечению в неопластический процесс расположенных рядом здоровых клеток эпителия. Таким образом, на фоне применения противовирусных препаратов ВПЧ подвергается воздействию иммунной системы, и, соответственно, уменьшается риск рецидива неопластических процессов на шейке матки.

Для оценки динамики вирусной нагрузки в группах исследования с учетом возможности влияния вируса на процессы апоптоза внутри клетки были определены уровни каспаз 3 и 9 (табл. 4).

Таблица 4 / Table 4

Динамика уровней каспаз 3 и 9 у пациенток с лейкоплакией, нг/мл
Changes in caspase-3 and caspase-9 levels in patients with leukoplakia, ng/mL

Каспазы / Caspase	Группа контроля / Control group	3 месяца / 3 months		6 месяцев / 6 months	
		подгруппа Ia / subgroup Ia	подгруппа Ib / subgroup Ib	подгруппа Ia / subgroup Ia	подгруппа Ib / subgroup Ib
Каспаза 3 / Caspase-3	0,188 ± 0,02	0,717 ± 0,05*, **	0,683 ± 0,03*	0,644 ± 0,04*, **	0,494 ± 0,05*
Каспаза 9 / Caspase-9	0,213 ± 0,03	0,739 ± 0,03*	0,735 ± 0,05*	0,703 ± 0,05*, **	0,589 ± 0,04*

** Здесь и в таблицах 5 и 6: отличия от подгрупп «б» через 3 и 6 месяцев статистически значимы (p < 0,05).

** Here and in Tables 5 and 6: Differences from subgroups b after three and six months were statistically significant (p < 0.05).

Динамика уровней каспаз 3 и 9 у пациенток с cervical intraepithelial neoplasia I, нг/мл
Changes in caspase-3 and caspase-9 levels in patients with cervical intraepithelial neoplasia I, ng/mL

Каспазы / Caspase	Группа контроля / Control group	3 месяца / 3 months		6 месяцев / 6 months	
		подгруппа IIa / subgroup IIa	подгруппа IIб / subgroup IIb	подгруппа IIa / subgroup IIa	подгруппа IIб / subgroup IIb
Каспаза 3 / Caspase-3	0,188 ± 0,02	2,164 ± 0,05*, **	1,613 ± 0,04*	1,904 ± 0,05*, **	1,391 ± 0,04*
Каспаза 9 / Caspase-9	0,213 ± 0,03	1,904 ± 0,05*, **	1,474 ± 0,05*	1,673 ± 0,05*, **	1,029 ± 0,05*

Динамика уровней каспаз 3 и 9 у пациенток с cervical intraepithelial neoplasia II, нг/мл
Changes in caspase-3 and caspase-9 levels in patients with cervical intraepithelial neoplasia II, ng/mL

Каспазы / Caspase	Группа контроля / Control group	3 месяца / 3 months		6 месяцев / 6 months	
		подгруппа IIIa / subgroup IIIa	подгруппа IIIб / subgroup IIIb	подгруппа IIIa / subgroup IIIa	подгруппа IIIб / subgroup IIIb
Каспаза 3 / Caspase-3	0,188 ± 0,02	0,784 ± 0,05*, **	0,604 ± 0,03*	0,941 ± 0,04*, **	0,394 ± 0,05*
Каспаза 9 / Caspase-9	0,213 ± 0,03	0,690 ± 0,03*, **	0,773 ± 0,05*	0,873 ± 0,05*, **	0,419 ± 0,05*

Концентрации каспаз 3 и 9 снизились как в подгруппе IIa, так и в подгруппе IIб, но у получавших лечение они были более приближены к показателям контрольной группы.

Вероятно, увеличение уровней каспаз 3 и 9 объясняется тем, что для активации внешнего или внутреннего пути апоптоза необходим триггер, в данном случае таковым выступает ВПЧ. Однако при снижении вирусной нагрузки и при элиминации вируса воздействие на рецепторы мембраны и на рецепторы митохондрий прекращается, что, возможно, уменьшает интенсивность процессов апоптоза и содержание каспаз 3 и 9.

Следующим этапом работы стал анализ апоптотических маркеров в группе пациенток с CIN I (табл. 5).

Здесь также отмечалось снижение исследуемых параметров в обеих подгруппах. Однако у женщин, получавших противовирусный препарат с иммуномодулирующим действием, показатели менялись более динамично, приближаясь к значениям группы контроля.

Но наиболее показательное изменение уровней каспаз 3 и 9 в группе CIN II (табл. 6). Через 6 месяцев в подгруппе только эксцизии содержание каспазы 3 составило 0,941 ± 0,04 нг/мл, а каспазы 9 — 0,873 ± 0,05 нг/мл, в то время как в группе комплексной терапии — 0,394 ± 0,05 нг/мл и 0,419 ± 0,05 нг/мл соответственно, то есть ниже в 2,4 и 2,1 раза.

Следующим этапом исследования стало определение связи между высокой вирусной нагрузкой и концентрациями каспаз 3 и 9. После вычисления коэффициента корреляции Спирмена и установления значимости по критерию t полученные показатели были интерпретированы по следующему общепринятому параметрам. Корреляционный анализ показал, что между клинически значимой вирусной нагрузкой и уровнем каспазы 3 существует прямая и сильная

связь ($r_{xy} = 0,79$), а между значением каспазы 9 и высокой вирусной нагрузкой — прямая средняя корреляционная связь ($r_{xy} = 0,58$). Такие результаты означают, что клинически значимая вирусная нагрузка всегда сопровождается повышением уровня каспазы 3.

Возможно, это объясняется тем, что каспаза 3 является финальной при внешнем и при внутреннем путях реализации апоптоз-индуцированных процессов в клетке. Значит, вне зависимости от того, как первоначально ВПЧ воздействовал на эпителиальную клетку, цепочка реакций будет приводить к активации эффекторной каспазы и усилению апоптоза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процессы апоптоза характеризуются сложными реакциями с участием различных молекулярных маркеров, вовлеченных в клеточную гибель: индукторов, рецепторов, посредников, эффекторов, одними из которых являются каспазы 3 и 9.

В проведенном исследовании частично изучена роль каспазного ответа при инвазии ВПЧ, так как именно повреждение ДНК клетки вирусом запускает рост экспрессии инициирующей каспазы 9, далее в роли эффекторной каспазы выступает каспаза 3, после чего происходят фрагментация ДНК и ядра, образование апоптотических телец и их быстрый фагоцитоз, что завершается уничтожением пораженных клеток.


Предлагаемый комплексный подход к лечению ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки, таких как лейкоплакия, CIN I и CIN II, с использованием противовирусных препаратов имеет более высокую клиническую эффективность в сравнении с динамическим наблюдением или применением только деструкции патологических участков (у пациенток с CIN II) за счет влияния на систему естественных киллеров, стимуляции распознавания и лизиса дефектных клеток цитотоксическими лимфоцитами.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bruni L., Albero G., Serrano B. et al. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human papillomavirus and related diseases (world). 2019; 17: 8–17.
2. Tranberg M., Bech B.H., Blaakær J. et al. Study protocol of the CHOICE trial: a three-armed, randomized, controlled trial of home-based HPV self-sampling for non-participants in an organized cervical

cancer screening program. BMC Cancer. 2016; 16(1): 835–41. DOI: 10.1186/s12885-016-2859-z

3. Роговская С.И., Ипастова И.Д. Тяжело в прочтении, легко в бою. Обзор российских клинических рекомендаций 2017 года «Доброкачественные и предраковые заболевания шейки матки с позиции профилактики рака». Status Praesens. 2018; 2(45): 61–9. [Rogovskaya S.I., Ipastova I.D. A hard read makes

- a battle easy. A review of the 2017 Russian clinical guidelines "Benign and precancerous cervical disorders in the context of cancer prevention". *Status Praesens*. 2018, 2(45): 61–9. (in Russian)]
4. Довлетханова Э.Р., Прилепская В.Н. Папилломавирусная инфекция. Теоретические и практические аспекты. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2018. 392 с. [Dovletkhanova E.R., Prilepskaya V.N. Papillomavirus infection. Theoretical and practical aspects. M.: GEOTAR-Media; 2018. 392 p. (in Russian)]
 5. Zehbe I., Jackson R., Wood B. et al. Community-randomised controlled trial embedded in the Anishinaabek Cervical Cancer Screening Study: human papillomavirus self-sampling versus Papanicolaou cytology. *BMJ Open*. 2016; 6(10): e011754. DOI: 10.1136/bmjopen-2016-011754.
 6. Wong E.L.Y., Chan P.K.S., Chor J.S.Y. et al. Evaluation of the impact of human papillomavirus DNA self-sampling on the Uptake of Cervical Cancer Screening. *Cancer Nurs*. 2016; 39(1): E1–11. DOI: 10.1097/NCC.0000000000000241
 7. Taniguchi M., Harada M., Dashtsoodol N. et al. Discovery of NKT cells and development of NKT cell-targeted anti-tumor immunotherapy. *Proc. Jpn Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 2015; 91(7): 292–304. DOI: 10.2183/pjab.91.292
 8. Дятлова А.С., Дудков А.В., Линькова Н.С. и др. Молекулярные маркеры каспаза-зависимого и митохондриального апоптоза: роль в развитии патологии и в процессах клеточного старения. *Успехи современной биологии*. 2018; 138(2): 126–37. [Diatlova A.S., Dudkov A.V., Linkova N.S. et al. Molecular markers of caspase-dependent and mitochondrial apoptosis: the role of pathology and cell senescence. *Uspеhi Sovremennoj Biologii*. 2018; 138(2): 126–37. (in Russian)]. DOI: 10.7868/S0042132418020023
 9. Виноградова О.П., Артемова О.И. Патогенетические аспекты изменения апоптотической программы при ВПЧ-ассоциированных патологиях шейки матки. *Уральский медицинский журнал*. 2019; 15(183): 100–6. [Vinogradova O.P., Artemova O.I. Pathogenic aspects of apoptotic program change during HPV-associated pathologies of cervix. *Ural Med. J.* 2019; 15(183): 100–6. (in Russian)]. DOI: 10.25694/URMJ.2019.15.21
 10. Kumaresan V., Ravichandran G., Nizam F. et al. Multifunctional murrel caspase 1, 2, 3, 8 and 9: conservation, uniqueness and their pathogen-induced expression pattern. *Fish Shellfish Immunol*. 2016; 49: 493–504. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.01.008
 11. Епифанова О.В., Виноградова О.П., Андреева Н.А. Особенности консервативной иммунопротивовирусной терапии пациенток с ВПЧ-ассоциированными цервикальными интраэпителиальными неоплазиями I степени. *Акушерство и гинекология*; 2020; 3: 174–80. [Epifanova O.V., Vinogradova O.P., Andreeva N.A. Immune antiviral drug therapy in patients with HPV-associated cervical intraepithelial neoplasia grade I. *Obstetrics and Gynecology*. 2020; 3: 174–80. (in Russian)]. DOI: 10.18565/aig.2020.3.174-180
 12. Farina B., Di Sorbo G., Chambery A. et al. Structural and biochemical insights of CypA and AIF interaction. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 1138. DOI: 10.1038/s41598-017-01337-8 

Поступила / Received: 23.03.2020

Принята к публикации / Accepted: 23.07.2020