

РГП на ПХВ Западно-Казахстанский государственный медицинский
университет имени Марата Оспанова

УДК 618.146:616.9(076)

На правах рукописи

БАЛМАГАМБЕТОВА САУЛЕ КАБЕДАЕВНА

**Эпидемиологический анализ вируса папилломы человека
в регионе Западного Казахстана в контексте ВПЧ-ассоциированной
патологии шейки матки**

6D110100 – Медицина

Диссертация на соискание ученой степени
доктора философии (PhD)

Научный руководитель
д.м.н., профессор
Бекмухамбетов Е.Ж.

Зарубежный консультант
PhD, Professor A. Tinelli
University of Salento, Lecce, Italy

Республика Казахстан
Актобе, 2017 год

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ	
ССЫЛКИ.....	4
ОПРЕДЕЛЕНИЯ.....	5
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....	6
ВВЕДЕНИЕ.....	7
1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ РШМ	
(ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	11
1.1 Ситуация с РШМ в Республике Казахстан.....	11
1.2 Краткая характеристика групп ВПЧ.....	11
1.3 Эпидемиология вируса по странам.....	13
1.4 Факторы риска ВПЧ-инфекции и РШМ. Направления научных изысканий.....	14
1.5 Роль вирусной нагрузки в реализации ВПЧ-инфекции.....	15
1.6 Роль секвенирования генов ВПЧ в изучении особенностей инфекции.....	16
1.7 Современные методы диагностики ВПЧ.....	16
1.8 Кольпоскопия в диагностике патологии шейки матки.....	17
1.9 Современный скрининг рака шейки матки.....	18
1.10 Современные проблемы скрининга РШМ в Казахстане.....	22
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ, ПРИМЕНЯВШИЕСЯ В	
ИССЛЕДОВАНИИ.....	25
2.1 Описание методики поперечного исследования.....	25
2.2 Описание методики исследования «случай РШМ –контроль»...	35
2.3 Описание методов статистического анализа, применяемых в настоящей работе.....	35
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	37
3.1 Описательная статистика. Социально-поведенческие параметры обследованного населения.....	37
3.2 Определение общего преваленса ВПЧ-инфекции и вирусной нагрузки в Западном регионе РК.....	46
3.3 Анализ сопряженности социально-поведенческих параметров (потенциальных факторов риска РШМ) с инфицированностью ВПЧ. Корреляционные связи.....	52
3.4 Различия инфицированности ВПЧ по областям Западного Казахстана.....	55
3.5 Сравнительный анализ цитологических инструментов скрининговой программы по РШМ.....	58
3.6 Содержание ВПЧ в нормальной цитологии у женщин региона...	67
3.7 Результаты экспериментальной работы по выделению ДНК ВПЧ и генитальных инфекций из транспортной среды CellScan на российских тест-системах.....	69

3.8	Анализ кольпоскопических данных.....	76
3.9	Результаты исследования «случай РШМ-контроль».....	81
3.10	Результаты «матчинга» для выявления доминирующих факторов риска реализации РШМ в Западном регионе РК.....	90
3.11	Эпидемиологический прогноз и тренды заболеваемости РШМ в Западном регионе РК.....	93
3.12	Сумма результатов проведенного исследования.....	98
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	103
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	109
	ПРИЛОЖЕНИЯ.....	121

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:
Закон Республики Казахстан «О науке» от 18.02.2011 г. № 407-IVЗРК.

ГОСО РК 5.04.034-2011: Государственный общеобязательный стандарт образования Республики Казахстан. Послевузовское образование. Докторантура. Основные положения (изменения от 23 августа 2012 г. № 1080).

Правила присуждения ученых степеней от 31 марта 2011 г. № 127.

Межгосударственные стандарты: ГОСТ 7.32-2001 (изменения от 2006 г.).
Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления;
ГОСТ 7.1-2003. Библиографическая запись. Библиографическое описание.
Общие требования и правила составления.

Приказ и.о. Министра здравоохранения Республики Казахстан от 10 ноября 2009 года № 685 «Об утверждении Правил проведения профилактических медицинских осмотров целевых групп населения» с дополнениями и изменениями от 29 декабря 2014 года № 361.

Ранняя диагностика рака шейки матки на уровне первичной медико-санитарной помощи. Цитологический скрининг. Методические рекомендации. – Под редакцией д.м.н. Нургазиева К.Ш. – Алматы, 2012.

Руководство по проведению скрининга целевых групп женского населения на раннее выявление предопухолевых процессов и злокачественных новообразований шейки матки – под ред. д.м.н. Нургазиева К.Ш. – Алматы, 2012.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применяют следующие термины с соответствующими определениями

Папилломавирусы человека (англ. Human papillomavirus, HPV) – группа вирусов из семейства папилломавирусов, включающая 27 видов из 5 родов (Alphapapillomavirus, Betapapillomavirus, Gammapapillomavirus, Mupapillomavirus и Nupapillomavirus). Группа была зарегистрирована Международным комитетом по таксономии вирусов (ICTV) как единый вид Humanpapillomavirus в 1971 году.

Типы вируса папилломы человека **высококарциногенного риска** (группы **ВКР**) – генотипы вируса папилломы человека, способные вызвать рак шейки матки в качестве моноинфекции.

Вирусная нагрузка - мера тяжести вирусной инфекции, рассчитанная путём оценки количества вирусных частиц в определённом объёме биологической жидкости заражённого организма.

В мировой практике принято калькулировать вирусную нагрузку в геномных эквивалентах. При правильном и стандартизированном заборе клинического материала вирусная нагрузка до 10^3 ГЭ (геномных эквивалентов) ВПЧ, приходящихся на 100000 клеток человека, считается клинически малозначимой, так как практически не встречается при РШМ и тяжелой дисплазии (логарифмическое исчисление). Количество вируса до 10^5 ГЭ расценивается как средняя нагрузка, а 10^5 ГЭ на 100000 клеток и выше – высокая вирусная нагрузка.

Количественное определение ВПЧ необходимо для определения тактики ведения пациента, динамического наблюдения, оценки эффективности лечения и прогноза течения заболевания.

Скрининг (англ. screening) - система первичного обследования групп клинически бессимптомных лиц с целью выявления случаев заболевания. Это комплекс мероприятий в системе здравоохранения, проводимых с целью выявления и предупреждения развития различных заболеваний у населения. Первое определение скрининга было дано в 1951 году Комиссией США по хроническим заболеваниям.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АБЭ -	Ацето-белый эпителий
ВПЧ -	вирус папилломы человека
ВКР -	высокий карциногенный риск
ГЭ -	геномный эквивалент
ЗПЖ -	закрытые протоки желез
ЗТ -	зона трансформации (шейки матки)
МПЭ -	многослойный плоский эпителий
ОПЖ -	открытые протоки желез
ПЖЭ -	пролиферация железистого эпителия
ПКМ -	плоскоклеточная метаплазия
п.н. -	последовательность нуклеотидов
ПЦР -	полимеразная цепная реакция
РКГ -	резервно-клеточная гиперплазия
РПН -	регистр прикрепленного населения
РШМ -	рак шейки матки
ЭкЦЭ -	эктопия цилиндрического эпителия
ASCUS -	atypical squamous cells of undetermined significance (атипические клетки плоского эпителия неустановленного значения)
AUC -	Area under the ROC-Curve (площадь под РОК-кривой)
CIN -	Cervical intraepithelial neoplasia (цервикальная интраэпителиальная неоплазия)
HPV -	human papillomavirus
HSIL -	high-grade squamous intraepithelial lesions (интраэпителиальные повреждения плоского эпителия высокой степени)
LBC -	liquid-based cytology (жидкостнаяцитология)
LSIL -	low-grade squamous intraepithelial lesions (интраэпителиальные повреждения плоского эпителия низкой степени)
NILM -	negative for intraepithelial lesions or malignancy (отсутствие CIN или малигнизации)
PAP-test	Papanicolaou test (ПАП-тест)
ROC-analysis	Receiver Operating Characteristics analysis (анализ «рабочей характеристики приемника»)
TBS -	Terminology Bethesda system (терминологическая система Бетезда)
VIA -	Visual inspection with acetic acid (визуальный осмотр с уксусной пробой)
VILI -	Visual inspection with Lugole Iodine (визуальный осмотр с раствором Люголя)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. По данным Глобального Фонда по исследованию рака (World Cancer Research Fund), рак шейки матки (РШМ) находится на четвертом месте среди раков репродуктивной женской системы – 528000 новых случаев и 266000 летальных исходов было диагностировано в 2012 году, и практически каждый 9-ый случай из десяти имеет место в развивающихся странах [1]. Рак в целом становится приоритетной проблемой общественного здравоохранения, особенно в азиатских государствах-членах Всемирной Организации Здравоохранения. Согласно современной точке зрения, “быстрая и незапланированная урбанизация, демографические процессы и изменение образа жизни являются причиной увеличения неинфекционных заболеваний (НИЗ), которые включают рак. Глобальный план действий ВОЗ по профилактике и борьбе с неинфекционными заболеваниями на 2013-2020 годы нацелен на снижение преждевременной смертности от НИЗ на 25% к 2025 году” [2]. В ежегодном Отчете Барселонской рабочей группы Информационного центра по ВПЧ и раку (ICO) за 2016 год приведены уточнения по Азиатско-Тихоокеанскому региону, свидетельствующие о том, что РШМ занимает уже третье место среди раков женской половой сферы в Азии с уровнем заболеваемости 12.7 и показателем смертности 6.4 на 100000 женского населения [3]. Общемировая ситуация с РШМ в целом далека от стабилизации. Опубликованные в ноябре 2016 г. прогнозы Американского Онкологического общества (ACS) и группы исследователей центра Lancet свидетельствуют о росте заболеваемости РШМ к 2030 году как минимум на 25% в глобальном масштабе, с ожидаемым инцидентом свыше 700000 случаев ежегодно. В целом же ожидается рост смертности от раков женской половой сферы на 60%, в основном, в низко- и среднересурсных странах. К 2030 году от раков женской половой сферы будут ежегодно умирать около 5,5 миллиона женщин, что сопоставимо с населением всей Дании [4].

Цель исследования - анализ ситуации по инфицированию вирусом папилломы человека в общей популяции женщин Западного региона Казахстана для выполнения эпидемиологического прогноза по распространенности рака шейки матки и определения круга неотложных профилактических мер.

Задачи исследования

- определить общую частоту выявления вируса папилломы человека среди женщин Западного региона Казахстана;
- выявить наиболее распространенные генотипы ВПЧ с определением вирусной нагрузки в различных возрастных группах;
- провести сравнительный анализ диагностических инструментов скрининга РШМ, практикующихся в регионе, для выработки коррекционных рекомендаций по скрининговой стратегии;

– системно проанализировать совокупность клинико-лабораторных и социодемографических данных для идентификации аутентичных для региона факторов риска РШМ, определяющих эпидемиологический прогноз.

Объектами исследования являются женщины из общей популяции, постоянно проживающие на территории Западного региона Казахстана в возрасте от 18 до 60 и более лет, клинически здоровые (выборка для поперечного исследования), а также с впервые установленным диагнозом «рак шейки матки» (выборка для исследования «случай - контроль»).

Предметом исследования являются клинико-лабораторные показатели обследуемой группы (результаты ПЦР ВПЧ с генотипированием и определением вирусной нагрузки для каждого случая; результаты цитологического исследования, проведенного двумя методами: традиционным и жидкостным; результаты кольпоскопического осмотра), а также социодемографические показатели (результаты опроса на предмет выявления определенных ВОЗ факторов риска развития рака шейки матки).

Научная новизна диссертационного исследования

В рамках данного исследования впервые:

определена частота выявления наиболее распространенных генотипов вируса папилломы человека в общей популяции женщин Западного региона Казахстана;

выявлены наиболее важные корреляции между возрастом и вирусной нагрузкой; вирусной нагрузкой и кольпоскопической картиной; вирусной нагрузкой и цитологическим статусом;

определены факторы риска с наибольшим вкладом в реализацию РШМ в регионе; составлены социальные профили инфицированных ВПЧ и заболевших РШМ;

системно проанализирована совокупность эпидемиологических, социодемографических и клинических данных в регионе, включая преваленс ВПЧ в нормальной цитологии, что позволит дополнить существующие казахстанские методические рекомендации по профилактике рака шейки матки.

Практическая значимость диссертационного исследования

В Казахстане комплексное исследование причинного фактора РШМ не проводилось, несмотря на внедрение общенациональной скрининговой программы по РШМ с 2008 г. Исследование предоставляет возможность заполнить региональный пробел в республиканской и общемировой карте распространенности генотипов ВПЧ.

Учитывая растущий инцидент РШМ в Казахстане, оценка скрининговых и диагностических инструментов с целью выявления причин недостаточной эффективности профилактических мероприятий является актуальной задачей исследователей. В рамках данной работы положено начало реализации этой задачи.

В целом, исследование дает возможность охватить широкий круг возможных причин роста заболеваемости РШМ в регионе.

Основные положения, выносимые на защиту

1) Общий преваленс ВПЧ по Западному региону РК составляет 25,0%, со средней вирусной нагрузкой в группе инфицированных ВПЧ $5,5 \pm 3,8$ ГЭ/образец. Оба показателя оцениваются как высокие для общей популяции.

Типами группы ВКР инфицировано 20,3% обследованного женского населения из 25,0% в целом, то есть удельный вес вирусоносителей группы ВКР составляет 81,2%.

2) Выделен топ-5 лидирующих в Западном регионе типов ВПЧ: 16 (26,4%); 31 (10,1%); 51 (9,4%); 52 (9,0%); 6 (7,9%). Из них только тип 6 относится к слабоканцерогенным, остальные – из группы ВКР.

Удельный вес так называемых «вакцинных типов» (6, 11, 16, 18), т.е. потенциально устранимых вакцинацией, составил в Западном Казахстане 43,0%, а с 31 и 45 типами, также потенциально устранимыми вакцинацией – 59,6%.

Характерна почти полная идентичность результатов определения вирусной нагрузки в возрастных группах 18/29 – 30/39 – 40/49 лет, с последующим уменьшением в группе 50-60 лет.

Наибольшее количество выбросов (аномально высоких значений) зафиксировано в возрастной группе 30-39 лет, когда, согласно общемировым данным, начинается процесс персистенции вируса и развитие CIN.

Топ-5 лидирующих типов ВПЧ в группе заболевших РШМ составили следующие: 16 (71,9%), 31 (14,1%), 58 (7,8%), 18 (7,8%), 33 (6,2%).

3) Сравнительный анализ диагностических инструментов скрининга РШМ, практикующихся в регионе, продемонстрировал некоторое преимущество традиционного цитологического метода (окраска по Романовскому-Гимзе) в сравнении с жидкостным. Использование только цитологических методов скрининга РШМ является концептуально устаревшим.

4) Ведущим фактором риска развития РШМ в регионе является ВПЧ-носительство типа 16. Проведенная идентификация аутентичных для региона факторов риска и прогнозирование эпидемической ситуации по распространенности РШМ продемонстрировали, что вероятность наступления заболевания раком шейки матки у обследованных женщин региона:

- уменьшается при относительно высоком уровне подушевого дохода (90000 тг+);

- уменьшается при хотя бы нерегулярном участии в скринингах на РШМ.

Тренд заболеваемости РШМ женского населения Западного региона РК имеет тенденцию к росту. Ожидаемая заболеваемость РШМ в 2017 г. будет равна 26,9 на 100000 женского населения, стандартизированного по возрасту.

Личный вклад автора заключается в непосредственном опросе и обследовании пациенток согласно разработанного Протокола, проведении дополнительных диагностических процедур (взятие биопсии с ткани шейки матки по показаниям), научном и статистическом анализе полученных данных с разработкой практических рекомендаций.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены на профильной Проблемной комиссии Западно-Казахстанского государственного медицинского университета имени Марата Оспанова, на апробационном заседании объединенной Проблемной комиссии университета.

Результаты проведенного исследования докладывались на мировом Конгрессе по раку «World Congress on Cancer and Infectious Diseases», 3-5 мая 2017 г., Мадрид, Испания; на научной конференции в Баку, Азербайджан, 10-11 мая 2017 г. The 6th Annual International Scientific-Practical Conference “Medicine Pressing Questions”; на научно-практической конференции с международным участием 5-6 октября 2017 года, посвященной 60-летию ЗКГМУ им. М. Оспанова, г. Актобе.

Публикации по теме диссертации

По результатам диссертации опубликовано 8 научных работ, из них – 4 статьи в журналах, рекомендуемых Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК, 4 – в зарубежных изданиях: 1 статья в издании, индексированном в информационной базе Scopus - «Asian Pacific Journal of Cancer Prevention»; «Медицина, здоровье окружающей среды и гигиена труда», импакт фактор 0.743; 1 статья – в сборниках Международных научно-практических конференций (зарубежных); 2 тезиса - в материалах Международных научных конференций (приложения Б, В).

Структура и объем диссертации

Диссертация выполнена в объеме 120 страниц компьютерного набора и состоит из следующих глав: Введение; Современное состояние проблемы РШМ (обзор литературы); Материалы и методы, применявшиеся в исследовании; Результаты и обсуждение; Заключение; Список использованной литературы; Приложения. Работа проиллюстрирована 39 таблицами, 20 рисунками.

Указатель литературы содержит 140 источников, в том числе 24 на русском языке и 116 – на английском языке.

Исследование проведено в рамках НИР с грантовым финансированием МОН РК «Эпидемиологический анализ вируса папилломы человека в регионе Западного Казахстана в контексте ВПЧ-ассоциированной патологии шейки матки – социальные, клинические и генетические аспекты» (грант 2230/ГФ4, № государственной регистрации 0115РК01224, Договор с КН МОН РК № 179 от 12.02.2015, № 103 от 25.04.2016, № 209 от 03.03.2017).

По материалам НИР и диссертационной работы разработано 2 внедрения (приложения Г, Д).

Результаты исследования легли в основу научно-методической разработки «Ведение женщин с патологией шейки матки в учреждениях ПМСП с учетом современных данных о папилломавирусной инфекции: Рекомендации по разработке Протокола диагностики и лечения» (проводятся экспертные процедуры).

1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ РШМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Ситуация с РШМ в республике Казахстан

По данным казахстанской статистики, уже к 2012 г. среди наиболее распространенных в республике раков РШМ достиг значительной пропорции, заняв 5-ое место с удельным весом в 4.8% в консолидированной структуре злокачественных опухолей [5]. Согласно результатам исследований Международной ассоциации по исследованию рака (IARC) инциденса РШМ по странам на 2012 г., приведенным в глобальном сетевом ресурсе Cancer Today (ранее назывался Globocan), в Республике Казахстан был отмечен самый высокий среди пограничных государств инцидент РШМ - стандартизованный по возрасту показатель на 100000 женского населения - 29.4, тогда как соответствующий показатель по Российской Федерации - 15.3, в Узбекистане - 13.5 и 7.5 в Китае [6]. Аналитические данные казахстанских ученых говорят о росте заболеваемости раком шейки матки (РШМ) с 14.5 на 100000 женского населения в 2004 году до 20.2 в 2014 году. Настораживает, что «анализ возрастных показателей заболеваемости выявил значительный риск заболевания уже в молодом возрасте и заметное увеличение его к 40-44 годам. Пик заболеваемости за последние 6 лет сместился к более молодому возрасту, общее увеличение заболеваемости произошло за счет женщин в возрасте от 35 до 55 лет» [7]. По другим источникам, ежегодные темпы заболеваемости раком шейки матки в период 1999-2008 г.г. в Казахстане составляли 14.5 ± 0.3 , а смертности 8.0 ± 0.1 [8]. Республиканские данные согласуются с результатами независимых экспертов из упоминавшейся ИСО Барселонской рабочей группы, в своем ежегодном Отчете за 2015 г. доложивших, что РШМ в Казахстане является вторым по распространенности среди женщин и занимает первое место по частоте в возрастной категории от 15 до 44 лет, с возросшим до 32.8 показателем заболеваемости [9]. Несмотря на наличие в стране действующей с 2008 г. государственной скрининговой программы по раннему выявлению рака шейки матки, ситуация с заболеваемостью и предотвращением новых случаев РШМ в стране практически не меняется, и даже становится более напряженной – по данным Барселонской группы ИСО, ежегодно заболевают 2789 женщин и 982 – умирают.

А между тем, рак шейки матки является вполне реальным объектом для раннего выявления из-за его принадлежности к числу визуальных форм, и может быть в значительной мере предотвращен как эффективным скринингом, так и вакцинацией [10].

1.2 Краткая характеристика групп ВПЧ

Практически все случаи рака шейки матки обусловлены персистирующей инфекцией, вызванной ограниченным набором вирусов папилломы человека (ВПЧ). В 2009 году Рабочая группа Международного Агентства по изучению рака (IARC) объявила 12 видов (ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 и

59) высококанцерогенными для человека (группа 1), ассоциированными с раком шейки матки, далее упоминающимися, как группа высокого карциногенного риска (ВКР) ВПЧ. Эти 12 типов являются собой кластер, происходящий из одной эволюционной ветви, который включает группы Alpharapillomavirus видов 5, 6, 7, 9 и 11, поражающих эпителий гениталий [11, 12]. В целом, вирус папилломы человека является большой и разнообразной группой вирусов со 189 полностью охарактеризованными типами, включая новые типы, открытые сравнительно недавно, в частности вирус JC9710, выделенный в Квебеке и отнесенный к группе A15 [13, 14]. Всего классифицированы 4 группы ВПЧ, включая ВКР: вероятно канцерогенные – например, 68 тип (группа 2a); возможно канцерогенные 26, 53, 66, 67, 70, 73 и 82 типы, рассматриваемые как потенциальные канцерогены, с противоречивой и не до конца определенной ролью в канцерогенезе (группа 2b); не классифицированные (группа 3); и, возможно, не канцерогенные (группа 4). Канцерогенность различных типов определяется их потенциалом вызвать злокачественный процесс в качестве моноинфекции, а также частотой (инцидентом) таких процессов. “Совокупный” ущерб папилломавирусов оценивается примерно в 5% всех раков человеческого организма [15]. В таблице 1 представлены изученные филогенетические группы ВПЧ, тропные к генитальному эпителию.

Таблица 1 – филогенетические группы ВПЧ Alpharapillomavirus

Филогенетические группы ВПЧ супергруппы Alpharapillomavirus	Генотипы
A 5	26, 51, 69, 82
A 6	30, 53, 56, 66
A 7	18, 39, 45, 59, 68, 70, 85
A 9	16, 31, 33, 35, 52, 58, 67
A 11	34, 73

Назревшая необходимость повторно оценить канцерогенность различных типов ВПЧ воплотилась в подходе, недавно принятом Международным Агентством по изучению рака (IARC). Этому способствовали следующие обстоятельства: еще в 1995 году 31 и 33 генотипы считались лишь потенциально канцерогенными, но впоследствии были объявлены цервикальными канцерогенами группы 1-ВКР. Тип 66, признанный цервикальным канцерогеном группы ВКР в 2005 году, позднее был переведен в группу 2b (возможно/вероятно канцерогенных), а тип 68, наоборот, был включен в группу ВКР. В связи с накоплением научных данных о степени вклада различных типов ВПЧ в развитие РШМ, исследователи склоняются к пристальному изучению всей супергруппы Alpharapillomavirus, тропной к генитальному эпителию, и непрерывной ревизии канцерогенности каждого из типов ВПЧ этого семейства, с учетом, что вирус папилломы человека склонен, как выяснилось, к постоянной эволюции [16, 17]. После очередного пересмотра,

вдополнение к типам ВПЧ 16 и 18, типы 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, а также 68, следует считать высококанцерогенными, или высокого риска, а типы 26, 53, 66, 73 и 82 должны рассматриваться как потенциальные, вероятные канцерогены. В качестве подтверждения растущего числа свидетельств постоянной эволюции ВПЧ, недавно Hales et al. предоставили четкие молекулярно-биологические доказательства однозначно высокой канцерогенности типов, в настоящее время классифицирующихся как вероятно/возможно канцерогенные [18]. Было высказано предположение, что для этих типов ВПЧ следует провести следующий пересмотр классификации в рамках нового научного подхода к канцерогенности, хотя и нет необходимости включать их в рутинные скрининговые тесты [19]. Генетическое разнообразие некоторых типов ВПЧ также может быть одним из решающих факторов их неравнозначной канцерогенности и злокачественных последствий для различных групп населения [20-22].

1.3 Эпидемиология вируса по странам

По данным мета-анализа Рабочей группы IARC от 2007 г., распространенность ВПЧ даже у женщин с нормальной цитологией отличается почти в 20 раз между популяциями, с 1,4% (95% CI 0,5-2,2) в Испании до 25,6% (22,4-28,8) в Нигерии [23]. В США и Канаде, несмотря на высокий социально-экономический уровень, частота выявления ВПЧ составляет от 22 до 26%. В Дании, где охват скрининговыми мероприятиями и иммунизационной программой находится на высоком общеевропейском уровне, преваленс ВПЧ, тем не менее, составляет 20,5% и лидирующим генотипом остается ВПЧ 16 [24]. В Италии, где также внедрены передовые схемы скрининга и всеобщая вакцинация девочек-подростков, преваленс ВПЧ остается высоким – 29,7%, на материале N=9720 [25]. В сопредельных с нашей страной государствах статистика преваленса ВПЧ также широко варьирует. Так, например, в Китае распространенность ВПЧ составляет в целом 13,5 - 15,5%, с наиболее распространенными генотипами HPV16, HPV 52, HPV 58, HPV 33, и HPV 18 [26-29]. Вообще, Китай лидирует в мире по количеству публикаций и активной разработке темы ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки, несмотря на сравнительно невысокий преваленс инфекции. Согласно мета-анализу современных публикаций по теме, среди 10 самых густонаселенных стран, существенные данные по раку шейки матки (≥ 8 публикаций) были доступны по Китаю, США, Японии, Индии, Бразилии, но очень ограничены данные (0-2 публикации) в Индонезии, Пакистане, Нигерии, Бангладеш, России и постсоветским странам [30]. До сих пор имеются лишь ограниченные данные об эпидемиологии ВПЧ и вирус-ассоциированных заболеваний в Российской Федерации, на Кавказе, в Прибалтике и в Центральной Азии, включая Казахстан [31]. Так, например, в Узбекистане общий преваленс ВПЧ, без указания доминирующих генотипов, по некоторым данным, составляет 15,4% [32]. В сопредельной России данные по преваленсу ВПЧ очень противоречивы, в целом различные источники указывают на 24-28%, а лидирующими

генотипами являются 16, 18 и 45, причем удельный вес ВПЧ 16 достигает 65,9% [33].

По данным пилотного проекта ЗКГМУ имени М. Оспанова от 2014 г., преваленс ВКР ВПЧ в Западном регионе Казахстана составил 26,0%, и лидирующими генотипами являлись 16 (10.7%), 39 (5.8%), 51 (5.3%), 31 (4.9%) и 56 (4.6%) [34]. Исследователи КазНИИОиР, занимавшиеся проблемой, также выявили высокую распространенность ВПЧ у казахстанских женщин на материале N2408 – 28.3%, причем 25.1% были отнесены к группе высокого риска (ВКР ВПЧ) [35].

1.4 Факторы риска ВПЧ-инфекции и РШМ. Направления научных изысканий

Известно, что пик инцидента ВПЧ-инфекции случается у 20-летних, пиковый инцидент и обнаружение CIN-III свойственно возрастной группе 30-летних, а пик инцидента рака шейки матки происходит в возрасте 40 и более лет. Подсчитано, что без вторичной профилактики (скрининга) рак шейки матки может реализоваться примерно у 3-5% женщин с ВПЧ-инфекцией высокого риска [36].

Предполагалось, что иммунологическая чувствительность к инфекции HPV генетически предопределена и может быть важна для прогрессии CIN и РШМ. Многочисленные исследования, проведенные в различных популяциях, показали, что среди женщин с CIN и РШМ чаще встречаются женщины с определенными вариантами генов HLA I и II класса [37]. Однако частота распространения того или иного варианта HLA I и II классов варьировала в различных популяциях. Тем не менее, наиболее часто встречалась ассоциация между наличием В1* аллелей HLA II класса DR В1* 1501 и DQ В1* 0602 и инфекцией HPV 16-го типа. Поскольку эти аллели чаще встречались не только среди больных РШМ, но и у "здоровых" женщин с инфекцией HPV16, они, по-видимому, обуславливали длительную персистенцию вируса в организме. Высокие титры HPV16 у больных раком *in situ* женщин выявлялись в течение ряда лет еще до появления цитологических изменений. Таким образом, на начальном этапе инфекции HPV нарушения в иммунном ответе могли способствовать длительной персистенции вируса в относительно высоких титрах.

В настоящее время изучение иммуногенеза ВПЧ-инфекции уступило место более актуальным направлениям, например, роли m-RNA (молекулярной РНК) в процессе активации инфекции и прогнозирования быстроты неопластической трансформации у пациенток с CIN [38]. Установлено, что m-RNA (молекулярная РНК) может служить маркером активности процесса и прогрессии CIN. Результаты исследования, проведенного в госпитале Вито-Фацци в 2015 г. (Лечче, Италия), свидетельствовали о том, что-либо мРНК ВПЧ-позитивные пациенты в среднем через 12 месяцев все подвержены риску прогрессирования CIN1 и CIN 2/3, либо тест мРНК-ВПЧ имеет более высокую специфичность, чем PAP-тесты (SurePath, Cobas) в последующей оценке

пациентов после хирургического лечения. Исследование подтвердило сильную связь между присутствием мРНК ВПЧ ВКР и риском опухолевой прогрессии.

В последние годы активно изучается эпителиально - мезенхимальный переход (EMT), который определяется как трансдифференцировка эпителиальных клеток в мезенхимальные клетки, и имеет решающее значение для эмбрионального развития, заживления ран, регенерации тканей, фиброза органов и прогрессирования рака, в том числе и РШМ [39].

На начальном этапе изучения ВПЧ-инфекции ассоциированного с инфекцией РШМ велись исследования наследственного фактора. Во многих работах указывалось на существование генетической предрасположенности к цервикальному раку: было установлено, что риск РШМ достоверно вдвое выше у сестер по сравнению со сводными сестрами или падчерицами [40]. Однако гены, ответственные за эту предрасположенность, так и не были уточнены, в связи с чем наследственный анамнез в последнее время почти не упоминается как фактор риска.

Питание, напрямую зависящее от уровня жизни, степени образования и культурных традиций населения, является еще одним важным фактором, который, предположительно, влияет на цервикальный канцерогенез. Окислительный стресс, вызванный недостатком антиоксидантных микронутриентов, вероятно, изменяет нормальный окислительно-восстановительный баланс и способствует преобразованию ВПЧ-инфицированных клеток в сторону канцерогенного процесса в шейке матки [41].

Предполагается также, что курение является основным кофактором канцерогенеза в шейке матки, и важным вмешивающимся (confounder) фактором в научных исследованиях. Курение должно быть принято во внимание всеми исследователями в своих исследованиях [42, 43]. Тем не менее, среди женщин с тяжелой дисплазией и раком шейки матки, процент курящих статистически не больше, чем у инфицированных ВПЧ, но не заболевших РШМ. То есть, на сегодня не все аргументы в пользу прямого участия никотина и бензпирена, содержащегося в сигаретах, в непосредственном канцерогенезе шейки матки, убедительны с точки зрения доказательной медицины [44].

1.5 Роль вирусной нагрузки в реализации ВПЧ-инфекции

Установлено, что нагрузка ДНК ВПЧ может отражать тяжесть и прогноз течения папилломавирусной инфекции [45]. Во многих работах указано, что вирусная нагрузка ВПЧ является типозависимым маркером риска инвазивной карциномы, но авторы оговариваются, что это кратковременно действующий маркер. На сегодняшний день не доказано достоверно, что меньшая вирусная нагрузка неизбежно исключает прогрессирующее заболевание [46].

В мировой практике принято калькулировать вирусную нагрузку в геномных эквивалентах. При правильном и стандартизированном заборе клинического материала вирусная нагрузка до 10^3 ГЭ (геномных эквивалентов) ВПЧ, приходящихся на 100000 клеток человека, считается клинически

малозначимой, так как практически не встречается при РШМ и тяжелой дисплазии (логарифмическое исчисление). Количество вируса до 10^5 ГЭ расценивается как средняя нагрузка, а 10^5 ГЭ на 100000 клеток и выше – высокая вирусная нагрузка. Количественное определение ВПЧ необходимо для определения тактики ведения пациента, динамического наблюдения, оценки эффективности лечения и прогноза течения заболевания.

1.6 Роль секвенирования генов ВПЧ в изучении особенностей инфекции

Современное состояние проблемы ВПЧ-ассоциированных инфекций невозможно исследовать, не опираясь на данные секвенса генов ВПЧ, в связи с доказанной высокой генетической вариабельностью многих типов ВКР ВПЧ [20-22]. Сравнение секвенированных последовательностей HPV 6b, 11, 16, 18, 31 и 33 показало, что наиболее консервативные участки локализованы в пределах открытых рамок считывания (ORF) генов E1 и L1 (E – early, ранние; L – late, поздние). Именно эти гены ВПЧ отвечают за репликацию вируса. В ORF L1 были обнаружены две высококонсервативные последовательности длиной по 20 полинуклеотидов (п.н.), общие для всех секвенированных типов HPV. Поэтому наиболее удобным объектом для секвенса генов ВПЧ является ген L1, который часто секвенируют для дополнительной идентификации генотипа [47, 48]. В некоторых работах указано, что для изучения генетической вариабельности выделенных изолятов рациональнее использовать геномные регионы E6 E7 - генов, отвечающих за экспрессию онкобелков [49]. Именно благодаря секвенированию генов в уже упоминавшейся работе Hales et al. [18] была доказана эволюция так называемых «слабых», «возможно» и «вероятно» канцерогенных типов, таких, как 26, 53, 66, 67, 68, 70, 73 и 82, до 2005-2009 гг. считавшихся практически неспособными вызвать прогрессию CIN до стадии инвазивного рака в виде моно-инфекции.

1.7 Современные методы диагностики ВПЧ

Самыми распространенными на территории постсоветских государств являются ПЦР-методы диагностики ВПЧ, направленные на максимальную чувствительность выявления вирусной ДНК, но этот метод не всегда приводит к прямым клиническим корреляциям. Digene-test является первым диагностическим методом для выявления ДНК ВПЧ, официально одобренным FDA (Федеральное Управление США по контролю за пищевыми продуктами и лекарствами, дата одобрения 31.03.2003) [50], и представляет молекулярную технологию, направленную на выявление специфических фрагментов ДНК вируса папилломы человека (метод «гибридного захвата», HC-II). Digene HPV тест дает возможность дифференцировать между 2 группами генотипов вируса - высокого (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) и низкого (6, 11, 42, 43, 44) онкориска. Digene HPV тест получил широкое распространение благодаря своей надежности и простоте применения. Чувствительность теста в комбинации с цитологическим исследованием (PAP-тест) в обнаружении

предраковых изменений шейки матки и рака шейки матки намного выше, чем проведение только цитологического исследования. В настоящее время комбинация Digene HPV теста и цитологического PAP-теста стала «золотым стандартом» в этой области диагностики и предлагается для скринингового обследования женщин старше 30 лет. Положительный Digene HPV тест у женщин моложе 30 лет служит показанием к повторному тестированию через 9-12 месяцев, поскольку у молодых женщин инфекция ВПЧ может носить транзиторный характер, а у женщин старше 30 лет может свидетельствовать о персистенции вируса.

Помимо метода гибридного захвата, в последнее десятилетие было разработано немало перспективных и высокочувствительных методов диагностики папилломавирусной инфекции, одобренных FDA: тест HR Cervista HPV (CER, Hologic, Madison, WI), тест Cobas HPV (Roche, Pleasanton, США) и тест на основе анализа РНК ВПЧ АРТІМА (Hologic, Сан-Диего, Калифорния) [50]. Тест Cobas ВПЧ, будучи одной из последних разработок, рекомендован FDA для первичного скрининга рака шейки матки. Тест Cervista продемонстрировал высокую эффективность в обнаружении ВПЧ, но в испытаниях была выявлена его склонность к ложноположительным заключениям в сравнении с НС-II [51].

Недавно были также определены новые CIN2/3-специфические маркеры метилирования с использованием анализа генома ДНК. Диагностическая производительность новой панели метилирования показала более высокую специфичность, которая должна привести к предотвращению ненужных кольпоскопий для женщин с аномальной цитологией. Эти недавно обнаруженные маркеры могут применяться в качестве сортировочного теста у HPV-положительных женщин при скрининге населения [52].

Прогресс в области исследований наноматериалов значительно отразился на развитии диагностики инфекционных заболеваний. Хотя в настоящее время диагностика вируса папилломы человека (ВПЧ) полагается исключительно на молекулярные тесты, но был открыт метод с использованием быстрых и легких квантовых точек (quantum dots) и суперпарамагнитных наночастиц на основе анализа гибридизации для обнаружения 16 типов ВПЧ, который сочетает в себе достоинства суперпарамагнитных наночастиц и квантовых точек и полностью отличается от обычного анализа гибридизации тем, что реакция протекает в гомогенном растворе, а длительность анализа не превышает 1 час [53].

1.8 Кольпоскопия в диагностике патологии шейки матки

Кольпоскопия является одним из весьма затратных диагностических методов, и в алгоритм мероприятий по раннему выявлению РШМ входит на последних этапах. Для проведения кольпоскопии требуется опытный специалист и дорогое оборудование, к тому же метод предполагает субъективность клинической оценки. В литературе диагностическая ценность данного метода оценивается очень вариабельно: его чувствительность, по разным оценкам, находится в диапазоне 49–84% [54, 55]. Тем не менее,

кольпоскопия, как один из окончательных диагностических инструментов, позволяющих произвести прицельную биопсию, постоянно находится в зоне внимания исследователей, стремящихся повысить ее эффективность [56, 57].

Многие исследователи дают высокую оценку низкокзатратному и технически очень простому методу визуальной оценки шейки матки после обработки уксусным раствором (VIA), а также после обработки раствором Люголя (VILI). Предсказательная ценность этих методов, по мнению многих авторов [58], очень высока, особенно в случаях отрицательных проб. Несмотря на высокую оценку, методика VIA/VILI рассчитана и применяется только в низкоресурсных странах Азии и Африки, где нет государственных скрининговых программ, либо эта методика применяется в сельских местностях, где нет доступа к специалистам по кольпоскопии, например, в Китае.

1.9 Современный скрининг рака шейки матки

Известно, что диагностическая чувствительность PAP-теста составляет не более $\pm 70\%$ при специфичности 95-98% [59], и тем не менее, цитология десятилетиями оставалась единственным диагностическим инструментом скрининга РШМ. В последнюю декаду XX века совершился огромный прорыв в технологии цитологического метода – была разработана жидкостная цитология – LBC (liquid-based cytology). В настоящий момент общепризнано, что методы жидкостной цитологии устраняют многие недостатки традиционной. При сопоставлении жидкостной и традиционной цитологии (PAP-тест) преимуществ у жидкостного метода оказывается в 2 раза больше, чем недостатков в сравнении с традиционным. К наиболее существенным недостаткам относятся увеличение стоимости расходных материалов, увеличение времени приготовления препарата и трудоемкости скрининга, возможные сложности интерпретации железистой патологии. Однако лучшая сохранность клеток, улучшение их визуализации, возможность приготовления до 15 препаратов с одного образца (что важно для использования дополнительных методов и автоматизированного анализа), минимизация артефактов и в 5 раз меньшая частота недостоверности (всего 1-2%) в сравнении с традиционной цитологией существенно перевешивают недостатки, имеющие в основном ресурсный, а не диагностический характер [60]. В наиболее масштабных исследованиях (N до 26782) метод LBC получил высокую оценку и был рекомендован для массового скрининга [61].

Тем не менее, не все авторы публикуют однозначно хвалебные отзывы о жидкостной цитологии. В южно-африканском масштабном исследовании с N до 5652 [62], анализировавшем эффективность транспортных сред “ThinPrep”, показатели LBC и обычной цитологии были статистически эквивалентны, хотя чувствительность обычной цитологии по крайней мере на 5 процентных пунктов выше на всех уровнях патологии. Например, в цитологии CIN чувствительность LBC составила 60,3% для CIN2 + против 69,1% для обычной цитологии, и специфичность 94,1% и 94,5% соответственно. LBC образцы были

в значительно меньшей степени «ограниченно удовлетворительными» (6,5% против 27,9%), а процент «неинформативного материала» значительно больше (2,2% против 0,8%).

В настоящее время исследователи активно пытаются оптимизировать эффективность Pap-тестов путем внедрения в цитологическую практику современных цифровых удаленных веб-технологий. Например, была оценена обоснованность использования цельного слайда (WSI, Whole-Slide Imaging – полнотекстовая обработка изображений), подготовленного из клеточного блока Pap-препарата в качестве инструмента для скрининга. Исследователи доказали на материале N=335, что это весьма приемлемый метод для достижения высокого качества образцов препаратов - он так же чувствителен, как и жидкостные методы, и очень специфичен для обнаружения LSIL/HSIL и идентификации патогенных микроорганизмов [63, 64].

В последние годы клинически доказано, что для выявления тяжелой патологии шейки матки необходимо проведение ВПЧ-типирования, так как чувствительность ДНК-теста составляет 75-95% против \pm 70-90% PAP-теста, а предсказательная ценность отрицательного ВПЧ ДНК-теста составляет 99% [58]. Проведенное в Мексике масштабное исследование женщин в возрасте от 30 до 80 лет на предмет затратной стоимости изолированного PAP-теста против комбинированного обследования PAP+ВПЧ ДНК-тест показало, что в конечном итоге комбинированное исследование всегда более экономически эффективно, чем использование только PAP, так как предотвращает многие негативные исходы, ложащиеся бременем на государство [65].

Рабочая группа IARC выполнила крупномасштабные популяционные исследования по скрининговым технологиям, на основе которых в 2007 г. были разработаны «10 Ключевых рекомендаций». Одна из них заключается в переходе к ВПЧ-тестам в качестве основного [66] скринингового инструмента. Тесты для выявления ВПЧ также рекомендованы Всемирной организацией здравоохранения для проведения сортировки незначительных цитологических нарушений и последующего ведения женщин после лечения поражений шейки матки высокой степени тяжести [67, 68]. В развитых странах с относительно низким уровнем РШМ (Европа, США), жидкостный цитологический анализ до последнего времени был основным инструментом отбора в скрининге, а ВПЧ тест был рекомендован в качестве сортировки для аномальных образцов цитологии [69]. Сейчас акценты в этой области повсеместно меняются.

В целом, проверочные тесты ВПЧ в сочетании с традиционными Pap-тестами обеспечили беспрецедентную возможность значительно уменьшить инцидент рака шейки матки в США [70]. В то же время, во всем мире был собран большой объем доказательств лучшей эффективности ВПЧ-тестирования в диагностике тяжелых цервикальных поражений, что в конечном итоге привело к радикальным изменениям в концепции методов скрининга.

Хорошо известно, что ВПЧ широко представлен даже в нормальной цитологии, будучи ранним маркером потенциального онкологического процесса. По результатам мета-анализа, проведенного Bernard et al.,

обнаружение только типа 16 HPV в нормальной цитологии во всем мире колеблется в среднем от 16% и до 50% [71]. В упомянутом большом популяционном исследовании датских женщин [24] в возрасте 14-95 лет с N = 40382, распространенность типов ВКР ВПЧ в остаточной жидкости (SurePath®) цитологических образцов составила 20,5% в целом, и 17,0% среди женщин с нормальной цитологией, что является одним из самых высоких показателей в Европе.

В настоящее время скрининг на основе ДНК ВПЧ клинически подтвержден в качестве первичного скринингового инструмента и, обеспеченный соответствующим протоколом, является более эффективным, чем скрининг, основанный на цитологии, в предотвращении инвазивного рака шейки матки. Доказано, что скрининг с ВПЧ-тестированием может уменьшить на 60-70% количество случаев инвазивного рака шейки матки по сравнению со скринингом, основанным на применении Пап-тестов [72]. ВПЧ - тестирование в качестве основного инструмента также рекомендуется для стран с низким уровнем ресурсов. Демонстрационный проект с N = 44,110 в Индии показал, что можно реализовать ВПЧ - ориентированный скрининг с использованием существующей инфраструктуры первичной медико-санитарной помощи [73].

В результате этого концептуального перехода, в Австралии произведены изменения Национальной программы скрининга рака шейки матки, известные как «Обновление» (Renewal). В широком смысле, эти изменения предусматривают переход на первичное тестирование HPV вместо прежнего цитологического господства, а именно переход с 2-летнего скрининга с обычной цитологией на 5-летний интервал с использованием частичного генотипирования на 16/18 типы с сортировкой анализов жидкостной цитологии для женщин с иными, чем 16/18, ВПЧ-положительными результатами [74, 75]. Многие из стран, такие как Польша, в настоящее время предпринимают попытку оценить эффективность своих программ скрининга и приблизить их к принятым стандартам и руководящим принципам в развитых государствах [76].

Европейский дизайн скрининга, выполненный на основе последних научных достижений в области эпидемиологии ВПЧ и РШМ, наиболее аргументирован в современных условиях. В Италии, по примеру ведущих европейских государств, также был произведен пересмотр повсеместно существовавшей схемы скрининга РШМ, базировавшейся на цитологических заключениях, с заменой полного доминирования цитологии на молекулярно-биологическое тестирование ВПЧ.

На рисунке 1 изображена новая схема скрининга на рак шейки матки, повсеместно принятая в Италии, начиная с 2016 г., по проекту MIDDIR [77], разработанному группой итальянских специалистов на основе общеевропейских (британских, нидерландских) методик.

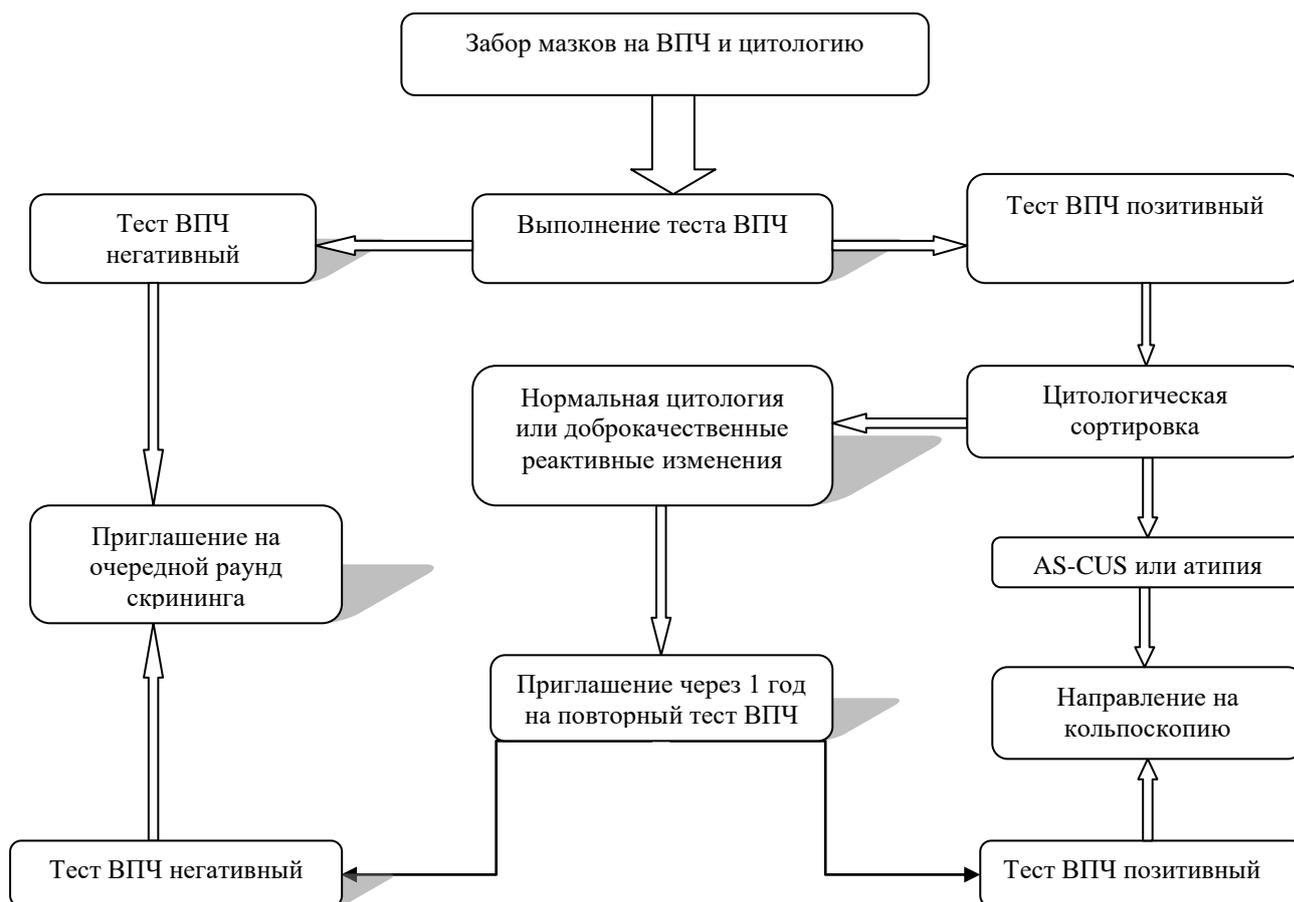


Рисунок 1 – Схема ВПЧ - ориентированного скрининга

Примечание - Рисунок взят из Проекта «MIDDIR», перевод на русский язык выполнен автором данной диссертации

Из рисунка видно, что ВПЧ-тест является главным инструментом, от результатов которого зависит дальнейшая тактика, а цитология используется как инструмент сортировки. Описание процесса скрининга, принятого в Италии с 2016 г., дано в приложении А («Отчет о стажировке докторанта»).

В настоящее время существует большое разнообразие скрининговых технологий, применяемых в различных странах. Упомянутую выше схему ВПЧ-ориентированного скрининга могут позволить себе, в основном, высокоресурсные страны Западной Европы. Новысокая частота РШМ, как правило, отмечается в низкоресурсных развивающихся странах. Тем не менее, некоторые страны (Китай, Индия) уже внедрили ВПЧ-тестирование, пока только в качестве пилотного проекта. В таблице 2 приведена информация по использованию различных скрининговых методик в некоторых странах Азии и в сопредельных с Казахстаном государствах.

Таблица 2 – Скрининговые технологии, применяющиеся в некоторых странах Азии и сопредельных с Казахстаном государствах

Страна	Доступность скрининговой программы	Структуры, обеспечивающие качество и выполнение мониторинга скрининга	Активное приглашение на скрининг	Основной тест для первичного скрининга	Демонстрационные проекты	Декретированные группы	Интервал Или частота скрининга
Афганистан	да	нет	нет	цитология	VIA	15-49	5 лет
Азербайджан	нет	-	-	-	-	-	-
Китай	да	нет	нет	цитология/ VIA	ВПЧ-тест	30-59	3 года цитология (35-59лет); VIA для сельских женщин 30-54 лет
Индия	да	нет	нет	цитология	VIA/ ВПЧ-тест	35-64 цитология	3 года
Индонезия	да	да	нет	VIA	-	30-50	5 лет
Израиль	да	нет	нет	цитология	-	35-54	3 года
Япония	да	да	да	цитология	-	20+	2 года
Казахстан	да	нет	нет	цитология	-	30-60	5 лет
Турция**	да	да	да	ВПЧ тест/ цитология	-	30-65	5 лет цитология, от 5 до 10 лет – ВПЧ-тест
Узбекистан	да	нет	нет	цитология	-	25-49	-
Россия	да	нет	нет	цитология	-	18+	1 год

Примечания
 *информация взята из доклада ICO-Барселонской группы, мониторирующей вопросы цервикального рака [3]. Данные оценены по состоянию на 15.10.2015 г. Перевод на русский язык выполнен автором данной диссертации;
 **с 2014 года в Турции внедрен ВПЧ-ориентированный скрининг. Данные международного семинара “Workshop on Cancer Screening and Monitoring”, 13-15 October, 2015, Ankara, Turkey

1.10 Современные проблемы скрининга РШМ в Казахстане

В нашей республике с 2008 г. налажена трехэтапная система профилактических мероприятий в борьбе с РШМ согласно Государственной программы развития здравоохранения Республики Казахстан «Саламатты Қазақстан», утвержденной Указом Президента Республики Казахстан от 29 ноября 2010 года № 1113, в соответствии с Приказом и.о. Министра здравоохранения Республики Казахстан от 10 ноября 2009 года № 685 «Об утверждении Правил проведения профилактических медицинских осмотров целевых групп населения» с дополнениями и изменениями от 29 декабря 2014 года № 361 и другими законодательными документами [78].

Несмотря на определенные успехи существующей в Казахстане уже 8 лет

общенациональной скрининговой программы, остается ряд проблем, которые препятствуют значительному снижению заболеваемости РШМ в стране. К достижениям однозначно можно отнести снижение показателя запущенности РШМ. Согласно данным отечественных ученых, «запущенность в 2007 году составляла 26,7%, то есть у каждой 4-й женщины был выявлен распространенный рак. С 2008 года, с началом внедрения государственной программы скрининга РШМ, отмечается снижение показателя запущенности более чем в 2 раза» [79].

Проблемы казахстанского скрининга можно условно разбить на несколько групп:

- вопросы организационного характера, а именно, посещаемость скрининговых мероприятий (охват);
- проблема верификации скринингового инструмента;
- проблема актуальности применяемой технологии;
- вопросы ресурсного характера, или обеспечение квалифицированными кадрами [80].

Общеизвестно, что для эффективности скрининговой программы РШМ охват женщин из числа декретированных групп должен в идеале приближаться к 100%, в то время как в Казахстане посещаемость колеблется в пределах 70% [31], а с 2015 года, согласно данным ведущих специалистов КазНИИОиР – около 50%. Причины недостаточной популярности скрининга у населения еще только предстоит серьезно исследовать.

В отношении верификации основного скринингового инструмента необходимо сказать следующее: Казахстан, который в 2013 году перенял технологию BD (SurePath®, BD diagnostics, Tripath, Берлингтон, штат Северная Каролина, США), позволяющую одновременно извлекать ДНК ВПЧ из жидкостной транспортной среды для молекулярно-биологических исследований, затем перешел к CellScan технологии (LTD “Tech Bio Co., Южная Корея), относительно которой экспертная оценка в мировой научной периодике пока еще не проведена (имеются в виду публикации уровня «Core Collection»). Это обстоятельство, вероятно, можно объяснить относительно малым сроком эксплуатации данной технологии – CellScan был разработан лабораторией IMSTAR (Франция) в 2010 г.

В Казахстане Приказом Министра здравоохранения РК № 926 от 30.11.2015 г. была учреждена Объединенная комиссия по качеству медицинских услуг, занимающаяся также оценкой медицинских технологий (ОМТ, или НТА–Health Technology Assessment) на этапе рассмотрения заявок по внедрению. Внедрение технологии CellScan произошло до учреждения системы ОМТ в Казахстане. Тем не менее, оценка качества основного скринингового инструмента для выявления РШМ в республике все же следует выполнить.

К проблеме актуальности республиканской скрининговой технологии можно отнести относительную концептуальную устарелость использования только жидкостной цитологии, в то время как повсеместно доказана ведущая

роль молекулярно-биологических ВПЧ-тестов в раннем выявлении предраковых состояний шейки матки. Наша страна пока не приняла рекомендации ВОЗ, касающиеся первичного ВПЧ-тестирования. Соответственно, ВПЧ-тесты не были включены в перечень ГО БМП и ОСМС, и в имеющихся на сегодня Протоколах диагностики и лечения фоновых заболеваний шейки матки и ВПЧ-ассоциированных заболеваний дальнейший алгоритм действий врача после установления факта инфицированности ВПЧ практически не прописан [81-83]. Возможность внедрения обязательного и бесплатного ВПЧ-тестирования хотя бы для одной декретированной группы женского населения также должна быть проанализирована соответствующими специалистами через механизм ОМТ (НТА).

К сожалению, в сельских местностях республики имеется определенный дефицит специалистов по патологии шейки матки в государственных учреждениях. Несмотря на общедоступность государственной скрининговой программы для всех слоев населения, что само по себе является значительным достижением республиканского здравоохранения, а также практически 100%-ную оснащенность поликлиник областного уровня кольпоскопами, многие пациентки не могут пройти своевременную кольпоскопию с прицельной биопсией шейки матки.

Распространенность РШМ в Казахстане влечет также неотложную необходимость в возобновлении государственной программы первичной профилактики инфекции - всеобщей обязательной вакцинации подростков. Известно, что успешно начавшаяся в Казахстане в 2013 г. программа вакцинации была в дальнейшем свернута, во многом из-за негативного отношения родителей, не готовых к вызовам современного мира [84]. Тем не менее, необходимы дальнейшие усилия по преодолению предрассудков в вопросах первичной профилактики РШМ. Согласно оценкам специалистов, изложенным в пресс-релизе Центра по контролю за заболеваемостью (CDC), в США за 7 лет внедрения вакцинации против рака шейки матки у девочек-подростков (2006-2013) произошло впечатляющее снижение преваленса вакцинных типов ВПЧ на 56% в группе 14-19 лет [85]. Рекомендации по вакцинации разработаны ведущими мировыми институтами рака (ACS, IARC) уже не только для девочек, но и для мальчиков 11-12 лет. Эффективность вакцинации в настоящее время убедительно доказана и уже не подвергается сомнению [86].

Таким образом, несмотря на проведение скрининговых мероприятий, в Казахстане не только сохраняется, но даже нарастает заболеваемость и смертность от РШМ, особенно среди женщин молодого возраста.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ, ПРИМЕНЯВШИЕСЯ В ИССЛЕДОВАНИИ

Исследование предпринято в рамках проводимого университетского НТП «Эпидемиологический анализ вируса папилломы человека в контексте ВПЧ-ассоциированной патологии шейки матки в регионе Западного Казахстана – социальные, клинические и генетические аспекты» (грант 2230/ГФ4, № государственной регистрации 0115РК01224, Договор с КН МОН РК № 179 от 12.02.2015, № 103 от 25.04.2016, № 209 от 03.03.2017).

Работа представляет собой клинико-эпидемиологическое наблюдательное исследование, состоящее из трех компонентов:

- опрос (интервью) + поперечное исследование для женщин из общей популяции;

- опрос (интервью) + исследование «случай-контроль» для женщин с впервые выявленным раком шейки матки.

Опрос (интервью) и поперечное исследование в общей выборке проводились одновременно, в течение одного визита. Сбор данных для интервью + исследование «случай-контроль» у онкологических больных проводился отдельно, также в течение одного визита.

Дизайн и Протокол исследования были одобрены Биоэтической комиссией университета (Протокол № 3 от 09.10.2014). Работа проводилась в соответствии с Контрольным списком обязательных пунктов для наблюдательных исследований STROBE [87]. Бланк информированного согласия был разработан в соответствии с рекомендациями ВОЗ [88] и все участницы, подписавшие форму, были всесторонне проинформированы относительно целей данного анализа.

2.1 Описание методики поперечного исследования

В исследование набирались женщины из общей популяции, проживающие в регионе Западного Казахстана – в городах областного значения, малых городах, пригородах и ближайших районах.

Критерии включения:

- возраст 18-60 лет;
- наличие визуальной патологии шейки матки, пригодной для кольпоскопии (любая степень патологии, включая минимальную);
- резидент Западного Казахстана любой этничности;
- отсутствие вакцинации против РШМ в анамнезе.

Критерии исключения:

- приезжие (не резиденты РК);
 - вакцинированные против РШМ.
- ВИЧ, беременность до 10 недель (срок связан с ограничениями для ЛВС) не являлись критериями исключения.

Расчет выборки (N) для опроса и поперечного исследования.

В определении выборки имели значение следующие моменты:

- согласно нашего пилотного исследования по ВПЧ 2013-2014 гг.[34], N проанализированных данных по генотипированию составил 1098 чел., статистические результаты были валидными ($p \leq 0.043$);

- из республиканских статистических данных по состоянию на 01.01.2014[89] было взято женское городское (столица области и малые города) население 4 областей Западного Казахстана. Были учтены следующие факторы: соотношение мужчин/женщин–48%/52%; доля населения в возрасте от 15 до 65 лет – 71%. Национальный состав: казахи – 66,1%; русские – 21,5%; остальные этносы – 12,4%. В Западном регионе казахи составляли по Актобе–81%; Атырау–91,8%; Мангыстау–89,6%; Уральск–74,3%; остальные этносы - соответственно. В таблице 3 отражены данные по населению для расчета N выборки поперечного исследования по состоянию на 01.01.2014.

Таблица 3 – Данные по населению для расчета N выборки поперечного исследования по состоянию на 01.01.2014

Регионы	Общее население (мужчины/женщины)	Общее население (женщины)	Женское население 18-60 лет	Количество женщин, подлежащих зачислению в исследование (N)
Актобе	-	-	270200	417
Город	428024	222572	145785	-
Мангыстау	-	-	182100	246
Город	184541	95961	59496	-
Атырау	-	-	176700	232
Город	271634	141250	85032	-
Уральск	-	-	201200	257
Город	278086	144604	89800	-
Всего:	-	-	-	1152

Всего N по расчетам в программе SAS.9.3 (two side type I error of $p \leq 0.05$, CI 95%) составил 1152 чел., из них 417 в Актобе, 253 в Уральске, 237 в Атырау и 245 в Мангыстау.

Обследование проводилось на базе лечебных учреждений (поликлиник). С целью включения различных категорий пациентов для достижения максимальной репрезентативности выборки и минимизации возможного смещения (bias), обследование проводилось на базе государственных, страховых и частных медицинских организаций.

В г. Актау сбор материала осуществлялся на базе государственных поликлиник № 1 (РПН - 114000) и № 2 (РПН - 91649), а также областного онкодиспансера, страховой медицинской компании «Интертич», частной клиники «Ча-Кур».

В г. Атырау обследование проводилось на базе государственных поликлиник № 1 (РПН - 57186), № 2 (РПН - 46000) и № 7 (РПН - 35912), а также

областного онкодиспансера, страховой медицинской компании «Интертич», частной клиники «Достар-мед».

В г. Уральске – на базе ГП № 1 (РПН - 70412), № 5 (РПН - 46777), № 6 (РПН - 55704), а также областного онкодиспансера. В городе Аксай на базе страховых клиник «Интертич» и «Медикер».

В г. Актобе - на базе клинко-диагностического отделения Областного перинатального центра, Медицинского центра ЗКГМУ имени М. Оспанова, частной клиники «Мир женщины», в страховой медицинской компании «Интертич».

Рандомизация выборки не проводилась в связи с поставленной целью – выявление преваленса ВПЧ-инфекции в общей популяции женщин Западного региона. Зачисление женщин в исследование проводилось либо в ходе их рутинного визита к гинекологу, или по объявлениям, размещенным в вестибюлях поликлиник, или по приглашению врачей ПМСП.

Алгоритм обследования женщин:

а) Составление социально-поведенческого профиля пациентки путем заполнения специально разработанного опросника, которое проводилось только после подписания бланка информированного согласия (разработан на двух языках, по выбору). Вопросник был разработан в полуструктурированной манере, с вопросами, в основном, закрытого типа, для сбора данных, отражающих роль известных факторов риска в развитии РШМ. Для получения максимально правдивых ответов на время опроса из кабинета удалялись сотрудники клиники, опрашиваемым гарантировалась конфиденциальность предоставляемых сведений. Для мотивации правдивости ответов исследуемым также разрешалось не указывать настоящее имя и проводились уместные консультации (разъяснения) по поводу заполнения наиболее «проблемных» граф – курение, количество сексуальных партнеров, уровень доходов. В таблице 4 приведен образец опросника.

Таблица 4 - Образец опросника

Вопросы	Семантический дифференциал (варианты ответов)
1	2
ФИО:	
Год рождения:	
Адрес, контактный телефон:	
Национальность (этничность):	
Образование:	
Профессия:	не работаю; работаю (профессия)
Среднедушевой доход семьи (на 1 человека) в месяц:	
Общее количество беременностей	

Продолжение таблицы 4

1	2
Наличие в семье родственников, заболевших раком шейки матки:	да; нет
Возраст начала половой жизни:	
Стаж половой жизни (в годах; (независимо от стажа в браке):	
Общее количество сексуальных партнеров в течение жизни (независимо от продолжительности связи):	
Применение методов контрацепции на момент опроса:	не применяю; КОК (противозачаточные таблетки); ВМС (внутриматочная спираль); презервативы; другое (стерилизация, календарный метод, прерванный половой акт)
Отношение к курению (независимо от стажа):	не курю; курю
Посещаемость государственной поликлиники по месту жительства:	посещаю постоянно; посещаю иногда; практически не посещаю, пользуюсь услугами частных врачей
Участие в государственных скрининговых программах:	участвую во всех скринингах; участвую частично; не участвую
Отношение к вакцинации против рака шейки матки:	ничего не знаю о вакцинации; слышала о вакцинации, но не знаю, как относиться; хотела бы пройти вакцинацию от рака шейки матки (одобряю); категорически против вакцинации, считаю ненужной и опасной

Данные для семантического дифференциала по пункту доходов были взяты с сайта Комитета по Статистике Министерства Национальной экономики РК за IV квартал 2014 г (данные по уровню жизни). Величина прожиточного минимума, определяющего черту бедности, равнялась 18546-18774 тенге [90].

б) Забор материала на ПЦР-генотипирование ВПЧ и определение вирусной нагрузки для каждого выявленного генотипа.

Производился уrogenитальным зондом «Юнона» белорусского производства.

Качественное выявление и количественное определение вируса папилломы человека методом ПЦР производилось на тест-системах HPV Квант-21 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) с использованием приборного обеспечения: детектирующего амплификатора ДТ-прайм4-М1, серийный номер А5Д409

ООО «НПО ДНК-Технология», версия программного обеспечения V 7.6. Продукция компании «ДНК-технология» сертифицирована (ISO 13485:2012), зарегистрирована в РК (РК-МТ-7-№013267 от 23.07.2014).

Характеристика амплификатора:

96-луночный, 4х-канальный, позволяющий производить мультиплексный анализ. Амплификатор детектирующий ДТ-прайм4-М1 является специализированным прибором, совмещающим в себе функции прецизионного программируемого термоциклера и оптической системы, позволяющей регистрировать флуоресценцию реакционной смеси в пробирках непосредственно в ходе полимеразной цепной реакции. Прибор позволяет проводить качественный и количественный ПЦР-анализ без стадии электрофореза продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР) в агарозном геле при использовании тест-систем, основанных на принципах флуоресцентной детекции.

Измерение количества накопленного продукта амплификации ПЦР происходит непосредственно во время температурных циклов реакции (real-timePCR). Использование флуоресцентной детекции продуктов ПЦР имеет ряд существенных преимуществ: высокая специфичность детекции; высокая производительность; сокращение времени исследования; проведение детекции в закрытой пробирке, что практически исключает контаминацию; возможность количественной оценки исходной ДНК-матрицы; регистрация и учет данных в электронном формате.

Прибор рассчитан на одновременное исследование 96 образцов, 4 канала измерения флуоресценции позволяют производить следующие типы анализов: качественный, количественный со стандартами, относительный, кривая плавления, анализ полиморфизмов с двумя красками, ГМИ, биоценоз, мультиплексный, HPV.

Характеристика тест-систем:

комплект реагентов HPV Квант-21 (того же производства) предназначен для выявления, типирования и количественного определения ДНК вируса папилломы человека низкого риска (HPV6,11,44) и возможно/потенциально/высокого канцерогенного риска (HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82).

Существенным преимуществом является возможность одновременной реализации качественного и количественного мультиплексного анализа (т.е. в одной пробирке определяется несколько ДНК-мишеней).

Количественное определение ДНК ВПЧ представлено двумя типами анализа: абсолютным и относительным.

При абсолютном типе анализа после прохождения амплификации по показателю индикаторного цикла программно рассчитывается количество копий ДНК вируса в забранном образце.

При относительном типе анализа используется подход нормализации количества ДНК вируса на количество геномной ДНК человека (ВКМ) в данном образце (т.е. на количество клеток в образце), в результате чего

учитывается разброс при взятии клинического материала. Клинически значимая концентрация вируса составляет не менее 10^3 копий ДНК HPV на образец (при корректном взятии материала), что характеризует высокий уровень инфекции и может привести к развитию неоплазии шейки матки.

В данной работе применялся абсолютный тип анализа.

Аналитическая чувствительность тест-системы – более 95%; данные о специфичности не приведены.

Состав комплекта: смесь для амплификации, запечатанная парафином; раствор Taq-полимеразы МАХ; минеральное масло и положительный контрольный образец (K+).

Подготовка и проведение ПЦР:

- промаркировать по одному стрипу со смесями для амплификации для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца (K-) и положительного контрольного образца (K+). Один стрип рассчитан на исследование одного образца;

- добавить в каждую пробирку стрипов, не повреждая слой парафина, по 10мкл раствора Taq-полимеразы МАХ;

- добавить в каждую пробирку стрипов по 1капле минерального масла;

- для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышку только того стрипа, в который будет вноситься данный образец, и закрывать ее перед внесением следующего;

- внести в каждую пробирку стрипов для исследуемых образцов, не повреждая слой парафина, по 5,0мкл выделенного из образцов препарата ДНК;

- установить все стрипы в блок амплификатор-детектирующего ДТ-прайм4-M1;- запустить программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором»;

- при проведении ПЦР загрузить файл «HPV КВАНТ.ini».

Регистрация и учет результатов ПЦР проводится автоматически программным обеспечением для амплификаторов.

Аналитическая чувствительность наборов Квант-21 равна 1000 коп/мл образца. Специфичность: показано отсутствие перекрестных неспецифических реакций для каждой из амплификационных смесей, входящих в состав набора, по отношению к типам HPV, определяемым другими амплификационными смесями, входящими в состав набора.

Для получения препарата ДНК вируса из биологического материала предназначен комплект реагентов ПРОБА-ГС-ПЛЮС. Это коммерческий набор с готовыми реагентами. Метод основан на выделении нуклеиновой кислоты путем лизиса клеток с последующей сорбцией ДНК на носителе. Обеспечивает минимальные потери ДНК в процессе отмывок благодаря оптимизированному составу комплектов лизирующего и промывочных растворов.

Ход определения:

- в пробирки объемом 1,5 внести 170 мкл предварительно ресуспендированного сорбента, добавить 50 мкл подготовленного биоматериала, встряхнуть на вортексе и термостатировать 20минут при 50°С;

- центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 1 минуты;
- не задевая осадок, полностью удалить надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки);
- добавить 200 мкл промывочного раствора №1 и встряхнуть пробирки на вортексе, центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 1 минуты;
- добавить 200 мкл промывочного раствора №2 и повторить отмывку;
- добавить к осадку 100 мкл элюирующего раствора, прогреть пробирки при 50°C в течение 5 минут. Надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, готова к внесению в реакционную смесь для ПЦР-амплификации.

Для выделения ДНК вируса использовались комплекты реагентов ПРОБА-НК-ПЛЮС, того же производства. Тип анализа – абсолютный, т.е., определенное количество копий вируса на образец, измеряемое в геномных эквивалентах (ГЭ) с логарифмическим исчислением. Вирусная нагрузка до 10^3 ГЭ ВПЧ приходящихся на 100000 клеток человека, расценивалась как «малая», от 10^3 до 10^5 ГЭ расценивалась как «средняя», а 10^5 ГЭ и выше – как «высокая», и у обследованных старше 30 лет являлась, по сути, маркером персистенции вируса.

В данной работе предполагалось также проведение эксперимента по выделению ДНК ВПЧ и микробиоты влагалища женщин из остаточной жидкости транспортной среды CellScan, согласно общемировой практике использования транспортных цитологических сред, одобренных FDA [50]. Для выделения ДНК микробиоты влагалища из остаточной жидкости среды CellScan отбирался материал, полученный у женщин с выраженными клиническими проявлениями инфекции, которым производился контрольный забор мазка на ПЦР, исследовавшийся с помощью комплекта реагентов «Фемофлор-скрин». Набор реагентов «Фемофлор-скрин» позволяет провести качественную и количественную оценку биоты влагалища: нормобиоты, аэробной (факультативно-анаэробной) и анаэробной условно-патогенной биоты, мико- и уреоплазм и грибов рода *Candida* в абсолютных и логарифмических показателях.

Характеристика набора реагентов для скринингового исследования микрофлоры урогенитального тракта у женщин методом ПЦР-РВ «Фемофлор-скрин» (регистрационное удостоверение № РК-ИМН-5№014150, производитель ООО «НПО ДНК-Технология», РФ), разрешено к применению на территории РК 04.02.2015:

диагностическая чувствительность исследования с «Фемофлор-скрин» для выявления дисбиотических состояний составляет 88,7%;

специфичность – 89,6%; для бактериального вагиноза достигает 95%.

Специфичность данного набора реагентов подтверждена сиквенсом 16s РНК.

Аналитические характеристики:

в случае исследования биоценозов урогенитального тракта у женщин определяется количество микроорганизмов в транспортной среде, пропорциональное общей обсемененности соответствующего биотопа.

Линейный диапазон составляет:

для уреаплазм $0-10^9$ ГЭ/образец

для общей бакмассы (ОБМ) 10^4-10^{10} ГЭ/образец

для остальных микроорганизмов 10^3-10^{10} ГЭ/образец.

в) Забор материала на цитологическое исследование двумя методами: традиционной и жидкостной цитологии.

Забор материала производился с учетом Инструкции по применению жидкостной цитологии специальными цитобрашами в виалу с транспортной средой. Использовались транспортные среды «CellScan», широко применяющиеся в Республике Казахстан с 2013 г. для проведения скрининга РШМ. Произведены по технологии IMSTAR (Франция) и, по данным производителя, испытаны на репрезентативной выборке в 25000 женщин. Специфичность теста составляет $> 85\%$ и чувствительность $> 90\%$. Данные взяты с сайта (www.imstar.fr). Промышленное внедрение и выпуск осуществляются компанией LTD “Tech Bio Co.”, South Korea. По инструкции производителя транспортной среды SurePath®, а также большинства аналогичных сред, одобренных FDA, допускается хранение виал с биоматериалом на срок до шести месяцев при охлажденных температурах (от $+2^{\circ}\text{C}$ до $+10^{\circ}\text{C}$) или до 4 недель (ThinPrep, Hologic, USA – до 6 недель) при комнатной температуре ($+15^{\circ}$ до $+30^{\circ}\text{C}$), а также их можно хранить и транспортировать в течение 30 суток до производства анализа при температуре от $+2^{\circ}$ до $+30^{\circ}\text{C}$ [50]. Поиск работ в мировой научной периодике, посвященных исследованиям транспортной среды CellScan, включая методики экстракции ДНК ВПЧ из этой среды и ее химический состав, не привел к результатам. Поэтому в данном исследовании виалы хранились при температуре $+2+8$ по Цельсию различные сроки, от 4-ех до максимум 12 недель, как указано в Инструкциях одобренных FDA транспортных сред.

Забор материала по традиционному методу (окраска азур-эозином по Романовскому-Гимзе) осуществлялся на предметное стекло с использованием цитощетки «Юнона» (эндоцервикс) и шпателя Айре (эктоцервикс).

Интерпретацию полученного разными методами материала производили по терминологической системе TBS, 2001 (Bethesda system), согласно действующего в РК «Руководства по проведению скрининга целевых групп женского населения...» и соответствующих методических рекомендаций, разработанных ведущими казахстанскими специалистами на основе экспертных оценок ВОЗ [91]. Интерпретация полученных результатов приведена в таблице 5.

Таблица 5 - Сопоставление полученных цитологических результатов

В базе данных:	Жидкостный метод (интерпретация по TBS, 2001)	Традиционный метод (обычная интерпретация)
0	В – нет материала, неудовлетворительный для оценки	Нет материала, неудовлетворительный для оценки
1	АС – норма	Норма
2	D – патологическая микрофлора	Воспаление, признаки инфекции
3	Е – реактивные изменения, характерные для метаплазии	Плоскоклеточная метаплазия эпителия (ПКМ), Резервно-клеточная гиперплазия (РКГ)
4	F1 (ASCUS) – сквамозные атипические клетки неопределенного значения, нельзя исключить ASC-H	ПКМ с легкой атипией, выраженной атипией
5	F2 - (LSIL, включая CIN-I)	Легкая дисплазия (выявление атипических изменений, койлоцитоз, CIN-I)
6	F3 - (HSIL, включая CIN-II, CIN-III, CIS – cancer in situ)	Умеренная или тяжелая дисплазия (CIN-II, CIN-III, CIS – cancer in situ)
7	F4 – плоскоклеточный рак	Cancer – плоскоклеточный
8	G1 – доброкачественные железистые клетки у женщин старше 40 лет	Пролиферация железистого эпителия (ПЖЭ) без атипии у женщин старше 40 лет
9	G2, AGC – атипические клетки железистые, неопределенного значения; AGC - NOC (не интерпретируемые иначе)	Пролиферация железистого эпителия (ПЖЭ) с атипией, выраженной атипией
10	G3 (AGC – аденокарцинома in situ)	Аденокарцинома in situ
11	G4 – аденокарцинома	Аденокарцинома

г) Проведение кольпоскопии и занесение полученных сведений в базу данных.

Расширенная кольпоскопия проводилась после забора мазков из цервикального канала, по стандартной методике с применением 4%-ного раствора уксусной кислоты и 3%-ного водного раствора Люголя. В оценке кольпоскопических изменений была использована качественная классификация кольпоскопических картин по Coppleson-Pixley (1971), по-прежнему актуальная среди специалистов, а также балльная система по Reid [92]. Кроме того, использована современная классификация кольпоскопических картин, принятая на XIV Всемирном Конгрессе по кольпоскопии и патологии шейки матки в Бразилии (Рио-де-Жанейро) в июле 2011 г. [93]. Кольпоскопические осмотры выборочно сопровождалась забором материала (биопсия ткани шейки матки) при подозрении на CIN. Параметры оценки кольпоскопических изменений приведены в таблице 6.

Таблица 6 – Оценка кольпоскопических изменений шейки матки

Степень изменений / описание	Coppleson-Pixley	Баллы поReid	Интерпретация видимых кольпоскопических изменений
Степень изменений:	1-я степень: «неподозрительно и незначительно»:	0-2	1 – нормальная зона трансформации (завершенная и незавершенная)
Описание:	подозрение на метаплазию, ВПЧ, до CIN I; эпителий плоский, беловатый полупрозрачный с тонкокалиброванными сосудами, приблизительно одинаковыми и одинаковой межкапиллярной дистанцией. Края диффузные. Реакция на раствор уксусной кислоты медленная, атипичных сосудов нет. Дифференцировать метаплазию от CIN I может быть затруднительно.		ЭкЦЭ, метаплазия МПЭ, ОПЖ, ЗПЖ, типичные сосуды, допускается гиперваскуляризация при нормальной трансформации сосудов, нечетко очерченные границы ЗТ, нет атипичных элементов: мозаики, пунктации, лейкоплакии. Допускается наличие небольшого количества ороговевших ОПЖ.
Степень изменений:	2-я степень: «подозрительно и значительно»:	3-5	2 – признаки «ВПЧ-носительства»
Описание:	подозрение на CIN II—III; эпителий остается плоским, однако более выражена реакция на уксусную кислоту, более белый цвет, реакция быстрая и длится несколько минут, капилляры уже большего диаметра с увеличивающейся межкапиллярной дистанцией. Края четкие. Очевидных выраженных атипичных сосудов нет.		Типичные признаки плоской кондиломы, «жемчужность» АБЭ, четкая граница поражения, нежная мозаика и/или пунктация, нормальные и/или сомнительные сосуды.
Степень изменений:	3-я степень: «крайне подозрительно и очень значительно»:	6-8	3 – атипичная зона трансформации, включая высокоатипическую
Описание:	подозрение на CIN III или раннюю инвазию; эпителий интенсивно ацетобелый сероватого оттенка с резкими краями, сосуды расширены и нерегулярны, межкапиллярная дистанция переменна, более 300 мкм, определяются атипичные сосуды. Поверхность может иметь плюс-и минус-ткань, рельеф неровный, может совпадать или не совпадать по краям с атипичными сосудами.		3 – атипичная зона трансформации: относительно большая зона поражения с четкими или нечеткими контурами, сомнительные сосуды, наличие нерезко выраженных очагов лейкоплакии, много ОПЖ с гиперкератозом, наличие относительно нежной мозаики и/или пунктации, резкая ацетоуксусная проба, интенсивная проба Шиллера; высокоатипическая зона трансформации: независимо от объема зоны поражения четкая граница АБЭ, АБЭ плотный до лейкоплакии, мозаика и/или пунктация грубые, есть бугристость или изъязвления, резкая кровоточивость ЗТ, гипертрофированные атипичные сосуды в виде штопора, запятой, или бесформенные, в виде бревна.

2.2 Описание методики исследования «случай РШМ - контроль»

Для исследования «случай-контроль» отбирались все согласные на участие в исследовании женщины с впервые установленным диагнозом «рак шейки матки». Рандомизация не проводилась.

Критерии включения:

- любой возраст;
- любая стадия процесса;
- гистологическая верификация диагноза.

Критерии исключения: не резиденты Западного региона РК; наличие предварительного лечебного вмешательства – лучевая терапия, начало химиотерапии, оперативное лечение.

Дизайн исследования также предполагал проведение опроса для выявления роли основных факторов риска РШМ, аналогичный забор материала на ПЦР-типирование ВПЧ и на цитологическое исследование методами ЛВС и традиционным (по Романовскому-Гимзе). При запущенных стадиях РШМ кольпоскопия не производилась.

Расчет выборки (N) для исследования «случай РШМ-контроль».

При расчете объема выборки за исходные данные были взяты количество взрослого (18+) женского населения республики и уровень заболеваемости РШМ в Казахстане, равный 4,8% (данные Комитета по статистике РК [5, 89]). Расчет объема выборки производился по формуле:

$$N = \frac{p \times q \times Z_{\alpha}^2 \times N}{\Delta^2 \times N + p \times q \times Z_{\alpha}^2} \quad (1)$$

где

$Z_{\alpha} = 1,96$ - критические значения нормального стандартного распределения для заданного $\alpha = 0,05$;

N – численность женского населения республики (6700000);

$p = 0,048$ – распространенность рака шейки матки;

$q = 1 - p = 0,952$;

$\Delta = 0,05$ – ошибка выборки.

Согласно расчетам, объем выборки должен составлять 64-67 человек в каждой группе (случай-контроль). С учетом возможных потерь среди участников расчетный объем может быть увеличен до 80 чел.

2.3 Описание методов статистического анализа, применяемых в настоящей работе

На этапе выяснения типа необходимых для анализа статистических тестов – параметрических или непараметрических – выполнена проверка нормальности распределения признаков в исследуемых выборках. Операционные тесты в данной работе применяются, в основном, непараметрические. Используемые в работе методы статистического анализа

с показаниями для их применения и программное обеспечение сведены в таблицу 7.

Таблица 7 – Используемые в исследовании методы статистического анализа

Показания к применению статистических методов	Статистические тесты / методы	Программы
Анализ внутренней согласованности теста (опросника) с целью валидации	Cronbach's alpha	Statistica.10 (Dell software, USA); SPSS Modeler
Анализ качественных переменных для выявления распределения признаков в основной и контрольной группах (инфицированные ВПЧ / неинфицированные) и выявления связей	Анализ таблиц сопряженности по χ^2 Пирсона	Statistica.10 (Dell software, USA)
Выявление значимости исследуемых факторов риска в реализации РШМ (качественные переменные)	Логистическая регрессия с расчетом отношения шансов	SPSS Modeler
Анализ ранжируемых количественных переменных в независимых выборках (количество беременностей, количество сексуальных партнеров и т.д.) для выявления различий между выборками	Тест Манна-Уитни	Statistica.10 (Dell software, USA)
Анализ взаимосвязи ранжируемых (ординальных) и количественных признаков (корреляционный анализ)	Ранговая корреляция Спирмена	Statistica.10 (Dell software, USA)
Оценка диагностических инструментов (тестов) через независимый экспертный параметр («золотой стандарт»)	ROC-анализ с построением кривой; Каппа-статистика (Cohen's κ)	www.medcalc.be
Эпидемиологический прогноз и тренды заболеваемости РШМ	Линейный регрессионный анализ	Excel

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Описательная статистика. Социально-поведенческие параметры обследованного населения

В поперечном исследовании приняли участие 1107 пациенток в возрасте 18-63 года по 4 областям Западного региона РК. Процедура обследования начиналась с опроса, включавшего в себя демографические сведения: возраст, этничность, образование, род занятий и уровень семейных доходов тестируемых женщин (см. таблицу 4). Сюда же можно отнести вопросы относительно количества беременностей и наличия в семье заболевших РШМ. Условная вторая часть опросника касалась поведенческих и социальных привычек: отношение к курению, количество сексуальных партнеров в течение жизни, используемый в настоящее время метод контрацепции и т.д. Сюда же относятся вопросы о посещаемости госполиклиники, скрининговых мероприятий и об отношении к вакцинации против РШМ. Эта часть состояла из вопросов, в основном, закрытого типа, то есть необходимо было выбрать вариант ответа.

В целях валидации разработанный для исследования опросник был подвергнут статистическому анализу внутренней согласованности вопросов с определением альфы Кронбаха. Такого рода анализ выполняется для проверки его понимания, или «усвояемости», опрашиваемыми. Чем выше внутренняя согласованность пунктов опросника, тем в целом легче он воспринимается интервьюируемыми. Другой метод валидации, а именно предварительное тестирование опросника в фокус-группах, не производился. Расчет альфы Кронбаха проводится по формуле:

$$\alpha = N * r / (1 + r * (N - 1)), \quad (2)$$

где N – количество пунктов опроса,
r – средний коэффициент корреляции между компонентами (общая позиционная корреляция).

Результаты проверки внутренней согласованности пунктов опросника приведены в таблице 8.

Таблица 8 – Результаты вычисления альфы Кронбаха для пунктов опросника, используемого в настоящем исследовании

Переменная	Итог для шкалы: среднее=21,2652 Стд. откл.=4,07863 N набл.:1107 Альфа Кронбаха: 0,452699 Стандартизованная альфа: 0,525177 Средняя межпозиционная корреляция: -0,080197				
	Среднее при удалении	Дисперсия при удалении	Ст. откл. при удалении	Общая позиционная корреляция	Альфа при удалении
Var (age)	19,25701	14,37014	3,790797	0,171210	0,430272
Var (race)	20,10860	15,99907	3,999883	0,148982	0,441428
Var (education)	19,12036	13,62262	3,690883	0,351550	0,376869
Var (occupation)	18,75113	11,86657	3,444789	0,370232	0,346615
Var (income)	19,46063	13,94257	3,733975	0,374762	0,378943
Var(N of grav)	18,84072	16,06151	4,007681	0,018588	0,464434
Var(hereditary)	21,21448	16,43816	4,054400	0,075294	0,451611
Var (sexlife)	19,50860	14,58658	3,819238	0,227343	0,415536
Var(partners)	19,84072	14,96649	3,868654	0,263014	0,414043
Var (contracept)	19,75566	14,83622	3,851782	-0,064162	0,568096
Var (smoke)	21,15747	16,13629	4,017000	0,155715	0,443014
Var(vizit)	19,54027	14,69725	3,833699	0,281290	0,407147
Var(screening)	19,23891	15,79450	3,974230	0,015578	0,471991
Var (vaccination awareness)	20,65249	15,75797	3,969631	0,161580	0,437350

Интерпретация результатов альфы Кронбаха следующая:
от 0 до 0,5 – недостаточная (имеется в виду внутренняя согласованность между пунктами опросника);

0,5-0,6 – плохая;

0,6-0,7 – сомнительная;

0,7-0,8 – достаточная;

0,8-0,9 – хорошая;

0,9-1,0 – очень хорошая.

В таблице 8 пункт «переменная «var (contracept)» выбивается из общего ряда из-за отрицательной r (общей позиционной корреляции -0,06). При его удалении средняя для шкалы падает с 21,26 до 19,75, а общая альфа Кронбаха возрастает с 0,52 (плохая) до 0,57 (почти «сомнительная»). Результаты анализа при удалении этого пункта приведены в таблице 9.

Таблица 9 – Результаты показателя альфы Кронбаха при удалении диссоциирующего пункта опросника

Переменная	Итог для шкалы: среднее=19,7543 Стд. откл.=3,85041 Nнабл.:1107 Альфа Кронбаха: 0,567090 Стандартизованная альфа: 0,558369 Средняя межпозиционная корреляция: -0,096674				
	Среднее при удалении	Дисперсия при удалении	Ст.откл. при удалении	Общая позиционная корреляция	Альфа при удалении
Var (age)	17,74345	12,09136	3,477264	0,254605	0,541922
Var (race)	18,59711	14,22431	3,771513	0,146472	0,561391
Var (educ)	17,61066	11,88364	3,447266	0,364908	0,511785
Var (occupation)	17,24210	10,09857	3,177825	0,396442	0,497283
Var (income)	17,95032	12,04360	3,470389	0,420856	0,502972
Var13 (N of grav)	17,32882	14,24418	3,774147	0,021628	0,585372
Var12 (hereditary)	19,70370	14,61682	3,823195	0,087969	0,567689
Var (sexlife)	17,99639	12,46611	3,530738	0,301034	0,529433
Var (partners)	18,32972	13,11712	3,621757	0,290278	0,536063
Var (smoke)	19,64679	14,33685	3,786404	0,161773	0,561118
Var (vizit)	18,03071	12,92408	3,595008	0,292777	0,533949
Var (screen)	17,72990	13,96228	3,736613	0,020295	0,595756
Var (vaccination awareness)	19,14182	13,98440	3,739573	0,162059	0,558797

Такой результат свидетельствует о том, что вопрос о способах контрацепции диссоциирует с остальными пунктами и нарушает внутреннюю согласованность опросника. Предположительно, этот вопрос представлял определенное неудобство для опрашиваемых, затруднявших его интерпретировать. При его удалении альфа возрастает, а при удалении остальных пунктов альфа падает (см. крайний правый ряд таблиц 8 и 9).

Следует отметить, что при оценке конкретных результатов опроса полагаться на показатель альфы Кронбаха нецелесообразно. На достоверность ответов опрошенных альфа Кронбаха не влияет. Этот показатель очень сильно зависит от количества пунктов в опросе – чем их больше, тем выше показатель альфы. То есть, путем наращивания уточняющих вопросов можно добиться более высокого порога альфы и повысить внутреннюю согласованность опросника, или его «усвояемость» для интервьюируемых. В нашем опроснике было всего 14 вопросов, касающихся практически всех факторов риска развития РШМ, указанных ВОЗ, а также используемых во всех успешно согласованных опросниках в рамках темы [94, 95]. В целом, такая конструкция опросника не обременяла участниц и отвечала поставленным целям исследования (выявить влияние потенциальных факторов риска развития РШМ в регионе и отношении исследуемых к государственным мерам профилактики).

Учитывая, что такое комплексное исследование в регионе проводится впервые, а его участницы относятся к различным возрастным и социальным группам, то есть значительно различаются по уровню образования и уровню жизни, было решено не модифицировать опросник по ходу исследования в сторону утяжеления с целью повышения показателя альфы Кронбаха [96].

Свод социодемографических параметров обследованного женского населения региона в разрезе областей с включением данных описательной статистики (среднее, медиана) представлен в таблице 10.

Таблица 10 – Социодемографические параметры обследованных в разрезе областей с включением описательной статистики

Социальные показатели обследованного населения	Детализация вариантов ответов	Мангыстау	Актобе	Атырау	Уральск	По региону	Примечания
1	2	3	4	5	6	7	8
N обследованных		249	352	242	264	1107	
Возрастные категории	18-29 лет	35,3	43,7	40,5	29,2	37,7%	
	30-39 лет	36,1	32,4	29,7	38,3	34,0%	
	40-49 лет	20,1	16,2	16,1	19,3	17,8%	
	50-63 года	8,4	7,7	13,6	13,2	10,5%	
Средний возраст обследованных		34,6±9,4	33,1±9,7	34,6±10,5	35,8±9,9	34,5±9,9 (16,0 – 63,0)	М 33,0 (27,0-41,0 по 25/75 квартили)
Этничность	Азиатская	84,3	87,8	88,0	80,7	85,3%	Представительницы тюркоязычных народов
	Европейская	12,0	11,6	11,6	19,3	13,6%	Представительницы славянских диаспор, немки
	Другая (кавказская)	3,6	0,6	0,4	0,0	1,1%	Азербайджанки, дагестанки и пр.
Уровень образования	Среднее	28,9	36,6	28,1	29,5	31,4%	
	Среднее спец.	23,7	21,9	24,8	22,0	22,9%	
	Высшее	47,4	41,5	47,1	48,5	45,7%	
N обследованных		249	352	242	264	1107	
Занятость	Неработающие	29,7	46,9	28,5	24,2	33,6%	Безработные, домохозяйки, пенсионерки
	Заняты низко-квалифицированным трудом	14,5	13,1	11,2	15,9	13,7%	Санитарки, продавцы, киоскеры, вахтеры, технички и пр.
	Представители рядового звена	23,7	15,3	27,7	18,6	20,7%	Кассиры, средний мед-персонал, самозанятые (мелкий бизнес)

Продолжение таблицы 10

1	2	3	4	5	6	7	8
	Занятыевысококвалифицированным трудом	32,1	24,7	32,6	41,3	32,0%	Врачи, юристы, преподаватели, госслужащие, управленцы, представители среднего бизнеса
Подушевой доход вмесяц (incomerercapita)	От менее 18,5 тыс. в месяц до 36 тыс. тенге на душу	32,5	58,0	26,0	36,4	40,1%	Живущие за чертой бедности (доход ниже прожиточного минимума) + имеющие доход едва превышающий прожиточный минимум (бедные)
	От 36 до 90 тыс. на душу	42,5	27,5	48,5	41,6	39,4%	Относительно благополучная категория
	От 90 до 180 тыс. и выше на душу	42,5	14,5	25,6	22,0	20,5%	Категория относительно обеспеченных и состоятельных
N обследованных		249	352	242	264	1107	
Общее количество беременностей	Не было	6,0	13,9	12,4	9,1	10,7%	Имеются в виду роды, аборты, внематочные беременности
	От 1 до 3	33,3	34,4	33,9	43,2	36,1%	
	3 и более	60,7	51,7	53,7	47,7	53,2%	
Среднее количество беременностей в анамнезе*		3,4±2,3	2,8±1,9	3,1±2,4	2,9±2,2	3,0±2,2 (0-16,0)	М 3,0 (2,8-4,4 по 25/75 квартили)
Наследственный фактор: наличие близких родственников с РШМ	Есть (или были) близкие с РШМ	6,0	4,5	5,0	5,0	5,1%	
	Нет (не было) близких с РШМ	94,0	95,5	95,0	95,0	94,9%	
Возраст начала половой жизни*		21,1±4,3	20,6±2,9	20,9±3,4	20,5±3,0	20,8±3,4 (13,0-45,0)	М 20,0 (18,0-22,0 по 25/75 квартили)

Продолжение таблицы 10

1	2	3	4	5	6	7	8
Стаж сексуальной жизни	От 0 до 10 лет	45,4	54,8	48,4	37,5	47,2%	Независимо от стажа в браке
	От 11 до 20 лет	35,7	23,6	28,5	34,1	29,9%	
	Свыше 20 лет	18,9	21,6	23,1	28,4	22,9%	
Средний стаж сексуальной жизни		13,5±8,9	12,5±9,2	13,7±9,6	14,9±9,0	13,5±9,2 (1,0-45,0)	М 12,0 (6,0-20,0 по 25/75 квартили)
Количество сексуальных партнеров в течение жизни	1 партнер	69,9	71,9	59,9	54,6	64,7%	Независимо от продолжительности отношений
	от 2 до 5 партнеров	25,3	23,0	31,0	35,2	28,2%	
	от 6 партнеров и выше	4,8	5,1	9,1	10,2	7,1%	
Среднее количество сексуальных партнеров в течение жизни		1,9±2,2	1,9±2,2	2,5±3,2	2,7±3,6	2,2±2,9 (1,0-30,0)	(1,9;2,7 CI 95%)
N обследованных		249	352	242	264	1107	
Применение методов контрацепции на момент опроса*:	Не применяет	42,2	41,5	63,6	49,2	43,8%	Учитывалась только возрастная категория ≤ 49 лет
	КОК* (противозачаточные таблетки)	4,4	4,0	3,7	6,1	4,8%	
	ВМС (внутриматочная спираль)	7,2	13,9	5,0	16,0	12,4%	
	Презервативы	16,1	28,9	12,8	23,7	23,0%	
	Другое (стерилизация, календарный метод, Coitus interruptus)	30,1	14,8	14,9	5,0	16,1%	
Отношение к курению*	Курят*	11,6	6,3	18,6	8,7	10,8%	Независимо от стажа курения
	Не курят	88,4	93,7	81,4	91,3	89,2%	

Продолжение таблицы 10

1	2	3	4	5	6	7	8
Посещаемость государственной поликлиники по месту жительства	Посещает постоянно	36,9	40,6	35,5	48,9	40,7%	
	Посещает иногда, нерегулярно	48,6	46,3	52,1	39,0	46,3%	
	Не посещает, только частные медучреждения	14,5	13,1	12,4	12,1	13,0%	
N обследованных		249	352	242	264	1107	
Участие в государственной скрининговой программе по РШМ	Постоянно участвует	32,5	37,2	26,9	41,3	34,7%	Возрастная категория до 30 лет не учитывалась, как не подлежащая скринингу
	Участвует нерегулярно	29,7	25,6	27,7	29,2	28,0%	
	Не участвует - игнорирует, т. к. обследуется в частной клинике	37,8	37,2	45,4	29,5	37,3%	
Осведомленность о вакцинации против РШМ	Ничего не знает о вакцинации	43,7	40,6	36,4	33,7	38,8%	
	Слышала о вакцинации, но не знает, как относиться	31,0	37,5	33,9	30,7	33,6%	
	Приветствует вакцинацию от РШМ	18,5	18,8	25,6	30,3	22,9%	
	Настроена против вакцинации (считает ненужной и опасной)	6,8	3,1	4,1	5,3	4,7%	
*звездочкой помечены социальные параметры обследованных, по которым имеются общереспубликанские данные из других источников							

К вопросу о градациях опрошенных по пункту подушевого дохода в месяц: было выделено всего 3 градации - от менее 18,5 тыс. в месяц до 36 тыс. тенге на душу; от 36 до 90 тыс. на душу; от 90 тыс. и выше (категория обеспеченных и состоятельных). Как упоминалось [90], на конец 2014 г. прожиточный минимум составил 18546-18774 тенге, или приблизительно 100 долларов США по курсу. Определение размеров подушевого дохода для каждой градации в данном опроснике (бедные; относительно благополучные; обеспеченные / состоятельные) производилось на основании статистических публикаций об уровне жизни, формируемых по итогам выборочного обследования домашних хозяйств и размещенных на сайте Агентства по статистике РК. Имела значение следующая информация:

- среднедушевой доход 3 и 4 квинтиля (имеется в виду обследованное население РК, условно поделенное на квинтили по уровню доходов), превосходя величину прожиточного минимума в 1,5-1,9 раза, говорит о том, что фактически 80% населения республики имеют доходы, не превышающие двукратной величины прожиточного минимума [97, 98];

- согласно сообщению Агентства РК по статистике, к апрелю 2014 года среднедушевые номинальные денежные доходы населения Казахстана, по предварительным данным, составили в среднем, 60,242 тыс. тенге;

- процессы расслоения общества по уровню дохода и величина экономического неравенства населения, определяемая с помощью специальных коэффициентов дифференциации, характеризующих соотношение доходов наиболее и наименее обеспеченных групп населения, продолжают нарастать [99].

Основываясь на приведенной информации, было решено подушевой доход в пределах двукратной величины прожиточного минимума, равняющийся примерно 36 тыс. тенге, или 200 долларов США, считать порогом относительного благополучия, а доход в 500 долларов США, или порядка 90 тыс. тенге, считать порогом относительной обеспеченности.

Информация по таким параметрам, как возраст сексуального дебюта, количество беременностей, общее количество курящих, количество использующих КОК, была приведена в общереспубликанском масштабе в упомянутом докладе по Казахстану ИСО-Барселонской экспертной группы, мониторирующей вопросы цервикального рака [9] (данные доступны с 23.12.2015 г., перевод на русский язык выполнен автором данной диссертации):

- средний возраст сексуального дебюта среди женщин по РК – 20,7 (в нашем исследовании – 20,8);

- среднее количество беременностей ((total fertility rate, (live births per women)) – 2,7 (в нашем исследовании – 3,0);

- общее количество использующих КОК (oral contraceptives) – 7,1% (в нашем исследовании – 4,8%);

- общее количество курящих женщин – 9,5% (в нашем исследовании – 10,8%).

В другом авторитетном статистическом сборнике [100], выполненном в рамках международного исследования ЮНИСЕФ и консолидировавшем статистические данные РК по многим медико-социальным показателям, указана процентная доля женщин 15-24 лет, в течение последнего года имевших сексуальные контакты с «неофициальным партнером/партнерами» (промискуитет) - 16,6%, а доля курящих женщин в возрасте 15-49 лет –8,4%.

В целом, данные из этих авторитетных источников сопоставимы с полученными в настоящей работе, что указывает на достоверность сведений, предоставленных участницами проведенного интервью.

3.2 Определение общего преваленса ВПЧ-инфекции и вирусной нагрузки в Западном регионе РК

Общий преваленс ВПЧ-инфекции составил 25,0%(22,3;27,7 CI 95%, $p=0,05$) среди обследованных $N=1107$ по региону (всего 277 инфицированных ВПЧ). Выделен топ-5 лидирующих в Западном регионе типов ВПЧ: 16 (26,4%); 31 (10,1%); 51 (9,4%); 52 (9,0%); 6 (7,9%). Из них только тип 6 относится к слабоканцерогенным, остальные – из группы ВКР. Присутствие генотипа 6 в топ-рейтинге имеет значение в связи с его тропностью не только к генитальному эпителию с развитием кондиломатоза аногенитальной области, но и к эпителиальной ткани области головы и шеи с развитием папилломатоза гортани. По данным казахстанских авторов, в последние годы в республике проявляется тенденция к росту инцидента ларингеального рака среди мужчин [101]. Рейтинг типов ВПЧ с указанием процентной доли каждого типа представлен на рисунке 2.

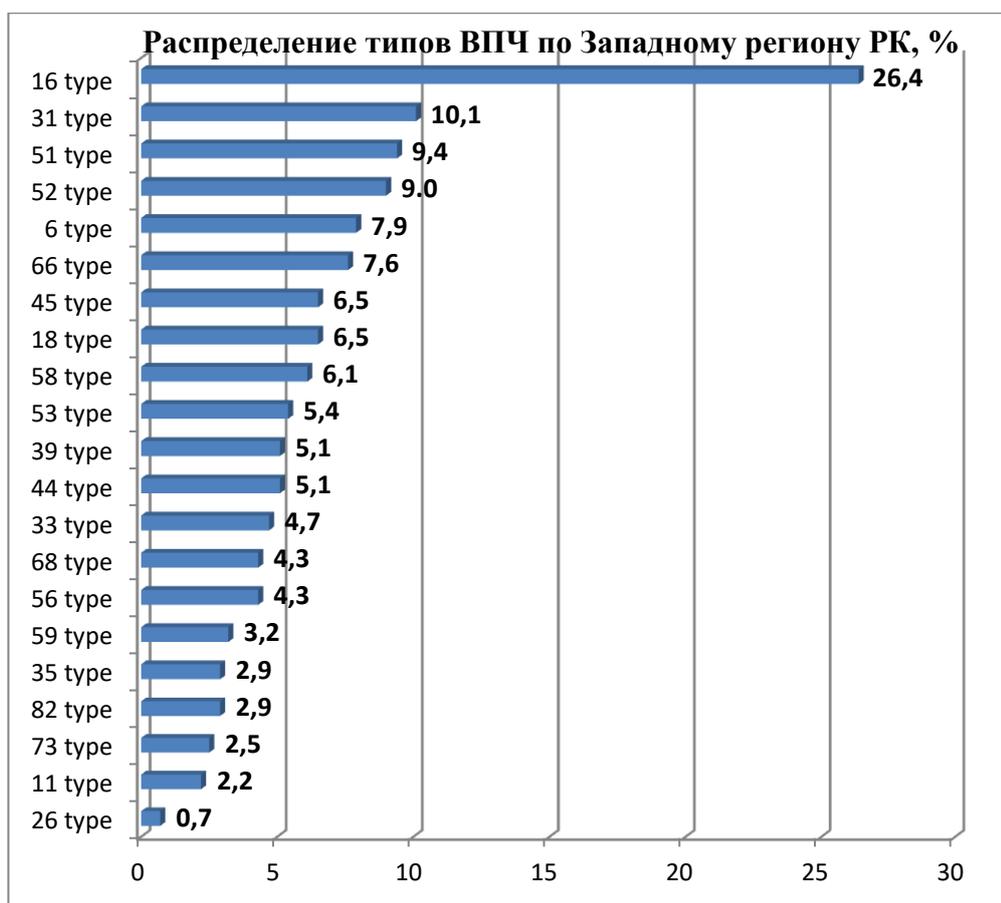


Рисунок 2 – Распределение выявленных типов ВПЧ в регионе

На рисунке 3 для удобства интерпретации данных выполнена разбивка типов ВПЧ групп ВКР и не-ВКР в Западном регионе.

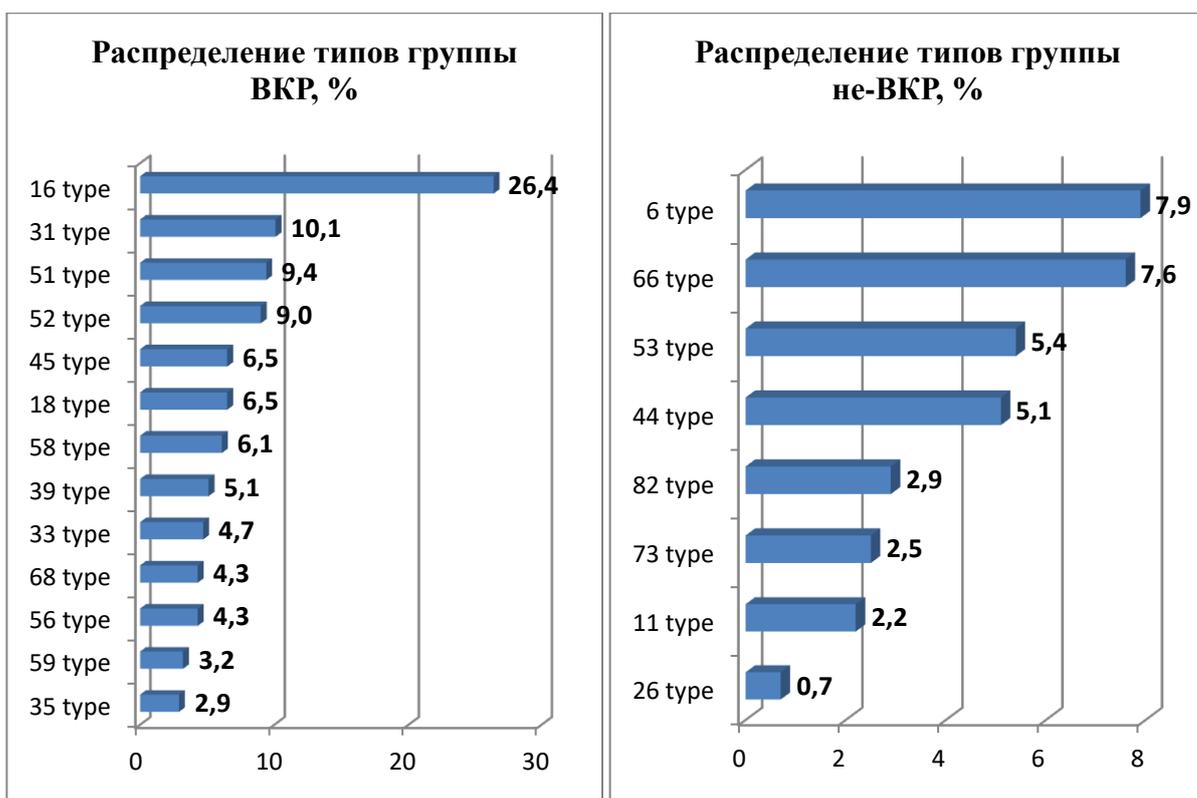


Рисунок 3 –Разбивка типов ВПЧ групп ВКР и не-ВКР в регионе

Из рисунка 3 следует, что в группе ВКР в топ-5 входят также типы 45/18 (по 6,5%). Учитывая, что в исследовании использовались российские тест-системы, определяющие всего 21 тип вируса (13 – ВКР (12 «классических» + 68 тип, в 2012 гг. причисленный к ВКР), 5 – возможно/вероятно канцерогенных (26, 53, 66, 73, 82) и 3 – слабых канцерогена в отношении рака шейки матки (6, 11, 44)), полученные данные свидетельствуют о высокой инфицированности ВПЧ женского населения Западного региона. Для сравнения: в уже упоминавшихся европейских работах указан преваленс ВПЧ в Дании – 20,5%, а в Южной Италии – 29,7% [24, 25], причем исследование проводилось методами DigeneHC-II и INNO-LiраHPV, позволяющими идентифицировать до 40 типов ВПЧ, то есть в 2 раза превышающими возможности тест-системы, использованной в нашей работе.

В целом по региону типами ВПЧ группы ВКР (13 типов) инфицировано 20,3 из 25,0% обследованных.

Одним типом вируса инфицировано 77,3% обследованных; 2-мя типами – 15,5%; 3-мя – 3,3%; 4-мя – 2,5%; 5-ю – 1,1%; 6-ю – 0,4%.

Самое большое количество генотипов, встречающееся у одного индивидуума – до 9, было указано в бразильских источниках [102].

Диаграмма распределения очевидно свидетельствует о безусловном лидерстве в регионе наиболее канцерогенного ВПЧ 16 типа, удельный вес которого составляет более четверти от общего числа выявленных генотипов (26,4%). Согласно общемировым данным, приведенным Schiffmanetal. [12], к числу наиболее частых типов ВПЧ, обуславливающих рак шейки матки,

относятся следующие 8 в порядке убывания: 16, 18, 45, 31, 33, 35, 52, 58. В топ-рейтинге выявленных в Западном регионе типов из них представлено 5 – 16, 31, 52, 18, 45 (практически все). Что характерно, тип 18 занимает в нашем рейтинге 5/6-ое место с удельным весом в 6,5%, а между тем, китайские авторы [27] отмечают быстрый рост преваленса типа 18, ответственного за развитие аденокарциномы в сопредельном Китае (провинция Шенгжень), и прогнозируют ему ведущее место в цервикальном онкогенезе в ближайшие годы. В целом, удельный вес так называемых «вакцинных типов» (6, 11, 16, 18), т.е. потенциально устранимых вакцинацией, составил в Западном Казахстане 43,0%, а с 31 и 45 типами, также потенциально устранимыми вакцинацией – 59,6%.

Известно, что вакцинация является практически единственным профилактическим методом в борьбе с РШМ, доказавшим свою эффективность [103-105]. Согласно работам ученых, исследовавших этот вопрос в масштабных клинических исследованиях, в Австралии, например, после введения иммунизационной программы для девочек-подростков доля ВПЧ 16/18 в цервикальных соскобах уменьшилась до 1,6/0,0 %, а в Британии отмечено, что совокупная доля 16/18 типов ВПЧ после внедрения вакцинации снизилась с 19,1% до 6,5% за несколько лет [10, 106]. ВПЧ ответственны, как упоминалось, за примерно 5% всех человеческих злокачественных опухолей [15], но в отношении женских раков их доля возрастает до 10% [107], и до 16% в странах с низким уровнем доходов населения [108].

В 2013 г., как упоминалось в главе «Введение», в Казахстане начался пилотный проект по вакцинации девочек-подростков 11-12 лет на добровольной основе в 4-ех регионах страны – Астане, Алматы, Атырау, Павлодаре. В 2015 г. должен был быть подключен Мангыстауский регион, но программа была свернута. Отечественные ученые, опубликовавшие обзор по данной теме, в целом высоко отзываются об эффекте вакцинации в общемировом масштабе [84], и указывают на низкую осведомленность о путях заражения ВПЧ и мерах профилактики, как среди детей-подростков, так и среди их родителей. Это положение полностью подтверждается нашими данными (таблица 10): 38,8% участниц исследования ничего не знают о вакцинации, 33,6% слышали, но не могут определить свое отношение, а 4,7% - настроены категорически против, считают ненужной и опасной. Греческие авторы, исследовавшие аналогичные вопросы, очень точно сформулировали суть происходящих вокруг вакцинации процессов: "из-за отсутствия четкого государственного регулирования в процессах назначения вакцин, ландшафт вакцинации формируют такие факторы, как отсутствие знаний, культурные предрассудки и личное отношение" [109].

Как известно, на сегодняшний день существует 3 типа разработанных против РШМ вакцин: Cervarix (GlaxoSmithKline, UK); Gardasil и Gardasil-9 (Merck, USA). Из них Cervarix – бивалентная, обладающая действием против 16 и 18 типов, с перекрестным эффектом против 31 и 45 типов; Gardasil – тетравалентная, против 6, 11, 16 и 18 типов, а Gardasil-9 – нонавалентная,

против 9 типов ВПЧ: 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 и 58 типов. Заключительные испытания нонавалентной вакцины Гардасил-9 завершились 10 декабря 2014 г. [110] и в 2015 г. появились первые публикации, где был высоко оценен потенциальный эффект новой вакцины: «нонавалентная вакцина ВПЧ во Франции показала значимое увеличение потенциального воздействия по сравнению с четырехвалентной вакциной против ВПЧ 6/11/16/18 для инвазивного рака, CIN 2/3 и LSIL. Если предположить 100% эффективность вакцины и высокий уровень охвата прививками, то около 90% инвазивных РШМ, CIN 2/3, генитальных папиллом или случаев заболевания анальным раком можно было бы предотвратить с помощью нонавалентной вакцины во Франции» [111]. Многие исследователи пока скептически относятся к новой вакцине, памятуя золотое правило вакциногенетики – чем больше компонентов, тем ниже эффективность и профиль безопасности. Есть и категорически отрицательные отзывы, предостерегающие от использования Гардасил-9 у детей-подростков [112].

В широком смысле, практически все типы из топ-рейтинга выявленных в Западном Казахстане в рамках настоящей работы (16, 31, 52, 45, 18 и 6) являются так называемыми «вакцинными», то есть, легко устранимыми в популяции при введении всеобщей иммунизационной программы против РШМ.

Исследование соотношения группы ВКР и не-ВКР по возрастным категориям показало, что самый высокий преваленс ВПЧ отмечается в группе 18-29 лет (42,9%), и падает с возрастом, что совпадает с данными практически всех исследователей проблемы [25-27, 113]. На рисунке 4 показано распределение типов ВПЧ по возрастным категориям.

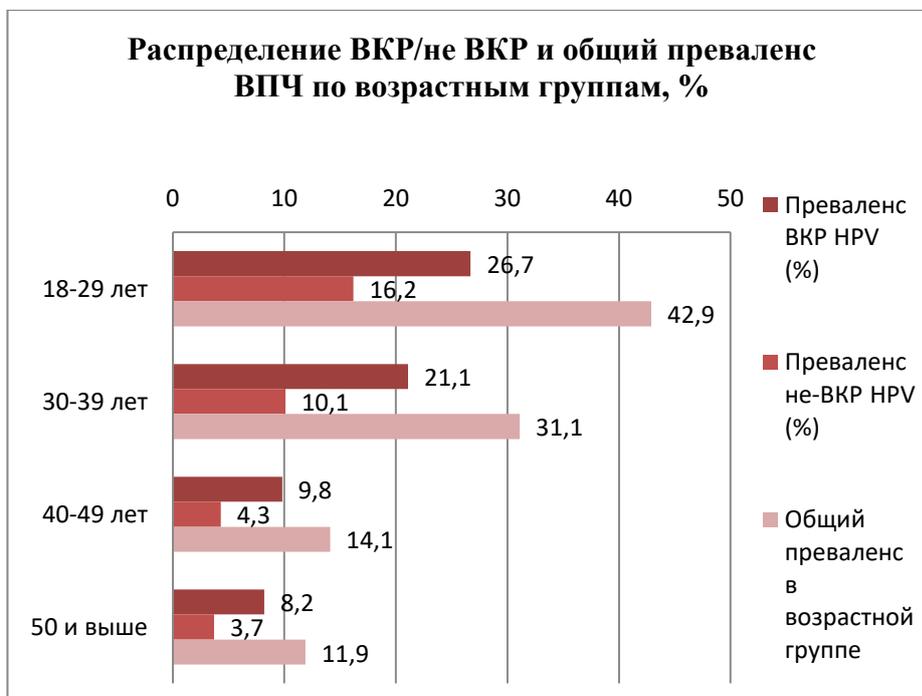


Рисунок 4 – Распределение типов ВКР и не-ВКР по возрастным категориям

65,8% от общего преваенса ВПЧ, или две трети, составляют генотипы группы ВКР (всего 13), которыми инфицировано, как упоминалось, 20,3% из 25,0% носителей ВПЧ-инфекции, тогда как потенциальные/возможные и слабые карциногенные типы (всего 8) составляют 34,2%.

Определена суммарная вирусная нагрузка для каждого случая ВПЧ-носительства (всего 277). Средняя вирусная нагрузка по Западному региону составила $5,5 \pm 3,8$ (СІ 95% 5,1;5,9) с размахом от 0,9 до 22,3, Ме 5,2 (3,1-8,4 по 25/75 квартили), и расценивается как очень высокая для общей популяции (выше $5,0 \cdot 10^3$ ГЭ/образец). Результат представлен в абсолютных цифрах.

Известно, что ВПЧ-инфекция, не являясь диагнозом по МКБ-10, тем не менее, имеет 2 стадии развития: транзиторную, характерную для молодой возрастной категории до 30 лет, с высокой, до 90%, элиминацией инфекции из организма и относительно низкими цифрами вирусной нагрузки, и персистирующую, с частотой примерно 10% и высокой вирусной нагрузкой [36]. Полученные нами данные можно трактовать как свидетельство, что у значительного процента обследованных женщин ВПЧ-инфекция находится в стадии персистенции и представляет большой риск для развития инвазивных форм рака, что согласуется с данными Барселонской ІСО группы, установившей, что в Казахстане 6,82 млн женщин (практически все население фертильного возраста) находятся в группе риска по реализации РШМ [9]. Для углубленного изучения вопроса стадийности выявленных ВПЧ-инфекций необходим другой формат исследования – проспективный когортный, который не предусмотрен рамками данной работы.

Анализ вирусной нагрузки по возрастным группам выявил очень слабую обратную корреляцию ($r = -0,1$, $p < 0,005$). Тем не менее, связь данного показателя и возраста, выявленных ВПЧ-носителей не является линейной. Распределение вирусной нагрузки по возрастным категориям сведено в таблицу 11.

Таблица 11 - Распределение вирусной нагрузки по возрастным группам

Переменная	Итоговые результаты							
	Возрастные группы	Н набл.	Среднее	СІ 95%	СІ 95%	Минимум	Максим.	Ст.откл.
Вирусная нагрузка, 10^3 ГЭ/образец	1 – 18/29 лет	119	5,65	5,01	6,29	1,0	20,8	3,53
	2 – 30/39 лет	86	5,66	4,73	6,59	1,0	22,3	4,33
	3 – 40/49 лет	39	5,61	4,45	6,75	1,0	19,8	3,54
	4 – 50/60 лет	33	4,82	3,61	6,03	0,9	15,9	3,42

Графическая интерпретация динамики вирусной нагрузки в различных возрастных категориях представлена на рисунке 5.

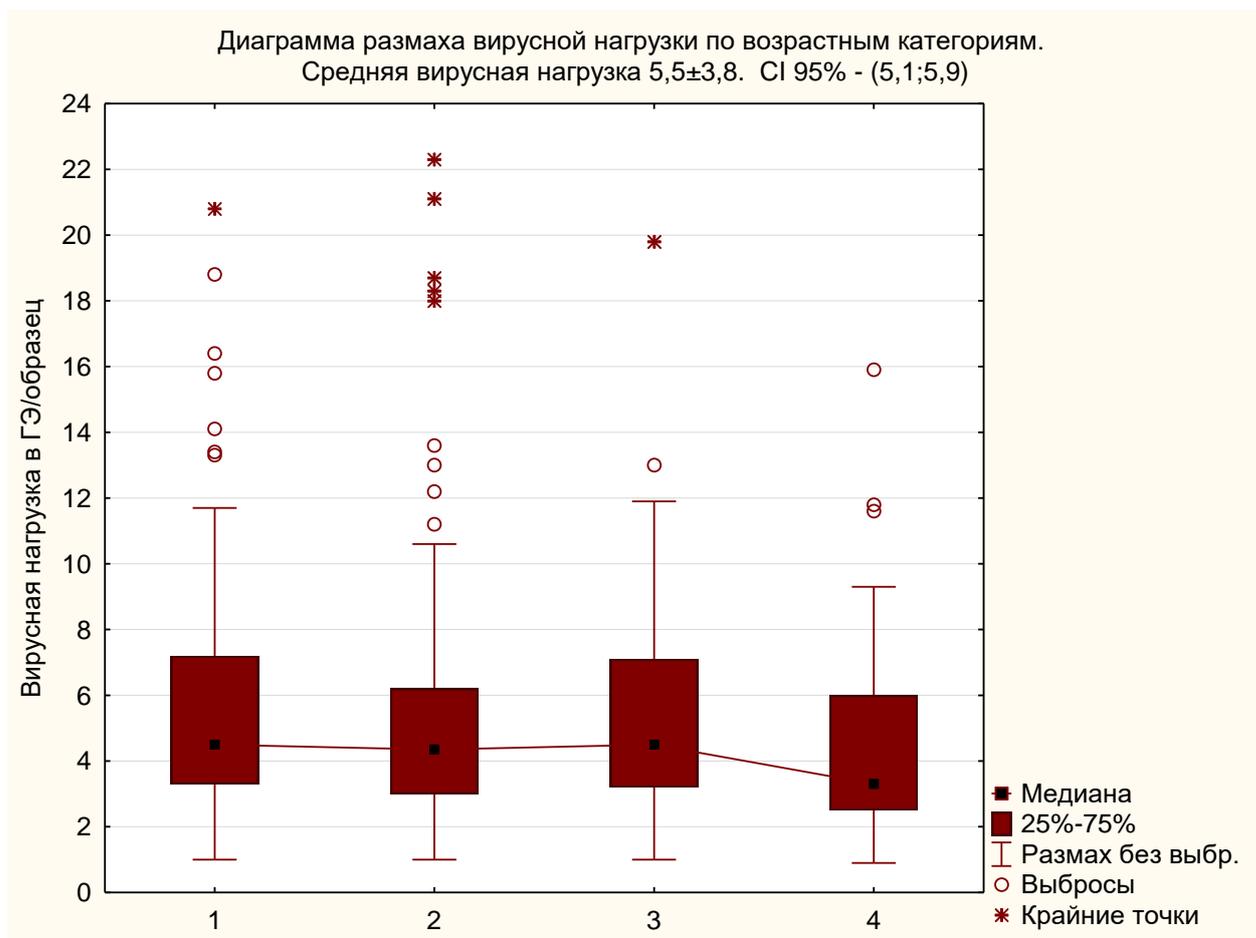


Рисунок 5 – Динамика вирусной нагрузки ВПЧ по возрастным категориям ($p < ,05000$)

Характерна почти полная идентичность результатов в возрастных группах 1-3 (18/29 – 30/39 – 40/49 лет), с последующим уменьшением в группе 4 (50-60 лет), что продемонстрировано на рисунке 5. Наибольшее количество выбросов (аномально высоких значений) зафиксировано в возрастной группе 30-39 лет, когда, согласно общемировым данным, начинается процесс персистенции вируса и развитие CIN.

3.3 Анализ сопряженности социально-поведенческих параметров (факторов риска) с инфицированностью ВПЧ. Корреляционные связи

Проведен анализ сопряженности социально-поведенческих параметров в двух группах населения – инфицированных и неинфицированных ВПЧ, для выявления связи инфицированности с потенциальными факторами риска РШМ. Результаты анализа представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Анализ связи инфицированности ВПЧ с потенциальными факторами риска РШМ

Качественный параметр, или потенциальный фактор риска	Значение достигнутого уровня значимости, p-value ($\leq 0,05$)	Величина Cramer's V-критерия	Максимальный вклад в итоговую статистику, Pierson's χ^2
Возраст	0,062	0,09	-
Этничность	0,78	0,03	-
Образование	0,4	0,05	-
Профессия (занятость)	0,002	0,11	χ^2 – 18,03. Наибольший вклад – 9,1% из 25,0% ВПЧ-носителей – в группе занятых квалиф. трудом
Уровень подушевого дохода	0,00007	0,13	χ^2 – 19,1. Наибольший вклад – группа относительно благополучных, с доходом 36-90000 тенге в мес. на душу, 12,1% из 25,0%
Курение	0,47	0,02	-
Стаж сексуальной жизни	0,062	0,07	-
Количество сексуальных партнеров	<0,00001	0,16	χ^2 – 30,7. Наибольший совокупный вклад – у 2-ух групп – с 1 партнером и от 2 до 5 партнеров – 23,5% из 25,0%
Применение КОК	0,33	Phi-0,00096	-
Посещаемость государственной поликлиники	0,46	0,02	-
Участие в скрининговых программах	0,19	0,05	-
Осведомленность о вакцинации (первичных мерах профилактики)	0,54	0,03	-
Наследственный фактор	0,52	0,02	-
Количество беременностей	<0,00001	0,14	χ^2 – 24,0. 11,2% из 25,0% – вклад категории «3 и > беременностей»

Проведенный анализ позволил обрисовать социальный профиль женщин из группы риска по инфицированию ВПЧ. Это женщины с относительно благополучной финансовой ситуацией (ежемесячный подушевой доход от 36 до

90 тыс. тенге), занятые квалифицированным трудом, имевшие от 1 до 5 сексуальных партнеров и более 3-ех беременностей в анамнезе.

Дальнейший анализ сопряженности проведен с целью выяснения взаимосвязи уровня образования и мер профилактики РШМ, предпринимаемых на государственном уровне. Аналогичный анализ был проведен в группе с отягощенным наследственным анамнезом, т.е. столкнувшихся со случаем РШМ в семье. Результаты изложены в таблице 13.

Таблица 13 – Анализ сопряженности уровня образования и наследственного фактора с мерами профилактики РШМ

Качественные параметры, подлежащие анализу сопряженности	Значение достигнутого уровня значимости, p-value ($\leq 0,05$)	Величина Cramer's V- критерия	Максимальный вклад в итоговую статистику, Pierson's χ^2
Образование / посещение госполиклиники	<0,00001	0,14	$\chi^2 - 23,1$. 35,1% субъектов с высшим образованием вообще не посещают гос. поликлинику.
Образование / посещение скринингов	0,002	0,1	$\chi^2 - 18,09$. 51,3% субъектов с высшим образованием вообще не посещают гос. скрининги.
Образование / отношение к вакцинации	<0,00001	0,18	$\chi^2 - 23,1$. 69,2% субъектов с высшим образованием осведомлены о вакцинации против РШМ.
Родственницы заболевших РШМ / отношение к вакцинации	0,01	Phi-coeff. 0,1	$\chi^2 - 6,0$. 76,8% родственниц заболевших РШМ осведомлены о вакцинации против РШМ.

В общей выборке (таблица 10) только 13% респондентов указали, что вообще не посещают гос. поликлинику по месту жительства, тогда как среди респондентов с высшим образованием этот показатель уже возрос до 35,1%.

Вобщей выборке 37,3% опрошенных вообще не посещают скрининговые мероприятия в поликлиниках, предпочитая либо частнопрактикующих врачей, либо вовсе не проходя осмотры, а среди образованных субъектов этот показатель возрос до 51,3%. Среди опрошенных в общей выборке регулярно посещают государственную поликлинику 40,7% и ответственно относятся к скрининговым мероприятиям всего 34,7% респондентов. В цитированной статье С. Роговской 2013 г. [31], посвященной скрининговым практикам в постсоветских странах, приведена информация М. Каирбаева (ведущий специалист КазНИИОиР) о покрываемости скрининга в Казахстане на 72-75%. В данной работе выявлено, что только 62,7% респондентов (34,7% постоянно и

28,0% иногда) реагируют на вызов из поликлиники с приглашением на скрининговый осмотр.

О вакцинации против РШМ осведомлены 69,2% субъектов с высшим образованием, тогда как в общей выборке этот показатель в сумме составил 56,5% (33,6% слышали, но не могут уточнить свое отношение – одобрительное или отрицательное, 22,9% знают и одобряют). А среди родственниц женщин, заболевших или умерших от РШМ, осведомленность о вакцинации составила 76,8%, т.е. даже выше, чем в прослойке образованных.

В идеале, почти 100% образованных субъектов исследования должны были одобрительно отнестись к государственной иммунизационной программе по РШМ и массовым скринингам. Например, согласно проведенному в Бразилии масштабному опросу (n=54000), была выявлена высокая корреляция между уровнем образованности / уровнем жизни и посещаемостью маммографии и цитологического обследования (РАР-тест) – до 70-80% опрошенных образованных женщин постоянно посещали скрининговые мероприятия – $r=0.52$ и $r=0.66$ соответственно [114]. Вообще, Казахстан относится к группе стран с высоким индексом человеческого развития. По результатам оценки индекса человеческого развития (HDI) 2016 г., наша страна находится на 56-м месте в международном рейтинге, между Белоруссией и Малайзией. Сопредельные государства – Россия и Узбекистан, занимают соответственно, 49 и 105 место [115].

Учитывая довольно высокий индекс человеческого развития страны с большой прослойкой просвещенных женщин, полученные данные позволяют предположить, что государственные меры по первичной (вакцинация) и вторичной (скрининг) профилактике РШМ недостаточны и не отвечают запросам населения, особенно образованной его части. То же касается и ситуации с посещаемостью государственных структур ПМСП.

3.4 Различия инфицированности ВПЧ по областям Западного Казахстана

При обследовании женщин Западного региона РК были выявлены различия в распространенности ВПЧ-инфекции по областям, с размахом от 19,3% в Мангыстау [116] до 29,5% в Уральске [117]. Графически преваленс ВПЧ по областям представлен на рисунке 6.



Рисунок 6 –Распространенность ВПЧ-инфекции по обследованным областям

Для выяснения различий в преваленсе ВПЧ-инфекции была проанализирована общая выборка в разрезе областей. Сводные социодемографические данные с включением описательной статистики были даны в таблице 10. Данные по ВПЧ-инфекции со средней вирусной нагрузкой по областям сведены в таблицу 14.

Таблица 14–Распространенность ВПЧ со средней вирусной нагрузкой в разрезе областей

Параметры	Мангыстау	Актобе	Атырау	Уральск
№ обследованных	249	352	242	264
Общий преваленс ВПЧ, % (CI 95%)	19,3 (14,5;24,2) p=0,049	23,9 (19,7;28,6) p=0,044	28,0 (22,8;34,1) p=0,056	29,5 (24,0;34,9) p=0,054
Средняя вирусная нагрузка	5,9±3,4 (2,0-18,7)	6,4±4,6 (0,9-21,1)	5,4±3,8 (1,0-22,3)	4,5±2,7 (1,0-16,4)
Лидирующие типы ВПЧ по областям в %	16 – 12,8% 18 – 12,8% 31 – 12,8% 51 – 10,6% 33 – 8,5%	16 – 26,3% 31 – 16,7% 51 – 10,3% 52 – 8,9% 18 – 8,0%	16 – 23,5% 31 – 16,2% 66 – 13,2% 45 – 10,3% 6 – 8,9%	16 – 29,6% 6 – 10,3% 52 – 10,3% 58 – 9,0% 39 – 7,7%
Среднее количество типов вируса, выявленных в одном соскобе, %	1 – 72,0% до 4 – 28,0%	1 – 76,5% до 6 – 23,5%	1 – 85,3% до 5 – 14,7%	1 – 80,7% до 3 – 19,3%

Из таблицы 10 следовало, что выборка в разрезе областей неоднородна по некоторым базовым параметрам:

- 29,2% обследованных в возрасте 18-29 лет в Уральске vs. 43,7% в Актобе;
- 3,6% другой (кавказской) этничности в Мангыстау vs. 0% в Уральске;
- 19,3% славянской этничности в Уральске vs. 11,6-12,0% в других областях;
- 46,9% неработающих и домохозяек в Актобе vs. 24,2% в Уральске;
- 42,5% имеющих подушевой доход свыше 90000 в мес. (обеспеченных) в Мангыстау vs. 14,5% в Актобе.

Учитывая, что основной целью исследования являлось выявление распространенности ВПЧ-инфекции в Западном регионе РК, дизайн исследования не предполагал рандомизацию, стратификацию или проведение кластерного анализа.

В целом, выявленные в процессе работы различия этнического, возрастного или имущественного состава обследованных по областям носят традиционный для данных областей характер: уровень заработной платы (но не уровень жизни) в Мангыстау выше, чем в Актобе; процент славянского населения в Уральске или кавказского в Мангыстау также традиционно выше в силу пограничного характера этих областей.

Единственное существенное отличие, которое может объяснить размах инфицирования, заключается в количестве сексуальных партнеров: от $1,9 \pm 2,2$ в Мангыстау и Актобе до $2,7 \pm 3,6$ в Уральске. Именно этот фактор риска, вошедший в социальный профиль инфицированных ВПЧ, в какой-то степени объясняет выявленную разницу в преваленсе ВПЧ по областям.

В процессе исследования в группе инфицированных Мангыстау была установлена достоверная, но слабая связь между этничностью и определенным типом ВПЧ ($p=0,083$, Cramer's V 0.13, вклад в $\chi^2=1,04$), что подтверждает данные пилотного проекта 2014 г., когда была выявлена определенная корреляция между кавказской этничностью и ВПЧ 33 в Актау ($p=0,032$, Cramer's V 0.17). В других областях такой корреляции установлено не было.

Гипотетически выявленные различия могли привести к некоторому смещению общего результата исследования, но есть основания полагать, что они не отразились существенным образом. Согласно результатам упоминавшегося ретроспективного анализа данных ПЦР ВКР-ВПЧ по западным областям [34], послужившего пилотным проектом, был получен статистически достоверный результат 26,04% при $p=0,043$. Поэтому, полученный нами в данной работе процент 25,0% (CI 95% 22,3;27,7, $p=0,05$) среди общей женской популяции логически сопоставим с данными пилотного проекта от 2014 г.

Таким образом, размах в инфицировании ВПЧ в разрезе областей может быть объясним разницей в среднем количестве половых партнеров, то есть поведенческими различиями обследованных. Нет убедительных данных за то, что разница в преваленсе ВПЧ-инфекции по областям объясняется

статистическим смещением за счет отсутствия рандомизации или низкой репрезентативности выборки.

3.5 Сравнительный анализ цитологических инструментов скрининговой программы по РШМ

В 1951 г. Комиссия США по хроническим заболеваниям дала следующее определение скринингу (screening): «Предположительная идентификация нераспознанного заболевания или дефекта путем проведения тестов, обследований или других легко используемых процедур».

Критерии скрининга, наряду с требованиями к скрининговому тесту (инструменту), были предложены Национальным комитетом по скринингу Великобритании (UK National Screening Committee).

Тест должен быть:

-простым в исполнении, безопасным для здоровья пациента, точным и достоверным;

- должно быть известно нормальное распределение полученных в результате проведения теста значений в обследуемой популяции, и установлен приемлемый пороговый уровень значений теста, при котором результат скрининга будет считаться положительным;

- тест должен быть приемлемым для обследуемой популяции[118].

Методами скрининга РШМ в рамках принятой в стране программы являются массовое цитологическое обследование декретированных групп женщин в возрасте 30-60 лет с периодичностью в 5 лет[78, 91]. В дополнение скрининговых мероприятий производится кольпоскопический осмотр по показаниям, в зависимости от результатов цитологического мазка. Кольпоскопия, тем не менее, методом скрининга РШМ не является.

С 2013 г. в РК введена жидкостная цитология на аппаратах CellScan-100 и CellScan-200 с использованием одноименных транспортных сред производства Южной Кореи. Метод окраски мазков в аппаратах жидкостной цитологии – PAP-тест (гематоксилин-эозин). «Опportunистический скрининг» выполняется традиционным методом с окраской стеклопрепарата по Романовскому-Гимзе (азур-эозином), и в основном практикуется в частных клиниках, а с 2016 г. этот метод по настоянию цитологов республики стал применяться для дублирования заключений и в государственных клиниках, в связи с очевидной недостаточной эффективностью CellScan в качестве скринингового инструмента.

Окраска по Папаниколау (гематоксилином-эозином) является мировым стандартом в скрининге рака шейки матки, и используется также для выявления предраковых и фоновых заболеваний [59, 119]. Метод окрашивания по Папаниколау считается наилучшим для гинекологических мазков, так как он полихромный и позволяет оценить степень созревания цитоплазмы (от синезеленого цвета в незрелых клетках до розового в зрелых клетках и оранжевого в клетках с ороговением). Благодаря влажной фиксации хорошо сохраняются ядра, клеточная мембрана и структура хроматина. Преимуществом метода является четкое прокрашивание ядер, вследствие чего хорошо

просматриваются структуры хроматина, а также бактериальная флора и простейшие. При окраске азур-эозиновыми красителями (методика Романовского-Гимзе) так же четко проявляются детали цитоплазмы, хорошо выявляется слизь, коллоид, гранулы, бактерии и грибы. Учитывая четкое прокрашивание клеточных ядер, дающее возможность выявить атипичные процессы в клетке на ранних этапах, применение окраски по Папаниколау в скрининге считается предпочтительным.

Всего было собрано 494 жидкостных и 1081 традиционных заключений - 433 жидкостных / 1017 традиционных заключений для общей выборки (поперечное исследование), и 61/ 64 - в исследовании «случай РШМ-контроль», составившие, соответственно, 433 / 61 пар, или 494 пары в сумме.

Удельный вес цитологических результатов, полученных 2-мя различными методами в ходе обследования в общей популяции, представлен в таблице 15.

Таблица 15 – Удельный вес цитологических заключений, полученных традиционным и LBC методом в поперечном исследовании

Интерпретация по TBS, 2001	CellScan, n=433, %	Романовский -Гимзе, n=1017, %
В – нет материала, неудовлетворительный для оценки	5,9	0,4
АС – норма	20,0	11,1
D – патологическая микрофлора	16,2	11,9
E – (ПКМ, РКГ) – реактивные изменения, характерные для метаплазии	13,6	19,4
F1 (ASCUS) – сквамозные атипические клетки неопределенного значения, нельзя исключить ASC-H	8,7	12,1
F2 - (LSIL, включая CIN-I)	5,7	6,9
F3 - (HSIL, включая CIN-II, CIN-III, CIS – cancer in situ)	6,3	7,5
F4 – плоскоклеточный рак	-	-
G1 – доброкачественные железистые клетки у женщин старше 40 лет	4,9	3,0
G2, AGC – атипические клетки железистые, неопределенного значения; AGC - NOC (не интерпретируемые иначе)	5,9	13,4
G3 (AGC – аденокарцинома in situ)	0,2	0,2
G4 – аденокарцинома	-	-

Результаты цитологических заключений, полученные в исследовании «случай РШМ-контроль», сведены в таблицу 16.

Таблица 16 - Удельный вес цитологических заключений, полученных традиционным и LBCметодом в исследовании «случай РШМ-контроль»*

Интерпретация по TBS, 2001	CellScan, n=61, %	Романовский -Гимзе, n=64, %
В – нет материала, неудовлетворительный для оценки	6,8	4,8
АС – норма	1,6	-
D – патологическая микрофлора	-	-
Е – (ПКМ, РКГ) – реактивные изменения, характерные для метаплазии	1,6	1,6
F1 (ASCUS) – сквамозные атипические клетки неопределенного значения, нельзя исключить ASC-H	3,2	3,1
F2 - (LSIL, включая CIN-I)	6,5	3,1
F3 - (HSIL, включая CIN-II, CIN-III, CIS – cancer in situ)	31,1	26,5
F4 – плоскоклеточный рак	44,3	56,3
G1 – доброкачественные железистые клетки у женщин старше 40 лет	-	-
G2, AGC – атипические клетки железистые, неопределенного значения, AGC - NOC (не интерпретируемые иначе)	1,6	3,1
G3 (AGC – аденокарцинома in situ)	-	-
G4 – аденокарцинома	-	-
*Примечание - в исследование «случай РШМ-контроль» набирались пациентки с гистологически подтвержденным диагнозом РШМ разной стадийности, от TISдо StIII		

В обеих выборках отмечается высокий удельный вес неинформативных жидкостных заключений (5,9%/6,8%), в 2-3 раза превышающий описанные стандарты для ThinPrep, SurePath, Cobas и других транспортных сред, одобренных FDA. Кроме того, отмечена большая разница в интерпретации нормы и атипических железистых клеток (AGC – NOC) двумя различными методами в выборке общей популяции. Удельный вес неинформативных заключений по Романовскому-Гимзе колеблется от 0,4% в общей популяции до 4,8% в группе РШМ. Это обстоятельство можно отнести к сложности забора мазков у онкобольных в продвинутых стадиях РШМ, в связи с тем, что в мазок неизбежно попадают кровь и элементы распада ткани. Методика приготовления простого мазка не предусматривает его очистку от примесей, в отличие от жидкостной цитологии, где очистка предусмотрена по технологии. Простой (традиционный) мазок при объективных трудностях забора может оказаться

толстым и трудно интерпретируемым, что и предопределило развитие жидкостной, тонкослойной цитологии.

Удельный вес различных заключений не позволяет судить о диагностической ценности и точности методик. Для определения степени согласованности (конкордантности) мазков, полученных различными методами, были проанализированы все парные мазки (всего 494 пары, выборка для поперечного исследования + выборка «случай РШМ-контроль»), взятых у одной и той же женщины одновременно. Результаты приведены в таблице 17.

Таблица 17 – Согласованность жидкостного и традиционного методов

	Традиционный метод (Романовский-Гимзе)												Всего
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
LBC (TBS)	0	5	4	6	3	1	4	2		4			29
1	1	47	7	25	8	3	1		1	6			99
2		3	47	11	11	5				3			80
3			1	49	6	2	1			8			67
4				3	39	12	2	1		6			63
5				1	2	35	1	1	1	2			43
6								24	4				28
7	1						1	29					31
8						1			13	10			24
9				1		1				27			29
10											1		1
11													
Всего		2	55	59	96	69	60	34	37	15	66	1	494

Обращает на себя внимание большая «вариативность» заключений. Из 69 заключений ASCUS, выданных по Романовскому-Гимзе, только 39 совпало с аналогичным жидкостным заключением, остальные жидкостные заключения, соответствующие ASCUS по традиционному методу, были интерпретированы в LBC как: 3 – AE, 12 – F2 (CIN-I), 2 – F3 (HSIL), 1 – F4 (рак), 6 – AGC-NOC.

Из 43 диагностированных по жидкостному методу CIN-I совпало с Романовским 35, а из 28 жидкостных заключений CIN-III-TIS24 совпало, а 4 были отнесены в Романовском к инвазивному раку. Из 29 заключений AGC-NOC в LBC совпало с Романовским-Гимзе 27, остальные были интерпретированы в Романовском, как: 1 – AE, 1 – CIN-I.

Всего совпало 311 заключений на 494 парных образца, или 63%. Совпавшие заключения располагаются по диагонали слева направо.

О точности методов в выявлении реального состояния эпителия шейки матки нельзя судить без независимой экспертной оценки, в роли которой выступает «золотой стандарт» - гистологическое заключение. Для анализа атрибутивных согласований с использованием независимого оценочного параметра было использовано 94 комплекта «гистологическое заключение – жидкостное заключение – традиционное заключение». Результаты

конкордантности жидкостных заключений с гистологическими приведены в таблице 18.

Таблица 18 – Результат совпадаемости (конкордантности) с гистологическим заключением для жидкостного метода

	Гистологические заключения											Всего
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
LBC (TBS)	1	7					1					8
	2	3	4		1		1					9
	3	1	4				1					6
	4	1	4			2	2					9
	5		5				1		1			7
	6	1	1		1	6	9					18
	7						29					29
	8		1					2				3
	9			1				1	1	1		4
	10						1					1
	11											
Всего		13	20		2	8	45	3	2	1		94

Неинформативные заключения анализу не подлежали. Из 94 пар образцов совпало 45, или 47,9% заключений. Например, из 45 гистологических заключений «инвазивный рак» только 29 были аналогичны таковым в LBC, 9 были интерпретированы жидкостной цитологией как CIN-III-TIS, 1 – CIN-I, 2 – ASCUS, по одному – AE и AC (норма). В таблице 19 приведены результаты для метода Романовского-Гимзе.

Таблица 19 – Результат совпадаемости с гистологическим заключением для традиционного метода (94 пары)

	Гистологические заключения											Всего
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Роман- Гимзе	1	4										4
	2	5	5									10
	3						1					1
	4	1	5									6
	5	1	6		1	1	2					11
	6	2	1		1	6	6					16
	7					1	33					34
	8			2								2
	9			3				3	2	1		9
	10						1					1
	11											
Всего		13	22		2	8	43	3	2	1		94

Совпало 47 из 94 заключений, или 50%. Из 43 инвазивных раков, подтвержденных гистологически, только 33 были идентифицированы традиционным методом как раки, а 10 инвазивных раков метод Романовского-Гимзе «не увидел», отнеся 6 – к CIN-III-TIS, 2–к CIN-I, 1 –к АЕ, 2 –к CIN-I и 1 –кG4 (AGC).

Известно, что с диагностической, клинической и прогностической точек зрения рациональнее объединять степени поражения эпителия шейки матки в категории. Стандартизация результатов цитологического исследования облегчает их сравнение и снижает вероятность диагностических ошибок. Для выделения категорий исследуемых мазков нами использована классификация цервикальных мазков по Папаниколау:

- первый класс — атипических клеток нет, нормальная цитологическая картина;
- второй класс — изменение морфологии клеточных элементов, обусловленное воспалительным процессом во влагалище и/или шейке матки;
- третий класс — единичные клетки с аномалиями цитоплазмы и ядер;
- четвёртый класс — отдельные клетки с явными признаками злокачественности: увеличение массы ядер, аномалии цитоплазмы, изменения ядра, хромосомные aberrации;
- пятый класс — наблюдают большое количество атипических клеток [120].

В первую категорию нами отнесены нормальные цитологические заключения, без признаков атипии. Известно, что понятие «нормальная цитология» в последние годы расширено до NILM (дословно: негативно в отношении CIN и малигнизации, т.е. без атипии), то есть в эту категорию относят заключения C, D, E и G по TBS [121,122].

Во вторую категорию (второй класс мазков по Папаниколау) были отнесены заключения ASCUS, то есть сомнительные в отношении атипии результаты. Сюда же нами отнесены и AGC-NOC (сомнительные, не интерпретируемые иначе изменения железистого эпителия).

В третью категорию (третий класс мазков по Папаниколау) – LSIL, или CIN-I.

Соответственно, в категории 4 и 5 – HSIL, AGC и инвазивный рак.

Анализ совпадаемости объединенных в категории цитологических и гистологических результатов, полученных в работе, приведен в таблице 20.

Таблица 20 – Результат совпадаемости с гистологическим заключением при объединении в категории

	Гистологические заключения						Всего		Гистологические заключения						Всего
		1	2	3	4	5				1	2	3	4	5	
LBC	1	22		1		3	26	Трад. (Р-Г)	1	16				1	17
	2	7	1		3	2	13		2	12	2		1		15
	3	5	1			1	7		3	7		1	1	2	11
	4	2		1	5	10	18		4	3		1	6	7	17
	5				1	29	30		5				1	33	34
Всего		36	2	2	9	45	94	Всего		38	2	2	9	43	94

Удельный вес совпавших с гистологическим заключением результатов повысился в LBC группе до 61,7% против 47,9%, а в группе Романовского-Гимзе – до 60,6% против 50%.

Для исключения фактора случайности в сравнительном анализе диагностических тестов через независимый оценочный параметр используется каппа-статистика. Вычисление каппы Коэна (Cohen's kappa, κ) было выполнено в программе MedCalc, результаты отражены в таблице 21.

Таблица 21 – Показатели κ для жидкостного (CellScan) и традиционного методов

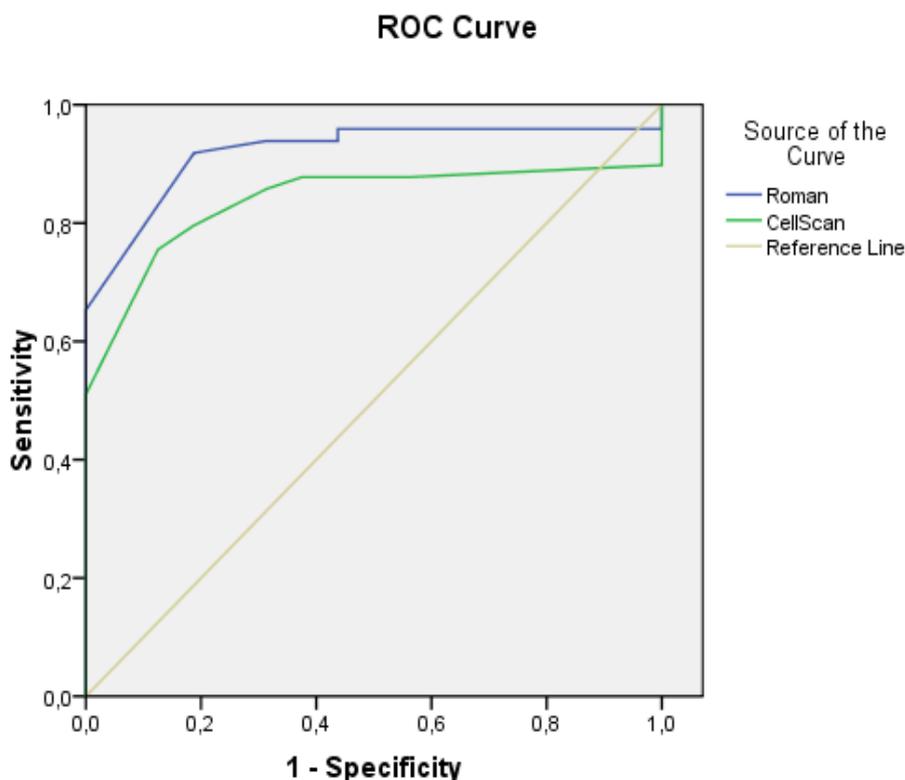
Показатели	CellScan	Романовский-Гимзе
Weighted Каппа (взвешенная каппа)	0,467	0,622
Standard error	0,082	0,081
95% CI	0,306 to 0,629	0,462 to 0,782

По Altman (1991), интерпретация результатов каппы Коэна (κ) следующая: < 0.20 - плохо (poor); $0.21/0.40$ - справедливо, честно (fair); $0.41/0.60$ - умеренно (moderate); $0.61/0.80$ - хорошо (good); $0.81/1.00$ - очень хорошо (very good).

Анализ атрибутивных согласований (каппа-статистика) продемонстрировал, что показатель κ для традиционного метода, равный 0,62, больше, чем аналогичный показатель для жидкостного метода ($\kappa=0,47$). В работе Таока et al. [123], с результатами сравнительного анализа между традиционным Pap-тестом (окраска гематоксилин-эозином вручную) и технологией LBC SurePath для выборки $n=1869$ (2010 г.) был получен коэффициент $\kappa=0,49$.

Сравнительный анализ двух диагностических методов не может считаться законченным без построения ROC-кривой для определения диагностической чувствительности / специфичности исследуемых методов. Для построения адекватной кривой рекомендуется не менее 100 наблюдений. В нашей работе их 84 (заключения гистология / жидкостная цитология / традиционная

цитология, полученные от одной женщины к моменту подготовки диссертации). Построенная для 84 имеющихся наблюдений в программе MedCalc ROC-кривая изображена на рисунке 7.



Diagonal segments are produced by ties.

Рисунок 7 – ROC-кривая двух сравниваемых цитологических методов

В таблице 22 даны найденные значения ключевого для кривого показателя – площади под кривой.

Таблица 22 – значения Area Under the Curve (AUC, или площади под кривой)

Результаты теста для переменных :	Asymptotic 95% Confidence Interval				
	Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Lower Bound	Upper Bound
Roman	,920	,035	,000	,851	,989
CellScan	,838	,050	,000	,740	,936

В таблице 23 даны координаты полученной ROC-кривой.

Таблица 23 - Координаты полученной ROC-кривой

Результаты для переменных	Позитивно, если больше чем ли равно	Чувствительность	1 - Специфичность
Roman	-1,0000	1,000	1,000
	,5000	,959	1,000
	1,5000	,959	,750
	2,5000	,959	,438
	3,5000	,939	,438
	4,5000	,939	,313
	5,5000	,918	,188
	6,5000	,653	,000
	8,0000	,041	,000
	10,0000	,000	,000
CellScan	-1,0000	1,000	1,000
	,5000	,898	1,000
	1,5000	,878	,563
	2,5000	,878	,375
	3,5000	,857	,313
	4,5000	,796	,188
	5,5000	,755	,125
	6,5000	,510	,000
	8,0000	,020	,000
	10,0000	,000	,000

Итак, для жидкостной цитологии получено значение AUC, равное 0,84, тогда как для традиционного метода – 0,92. Соответственно, диагностическая чувствительность жидкостного метода составила 89,8% против 95,9% для традиционного при условии 1-специфичность, равное 1.

В целом, при выполнении сравнительного анализа на данном этапе было установлено некоторое преимущество традиционного метода в сравнении с жидкостным:

- ничтожно малое количество неинформативного материала по сравнению с CellScan – 0,4% (4,8% для РШМ) против 5,9% (6,8% для РШМ);
- диагностическая чувствительность традиционного метода превосходит аналогичный показатель жидкостного - 95,9% против 89,8%;
- $\kappa=0,62$ против 0,47;
- AUC 0,92 против 0,84 [124] на материале 84 гистологических заключений.

А между тем, традиционный метод с окраской по Романовскому-Гимзе не считается эталоном в цитологии по нескольким соображениям: его диагностическая чувствительность не превышает аналогичную для современных транспортных сред жидкостной цитологии, одобренных FDA [50]; как упоминалось, окраска гематоксилином, применяемая в технологии Рар-тестов, дает лучшую картину атипии ядра клеток, чем окраска азуром [59, 119]. Также имеет смысл вновь упомянуть трудоемкость традиционного метода и

зависимость качества заключений от сбора материала – при большой толщине мазка качество ухудшается.

Несмотря на эти недостатки, в условиях обследуемого региона он демонстрирует диагностическое преимущество, хотя и незначительное.

3.6 Содержание ВПЧ в нормальной цитологии у женщин региона

Анализ цитологических методов, как скрининговых инструментов, по современным стандартам должен сопровождаться данными о распространенности ВПЧ в нормальной цитологии. Впервые в клинической практике региона было начато выполнение такого анализа в рамках Проекта, на основе которого выполняется данная работа. Как упоминалось, в современной литературе приводятся данные о содержании ВПЧ в нормальной цитологии в пределах 10-17 и до 50% [23, 24, 71, 125]. Результаты цитологических заключений в группе инфицированных ВПЧ в целом по выборке для поперечного исследования (277 из N=1107) изложены в таблице 24.

Таблица 24 – Результаты содержания ВПЧ в цитологических мазках

Код в базе данных	Градация	% ВПЧ в жидкостных заключениях	% ВПЧ в традиционных заключениях	
1	Норма	18,6%	9,0%	NILM 46,0% / 44,8%
2	Патол. микрофлора	14,1%	14,1%	
3	РКГ (резервно-клет. гиперплазия)	13,3%	21,7%	
4	ASCUS	14,1%	18,0%	
5	CIN I - LSIL	13,3%	15,9%	
6	HSIL	8,8%	5,0%	
8	G1 – доброкач. ЖЭ	2,7%	1,4%	
9	G2, AGC- NOC(атипия ЖЭ)	5,3%	14,4%	

Как упоминалось, в последние годы понятие «нормальная цитология» расширено до NILM (негативно в отношении CIN и малигнизации). В целом, полученные в обеих группах высокие результаты по распространенности ВПЧ в NILM(46,0/44,8%) практически идентичны. Но, в «нормальной» цитологии (градация «С» по TBS) традиционным методом получено 9,0% содержания ВПЧ, а по жидкостной цитологии результаты содержания ВПЧ в «норме» намного их превышают - 18,6%, хотя оба показателя находятся в пределах общемировых данных [23, 24, 71]. Уместно привести здесь показатели удельного веса заключений, полученные в общей выборке (таблица 15) – в жидкостной цитологии результаты содержания ВПЧ в «норме» составляли 20,0%, тогда как в традиционной – 11,1%. Предположительно, это связано с переоценкой «нормы» в жидкостном заключении, возможно, свойственном для технологии CellScan. Нельзя не отметить, что за последний год наблюдений и

сбора материала качество жидкостных стеклопрепаратов значительно улучшилось, что свидетельствует о некотором прогрессе в области стандартов качества технологии CellScan. В этой связи следует напомнить, что удельный вес совпавших с гистологическим заключением результатов повысился в LBC группе до 61,7% против 47,9%, а в группе Романовского-Гимзе – до 60,6% против 50% при объединении в категории (на 94 гистологических заключения).

Была определена средняя вирусная нагрузка по цитологическим заключениям: в группе NILM(N=52) – $5,27 \pm 3,64 * 10^3$ ГЭ/образец (1,0-20,8); в группе ASCUS – $6,24 \pm 4,92 * 10^3$ ГЭ/образец (0,9-19,8); в группе CIN (LSIL, HSIL) – $6,29 \pm 3,41 * 10^3$ ГЭ/образец (2,2-18,0).

Даже в группе NILM, т.е. в группе мазков без признаков атипии шеечного эпителия, зафиксирована высокая вирусная нагрузка с размахом до 20,8 (максимальное значение), закономерно нарастающая со степенью утяжеления цитологической картины. Определены типы ВПЧ, содержащиеся в цитологических мазках группы NILM. На рисунке 8 указано их распределение.

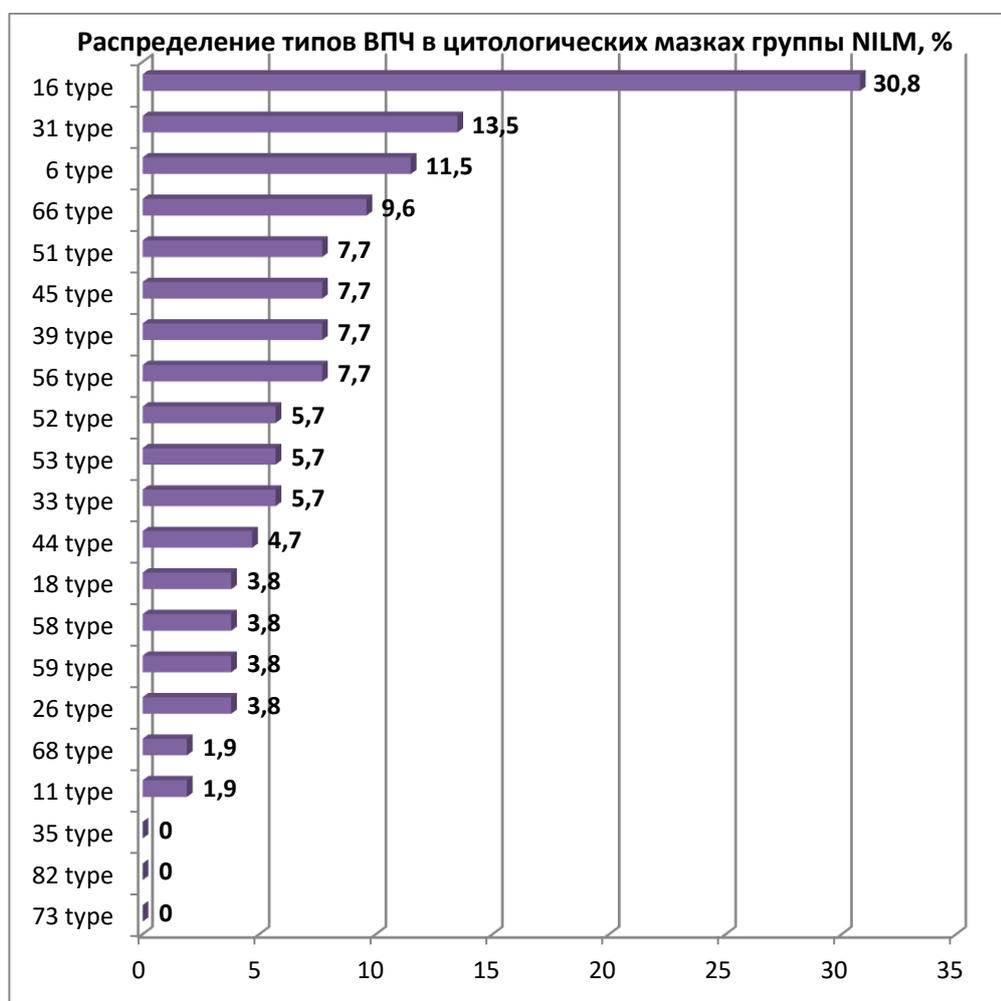


Рисунок 8 – Распределение частоты встречающихся типов ВПЧ в цитологических мазках без признаков атипии (NILM)

Лидирующими по частоте встречаемости типами являются: 16 (30,8% всех случаев); 31, 6, 66 и 51, т.е. практически те же типы, что и в целом в общей популяции по Западному региону РК.

По литературным данным, уже цитировавшимся в данной работе [67-69, 72, 74, 75, 77], содержание ВПЧ в нормальной цитологии рассматривается как один из серьезных аргументов в пользу включения молекулярно-биологических тестов ВПЧ в скрининговые программы или перехода на первичный ВПЧ-ориентированный скрининг, в котором цитология играет роль сортировочного инструмента.

Таким образом, выявленный в нашей работе на собственном материале (N инфицированных=277) высокий (46,0/44,8) процент содержания ВПЧ в «нормальных», т.е. без признаков атипии, мазках, является солидным аргументом в пользу введения молекулярно-биологического тестирования женщин региона на ВПЧ.

3.7 Результаты экспериментальной работы по выделению ДНК ВПЧ и генитальных инфекций из транспортной среды CellScan на российских тест-системах

В рамках данной работы было запланировано проведение эксперимента по выделению ДНК ВПЧ и влагалищной микробиоты из жидкостной транспортной среды CellScan с использованием российских тест-систем «ВПЧ Квант-21» и «Фемофлор-скрин» (производитель «ДНК-технология», РФ), применяющихся в ряде ПЦР-лабораторий на пространстве СНГ и значительно уступающих в стоимости зарубежным аналогам. В случае успешного осуществления данного эксперимента с получением убедительных результатов открывался ряд перспектив по широкому использованию CellScan технологии в скрининговой и общей гинекологической практике в стране. Другими словами, можно было ввести молекулярно-биологическое тестирование женщин на ВПЧ без лишних материальных затрат, используя биоматериал, уже полученный в ходе скрининга на РШМ.

Экспериментальная работа была призвана решить следующие задачи:

а) определить, возможно ли в принципе выделение ДНК ВПЧ и ДНК влагалищной микробиоты из клеточного носителя – жидкостной транспортной среды CellScan с использованием метода ПЦР на российском оборудовании;

б) уточнить степень конкордантности результатов путем сопоставления с контрольным забором биоматериала на транспортные среды российского производства («ДНК-технология»);

в) в случае высокой конкордантности полученных результатов запатентовать методику и рассмотреть возможность ее повсеместного внедрения в Западном регионе Казахстана с разработкой соответствующего пилотного научного проекта.

Описание работы, аналитические характеристики используемых тест-систем и принципы отбора биоматериала даны в разделе «Материалы и методы» настоящей работы. Для осуществления эксперимента, как было

указано, отбирались виалы с остаточной жидкостью после цитологического теста у женщин, у которых уже были идентифицированы различные типы ВПЧ путем ПЦР-типирования на тест-системах «ВПЧ Квант-21», служившие контролем. Принцип работы (выделение ДНК ВПЧ и микробиоты влагалища из остаточной жидкости для рар-теста) в целом аналогичен приведенным в мировых публикациях [126].

Характеристика нормобиоты женской репродуктивной сферы (нормоценоза):

Общая бактериальная масса (ОБМ) – абсолютный показатель 10^5-10^7 для уретры и цервикального канала;

Нормобиота (*Lactobacillus* spp) - абсолютный показатель 10^5-10^7 для уретры и цервикального канала;

Аэробные и анаэробные условно-патогенные микроорганизмы (УПМ) - абсолютный показатель $<10^4$;

Mycoplasma hominis, *Ureaplasma (urealyticum+parvum)* – отсутствуют или их абсолютный показатель $<10^4$; грибы рода *Candida* - отсутствуют или их абсолютный показатель $<10^4$ [127, 128].

К анаэробным микроорганизмам, наиболее часто обсеменяющим женскую репродуктивную сферу, относится ассоциация *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia* и *Porphyromonas* spp. [129-131].

Набор реагентов «Фемофлор-скрин», используемый в настоящей работе для выделения ДНК влагалищной микробиоты, позволяет провести качественную и количественную оценку биоты влагалища: нормобиоты, аэробной (факультативно-анаэробной) и анаэробной условно-патогенной биоты, мико- и уреаплазм и грибов рода *Candida* в абсолютных и логарифмических показателях. Результаты определения ДНК ВПЧ из жидкостной среды указаны в таблице 25.

Таблица 25 - Результаты ПЦР-типирования клеточной взвеси из транспортной среды CellScan для обнаружения ВПЧ

Код/шифр	Сроки и режим хранения клеточной взвеси на среде CellScan	Результат ПЦР с комплектом реагентов Квант-21: контроль (ГЭ/образец)	Результат ПЦР взвеси клеток из жидкостной среды CellScan: эксперимент (ГЭ/образец)
1	2	3	4
4/1/31	~9 недель при t° +2+8	52* – 5,4**	Отриц.
4/1/32	~8 недель при t° +2+8	31 – 4,2	Отриц.
4/1/34	~7 недель при t° +2+8	16 – 4,5 18 – 4,6 31 – 3,0 39 – 5,1 59 – 3,6	16 – 2,6 18 – abs 31 – abs 39 – 3,1 59 - abs

Продолжение таблицы 25

1	2	3	4
4/1/35	~5 недель при t° +2+8	16 – 4,7	16 – 2,8
4/1/37	~5 недель при t° +2+8	16 – 4,4 51 – 4,5	Отриц.
2/3/71	~4 недели при t° +2+8	31 – 5,3 52 – 3,7	Отриц.
2/3/82	~4 недели при t° +2+8	6 – 3,6	Отриц.
2a/3/2	~12 недель при t° +2+8	45 – 2,7 73 – 5,2	45 – 1,3 73 – 3,5
2a/1/17	~4 недели при t° +2+8	16 – 5,3	16 – 4,4
2a/1/25	~5 недель при t° +2+8	16 – 6,4	16 – 4,4
2a/1/26	~5 недель при t° +2+8	6 – 2,8; 59 – 3,8	6 – abs 59 – 3,0
2/3/128	~7 недель при t° +2+8	52 – 4,8	52 – 3,5
2/3/132	~7 недель при t° +2+8	6 – 7,2 16 – 4,4	6 - abs 16 – 4,7
2/3/161	~6 недель при t° +2+8	16 – 3,0	16 – 3,3
2/3/165	~6 недель при t° +2+8	68 – 2,9	68 – 2,5
2/3/167	~6 недель при t° +2+8	31 – 4,3	31 – 4,0
2/3/180	~6 недель при t° +2+8	45 – 6,0	Отриц.
Примечания * генотип ВПЧ; ** результат вирусной нагрузки указан в абсолютных цифрах, т.е. вирусная нагрузка для генотипа 52 соответствует 10 ^{5,4} геномных эквивалентов на образец			

Как следует из сводной таблицы, конкордантность (совпадаемость результатов) оказалась неудовлетворительной. В целом, в 17 образцах первой партии биоматериала в контрольном заборе было зафиксировано 26 генотипов ВПЧ, из них в экспериментальном биоматериале, полученном из жидкостной транспортной среды CellScan от тех же женщин, выявлено только 16, или 61,5%. Вирусная нагрузка в экспериментальном биоматериале практически ни в одном образце не соответствовала контрольной. Предположение, что качество амплификации ПЦР-продукта, полученного из взвеси клеток из жидкостной среды CellScan, зависит от температурного режима и сроков хранения образцов, также не подтверждается. Образцы № 6 и № 7 хранились не более 4 недель при температуре +2+8, тогда как образец № 8 хранился до 12 недель. Тем не менее, амплификация ПЦР-продукта из экспериментального биоматериала в образцах 6 и 7 не удалась вовсе, а в образце 8 - частично. В

образцах 13 и 14 вирусная нагрузка ДНК ВПЧ во взвеси клеток из CellScan даже превышает контрольную, что свидетельствует о недостоверности результатов амплификации ПЦР-продукта из среды CellScan, так как по протоколу ПЦР результаты проверяются путем контроля взятия материала (КВМ). Теоретически, вирусная нагрузка в экспериментальном образце не может превышать таковую в контроле.

Одной из возможных причин практически полного отсутствия конкорданса между результатами опытной и контрольной партиях может быть разность химического состава транспортных сред. Химический состав упоминавшихся универсальных сред, одобренных FDA, в большинстве однотипен и включает водный раствор денатурированного этанола с небольшим количеством метанола и изопропанола, и не является агрессивным для ДНК микроорганизмов [132, 133], тогда как состав CellScan неизвестен. Другое важное отличие между CellScan и жидкостными средами, одобренными FDA, заключается в разности технологий приготовления препаратов: в технологии CellScan виалы с биоматериалом помещаются в шейкер для лучшей сепарации клеток, а в одобренных FDA технологиях для этой же цели практикуется центрифугирование [50, 134].

Результаты эксперимента по исследованию состава микробиоты влагалища из клеточной взвеси из CellScan продемонстрированы в таблице 26.

Таблица 26 - Результаты исследования состава микробиоты влагалища с помощью набора Фемофлор-скрин из клеточной взвеси, выделенной из транспортной среды CellScan

Код / шифр	Результат исследования биоценоза комплектом реагентов Фемофлор-скрин (контроль)	Результат исследования биоценоза из взвеси клеток из среды CellScan (эксперимент)
1	2	3
2/4/89	Контроль взятия материала – $10^{4,5}$ Общая бакмасса – $10^{5,2}$ Лактобациллы – $10^{3,7}$ Облигатные анаэробы: Gardnerellavaginalis+Prevotellabivia+Porphyromonasspp. – $10^{5,1}$	Контроль взятия материала – abs Общая бакмасса – $10^{3,1}$ Лактобациллы – не выявлено Облигатные анаэробы: не выявлено
2/4/90	Контроль взятия материала – $10^{6,0}$ Общая бакмасса – $10^{8,3}$ Лактобациллы – $10^{8,2}$ Облигатные анаэробы: Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Porphyromonas spp. – $10^{4,0}$	Контроль взятия материала – abs Общая бакмасса – $10^{3,2}$ Лактобациллы – не выявлено Облигатные анаэробы: не выявлено

Продолжение таблицы 26

1	2	3
2/4/91	<p>Контроль взятия материала – $10^{4,7}$ Общая бакмасса – $10^{6,7}$ Лактобациллы – $10^{6,6}$</p> <p>Облигатные анаэробы: Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Porphyromonas spp. – $10^{3,1}$</p> <p>Ureaplasma spp. - $10^{3,5}$</p>	<p>Контроль взятия материала – abs Общая бакмасса – $10^{3,6}$ Лактобациллы – $10^{3,2}$</p> <p>Облигатные анаэробы: не выявлено</p> <p>не выявлено</p>
2/4/92	<p>Контроль взятия материала – $10^{5,5}$ Общая бакмасса – $10^{7,7}$ Лактобациллы – $10^{7,7}$</p> <p>Облигатные анаэробы: Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Porphyromonas spp. – $10^{5,7}$</p> <p>Ureaplasma spp. - $10^{3,8}$</p>	<p>Контроль взятия материала – abs Общая бакмасса – $10^{3,6}$ Лактобациллы – $10^{3,3}$</p> <p>Облигатные анаэробы: не выявлено</p> <p>не выявлено</p>
2/4/93	<p>Контроль взятия материала – $10^{4,6}$ Общая бакмасса – $10^{6,5}$ Лактобациллы – $10^{4,5}$</p> <p>Облигатные анаэробы: Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Porphyromonas spp. – $10^{5,4}$</p> <p>Ureaplasma spp. - $10^{3,7}$</p>	<p>Контроль взятия материала – abs Общая бакмасса – $10^{3,5}$ Лактобациллы – не выявлено</p> <p>Облигатные анаэробы: не выявлено</p> <p>не выявлено</p>
2/4/95	<p>Контроль взятия материала – $10^{4,9}$ Общая бакмасса – $10^{6,4}$ Лактобациллы – $10^{6,4}$</p> <p>Облигатные анаэробы: Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Porphyromonas spp. – $10^{5,4}$ Ureaplasma spp. - $10^{3,7}$ Mycoplasma hominis – $10^{4,0}$</p> <p>CMV - обнаружено</p>	<p>Контроль взятия материала – abs Общая бакмасса – $10^{3,3}$ Лактобациллы – не выявлено</p> <p>Облигатные анаэробы: не выявлено</p> <p>не выявлено не выявлено</p> <p>CMV – не обнаружено HSV-2 обнаружено</p>

Продолжение таблицы 26

1	2	3
2/4/98	<p>Контроль взятия материала – $10^{4,8}$ Общая бакмасса – $10^{6,8}$ Лактобациллы – $10^{6,7}$</p> <p>Облигатные анаэробы: Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Porphyromonas spp. – $10^{3,5}$</p> <p>Ureaplasma spp. – $10^{4,3}$ Mycoplasma hominis – $10^{4,4}$</p> <p>CMV - обнаружено</p>	<p>Контроль взятия материала – abs Общая бакмасса – $10^{4,0}$ Лактобациллы – $10^{3,7}$</p> <p>Облигатные анаэробы: не выявлено</p> <p>Ureaplasma spp. – $10^{2,3}$ Mycoplasma hominis – $10^{2,7}$</p> <p>CMV – не обнаружено</p>
2/4/99	<p>Контроль взятия материала – $10^{4,6}$ Общая бакмасса – $10^{5,1}$ Лактобациллы – $10^{5,0}$</p> <p>Ureaplasma spp. – $10^{4,3}$</p>	<p>Контроль взятия материала – abs Общая бакмасса – $10^{3,2}$ Лактобациллы – не выявлено</p> <p>Ureaplasma spp. – не выявлено</p>
2/4/100	<p>Контроль взятия материала – $10^{5,7}$ Общая бакмасса – $10^{7,5}$ Лактобациллы – $10^{3,4}$</p> <p>Облигатные анаэробы: Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Porphyromonas spp. – $10^{6,1}$</p> <p>Candida spp. – $10^{4,0}$</p> <p>Ureaplasma spp. – $10^{4,6}$ Mycoplasma hominis – $10^{5,3}$</p> <p>Chlamydia trachomatis - обнаружено Mycoplasma genitalium – обнаружено</p>	<p>Контроль взятия материала – abs Общая бакмасса – $10^{3,6}$ Лактобациллы – не выявлено</p> <p>Облигатные анаэробы: не выявлено</p> <p>Candida spp. – не выявлено</p> <p>Ureaplasma spp. – $10^{2,1}$ Mycoplasma hominis – $10^{2,4}$</p> <p>Chlamydia trachomatis - обнаружено Mycoplasma genitalium – Не обнаружено</p>
2/4/102	<p>Контроль взятия материала – $10^{5,9}$ Общая бакмасса – $10^{8,1}$ Лактобациллы – $10^{8,1}$</p> <p>Облигатные анаэробы: Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Porphyromonas spp. – $10^{3,5}$</p> <p>Candida spp. – $10^{4,8}$</p> <p>Ureaplasma spp. – $10^{5,1}$ CMV – обнаружено Chlamydia trachomatis - обнаружено</p>	<p>Контроль взятия материала – abs Общая бакмасса – $10^{3,3}$ Лактобациллы – не выявлено</p> <p>Облигатные анаэробы: не выявлено</p> <p>Candida spp. – не выявлено</p> <p>Ureaplasma spp. – не выявлено CMV – не обнаружено Chlamydia trachomatis – abs.</p>

Продолжение таблицы 26

1	2	3
4/1/42	<p>Контроль взятия материала – $10^{4,3}$ Общая бакмасса – $10^{5,7}$ Лактобациллы – $10^{5,5}$</p> <p>Облигатные анаэробы: Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Porphyromonas spp. – $10^{3,6}$</p> <p>Candida spp. – $10^{3,1}$</p>	<p>Контроль взятия материала – abs Общая бакмасса – $10^{3,3}$ Лактобациллы – $10^{3,2}$</p> <p>Облигатные анаэробы: не выявлено</p> <p>Candida spp. – не выявлено</p>
2/1/44	<p>Контроль взятия материала – $10^{4,7}$ Общая бакмасса – $10^{4,6}$ Лактобациллы – $10^{4,5}$</p> <p>Облигатные анаэробы: не выявлено</p>	<p>Контроль взятия материала – $10^{3,9}$ Общая бакмасса – $10^{3,1}$ Лактобациллы – не выявлено</p> <p>Облигатные анаэробы: не выявлено</p>
4/1/211	<p>Контроль взятия материала – $10^{4,9}$ Общая бакмасса – $10^{5,3}$ Лактобациллы – $10^{4,9}$</p> <p>Облигатные анаэробы: Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Porphyromonas spp. – $10^{5,1}$</p> <p>Candida spp. – не выявлено Ureaplasma spp. – $10^{4,1}$</p>	<p>Контроль взятия материала – $10^{4,2}$ Общая бакмасса – $10^{4,5}$ Лактобациллы – $10^{4,2}$</p> <p>Облигатные анаэробы: Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Porphyromonas spp. – $10^{4,4}$</p> <p>Candida spp. – $10^{3,7}$ Ureaplasma spp. – $10^{3,4}$</p>

Как следует из сводной таблицы, во всех 13 образцах КВМ в контрольном заборе соответствует требованиям, т.е. находится в пределах $10^4 - 10^6$, что свидетельствует о качественном заборе материала и достоверности результатов контрольного забора. В экспериментальных образцах, полученных из взвеси клеток из CellScan, КВМ в пределах требуемого представлен только в одном образце, № 13. Как и в предыдущем эксперименте по экстракции ДНК ВПЧ, обнаружены расхождения в интерпретации между опытным и контрольными образцами: в образце № 6 в контроле выявлен CMV (качественный анализ), а в опытном образце - HSV-2, что свидетельствует о неверной идентификации вируса, т.е. некачественной амплификации ПЦР-продукта. Аналогичная ситуация в образце № 13: Candida spp. в количестве $10^{3,7}$ выявлена в опытном образце, тогда как контрольный забор материала не подтверждает ее присутствие. Во всех 13 образцах наблюдаются значительные расхождения результатов подсчета общей бакмассы: в контрольных образцах ОБМ практически вдвое выше, чем в опытных, что свидетельствует о потенциальном разрушении ДНК микроорганизмов, находящихся во взвеси клеток из CellScan.

В силу низкой эффективности экстракции ДНК ВПЧ и влагалищной микробиоты из транспортной среды CellScan и очевидного отсутствия перспектив внедрения данной методики, было решено прекратить дальнейший сбор материала. Результаты этого эксперимента в целом оценены как неудовлетворительные – наблюдаются большие различия между опытными и контрольными образцами, не позволяющие реализовать методику экстракции ДНК ВПЧ и влагалищной микробиоты из жидкостной транспортной среды CellScan даже на уровне качественного анализа (в режиме да/нет). К сожалению, из-за отсутствия публикаций в мировой научной периодике по CellScan технологии провести адекватный анализ причин неудачи не представляется возможным.

Предполагаемые причины неудачи эксперимента:

1) возможно, транспортная среда CellScan для жидкостной цитологии южнокорейского производства не адаптирована к выделению ДНК ВПЧ и ДНК микробиоты влагалища;

2) особенности CellScan технологии как таковой, в частности, сбор всех присутствующих в образце клеток без центрифугирования и возможные дефекты мембранных фильтров, также могли сыграть определенную роль;

3) тот факт, что в контрольных образцах общая бакмасса практически вдвое выше, чем в опытных, свидетельствует о потенциальном разрушении ДНК микроорганизмов, вызванном, возможно, изменениями химического состава CellScan при достаточно долгом хранении, либо погрешностями в хранении биоматериала;

4) возможно, тест-системы Фемофлор-скрин («ДНК-Технология», РФ) с заявленной аналитической чувствительностью до 90%, выбранные для эксперимента в силу приемлемой цены и достаточной распространенности российского оборудования, не адаптированы для работы с иными клеточными носителями, кроме транспортных сред собственного производства. Во всяком случае, в мировой литературе не встречалось публикаций, описывающих применение российских тест-систем для экстракции ДНК микроорганизмов из взвеси клеток, полученных из универсальных жидкостных транспортных сред, одобренных FDA.

Результаты работы по выделению ДНК ВПЧ и влагалищной микробиоты из остаточной жидкости CellScan опубликованы в журнале Западно-Казахстанского медицинского университета [135].

3.8 Анализ кольпоскопических данных

Кольпоскопия, согласно общепринятому протоколу обследования, проводится после скрининговых процедур, т.е. взятия цитологического мазка и получения сомнительного (ASCUS) или положительного (CIN) результата [66, 67, 78]. Будучи относительно дорогостоящим методом диагностики, при нормальном цитологическом статусе кольпоскопия не оправдана ни с клинической, ни с экономической точек зрения. Ее основная функция – проведение прицельной биопсии ткани шейки матки. В настоящей работе была

дана оценка эффективности кольпоскопии в выявлении ВПЧ-инфекции шейки матки, как предиктора РШМ, на основе собственных данных. Как упоминалось, в целом оценка кольпоскопии, как инструмента диагностики ранних предраковых поражений шейки матки, в литературе противоречива – от 49 до 84% эффективности [54, 55], но исследования степени ее точности продолжаются [56, 57].

В связи с анализом кольпоскопических данных, уместно дать краткую оценку функционирования кабинетов патологии шейки матки в регионе. Как упоминалось в разделе 1, сбор материала проводился в наиболее крупных учреждениях ПМСП областных городов, не считая страховых и частных клиник. В областных городах, за исключением Актобе, были выбраны поликлиники с большим РПН. Специализированные кабинеты патологии шейки матки (ПШМ) должны работать в каждом учреждении ПМСП II-III уровня, так как являются важнейшим звеном в 3-этапной государственной скрининговой программе РК, реализуемой с 2008 г. В таблице 27 схематично отражена ситуация с обеспеченностью кадрами для таких кабинетов в учреждениях ПМСП, где собирался материал для настоящей работы.

Таблица 27 – Функционирование кабинетов патологии шейки матки в крупных ПМСП областных центров региона

Учреждение ПМСП	РПН	Функционирование кабинета ПШМ полный рабочий день	Наличие специалиста на полную ставку	Область
ГП №1	57186	-	-	Атырау
ГП №2	46000	-	-	Атырау
ГП №7	35912	-	-	Атырау
ГП №1	70412	+	+	Уральск
ГП №5	46777	+	+	Уральск
ГП №6	55704	+	+	Уральск
ГП №1	114000	-	-	Актау
ГП №2	91649	-	-	Актау
ГП №1-6	-	+	+	Актобе

В Актау и Атырау в крупных поликлиниках с большим РПН кабинеты ПШМ функционируют не на полную мощность, несмотря на обеспеченность оборудованием. Основная причина – недостаток квалифицированных специалистов, которые или предпочитают совмещать работу и выполнять обязанности специалиста по патологии шейки на 0,25-0,5 ставки, или отсутствуют вовсе. Из-за плохого функционирования кабинетов патологии шейки матки участковые врачи практически любой случай «эрозии шейки матки» или цитологического заключения «плоскоклеточная метаплазия» у женщин в возрасте 40 лет и выше направляют в онкодиспансер. Между тем, направление к онкогинекологу знаменует собой заключительный, третичный этап профилактики РШМ. Пациенты должны быть направлены с верифицированным биопсией диагнозом. К тому же, некоторые цитологические лаборатории региона (Актау, Атырау) терминологическую систему Бетезда-2001 не соблюдают, выдавая заключения «опухолевых клеток

не обнаружено», без дифференциации – РКГ, ASCUS или CIN. Контроль за надлежащим исполнением скрининговой программы РК, включая мониторинг выдачи цитологических заключений в соответствии с терминологической системой Bethesda, могли бы взять на себя полноценно функционирующие кабинеты ПШМ в крупных учреждениях ПМСП. От точности цитологического заключения, как известно, зависит алгоритм обследования пациентки из группы риска РШМ. Как указано в таблице 2 настоящей работы, в Индонезии, Турции, Японии существуют структуры, обеспечивающие качество и уполномоченные мониторировать процесс скрининга. В Казахстане такую роль могли бы взять на себя кабинеты ПШМ.

Учитывая изложенную выше недостаточную обеспеченность специалистами по кольпоскопии в Атырау и Мангыстау, многие женщины из малонаселенных районов этих областей годами не проходят кольпоскопию. В этой связи возможность экспериментального внедрения метода VIA (визуальная инспекция с ацетоуксусной кислотой) для малонаселенных районов должна была быть проанализирована. Этот метод, являющийся составной и самой важной частью кольпоскопии, высоко оценен в исследованиях [55, 58] за счет его высокой отрицательной предсказательной способности, т.е. в случаях его отрицательного результата ВПЧ и CIN выявляются редко. К тому же он дешев, не требует специальных навыков и долгой подготовки специалистов.

Плотность населения Западного региона по состоянию на 2014-2015 г. была взята из информационного ресурса Комитета по статистике Министерства национальной экономики РК «Численность населения Казахстана по регионам, областям, городам и районам» [www.stat.gov.kz] и приведена в таблице 28.

Таблица 28 - Плотность населения Западного региона по состоянию на 2014-2015 годы

Области	Областные города и районы	Плотность населения на км ²
1	2	3
Актобе	Актюбинская область	
Областной центр	Актобе	1376
Районы Актюбинской области	Алга	5
	Айтекеби	1
	Байганин	< 1
	Каргалы	3
	Кобда	1
	Хромтау	3
	Мартук	4
	Мугалжар	2
	Ойыл	2
	Шалкар	1
	Темир	3
	Иргиз	< 1

Продолжение таблицы 28

1	2	3
Мангыстау	Мангыстауская область	
Областной центр	Актау	1321
Районы Мангыстауской области	Бейнеу	2
	Каракие	1
	Мангыстау	1
	Мунайлы	26
	Тупкараган	2
Атырау	Атырауская область	
Областной центр	Атырау	83
Районы Атырауской области	Индер	3
	Исатай	2
	Курмангазы	3
	Кызылкога	1
	Макат	6
	Махамбет	3
	Жылыой	3
Западный Казахстан	Западно-Казахстанская область	
Областной центр	Уральск	405
Районы Западно-Казахстанской области	Акжаик	2
	Бокей Орда	1
	Борили	10
	Каратобе	2
	Казгал	2
	Шынгырлау	2
	Сырым	2
	Таскала	2
	Теректи	4
	Зеленовский	8
	Жанакала	1
	Жанибек	2

По данным статистики, в регионе имеются районы с плотностью населения менее 1 человека на км². Такие районы однозначно недоукомплектованы специалистами по кольпоскопии. А между тем, VIA-метод легко выполним для акушерок ФАП, и женщин из декретированных групп (30-60 лет) с положительной VIA-пробой можно было бы направлять на ВПЧ-тестирование в областные центры и далее, по показаниям, в первоочередном порядке направлять на прицельную биопсию.

Всего было проанализировано 1107 кольпоскопических заключений, оценивавшихся по шкале Coppleson-Pixley (3 категории) и индекса Reid (до 8 баллов), методика описана в разделе 1. Кольпоскопическая картина в исследовании «случай РШМ-контроль» не учитывалась из-за высокой неинформативности в случаях прогрессирующей стадии РШМ. Удельный вес

кольпоскопических заключений в ходе обследования популяции Западного региона приведен в таблице 29.

Таблица 29 – Удельный вес кольпоскопических заключений

Степень	Градация:	Удельный вес заключений, оцененных по шкале Copperson-Pixley	Удельный вес заключений, оцененных по индексу Reid
1	Нормальная кольпоскопическая картина (включая эктопию ЦЭ без атипии), 1-2 балла по Reid, «неподозрительно и незначительно»	33,9%	33,9%
2	Подозрение на ВПЧ-инфекцию, «подозрительно и значительно», 3-5 баллов по Reid	50,5%	52,7%
3	Атипическая картина, включая высокоатипическую – «крайне подозрительно и значительно», 6-8 баллов по Reid	14,1% 1,4% } 15,5%	10,1% 3,2% } 13,3%

Результаты оценки кольпоскопической картины двумя методами в целом совпадают, а удельный вес заключений, свидетельствующих о возможной ВПЧ-инфекции и наличии атипической картины (~2/3) даже превышает рассчитанный общий преваленс ВПЧ по региону 25,0%.

Баллы по Reid, которые можно трактовать и как количественный и как ранговый статистический показатель, были затем сопоставлены с данными суммарной вирусной нагрузки в анализе ранговой корреляции Спирмена. Установлена положительная умеренная, ближе к слабой, корреляция ($r=0,326$, $p<0,005$) между степенью тяжести кольпоскопической картины и данными суммарной вирусной нагрузки. Графическая иллюстрация имеющейся связи между этими параметрами приведена на рисунке 9.

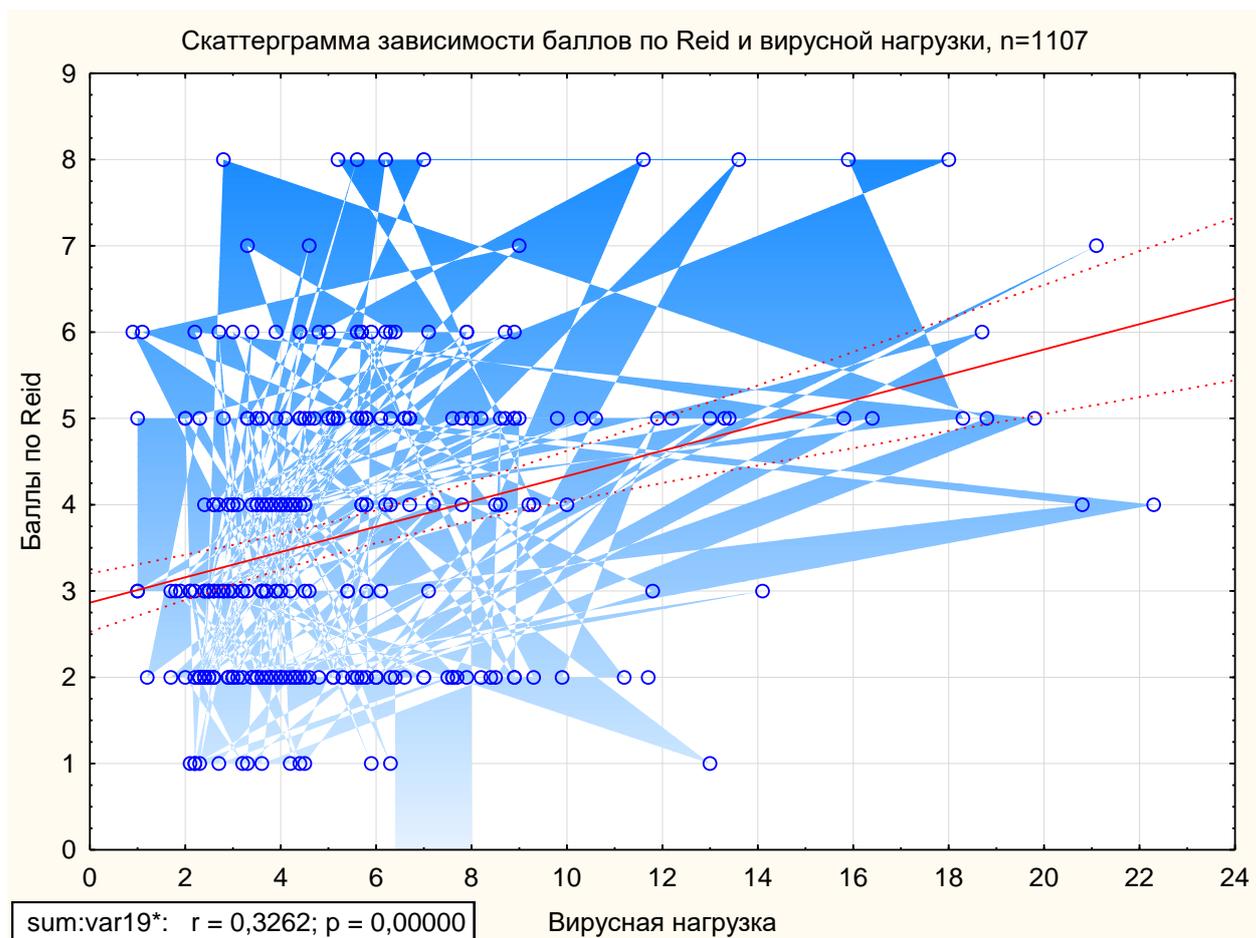


Рисунок 9 – Связь кольпоскопической картины и вирусной нагрузки

Из приведенной скаттерграммы видно, что показатели вирусной нагрузки недостаточно коррелируют с визуально определяемой на кольпоскопии картиной поражений шейки матки. Наблюдается много «выбросов», например, при 2-ух баллах по Reid (кольпоскопическая картина не внушает опасений) много значений вирусной нагрузки от 5 (10^5) ГЭ/образец и выше, т.е. высокой, свидетельствующей о возможной персистенции ВПЧ.

Таким образом, при показателе ранговой корреляции Спирмена $r=0,33$, полученном в настоящей работе, внедрение метода VIA на данном этапе не представляется оправданным. Возможно, нужен ряд дальнейших прицельных исследований для окончательного решения вопроса внедрения VIA в скрининговую практику региона. Тест VIA однозначно включен в ранг скрининговых практик, одобренных ВОЗ [136].

3.9 Результаты исследования «случай РШМ-контроль»

Всего в рамках исследования «случай РШМ - контроль» обследовано 64 женщины с впервые выявленным РШМ: 7 из Мангыстау; 3 – из Атырау; 8 – из Уральска и 46 из региона Актобе.

Средний возраст обследованных составил $49,0 \pm 12,4$ (45,9-52,1, CI 95%), M 47,5 (28-80; по 25/75 квантили 40,0 – 58,5).

Средний возраст начала половой жизни – $20,3 \pm 2,3$ (19,4 – 20,8, CI 95%), M 20,0 (15,0-27,0; по 25/75 квантили 19,0 – 21,0).

Средняя продолжительность половой жизни – $26,5 \pm 10,8$ (23,3 – 29,7; CI 95%), M 22,0 (7,0 – 59,0).

Среднее количество сексуальных партнеров в течение жизни – $3,0 \pm 3,4$ (2,1 – 3,9; CI95%), M 1,0 (1,0 – 15,0).

Среднее количество беременностей – $4,5 \pm 3,3$ (0–14, CI95%), M 4,0 (2,0-6,0 по 25/75 квантили). Сводные данные социальных параметров (потенциальных факторов риска) обследованного женского населения представлены в таблице 30.

Таблица 30 – Социальный профиль обследованных

Социальные показатели обследованного населения	Детализация вариантов ответов	%	Примечания	
1	2	3	4	
Возрастные категории	18-29 лет	1,5%		
	30-39 лет	21,9%		
	40-49 лет	34,4%		
	50-60+	42,2%		
Этничность	Азиатская	79,7%	Отнесены казашки и представительницы тюркоязычных народов	
	Европейская	20,3%	Отнесены представительницы славянских диаспор, немки	
	Другая (преимущественно кавказская)	-	Отнесены представительницы кавказских национальностей (азербайджанки)	
Уровень образования	Среднее	65,6%		
	Среднее специальное	17,2%		
	Высшее	17,2%		
Занятость	Не работающие, домохозяйки	48,4%		
	Заняты низкоквалифицированным трудом	26,5%		Отнесены санитарки, продавцы, киоскеры, технички и пр.
	Представители рядового звена	9,4%		Рядовые работники, кассиры, средний медперсонал, в т. ч. самозанятые – мелкие предприниматели и т.д.
	Заняты высококвалифицированным трудом	15,6%		Врачи, юристы, преподаватели, госслужащие, управленцы пр.

Продолжение таблицы 30

1	2	3	4
Подушевой доход вмесяц (incomepercapita)	От менее 18,5 тыс. в месяц до 36 тыс. тенге на душу	17,2%	Живущие за чертой бедности (доход ниже прожиточного минимума) + имеющие доход едва превышающий прожиточный минимум (относительно бедные)
	От 36 до 90 тыс. на душу	32,8%	Относительно благополучная категория
	От 90 до 180 и + тыс. на душу	3,1%	Категория обеспеченных и состоятельных
Общее количество беременностей	Не было	3,1%	Имеются в виду роды, аборты, внематочные беременности
	От 1 до 3 беременностей	25,0%	
	Свыше 3 беременностей	71,9%	
Наследственный фактор:наличие или отсутствие близких родственников с РШМ	Есть (или были) заболевшие родственники	9,4%	
	Нет (не было) близких с РШМ	90,6%	
Возраст начала половой жизни			Указан средний возраст обследованных 20,3±2,3 (19,4 – 20,8;CI 95%)
Стаж сексуальной жизни	От 0 до 10 лет	3,1%	Независимо от стажа в браке
	От 11 до 20 лет	31,3%	
	Свыше 20 лет	65,6%	
Количество сексуальных партнеров в течение жизни	1 партнер	60,9%	Независимо от продолжительности отношений
	До 5 партнеров	28,1%	
	От 6 партнеров и выше	10,8%	
Применение методов контрацепции на момент опроса:	Не применяет	89,0%	Учитывалась только возрастная категория ≤ 49 лет
	КОК (противозачаточные таблетки)	0%	
	ВМС (внутриматочная спираль)	4,7%	
	Презервативы	6,3%	
	Другое (стерилизация, календарный метод, coitusinterruptus)	0%	
Отношение к курению	Курят	9,4%	Независимо от стажа курения
	Не курят	90,6%	

Продолжение таблицы 30

1	2	3	4
Посещаемость государственной поликлиники по месту жительства	Посещает постоянно	31,3%	
	Посещает иногда, нерегулярно	39,0%	
	Не посещает, только частные медучреждения	29,7%	
Участие в государственных скрининговых программах	Участвует, на вызов из поликлиники реагирует	39,0%	Возрастная категория до 30 лет не учитывалась, как не подлежащая скринингу
	Частично участвует (не все скрининги, не всегда)	15,6%	
	Вообще не участвует (вызов из поликлиники игнорирует или не состоит в РПН или обследуется в частном порядке)	45,3%	
Осведомленность о вакцинации против РШМ	Ничего не знает о вакцинации	60,9%	
	Слышала о вакцинации, но не знает, как относиться	25,0%	
	Хотела бы пройти вакцинацию от рака шейки матки (приветствует)	10,9%	
	Настроена против вакцинации (считает ненужной и опасной)	3,1%	

Основные различия выборки женщин с РШМ и общей выборки поперечного исследования наглядно представлены на рисунках 10-15.



Рисунок 10 – Различия в уровне образования между выборками «случай РШМ» и «общая популяция»

Доля женщин с университетским образованием, заболевших РШМ, ниже почти в 3 раза (17,2% vs. 45,7%), а доля заболевших женщин со школьным образованием – выше в 2 раза (31,4%/65,6%).

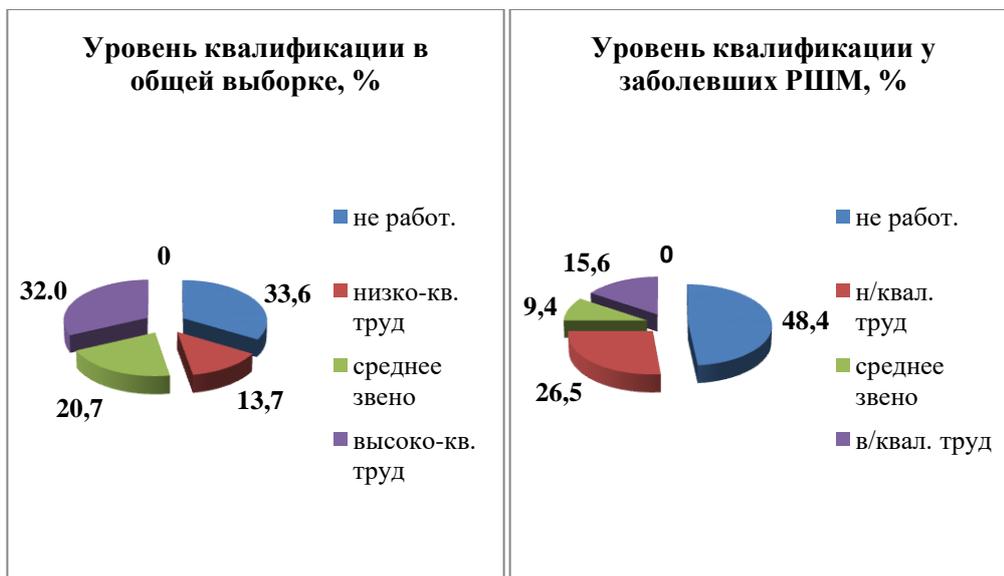


Рисунок 11 – Различия в уровне квалификации между выборками «случай РШМ» и «общая популяция»

Доля занятых высококвалифицированным трудом в группе заболевших РШМ ниже в 2 раза.

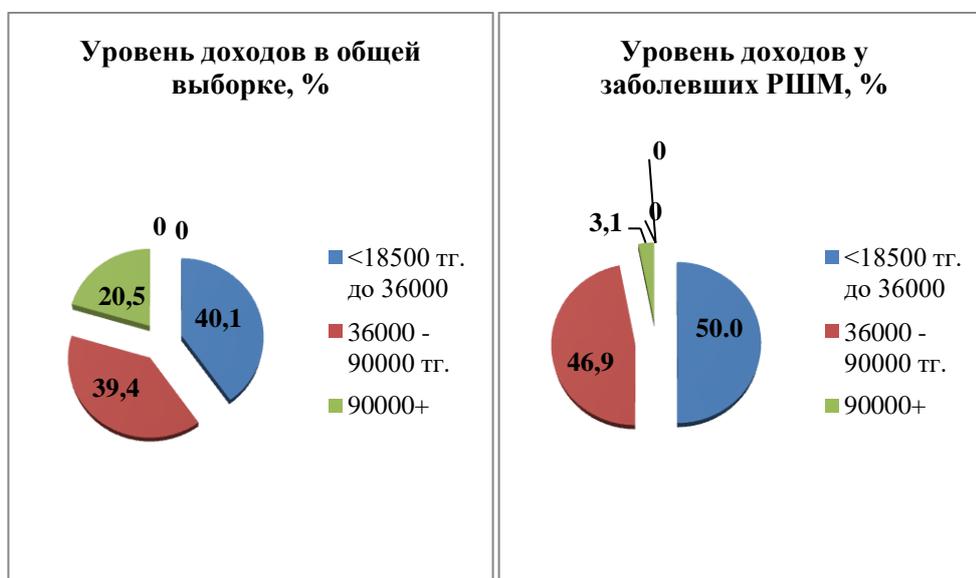


Рисунок 12 – Различия в уровне подушевого дохода между выборками «случай РШМ» и «общая популяция»

Доля женщин с хорошим подушевым доходом (90000 тенге и выше) в группе заболевших РШМ ниже в 7 раз.

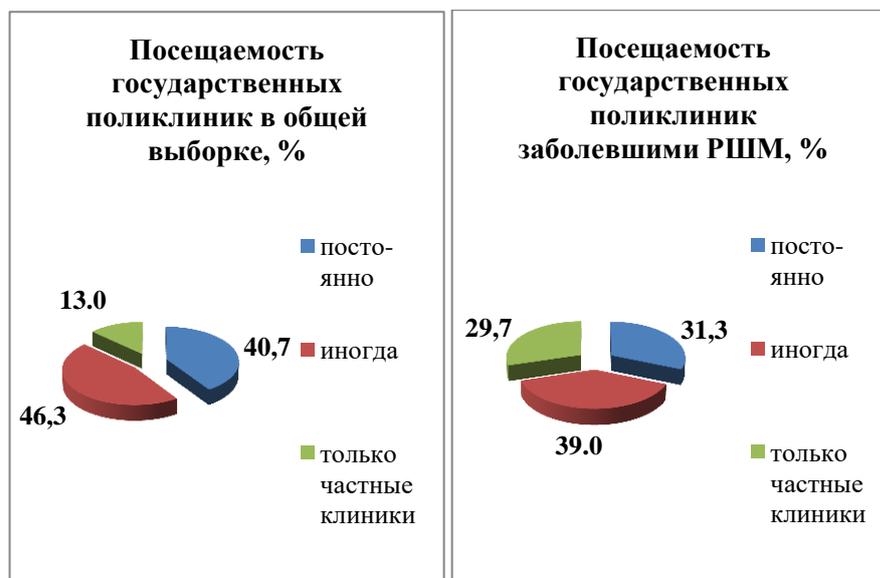


Рисунок 13 – Различия в посещаемости гос. поликлиник между выборками «случай РШМ» и «общая популяция»

Процент никогда не посещающих государственные учреждения ПМСП в группе заболевших РШМ выше более чем в 3 раза.



Рисунок 14 – Различия в посещаемости скринингов РШМ между выборками «случай РШМ» и «общая популяция»

Не выявлено существенной разницы в посещаемости скрининговых мероприятий между общей популяцией и группой РШМ (34,7 vs. 39,0%), тогда как в категории не посещающих скрининг доля заболевших РШМ выше (37,3 vs. 45,3%).



Рисунок 15 – Различия в осведомленности о вакцинации против РШМ между выборками «случай РШМ» и «общая популяция»

Доля осведомленных о первичной профилактике РШМ в общей популяции выше в 2 раза (22,9 vs. 10,9%). Углубленный анализ различий между выборками дан в главе «Матчинг».

Распределение генотипов ВПЧ у заболевших РШМ в регионе представлено на рисунке 16.

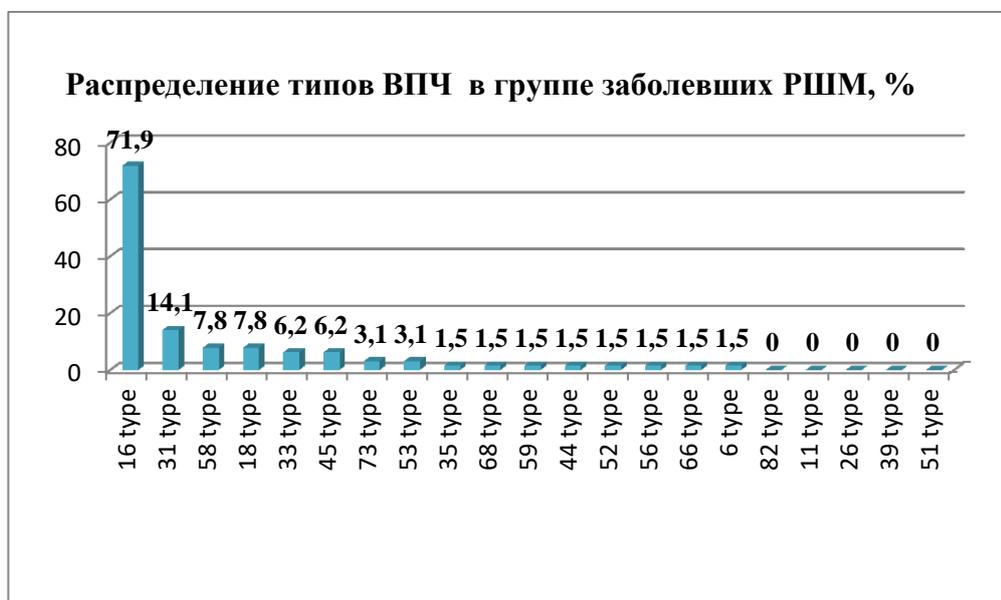


Рисунок 16 – Дистрибуция типов ВПЧ в группе заболевших РШМ

Инфицирование одним типом вируса выявлено у 68,2%; 2-мя типами – 15,9%; 3-мя – 9,1%; 4-мя – 2,3%.

Топ-5 составили следующие типы – 16, 31, 58, 18, 33. Удельный вес типа 16 составляет 7/10 от общего количества выявленных типов.

Особого интереса заслуживают 3 случая выявления РШМ различных стадий, вызванных типами из группы 2b (IARC) – возможно/вероятно канцерогенными, в качестве моноинфекции[137]. У женщины 60 лет из Уральского региона выявлен тип 53, стадия процесса – TIS, вирусная нагрузка $6,0 \text{ ГЭ} \cdot 10^3/\text{образец}$; у женщины 72 лет из Мартукского района Актюбинской области диагностирован РШМ StIb T_{2b}N_xM₀, вызванный также 53 типом в качестве моноинфекции, вирусная нагрузка $6,6 \text{ ГЭ} \cdot 10^3/\text{образец}$; у женщины 80 лет из Актобе выявлен 73 тип ВПЧ, стадия РШМ - StIb T_{2b}N_xM₀, вирусная нагрузка $-7,3 \text{ ГЭ} \cdot 10^3/\text{образец}$. У всех обследованных - высокая вирусная нагрузка; моноинфекция одним типом ВПЧ не из группы ВКР; предполагаемый продолжительный период экспозиции, учитывая возраст этих женщин.

Таким образом, можно подтвердить теорию, высказанную Schiffman et al. [12], о природе ВПЧ как постоянно эволюционирующего типа вируса; подтвердить работы Hales et al. [18], доказавшего наличие раков шейки матки, вызванных одним типом вируса из группы 2b (потенциально канцерогенные в виде моноинфекции), и согласиться с Arbyn et al. [19], что назревает необходимость переоценки канцерогенного потенциала известных типов ВПЧ. Возможно, что группа ВПЧ ВКР в перспективе будет увеличена с 13 известных на сегодня до 20.

Распределение обследованных по стадиям: TIS – 22,7%; StIA – 20,5%; StIB – 2,3% (в сумме 22,8%); StIIA – 11,4%; StIIB – 36,4% (в сумме 47,8%); StIIIA – 4,5%; StIIIB – 2,3% (в сумме 6,8%).

Средняя вирусная нагрузка в группе заболевших РШМ составила $6,9 \pm 4,0$ ($3,1-19,5$; CI 95% $6,1; 7,7$), и превышает среднюю по региону в общей выборке ($5,5 \pm 3,8$ ($0,9-22,3$; CI 95% $5,1; 5,9$)). Диапазон вирусной нагрузки ВПЧ очень variabelен, с размахом более чем в 6 раз при РШМ и даже более в общей популяции.

Для выяснения связи между стадийностью процесса и вирусной нагрузкой, стадии РШМ по FIGO были переведены в ординальную шкалу, с цифровыми значениями от 1 – TIS до 4 - StIIIB. Была выявлена достоверная связь между стадийностью процесса и показателями вирусной нагрузки ($p=0,043$, CI 95 %, $n=64$). Наибольший вклад в χ^2 внесен StIIa.

Результаты представлены на рисунке 17.

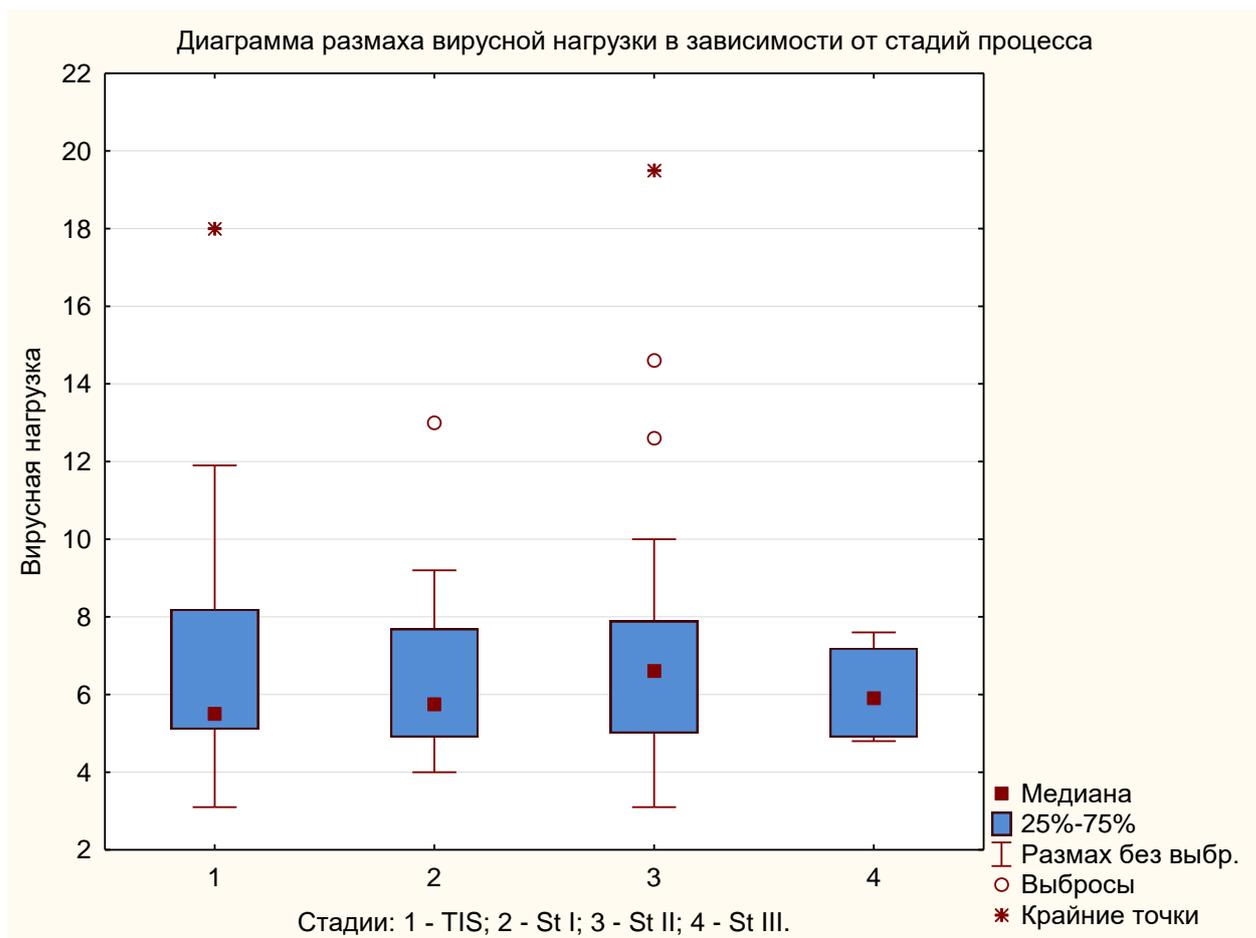


Рисунок 17 – Размах вирусной нагрузки в образцах РШМ по стадиям процесса

Вирусная нагрузка в исследованных образцах возрастает от стадии TIS до StIIAB, демонстрируя наибольший размах в стадии TIS, а максимальное количество выбросов и крайних точек в стадии StII AB. На данном этапе, в связи с небольшим количеством наблюдений, рациональное объяснение такому распределению вирусной нагрузки по стадиям процесса не найдено, но можно предположить, что наибольший размах в стадии TIS обусловлен необходимостью прорыва базальной мембраны, после чего иммунные механизмы уже не в состоянии сдерживать репликацию вируса. Закономерно, что по мере прогрессирования процесса до StIII AB вирусная нагрузка падает, так как макроорганизм уже не в состоянии поддерживать адекватный метаболизм, необходимый для репродукции вирусной массы. Наши ограниченные наблюдения о поведении вирусной нагрузки в зависимости от степени онкологического процесса частично подтверждаются южнокорейскими исследователями [138], показавшими, что у лиц с реализованным РШМ вирусная нагрузка ВПЧ больше не является предиктором прогрессирования процесса, как при CIN-II+, и не находится в прямой зависимости от стадии заболевания.

3.10 Результаты «матчинга» для выявления доминирующих факторов риска реализации РШМ в Западном регионе РК

С целью отбора контрольной группы и нахождения доминирующих факторов риска возникновения РШМ в Западном регионе РК был проведен матчинг (matching, сопоставление) обследованных по инфицированным ВПЧ, но не заболевшим РШМ из общей популяции (поперечное исследование). Матчинг проведен в масштабе 1:1 (65 vs. 64), т.е. на каждый случай заболевания приходился один случай из контрольной группы. Отбор контрольной группы для матчинга проводился на соответствие по возрастному критерию, а также с помощью генератора случайных чисел, т.е. у каждого инфицированного были равные шансы попасть в группу контроля. Таким образом, были случайно отобраны 65 респондентов из инфицированных ВПЧ для проведения анализа по выявлению факторов риска развития РШМ в популяции.

Для выявления факторов риска развития РШМ в рамках матчинга были проведены следующие статистические тесты: анализ таблиц сопряженности по χ^2 Пирсона для выявления значимых связей (с определением Cramer's V-критерия); анализ ранжируемых количественных переменных из двух независимых выборок (тест Манна-Уитни); логистический регрессионный анализ с расчетом отношения шансов (OR). Результаты анализа сопряженности заболеваемости РШМ с потенциальными факторами риска представлены в таблице 31.

Таблица 31 – Анализ связи заболеваемости РШМ с потенциальными факторами риска в Западном регионе РК

Качественный параметр, или потенциальный фактор риска	Значение достигнутого уровня значимости, p-value ($\leq 0,05$)	Величина Cramer's V-критерия	Максимальный вклад в итоговую статистику, Pierson's χ^2
1	2	3	4
Возраст	0,003	0,29	11,3 – возраст 50-60+ лет
Этничность	0,5	0,09	1,19
Образование	0,00075	0,33	14,4 - малообразованные
Профессия (род занятий)	0,00053	0,37	17,6 - неработающие
Уровень подушевого дохода	0,001	0,33	13,6 - малообеспеченные
Количество беременностей	0,23	0,15	2,9
Наследственный фактор	0,13	0,13 - phi	2,2
Стаж сексуальной жизни	0,007	0,28	9,9 – стаж 20+ лет
Количество сексуальных партнеров	0,19	0,16	3,3

Продолжение таблицы 31

1	2	3	4
Методы контрацепции	0,32	0,007	0,0009
Курение	0,97	0,002	0,0007
Посещаемость государственной поликлиники	0,09	0,19	4,8
Участие в скрининговых программах	0,006	0,28	10,2 – не участвующие в скрининговых программах
Осведомленность о вакцинации	0,026	0,27	9,2 – не осведомленные о вакцинации
Тип ВПЧ*	0,00007	0,35 - phi	15,9 – инфицированные типом 16
*Примечание - по другим генотипам ВПЧ уровня значимости $p\text{-value}\leq 0,05$ не выявлено			

На основании проведенного анализа таблиц сопряженности, можно приступить к составлению профиля заболевших РШМ в Западном регионе РК.

В таблице 32 приведены результаты теста Манна-Уитни, детализирующие анализ количественных переменных и дополняющие профиль.

Таблица 32 – Результаты теста Манна-Уитни

Переменные	U критерий Манна-Уитни									
	Отмеченные критерии значимы на уровне $p < 0,05000$									
	Сумм. ранг РШМ	Сумм.ранг конт- роль	U	Z	p-уров.	Z скорр.	p-уров.	2-х стор.точное p	Рак ш/м, N	Конт- роль, N
Возраст	4931,5	3453,5	1308,5	3,63184	0,000281	3,63469	0,000278	0,000233	64	65
Возраст начала половой жизни	3845,0	4540,0	1765,0	-1,48147	0,138482	-1,49867	0,133960	0,138856	64	65
Кол-во партнеров	4049,5	4335,5	1969,5	-0,51816	0,604346	-0,56433	0,572531	0,603861	64	65
Стаж половой жизни	4955,0	3430,0	1285,0	3,74254	0,000182	3,74551	0,000180	0,000148	64	65
Кол-во беременностей	4595,0	3790,0	1645,0	2,04674	0,040685	2,06837	0,038606	0,040401	64	65
Уровень вирусной нагрузки	4785,0	3600,0	1455,0	2,94174	0,003264	2,94231	0,003258	0,003057	64	65

Таким образом, определен социальный профиль заболевших РШМ в Западном регионе РК: женщины преимущественно в возрасте 50-60+ лет, инфицированные ВПЧ, преимущественно типом 16, малообразованные, неработающие, в большинстве малообеспеченные, со стажем половой жизни свыше 20 лет, не участвующие в скрининговых программах и не осведомленные о мерах профилактики РШМ (вакцинации). В профиле реализации РШМ также имеют значение большое количество беременностей и высокий уровень вирусной нагрузки.

Для оценки вероятности наступления заболевания (РШМ) под влиянием проанализированных факторов риска был выполнен логистический регрессионный анализ с расчетом отношения шансов. В качестве «позитивного эффекта» принято наступление заболевания, а в качестве «негативного» - отсутствие РШМ. Логистическая регрессия была выполнена методом “forward”, при условии введения переменных, если $P < 0,05$ и удаления, если $P > 0,1$. Размер выборки составил 129 случаев, где 64 (49,6%) – позитивные, 65 (50,4%) – негативные случаи. В таблице 33 отражены расчеты для оценки модели логистической регрессии.

Таблица 33 – Оценка модели по коэффициенту детерминации Нагелькерка

Null model – 2 Log Likelihood	178,824
Full model – 2 Log Likelihood	134,442
Chi-squared	44,382
DF	4
Significance level	$P < 0,0001$
Cox and Snell R^2	0,2911
Nagelkerke R^2	0,3881

Установлено, что модель – рабочая (коэфф. 0,3881, $P < 0,0001$). Произведен расчет коэффициентов и стандартных ошибок. В модель оказались включены следующие переменные (при $P < 0,05$, согласно условиям), данные отражены в таблице 34.

Таблица 34 – Коэффициенты переменных, включенных в модель логистической регрессии

Переменная	Коэффициент	Станд. ошибка	Wald	P
Подушевой доход (градация – выше 90000 тыс. тг (3))	-2,64144	0,86882	9,2432	0,0024
Стаж половой жизни	0,083917	0,023797	12,4349	0,0004
Посещаемость гос. поликли. (никогда не посещающие (3))	1,80433	0,63020	8,1974	0,0042
Участие в скринингах (нерегулярное участие (2))	-1,08362	0,50041	4,6892	0,0304
Константа	-1,69108	0,58494	8,3581	0,0038

Для расчета наступления шанса был рассчитан по следующему уравнению логистической регрессии:

$$Z = -1,69 - 2,64 * \text{подушевой доход (3)} + 0,08 * \text{стаж половой жизни в годах} + 1,8 * \text{посещение госполикл. (3)} - 1,08 * \text{участие в скринингах (2)} \quad (3)$$

Таким образом, шанс (p) рассчитан по формуле:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-z}} \quad (4)$$

где группа риска по реализации РШМ начинается при значении >40 .

Было рассчитано отношение шансов (OR) с доверительными интервалами, результаты изложены в таблице 35.

Таблица 35 – Отношение шансов и CI

Переменная	Отношение шансов (OR)	95% CI
Подушевой доход (выше 90 тыс. тг (3))	0,0713	0,0130-0,3912
Стаж половой жизни	1,0875	1,0380 - 1,1395
Посещаемость гос. поликлиники (никогда не посещающие (3))	6,0759	1,7667 – 20,8954
Участие в скринингах (нерегулярное (2))	0,3384	0,1269 – 0,9023

Таким образом, вероятность наступления заболевания раком шейки матки:

- уменьшается в 14 раз при уровне душевого дохода 90000 тг+ (коэффициент отрицательный, -2,64);

- увеличивается в 0,9 раз при стаже половой жизни свыше 20 лет (показатель, близкий к 50/50);

- увеличивается в 0,16 раз при отсутствии посещений госполиклиники (увеличение несущественное);

- уменьшается в 3,3 раза при хотя бы нерегулярном участии в скринингах на РШМ(коэффициент отрицательный, -1,08).

Расчет прогноза заболеваемости РШМ в группах инфицированных, но не заболевших РШМ и в группе РШМ отражен в таблице 36.

Таблица 36–Расчет прогноза по OR при отсекающем значении $p=0,5$

Фактическая группа	Прогностическая группа		Точный процент
	0 (не заболевшие)	1 (заболевшие)	
Y=0	48	17	73,85%
Y=1	19	45	70,31%
Процент корректно спрогнозированных случаев			72,09%

Итак, прогноз оправдывается для 73,9% инфицированных ВПЧ, но не заболевших РШМ и 70,3% заболевших.

3.11 Эпидемиологический прогноз и тренды заболеваемости РШМ в Западном регионе РК

Для корректного эпидемиологического прогнозирования онкозаболеваемости в масштабах области, региона и пр. необходимо надлежащее заполнение онкорегистра, что затруднительно при недостаточном

сборе материала. Актуальность качественного сбора материала по всем формам рака обсуждалась в Астане, 22-26.09.2014 г. на первых курсах IARC для русскоговорящих участников, где для повышения полноты и качества регистрации рака в странах СНГ были даны рекомендации [139]. Среди этих рекомендаций - облегчение доступа к онкорегистру и стандартизация содержащихся сведений в соответствии с современными инструкциями ВОЗ для обеспечения сравнимости (comparability) в международных масштабах: данные инциденса, смертности, мониторинга, индивидуальные данные больного, использование специальных компьютерных программ, рекомендованных IARC. Например, для расчета показателей DALYи QALY, характеризующих уровень системы здравоохранения в целом и качество оказания помощи,необходимы индивидуальные данные больного, а также данные мониторинга его состояния (обращаемости, количества госпитализаций и пр.). К сожалению, Астанинские рекомендации ВОЗ в РК еще не реализованы.

В таблице 37 приведены сведения о возрастном составе заболевших РШМ и выявляемости РШМ по скринингу в Западном регионе РК из формы №7, куда заносится информация о случаях рака, выявленных в текущем году.

Таблица 37-Данные онкорегистра (формы №7) по Западному региону: случаи впервые установленного диагноза РШМ за 2012-2016 годы

Области (с указанием количества населения) на 01.01.2016	Всего С53 по годам	Возраст заболевших						Выявл. на проф-осмотре	Выявл. по скрин-ингу
		18-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70+		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<u>Актобе:</u> всего - 822522 город – 510568	81 - 2012	2	14	17	25	15	8	?	4 (4,9%)
	75 - 2013	5	10	25	18	12	5	42 (56,0%)	5 (6,6%)
	89 - 2014	4	17	26	25	8	9	41 (46,0%)	9 (10,1%)
	83 - 2015	2	10	21	26	19	5	36 (43,4%)	7 (8,4%)
	96 – 2016	3	14	31	28	14	6	56 (58,3%)	5 (5,2%)
<u>Мангыстау:</u> всего – 606892 город - 298734	28 - 2012	-	1	11	10	3	3	0	0
	39 - 2013	1	7	12	13	4	2	?	9 (23%)
	40 - 2014	1	5	16	14	4	-	25 (62,5%)	9 (22,5%)
	40 - 2015	1	5	16	14	4	-	32 (80,0%)	6 (14,0%)
	39 – 2016	-	5	15	11	5	3	1 (2,6%)	4 (10,3%)

Продолжение таблицы 37

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<u>Атырау:</u> всего – 581473 город - 274368	59 - 2012	2	12	21	18	5	1	?	6 (10,2%)
	36 - 2013	1	9	17	4	4	1	?	4 (11,1%)
	60 - 2014	2	9	21	18	7	3	?	7 (11,7%)
	73 - 2015	3	21	21	17	6	5	?	5 (6,8%)
	62 - 2016	1	6	18	21	12	4	?	5 (8,06%)
<u>Уральск:</u> всего – 629957 город - 312305	57 - 2012	3	17	17	15	2	3	?	12 (21,0%)
	72 - 2013	1	19	20	23	3	6	?	19 (26,4%)
	66 - 2014	-	17	23	19	5	2	?	13 (19,7%)
	70 - 2015	1	8	33	17	6	5	?	13 (18,6%)
	57 – 2016	2	11	15	15	6	8	?	15 (26,3%)
Всего С53 в 2012 г.	225	7	44	66	68	25	15	-	22 (9,8%)
Всего С53 в 2013 г.	222	8	45	74	58	23	14	-	37 (16,7%)
Всего С53 в 2014 г.	255	7	48	86	76	24	14	-	38 (14,9%)
Всего С53 в 2015 г.	266	7	44	91	74	35	15	-	31 (11,7%)
Всего С53 в 2016 г.	197	4	32	58	56	31	16	-	25 (12,7%)

Общая информация: население РК по состоянию на 01.01.2016 составляет 17,417,673 чел.

Соотношение мужчин и женщин – 48% / 52%.

РК занимает 64 место по численности населения в мире, 184 место – по плотности (6,3 чел./кв. км).

Доля населения в возрасте от 15 до 65 лет – 71%.

Национальный состав: казахи – 66,1%; русские – 21,5%; остальные этносы – 12,4%.

В Западном регионе:

казахи: Актобе – 81%; Атырау – 91,8%; Мангыстау – 89,6%; Уральск – 74,3%.

Данные взяты из: «Численность населения РК по областям, городам и районам на 01.01.2016» Комитета по статистике Министерства национальной экономики РК.

На основании сведений из формы №7 была изучена динамика показателей заболеваемости РШМ за последние 5 лет, при этом тренды заболеваемости

определены методом наименьших квадратов: $y = a + bx$, где y – выровненный показатель, x – условный ряд чисел, симметрично расположенный в отношении нуля, a – условная средняя, b – коэффициент выравнивания. Определены среднегодовые значения (M), среднегодовые темпы прироста ($T_{пр}$, %).

В таблице 38 отражены рассчитанные возрастные показатели заболеваемости РШМ среди женщин региона, на основании которых был выведен общий и возрастные тренды заболеваемости.

Таблица 38 - Возрастные показатели заболеваемости среди женщин Западного региона (абс. к-во случаев / на 100000 лиц)

Годы	18-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70 +	Численность женского населения
2012	2,2	24,2	39,2	50,0	39,3	23,9	930808
2013	2,5	24,4	44,0	41,2	34,7	22,0	940152
2014	2,2	25,4	51,3	51,8	32,9	22,6	952643
2015	2,3	22,6	54,2	49,0	43,2	25,1	963321
2016	2,0	18,0	47,0	48,3	41,9	40,6	966118

На рисунке 18 приведен общий тренд заболеваемости РШМ в регионе.

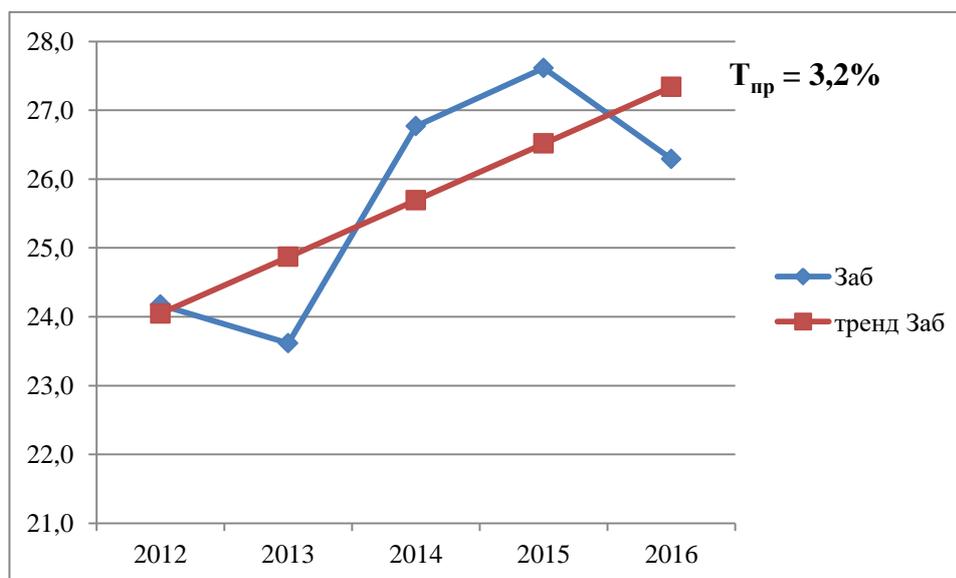


Рисунок 18 –Общий тренд заболеваемости РШМ в Западном регионе РК

На рисунке 19 показаны возрастные тренды заболеваемости у женщин Западного региона РК за последние 5 лет.

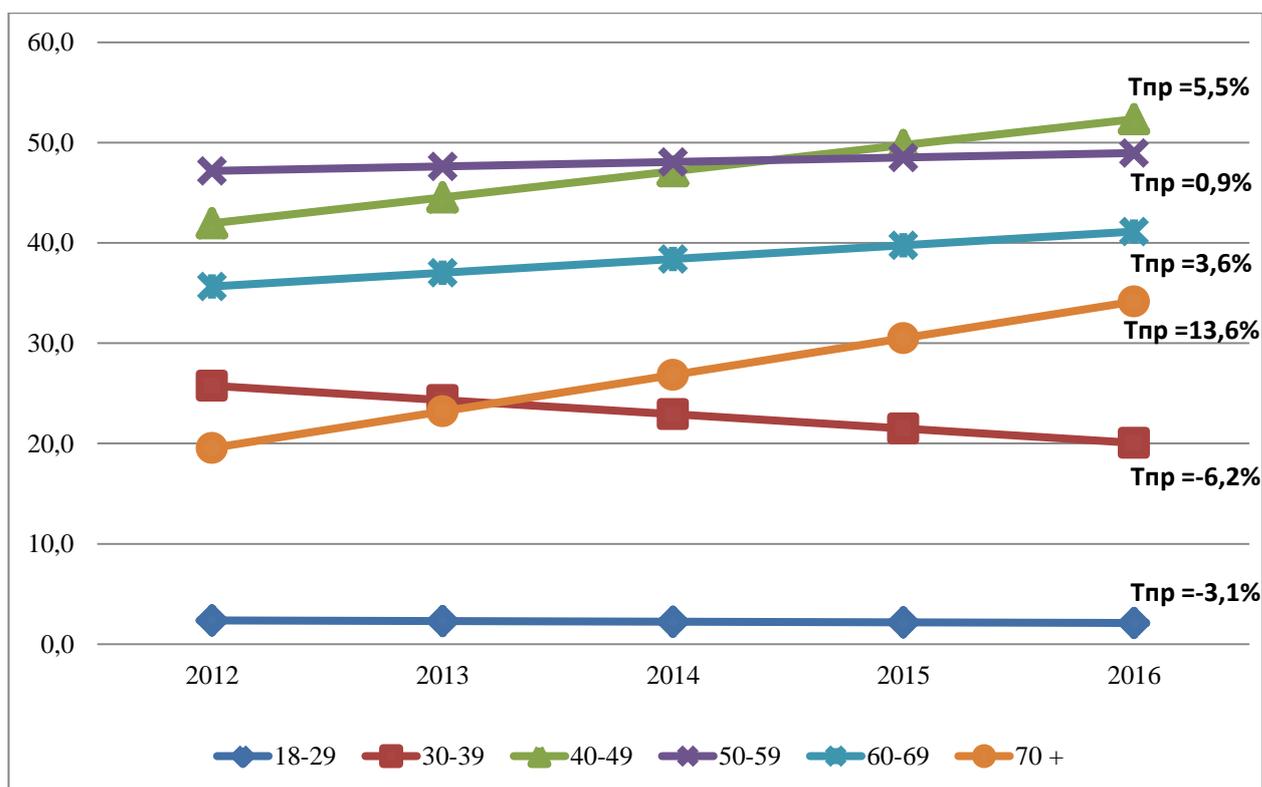


Рисунок 19 - Тренды возрастных показателей заболеваемости за последние 5 лет

Итак, тренд заболеваемости РШМ женского населения Западного региона РК имеет тенденцию к росту с темпом прироста $T_{пр}=3,2\%$. Снижение трендов заболеваемости установлено в возрастных группах 30-39 лет ($T_{пр}=-6,2\%$) и 18-29 лет ($T_{пр}=-3,1\%$). Увеличение отмечается у лиц старше 40 лет, в особенности у лиц 40-49 лет ($T_{пр}=5,5\%$) и 70 + ($T_{пр}=13,6\%$), в результате чего отмечен общий рост заболеваемости РШМ у всего женского населения Западного региона РК.

На основании рассчитанных трендов заболеваемости РШМ в регионе получен эпидемиологический прогноз заболеваемости (инцидента) РШМ, графически представленный на рисунке 20.

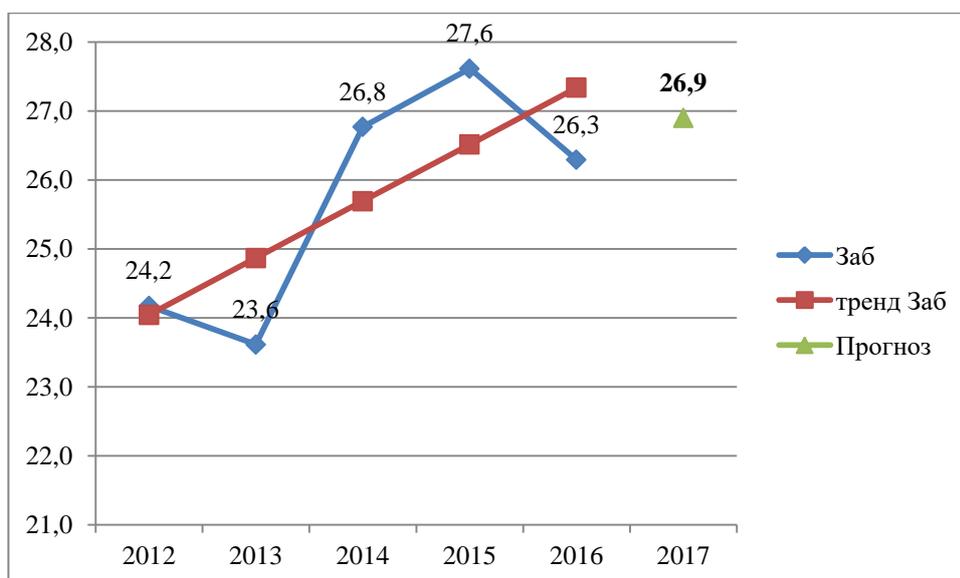


Рисунок 20 -Прогноз заболеваемости (инциденса) РШМ на 2017 г

Прогностический показатель заболеваемости РШМ женского населения Западного региона РК получен методом скользящих средних – метод прогнозирования на краткосрочный период, основанный на процедуре сглаживания с интервалом $m=3$.

В таблице 39 представлен 95% CI для рассчитанного прогностического инциденса РШМ.

Таблица 39 – Ожидаемая заболеваемость РШМ на период 2017 г. с 95% CI

Прогнозное значение	n	m	$t_{0,05}$	s	-95%CI	+95%CI
26,9	5	3	2.2	1,7	21,4	32,4

Таким образом, ожидаемая заболеваемость РШМ в 2017 г. будет равна 26,9, и её 95% CI будет колебаться в пределах с 21,4 до 32,4 на 100000 женского населения, стандартизированного по возрасту.

3.12 Сумма результатов проведенного исследования

Общий преваленс ВПЧ по Западному региону РК составляет 25,0% (22,3;27,7 CI 95%; $p=0,05$), со средней вирусной нагрузкой в группе инфицированных ВПЧ $5,5\pm 3,8$ (CI 95% 5,1;5,9), Me 5,2 (3,1-8,4 по 25/75 квантили).

65,8% от общего преваленса ВПЧ, или две трети, составляют генотипы группы ВКР (всего 13), тогда как потенциальные/возможные и слабые карциногенные типы (всего 8) составляют 34,2%.

Типами группы ВКР инфицировано 20,3% обследованного женского населения из 25,0% в целом, то есть удельный вес вирусоносителей группы ВКР составляет 81,2%.

Общее количество типов ВПЧ, выявленных у одной женщины, достигает 6. Одним типом вируса инфицировано 77,3% обследованных; 2-мя типами – 15,5%; 3-мя – 3,3%; 4-мя – 2,5%; 5-ю – 1,1%; 6-ю – 0,4%.

Лидирующим типом в Западном регионе РК является ВПЧ 16, с удельным весом до 26,4%.

Выделен топ-5 лидирующих в Западном регионе типов ВПЧ: 16 (26,4%); 31 (10,1%); 51 (9,4%); 52 (9,0%); 6 (7,9%).

Удельный вес так называемых «вакцинных типов» (6, 11, 16, 18), т.е. потенциально устранимых вакцинацией, составил в Западном Казахстане 43,0%, а с 31 и 45 типами, также потенциально устранимыми вакцинацией – 59,6%.

В группе 18-29 лет отмечен самый высокий преваленс ВПЧ -42,9%, уменьшающийся с возрастом.

Средняя вирусная нагрузка по Западному региону составила $5,5 \pm 3,8$ (СІ 95% 5,1;5,9) с размахом от 0,9 до 22,3, Ме 5,2 (3,1-8,4 по 25/75 квантили).

Выявлена почти полная идентичность результатов вирусной нагрузки в возрастных группах 18/29 – 30/39 – 40/49 лет, с последующим уменьшением в группе 50-60 лет. Наибольшее количество выбросов (аномально высоких значений) зафиксировано в возрастной группе 30-39 лет.

Проведенная оценка внутренней согласованности вопросов теста (опросника) по факторам риска инфицирования ВПЧ и реализации РШМ показала: альфа Кронбаха составила 0,5 (плохая), а при удалении диссонирующего вопроса (применение КОК, $r=-0,06$) поднялась до показателя 0,57 (сомнительная).

По результатам опроса установлено, что только 62,7% респондентов (34,7% постоянно и 28,0% нерегулярно) посещают скрининговую программу в госучреждении.

Среди респондентов с высшим образованием вообще не посещают государственную поликлинику 35,1% обследованных, а 51,3% не посещают государственные скрининговые мероприятия.

О вакцинации против РШМ осведомлены 69,2% субъектов с высшим образованием, тогда как в общей выборке этот показатель в сумме составил 56,5% (33,6% слышали, но не могут уточнить свое отношение – одобрительное или отрицательное, 22,9% знают и одобряют).

Анализ таблиц сопряженности по Pierson's χ^2 с определением Cramer's V-критерия, для установления связи инфицированности ВПЧ с потенциальными факторами риска РШМ, привел к составлению социального профиля группы риска по инфицированию ВПЧ в общей популяции женщин Западного региона РК. Это женщины с относительно благополучной финансовой ситуацией (ежемесячный доход от 36 до 90 тыс. тенге на чел.), занятые квалифицированным трудом, имевшие от 1 до 5 сексуальных партнеров и более 3-х беременностей в анамнезе.

Выявлены различия в распространенности ВПЧ-инфекции по областям, с размахом от 19,3% в Мангыстау, 23,9% в Актобе, 28% в Атырау и до 29,5% в Уральске.

Установлено, что выборка в разрезе областей неоднородна по некоторым базовым параметрам:

- 29,2% обследованных в возрасте 18-29 лет в Уральске vs. 43,7% в Актобе;
- 3,6% другой (кавказской) этничности в Мангыстау vs. 0% в Уральске;
- 19,3% славянской этничности в Уральске vs. 11,6-12,0% в других областях;
- 46,9% неработающих и домохозяек в Актобе vs. 24,2% в Уральске;
- 42,5% имеющих подушевой доход свыше 90000 в мес. (обеспеченных) в Мангыстау vs. 14,5% в Актобе.

В процессе анализа гетерогенности результатов преваленса ВПЧ в общей выборке установлено различие в среднем количестве сексуальных партнеров: от $1,9 \pm 2,2$ в Мангыстау и Актобе до $2,5 \pm 3,2$ в Атырау и до $2,7 \pm 3,6$ в Уральске.

В группе инфицированных Мангыстау установлена достоверная, но слабая связь между этничностью и определенным типом ВПЧ ($p=0,083$, Cramer's V 0.13, вклад в $\chi^2=1,04$), что подтверждает данные пилотного проекта 2014 г., когда была выявлена определенная корреляция между кавказской этничностью и ВПЧ 33 в Актау ($p=0,032$, Cramer's V 0.17). В других областях корреляции этнического фактора с инфицированностью определенным типом ВПЧ установлено не было.

Результаты сравнительного анализа цитологических инструментов скрининга РШМ, применяемых в регионе, на материале 494 пары цитологических мазков, взятых разными методами, и 94 комплекта «гистологическое заключение – жидкостная цитология CellScan–традиционная цитология по Романовскому-Гимзе»:

- удельный вес совпавших с гистологическим заключением результатов составил в LBC-группе 61,7%, а в группе Романовского-Гимзе – 60,6%;

- анализ атрибутивных согласований (каппа-статистика) продемонстрировал, что показатель κ для традиционного метода, равный 0,62, больше, чем аналогичный показатель для жидкостного метода ($\kappa=0,47$);

- при построении ROC-кривой для жидкостной цитологии получено значение AUC, равное 0,84, тогда как для традиционного метода – 0,92. Соответственно, диагностическая чувствительность жидкостного метода составила 89,8% против 95,9% для традиционного при условии 1-специфичность, равное 1 (на материале 84 гистологических заключения);

- удельный вес неинформативного материала в методе окраски по Романовскому-Гимзе – 0,4% (4,8% для РШМ) против 5,9% в CellScan (6,8% для РШМ).

При исследовании содержания ВПЧ в нормальной цитологии установлено: в обеих группах (LBC и традиционная цитология) получены высокие и практически идентичные результаты по распространенности ВПЧ в NILM (46,0/44,8%). Но, в «нормальной» цитологии (градация «С» по TBS)

традиционным методом получено 9,0% содержания ВПЧ, а по жидкостной цитологии результаты содержания ВПЧ в «норме» намного их превышают - 18,6%, хотя оба показателя находятся в пределах общемировых данных.

Средняя вирусная нагрузка по цитологическим заключениям составила:

в группе NILM(N=52) – $5,27 \pm 3,64 * 10^3$ ГЭ/образец (1,0-20,8);

в группе ASCUS – $6,24 \pm 4,92 * 10^3$ ГЭ/образец (0,9-19,8);

в группе CIN (LSIL, HSIL)– $6,29 \pm 3,41 * 10^3$ ГЭ/образец (2,2-18,0),

и характеризуется как высокая для NILMс закономерным нарастанием по мере утяжеления цитологической картины.

Удельный вес генотипа 16 в мазках класса NILM(без атипии и малигнизации) составил 30,6%.

Результаты эксперимента по выделению ДНК ВПЧ и влагалищной микробиоты из транспортной среды CellScan на российских тест-системах «Фемофлор-скрин» в целом оценены как неудовлетворительные – наблюдаются большие различия между опытными и контрольными образцами, не позволяющие реализовать методику экстракции ДНК ВПЧ и влагалищной микробиоты из жидкостной транспортной среды CellScan даже на уровне качественного анализа (в режиме да/нет).

Результаты анализа кольпоскопических данных:

показатели вирусной нагрузки недостаточно коррелируют с визуально определяемой на кольпоскопии картиной поражений шейки матки. Наблюдается много «выбросов», например, при 2-ух баллах по Reid(кольпоскопическая картина не внушает опасений) много значений вирусной нагрузки от 5 (10^5) ГЭ/образец и выше, т.е. высокой, свидетельствующей о возможной персистенции ВПЧ.

Получен показатель ранговой корреляции Спирмена $r=0,33$.

Результаты исследования «случай РШМ-контроль»:

топ-5 выявленных типов ВПЧ у онкобольных с впервые диагностированным РШМ составили следующие – 16, 31, 58, 18, 33.

Удельный вес ВПЧ 16 составляет 7/10(71,9%) от общего количества выявленных типов.

Инфицирование одним типом вируса выявлено у 68,2%; 2-мя типами – 15,9%; 3-мя – 9,1%; 4-мя – 2,3%.

Средняя вирусная нагрузка в группе заболевших РШМ составила $6,9 \pm 4,0$ (CI 95% 6,1;7,7), и превышает среднюю по региону в общей выборке ($5,5 \pm 3,8$ (CI 95% 5,1; 5,9)).

Выявлена достоверная связь между стадийностью процесса и показателями вирусной нагрузки ($p=0,043$, CI 95 %, $n=64$). Наибольший вклад $v\chi^2$ внесен StIIa.

Вирусная нагрузка в исследованных образцах возрастает от стадии TIS до StIIAB, демонстрируя наибольший размах в стадии TIS, а максимальное количество выбросов и крайних точек в стадии StIIAB.

Результаты матчинга, выполненного для выявления доминирующих факторов риска реализации РШМ в Западном регионе РК:

на основании проведенного в рамках матчинга анализа таблиц сопряженности по Pierson's χ^2 и Cramer's V-критерия и результатов теста Манна-Уитни, детализирующих анализ количественных переменных, составлен профиль (социальный портрет) заболевших РШМ в регионе:

это женщины преимущественно в возрасте 50-60+ лет, инфицированные ВПЧ, преимущественно типом 16, малообразованные, неработающие, в большинстве малообеспеченные, со стажем половой жизни свыше 20 лет, не участвующие в скрининговых программах и не осведомленные о мерах профилактики РШМ (вакцинации). В профиле реализации РШМ также имеют значение большое количество беременностей и высокий уровень вирусной нагрузки.

Оценка вероятности наступления заболевания (РШМ) под влиянием проанализированных факторов риска с расчетом отношения шансов установила, что вероятность наступления заболевания раком шейки матки:

- уменьшается в 14 раз при уровне подушевого дохода 90000 тг+ (коэффициент отрицательный, -2,64);

- увеличивается в 0,9 раз при стаже половой жизни свыше 20 лет (показатель, близкий к 50/50);

- уменьшается в 3,3 раза при хотя бы нерегулярном участии в скринингах на РШМ (коэффициент отрицательный, -1,08).

Прогноз оправдывается для 73,9% инфицированных ВПЧ, но не заболевших РШМ и 70,3% заболевших.

Тренды заболеваемости РШМ в Западном регионе РК, полученные в линейном регрессионном анализе (методом наименьших квадратов) на основе динамики показателей из онкорегистра (формы №7) за последние 5 лет выявили тенденцию к росту инцидента РШМ женского населения Западного региона РК с темпом прироста $T_{пр}=3,2\%$.

Снижение трендов заболеваемости установлено в возрастных группах 30-39 лет ($T_{пр}=-6,2\%$) и 18-29 лет ($T_{пр}=-3,1\%$). Увеличение отмечается у лиц старше 40 лет, в особенности у лиц 40-49 лет ($T_{пр}=5,5\%$) и 70+ ($T_{пр}=13,6\%$), в результате чего отмечен общий рост заболеваемости РШМ у всего женского населения Западного региона РК.

На основании рассчитанных трендов заболеваемости РШМ в регионе определен эпидемиологический прогноз заболеваемости (инцидента) РШМ: ожидаемая заболеваемость РШМ в 2017 г. будет равна 26,9 и её 95% CI будет колебаться в пределах с 21,4 до 32,4 на 100000 женского населения, стандартизированного по возрасту.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для достижения цели и решения задач, поставленных в данной работе, был использован комбинированный дизайн, включавший в себя 3 компонента: опрос (N 1107), поперечное исследование в общей женской популяции Западного региона Казахстана (N 1107) и исследование «случай РШМ-контроль» (N 64).

Для выявления распространенности ВПЧ-инфекции с определением вирусной нагрузки в общей женской популяции и среди заболевших РШМ использовался метод ПЦР-Realtime с тест-системами российского производства. Впервые в клинической практике региона изучен преваленс ВПЧ в нормальной цитологии.

Для изучения роли потенциальных факторов риска реализации РШМ был использован опросник из 14 пунктов, условно разбитый на 2 блока: социодемографические и поведенческие параметры изучаемой популяции. Согласно общепринятым стандартам валидации, была проведена оценка опросника как инструмента с помощью расчета альфы Кронбаха.

Углубленный анализ влияния потенциальных факторов риска развития РШМ проведен методом матчинга (сопоставления «случай РШМ-контроль»). В рамках матчинга выполнен логистический регрессионный анализ с расчетом отношения шансов.

С целью предварительной оценки эффективности используемого в республике скринингового теста на выявление РШМ изучены показатели цитологической жидкостной технологии CellScan южнокорейского производства, сопоставленные с аналогичными показателями распространенной в РК традиционной технологии (окраска мазка по Романовскому-Гимзе).

Для предварительного решения вопроса о целесообразности внедрения вспомогательного скринингового метода VIA проведена оценка эффективности кольпоскопии в выявлении признаков ВПЧ-инфекции.

Рассчитаны тренды общей и возрастной заболеваемости РШМ в регионе на краткосрочный период, методом линейного регрессионного анализа выполнен прогноз инцидента РШМ на 2017 г.

Выводы, сделанные на основе полученных результатов

1) Общий преваленс ВПЧ по Западному региону РК -25,0% (22,3;27,7 CI 95%; $p=0,05$), оценивается как высокий для общей популяции.

Средняя вирусная нагрузка в группе инфицированных ВПЧ $5,5 \pm 3,8$ (CI 95% 5,1;5,9) также является высокой и может свидетельствовать о персистенции ВПЧ-инфекции у большинства обследованных вирусоносителей.

2) Лидирующим типом в общей популяции Западного региона РК является наиболее канцерогенный ВПЧ 16, с удельным весом до 26,4%, являющийся вакцинозависимым.

По результатам исследования «случай РШМ-контроль» установлено, что удельный вес ВПЧ 16 составляет 7/10 (71,9%) от общего количества выявленных типов в группе заболевших.

В целом, удельный вес так называемых «вакцинных типов» (6, 11, 16, 18), т.е. потенциально устранимых вакцинацией, составил в западном Казахстане 43,0%, а с 31 и 45 типами, также потенциально устранимыми вакцинацией – 59,6%. Этот показатель свидетельствует о необходимости возобновления иммунизационной программы (всеобщей вакцинации против РШМ).

Результаты исследования содержания ВПЧ в нормальной цитологии, выявившие в нашей работе на собственном материале высокий (46,0/44,8) процент ВПЧ в «нормальных», т.е. без признаков атипии, мазках, являются серьезным аргументом в пользу введения молекулярно-биологического тестирования женщин региона на ВПЧ. Еще более веским аргументом является определение высокого удельного веса наиболее канцерогенного генотипа 16 в мазках класса NILM (без атипии и малигнизации) - 30,6%.

В целом, получено основание для оценочных исследований по переходу на первичный ВПЧ-ориентированный скрининг, в котором цитология играет роль сортировочного инструмента.

3) Наибольшее количество аномально высоких значений вирусной нагрузки, зафиксированное в возрастной группе 30-39 лет, коррелирует с данными других исследователей, установивших, что в этой возрастной группе начинается процесс персистенции вируса и развитие CIN.

Несмотря на тот факт, что по анализу связи инфицированности ВПЧ с факторами риска в этой возрастной группе не был получен показатель $p \leq 0,05$, следует выделить этот возраст как *потенциально рискованный* в плане реализации РШМ.

4) В рамках сравнительного анализа цитологических инструментов скрининга РШМ установлено некоторое преимущество традиционного метода в сравнении с жидкостным, несмотря на то, что удельный вес совпавших с гистологическим заключением результатов составил в LBC группе 61,7%, а в группе Романовского-Гимзе – 60,6%.

Главным достоинством традиционного метода явилась его относительная надежность: удельный вес неинформативного материала в методе окраски по Романовскому-Гимзе ничтожно мал по сравнению с CellScan – 0,4% против 5,9%.

В условиях региона некоторое диагностическое преимущество традиционного метода предположительно связано с дефектными мембранными фильтрами CellScan, поставляемыми компанией-производителем – LTD “Tech Bio Co.”, South Korea, что обусловило низкий класс клеточности и значительное количество неинформативных заключений по CellScan. В динамике отмечается прогрессивное снижение числа неинформативного материала в группе CellScan.

Настоятельно необходимы дальнейшие оценочные исследования с большой выборкой.

5) В настоящей работе была дана оценка эффективности кольпоскопии в выявлении ВПЧ-инфекции шейки матки, как предиктора РШМ, оценена возможность экспериментального внедрения метода VIA (визуальная инспекция с ацетоуксусной кислотой) для малонаселенных районов региона.

По результатам анализа кольпоскопических данных установлено, что показатели вирусной нагрузки недостаточно коррелируют с визуально определяемой на кольпоскопии картиной поражений шейки матки. Отмечается несоответствие между относительно спокойной кольпоскопической картиной и значениями вирусной нагрузки от $5 (10^5)$ ГЭ/образец и выше, т.е. высокой, свидетельствующей о возможной персистенции ВПЧ.

При показателе ранговой корреляции Спирмена $r=0,33$ (умеренный, ближе к слабому) полученном в настоящей работе, внедрение метода VIA на данном этапе не представляется оправданным. Необходимы дальнейшие исследования с вовлечением большего количества специалистов.

б) Средняя вирусная нагрузка в группе заболевших РШМ, составившая $6,9 \pm 4,0$ (CI 95% 6,1;7,7), превышает среднюю по региону в общей выборке и достоверно связана со стадийностью процесса ($p=0,043$), возрастая от стадии TIS до StIIAB. Предположительно, продемонстрированный в стадии TIS наибольший размах вирусной нагрузки может свидетельствовать о необходимости прорыва базальной мембраны клеток плоского эпителия, после чего иммунные механизмы не в состоянии сдерживать репликацию вируса. Необходимы дальнейшие исследования.

7) По результатам опроса можно заключить, что посещаемость скрининговой программы в госучреждении крайне недостаточная (в общей выборке посещают только 62,7% респондентов, из них 28% нерегулярно; среди образованных респондентов посещаемость еще ниже). Аналогичная ситуация сложилась с осведомленностью о мерах первичной профилактики РШМ.

На основании составленного профиля (социального портрета) заболевших РШМ в регионе - женщины преимущественно в возрасте 50-60+ лет, инфицированные ВПЧ, преимущественно типом 16 – установлено, что ВПЧ-носительство вакцинозависимого типа 16 является одним из важнейших факторов риска в регионе.

Установлено, что вероятность заболевания раком шейки матки у инфицированных ВПЧ женщин региона может быть снижена или предотвращена путем увеличения уровня жизни и мобилизации участия женщин в общенациональной скрининговой программе.

Тренды заболеваемости РШМ в Западном регионе РК выявили тенденцию к росту заболеваемости РШМ женского населения Западного региона РК с темпом прироста $T_{пр}=3,2\%$.

Отмеченный в регионе рост заболеваемости РШМ в группе 70+ в целом согласуется с данными литературы о постоянной эволюции вируса папилломы человека и усилении роли потенциально / возможно / вероятно канцерогенных типов в реализации рака шейки матки. В перспективе этот вопрос должен быть всесторонне изучен в исследованиях на местном материале, включая метод секвенирования генов ВПЧ.

Ожидаемый инцидент РШМ в 2017 г., определенный в пределах от 21,4 до 32,4 на 100000 женщин, стандартизированных по возрасту, расценивается как очень высокий и влечет необходимость неотложных мер по его снижению.

Общее заключение

Существующая скрининговая программа характеризуется концептуальной отсталостью, так как не учитывает большую распространенность ВПЧ-инфекции, являющейся причинным фактором РШМ, в общей популяции женщин репродуктивного возраста, и не включает в себя необходимые диагностические инструменты, а именно молекулярно-биологические тесты для определения ВПЧ.

Учитывая довольно большую прослойку просвещенных женщин в республике, полученные неудовлетворительные данные по осведомленности о первичных мерах профилактики и посещаемости общенациональной скрининговой программы позволяют предположить, что государственные меры по профилактике РШМ недостаточны и не отвечают запросам населения, особенно образованной его части. То же касается и ситуации с посещаемостью государственных структур ПМСП.

Эффективность основного скринингового инструмента – жидкостной системы CellScan, на данном этапе не может быть признана удовлетворительной по ряду вышеизложенных причин.

Распространенность ВПЧ высокого канцерогенного риска в Казахстане влечет неотложную необходимость в возобновлении государственной программы первичной профилактики инфекции, т.е. всеобщей обязательной вакцинации подростков.

В регионе ожидается дальнейший рост заболеваемости и смертности от РШМ, несмотря на проведение скрининговых мероприятий.

Необходим пересмотр существующей скрининговой практики для снижения растущей заболеваемости РШМ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Исходя из актуальности проблемы, наработанного казахстанскими специалистами опыта и имеющихся ресурсов, совместно с ведущими специалистами КазНИИОиР разработаны следующие рекомендации, ранее частично опубликованные в журнале «Онкология и радиология Казахстана»:

1) Пересмотреть методологические подходы к скрининговой стратегии, реализуемой в стране. Организовать переход на ВПЧ-ориентированный скрининг, доказавший свою эффективность в общемировом масштабе, т.е. использовать скрининговые инструменты только в комбинированном режиме ВПЧ-тест+ПАП, согласно новейшим (от октября 2016 г.) европейским экспертным оценкам скрининговых технологий, с уровнем доказательности IA[140].

2) Утвердить механизм валидации методов скрининга и провести все тесты популяционного скрининга через данный механизм. Разработать соответствующую Заявку в Комитет МЗ РК по Оценке медицинских технологий (ОМТ), согласно общепринятой в мировой практике процедуре оценки.

3) Увеличить охват женского населения, в том числе через повышение информированности путем перемещения разъяснительной кампании в отношении скрининга и вакцинации против РШМ в русло интернета. Согласно данным Комитета по статистике РК[100], процентная доля женщин в возрасте 15-24 лет, пользующихся интернетом (социальные сети, мессенджеры) составляет 94,6%, тогда как доля женщин в возрасте 15-49 лет, хотя бы раз в неделю использующих масс-медиа (газеты, журналы, радио, телевизор), составляет всего 16,1%.

4) Повысить ответственность специалистов кабинетов патологии шейки матки (кольпоскопических центров) за конечные результаты скрининга в соответствующем учреждении ПМСП. Усилить взаимодействие скрининговых этапов: ПМСП-скрининг – врач общей практики - врач-гинеколог - кабинет кольпоскопии, т.е. отладить прямую и обратную связь в системе оздоровления женщин с выявленной предопухоловой патологией.

5) Повысить уровень подготовки врачей-цитологов для выдачи заключений по скринингу только на основе терминологии Бетезда (TBS, 2001), а также для свободной интерпретации молекулярно-биологических тестов.

6) Наладить государственную систему подготовки врачей-лаборантов для работы в государственных ПЦР-лабораториях, усилить качественно и количественно подготовку молекулярных биологов.

7) Пересмотреть существующие Протоколы диагностики и лечения папилломавирусных инфекций: ввести понятия «вирусная нагрузка», «транзиторная» и «персистирующая» ВПЧ-инфекция, для рационального ведения пациентов с положительными результатами ПЦР ВПЧ и цитологического исследования.

8) Возобновить государственную иммунизационную программу против

ВПЧ путем включения пункта обязательной вакцинации девочек-подростков 11-12 лет в Национальный календарь прививок.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1 World Cancer Research Fund International / Cancer facts and figures / Worldwide data // <http://www.wcrf.org/int/cancer-facts-figures/data-specific-cancers-statistics>.

2 Varghese C., Carlos MC., Shin HR. Cancer burden and control in the Western Pacific region: challenges and opportunities // *Ann Glob Health*. –2014. -Vol. 80, № 5. - P. 358-369.

3 Bruni L., Barrionuevo-Rosas L., Albero G., Serrano B., Mena M., Gomez D., Munoz J., Bosch FX., de Sanjose S. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Asia. Summary Report.–2016.–P. 16.

4 Ophira Ginsburg, Freddie Bray, Michel P Coleman, Verna Vanderpuye, Alexandru Eniu et al. The global burden of women’s cancers: a grand challenge in global health // *The Lancet*. – 2016. – Vol. 389, №10071.-P. 847-860.//[http://thelancet.com.s0140-6736\(16\)31392-7](http://thelancet.com.s0140-6736(16)31392-7).

5 Здоровье населения Республики Казахстан и деятельность организаций здравоохранения в 2015 году // Статистический сборник Республики Казахстан. - Астана, 2016.// <http://www.mzsr.gov.kz>.

6 GLOBOCAN 2012 (IARC).Section of Cancer Information. Available // http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx.

7 Нургазиев К.Ш., Жылкайдарова А.Ж., Кайрбаев М.Р., Болатбекова Р.О. Оценка показателей заболеваемости и смертности от рака шейки матки в Республике Казахстан за 2004–2014 годы // *Онкология и радиология Казахстана*. – 2016. – Т.39, №1. –С.3-9.

8 Igissinov N., Nuralina I., Igissinova G., Kim S., Moore MA et al. Epidemiological Aspects of Morbidity and Mortality from Cervical Cancer in Kazakhstan // *Asian Pacific J Cancer Prev*. -2012. - Vol. 13. - P. 2345-2348.

9 Bruni L., Barrionuevo-Rosas L., Albero G., Aldea M., Serrano B., Valencia S., Brotons M., Mena M., Cosano R., Munoz J., Bosch FX., de Sanjose S., Castellsague X. (ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre)). Human Papillomavirus and Related Diseases in Kazakhstan. Summary Report 2015-12-23. – 2015. -P.6-7. // <http://www.hpvcentre.net/statistics/reports/KAZ.pdf>.

10 Mesher D., Soldan K., Howell-Jones R., Panwar K., Manyenga P. Reduction in HPV 16/18 prevalence in sexually active young women following the introduction of HPV immunisation in England // *Vaccine*.– 2013. – Vol. 32, №1. - P. 26-32.

11 Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.A Review of Human Carcinogens: Biological Agents. - Lyon: International Agency for Research on Cancer.IARC, 2012. - Vol.100B.

12 Schiffman M., Clifford G., Buonaguro F.M. Classification of weakly carcinogenic human papillomavirus types: addressing the limits of epidemiology at the borderline // *Infect. Agent Cancer*.– 2009. – Vol. 4, № 8. - P. 17-29.

13 Feoli Fonseca J.C., Oligny L.L., Filion M., Brochu P., Russo P.A., Yotov W.V. (Dept of Pathology, Research Center, Univ of Montreal, Canada). Direct

human papillomavirus (HPV) sequencing method yields a novel HPV in a human immunodeficiency virus-positive Quebec woman and distinguishes a new HPV clade // *J Infect Dis.* – 1998. – Vol.178, №5. - P. 1492-1496.

14 Bernard H.U., Burk R.D., Chen Z., van Doorslaer K., zur Hausen H., de Villiers E.M. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments // *Virology.*– 2010. – Vol. 401. – P. 70–79.

15 Mesri E.A., Feitelson M.A., Munger K. Human viral oncogenesis: a cancer hallmarks analysis // *Cell Host Microb.*– 2014. – Vol. 15. - P. 266–282.

16 Bzhalava D., Guan P., Franceschi S., Dillner J., Clifford G. A systematic review of the prevalence of mucosal and cutaneous human papillomavirus types // *Virology.*– 2013. – Vol. 445. - P. 224–231.

17 Muñoz N., Bosch F.X., de Sanjosé S., Herrero R., Castellsagué X., Shah K.V., Snijders P.J., Meijer C.J. (International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group). Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer // *N Engl J Med.*– 2003. – Vol. 348, №6. – P. 518-527.

18 Halc G., Alemany L., Lloveras B., Schmitt M., Alejo M., Bosch F.X., Tous S., Klaustermeier J.E., Guimerà N., Grabe N., Lahrmann B., Gissmann L., Quint W., de Sanjose S., Pawlita M. (Retrospective International Survey and HPV Time Trends Study Group). Pathogenic role of the eight probably/possibly carcinogenic HPV types 26, 53, 66, 67, 68, 70, 73 and 82 in cervical cancer // *J Pathol.*– 2014. – Vol. 234, № 4. – P. 441-451.

19 Arbyn M., Tommasino M., Depuydt C., Dillner J. Are 20 human papillomavirus types causing cervical cancer? // *J Pathol.*– 2014. – Vol. 234, № 4. – P. 431-435.

20 Chen A., Heideman D., Boon D., Chen Z., Burk R.D., De Vuyst H., Gheit T. Human papillomavirus 33 worldwide genetic variation and associated risk of cervical cancer // *Virology.*– 2014. – Vol. 448. – P. 356-362.

21 Chen A., Heideman D., Boon D., Gheit T., Snijders P., Tommasino M., Franceschi S. Human papillomavirus 45 genetic variation and cervical cancer risk worldwide // *J Virology.*– 2014. – Vol. 88, №8. – P. 4514-4521.

22 Cornet I., Gheit T., Iannacone M.R., Vignat J., Sylla B.S., Del Mistro A., Franceschi S., Tommasino M., Clifford G.M. (the IARC HPV Variant Study Group). HPV 16 genetic variation and the development of cervical cancer worldwide // *Brit Journal of Cancer.*– 2013. – Vol. 108. – P. 240-244.

23 Clifford G.M., Gallus S., Herrero R., Muñoz N. et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis // *Lancet.*– 2005. - Vol. 366, № 9490. – P. 991-998.

24 Kjær S.K., Munk C., Junge J., Iftner T. Carcinogenic HPV prevalence and age-specific type distribution in 40,382 women with normal cervical cytology, ASCUS/LSIL, HSIL, or cervical cancer: what is the potential for prevention? // *Cancer Causes & Control, An International Journal of Studies of Cancer in Human Populations.* – 2013. – Vol. 25, №320. - P. 1011-1023.

25 Guido M., Tinelli A., De Donno A., Bruno A.R. et al. Prevalence and Distribution of Human Papillomavirus Genotype in South Eastern Italy, in the Period 2006-2011: Implications for Intervention // *Current Pharm design.*– 2013. – Vol. 19. – P. 1498-1507.

26 En-Qi Wu, Bin Liu, Jian-Feng Cui, Wen Chen et al. Prevalence of type-specific human papillomavirus and pap results in Chinese women: a multi-center, population-based cross-sectional study // *Cancer Causes Control.*– 2013. – Vol. 24. – P. 795–803.

27 Wang Y.Y., Li Li, Wei S., Peng Ji, Yuan S.X. Human Papillomavirus (HPV) Infection in Women Participating in Cervical Cancer Screening from 2006 to 2010 in Shenzhen City, South China // *Asian Pac J Cancer Prev.* - 2013. – Vol. 14, № 12. – P. 7483-7487.

28 Yang L., Yang H., Wu K., Shi X., Ma S. Prevalence of HPV and Variation of HPV 16/HPV 18 E6/E7 Genes in Cervical Cancer in Women in South West China // *J of Med Virol.* – 2014. - Vol. 86, № 11. – P. 1926-1936.

29 Zhao F.H., Zhu F.C., Chen W., Li J., Hu Y.M. et al. Baseline prevalence and typedistribution of human papillomavirus in healthy Chinese women aged 18-25 years enrolled in a clinical trial // *Int J of Cancer.*– 2014. - Vol. 135, № 11. – P. 2604-2611.

30 Wagner M., Bennetts L., Patel H., Welner Sh., de Sanjose S., Weiss T.W. Global availability of data on HPV genotype-distribution in cervical, vulvar and vaginal disease and genotype-specific prevalence and incidence of HPV infection in females // *Infect Agents and Cancer.*- 2015. - Vol.10, №13.-P. 344-352.

31 Rogovskaya S. et al. Human Papillomavirus Prevalence and Type-Distribution, Cervical Cancer Screening Practices and Current Status of Vaccination in Russian Federation, the Western Countries of the former Soviet Union, Caucasus Region and Central Asia // *Vaccine.*–2013. -Vol. 06, № 043. – P. 1031-1047.

32 Абдихакимов А.Н., Кошкина Т.А., Султанов Д.Т. Первый опыт скрининга рака шейки матки с определением вируса папилломы человека в центрально-азиатском регионе// *Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина. РАМН.*– 2010. - Т. 21, № 3. – С.56-67.

33 Андосова А.А., Конторщикова К.Н., Качалина О.В., Куделькина С.Ю. Выявление онкогенных типов вируса папилломы человека у женщин с патологией шейки матки // *Сборник тезисов VII Международного Конгресса по репродуктивной медицине.* – М., 2013. - С. 26.

34 Bekmukhambetov Y.Z., Balmagambetova S.K., Jarkenov T.A., Nurtayeva S.M., Mukashev T.Z., Koysybaev A.K. Distribution of High Risk Human Papillomavirus Types in Western Kazakhstan – Retrospective Analysis of PCR Data // *Asian Pac J Cancer Prev.*– 2016. – Vol. 17, №5. – P. 2667-2672.

35 Kairbayev M., Chingissova Z., Shibanova A. et al. Planning future cervical cancer prevention strategy in Kazakhstan// *Abstracts from 18th International Meeting of the European Society of Gynaecological Oncology (ESGO), 19-22 October 2013, Liverpool, UK.* *Int J Gynecol Cancer.* – 2013. –Vol.23, №8 (1). – P.1031.

36 Cuzick J., Arbyn M., Sankaranarayanan R. et al. Overview of Human Papillomavirus-Based and Other Novel Options for Cervical Cancer Screening in Developed and Developing Countries // Vaccine.– 2008. – Vol. 26S. - P. 29–41.

37 Breitburd F., Ramoz N., Salmon J., Orth G. HLA control in the progression of human papillomavirus infections // Semin Cancer Biol.– 1996. – Vol. 7, №6. – P. 359-371.

38 Tinelli A., Guido M., Zizza A., Pellegrino M., Greco M., Vergara D., Mynbaev O.A. et al. The mRNA-HPV Test Utilization in the Follow Up of HPV Related Cervical Lesions // Current Pharm Design.– 2016. – Vol. 19, № 8. – P. 1458-1465.

39 Chen X., Bode A.M., Dong Z., Cao Y. The epithelial–mesenchymal transition (EMT) is regulated by oncoviruses in cancer // The FASEB journal. – 2016. – Vol. 30. - P. 1233-1240.

40 Zoodsma M., Sijmons R.H., de Vries E., van der Zee A. Familial Cervical Cancer: Case Reports, Review and Clinical Implications // Hereditary Cancer in Clinical Practice. – 2004. – Vol. 2. – P. 99-105.

41 GLOBOCAN 2013. Section of Cancer Information. Available // <http://globocan.iarc.fr/factsheets/cancers/cervix.aspx>.

42 Fonseca-Moutinho J.A. Smoking and Cervical Cancer // Obstet Gynecol. - 2011. – Vol. 84. – P. 76-84.

43 Castellsagué X., Muñoz N. Chapter 3: cofactors in human papillomavirus carcinogenesis: role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking // Journal of the National Cancer Institute.– 2003. – Vol. 31. – P. 20–28.

44 Syrjanen K., Shabalova I., Petrovichev N. et al. Smoking is an independent risk factor for oncogenic human papillomavirus (HPV) infections but not for high-grade CIN // European Journal of Epidemiology.– 2007. – Vol. 22, №10. – P. 723–735.

45 Moberg M., Gustavsson I., Wilander E., Gyllensten U. High viral loads of human papillomavirus predict risk of invasive cervical carcinoma // Br J Cancer.– 2005. – Vol. 92, № 5. – P. 891–894.

46 Dalstein V., Riethmuller D., Prétet J.L., LeBail Carval K., Sautière J.L., Carbillet J.P., Kantelip B., Schaal J.P., Mouglin C. Persistence and load of high-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions: a longitudinal French cohort study // Int J Cancer. - 2003. - Vol. 106, № 3. – P. 396-403.

47 Al-Shabanah O.A., Hafez M.M., Hassan Z.K., Sayed-Ahmed M.M., Abozeed W.N. et al. Human papillomavirus genotyping and integration in ovarian cancer Saudi patients // Virology Journal.– 2013. – Vol. 10, № 343.- P. 911-921.

48 Meneses Venceslau E., Mauro Muniz Bezerra M., Mota Lopes A.C., Vieira Souza E. et al. HPV detection using primers MY09/MY11 and GP5+/GP6+ in patients with cytologic and/or colposcopic changes // J Bras Patol Med Lab.– 2014. – Vol. 50, № 4. – P. 280-285.

49 Boumba et al. Genetic variability in E6 and E7 oncogenes of human papillomavirus Type 16 from Congolese cervical cancer isolates // *Infect Agents Cancer.*– 2015. – Vol. 10, № 15. – P.431-445.

50 The five FDA-approved HPV assays - MLO Online// <https://www.mlo-online.com/the-five-fda-approved-hpv-assays.php> Jul 1, 2012.

51 Boehmer G., Wang L., Iftner A., Holz B. et al. A population-based observational study comparing Cervista and Hybrid Capture 2 methods: improved relative specificity of the Cervista assay by increasing its cut-off // *BMC Infect. Dis.*-2014. – Vol. 14, № 674.-P.22-31. // <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/14/674>.

52 Boers A., Wang R, van Leeuwen R.W., Klip H.G., de Bock G.H. Discovery of new methylation markers to improve screening for cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3 // *Clin Epigenetics.*– 2016. – Vol. 8, № 29. -P.1291-1302.

53 Yu-Hong W., Rui C., Ding L. A quantum dots and superparamagnetic nanoparticle-based method for the detection of HPV DNA // *Nanoscale Research Letters.*-2011. – Vol. 6, № 461.-P.325-331.// <http://www.nanoscalereslett.com/content/6/1/461>.

54 Boicea A., Pătrașcu A., Surlin V., Iliescu D. et al. Correlations between colposcopy and histologic results from colposcopically directed biopsy in cervical precancerous lesions // *Rom j morphol embryo.* – 2012. – Vol. 53, №3. – P. 735–741.

55 Ghosh I., Mittal S., Banerjee D., Singh P., Dasgupta S. et al. Study of accuracy of colposcopy in VIA and HPV detection-based cervical cancer screening program // *Aust N Z J Obstet Gynaecol.*– 2014. – Vol. 54, № 6. – P. 570-575.

56 Bucci L., Cristiani P., Costa S., Schincaglia P., Garutti P., Sassoli de Bianchi P., Naldoni C., Olea O., Sideri M. Rationale and development of an on-line quality assurance programme for colposcopy in a population-based cervical screening setting in Italy//*BMC Health Serv Res.*– 2013. – Vol. 13, № 327. - P.110-123. // <http://www.biomedcentral.com/1472-6963/13/237>.

57 Bifulco G., De Rosa N. A prospective randomized study on limits of colposcopy and histology: the skill of colposcopist and colposcopy-guided biopsy in diagnosis of cervical intraepithelial lesions // *Infect Agents Cancer.*– 2015. – Vol. 10, № 47. - P. 42-49.

58 Dilip Kumar Dutta. *Recent Advances in Gyne-Oncology.* – Jaippee Bros: Med. Publishers, 2011.–P. 237-239.

59 Nanda K., McCrory D.C., Myers E.R., Bastian L.A., Hasselblad V., Hickey J.D. et al. Accuracy of the Papanicolaou test in screening and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review // *Ann Intern Med.*– 2005. – Vol. 132. – P. 810-819.

60 Armstrong C. Practice Guidelines. ACOG updates guidelines on cervical cytology screening // *Amer Fam Physician.*– 2012. – Vol. 81, № 11. – P. 1380 – 1385.

61 Qin-Jing Pan et al. Pooled analysis of the performance of liquid-based cytology in population-based cervical cancer screening studies in China // *Cancer Cytopathol.*– 2013. – Vol. 121. - P. 473-482.

62 Taylor S., Kuhn L., Dupree W., Denny L., De Souza M., Wright T.C. Direct comparison of liquid-based and conventional cytology in a South African screening trial // *Int. J. Cancer.* – 2006. – Vol. 118. – P. 957–962.

63 Tawfik O., Davis M., Dillon S., Tawfik L., Diaz FJ., Fan F. Whole Slide Imaging of Pap Cell Block Preparations versus Liquid-Based Thin-Layer Cervical Cytology: A Comparative Study Evaluating the Detection of Organisms and Nonneoplastic Findings// *Acta Cytol.* – 2014. – Vol. 58, № 4. – P. 388-397.

64 Tawfik O., Davis M., Dillon S., Tawfik L., Diaz FJ., Amin K., Fan F. Whole-Slide Imaging of Pap Cellblock Preparations Is a Potentially Valid Screening Method // *Acta Cytol.* – 2015. - Vol. 59, №2. - P.187-200.

65 Flores Y.N., Bishai D.M., Lörincz A., Shah K.V. et al. HPV testing for cervical cancer screening appears more cost-effective than Papanicolaou cytology in Mexico // *Cancer Causes & Control.* – 2011. - Vol. 22, № 2. – P. 261-272.

66 IARC Screening Group/Fact-sheets/Cervix cancer/10 Key Findings and Recommendations for Effective Cervical Cancer Screening and Treatment Programs// <http://screening.iarc.fr/fact-sheets.php>.ACCP_recs_2007_factsheet_final (1).

67 WHO guidelines for screening and treatment of precancerous lesions for cervical cancer prevention.–2013. // http://9789241548694_eng.pdf.

68 Basu P., Joshi S., Sankaranarayanan R. Human Papillomavirus (HPV) Testing for Secondary Prevention of Cervical Cancer // *Cur Obstet Gynecol Rep.*– 2015. – Vol. 4, № 4. – P. 201–212.

69 Health Council of the Netherlands: Population screening for cervical cancer. - The Hague: Health Council of the Netherlands. Executive Summary, 2011.-№ 2011/07E. - P. 12-17.

70 Smith J.S., Brewer N.T., Saslow D., Alexander K., Chernofsky M.R., Crosby R. et al. Recommendations for a national agenda to substantially reduce cervical cancer // *Cancer Causes & Control.*– 2013. – Vol. 24, №8. – P. 1583-1593.

71 Bernard E., Pons-Salort M., Favre M., Heard I., Delarocque-Astagneau E., Guillemot D., Thiebaut A.C.M. Comparing human papillomavirus prevalences in women with normal cytology or invasive cervical cancer to rank genotypes according to their oncogenic potential: a meta-analysis of observational studies // *BMC Infect Dis.* - 2013. – Vol. 13, № 373. - P. 334-341.

72 Ronco G., Biggeri A., Confortini M., Naldoni C., Segnan N., Sideri M., Zappa M., Zorzi M., Calvia M., Accetta G., Giordano L., Cogo C., Carozzi F., Gillio T.A., Arbyn M., Meijer C.J., Snijders P.J., Cuzick J., Giorgi Rossi P. Health technology assessment report: HPV DNA based primary screening for cervical cancer precursors // *Epidemiol Prev.* - 2012. – Vol. 36. – P. 61-72.

73 Mittal S., Mandal R., Banerjee D., Das P., Ghosh I. et al. HPV detection-based cervical cancer screening program in low-resource setting: lessons learnt from a community-based demonstration project in India // *Cancer Cases & Control.*– 2016. – Vol. 27. – P. 351-358.

74 National Cervical Screening Program Renewal. Medical Services Advisory Committee of Australia // Australia MSAC application. -2013. - №1276.– P. 107-110.

75 Smith M.A., Gertig M., Hall M., Simms K., Lew J.B., Malloy M., Saville M., Canfell K. Transitioning from cytology-based screening to HPV-based screening at longer intervals: implications for resource use // BMC Health Serv Res. – 2016. – Vol. 16, № 147. – P. 1375-1379.

76 Nowakowski A., Cybulski M., Sliwczynski A., Chil A., Teter Z., Seroczynski P., Arbyn M., Anttila A. The implementation of an organised cervical screening programme in Poland: an analysis of the adherence to European guidelines // BMC Cancer.– 2015. – Vol. 15, № 279. – P. 1242-1249.

77 The final Report of the MIDDIR Project on HPV test on primary screening// <http://www.cpo.it/en/news/2016/screening>. Assessed 16 Apr 2016.

78 Ранняя диагностика рака шейки матки на уровне первичной медико-санитарной помощи. Цитологический скрининг: методические рекомендации / под редакцией д.м.н. Нургазиева К.Ш. – Алматы, 2012.– С.6-12.

79 Дуненова Г.А., Кайдарова Д.Р., Ошибаева А.Е., Югай Т.А. Выявление рака шейки матки в г. Алматы // Вестник КазНМУ. –2014. – №2(4). – С.126-129.

80 Бекмухамбетов Е.Ж., Балмагамбетова С.К., Жылкайдарова А.Ж., Елеубаева Ж.Б., Койшыбаев А.К., Уразаев О.Н., Каримсакова Б.К., Рыжкова С.Н., Заваленная О.В., Саханова С.К., Уразаева Ж.Ж., Коктова С.Е., Саркулова К.К., Якупова Л.М. Современные тенденции в области скрининга рака шейки матки // Онкология и радиология Казахстана. - 2017. - № 2 (44). – С. 30-38.

81 Эрозия, эктопия и эктропион шейки матки. Клинический протокол, 2015. // http://www.rcrz.kz/docs/clinic_protocol/...Эрозия, эктопия...

82 Клинический Протокол диагностики и лечения. Аногенитальные бородавки//http://www.rcrz.kz/docs/clinic_protocol/...Аногенитальные бородавки...

83 Клинические рекомендации по ведению больных с аногенитальной папилломавирусной инфекцией / под ред. Баева А.И. – Здоровье Казахстана. - 2012. // http://www.health-kz.com/...klinicheskie_recomendacii...

84 Nasrytdinova N., Kayrbaev M., Reznik V. Experience of implementation vaccination programs against Human Papillomavirus in the world, reasons for rejection of the vaccine (literaturereview) // <https://kaznmu/kz/press/wp-content/uploads/2016/06/Experience...>

85 USA CDC Press Release 19 June 2013: New study shows HPV vaccine helping lower HPV infection rates in teen girls // <https://www.cdc.gov/vaccines/news/press-rel/>.

86 Debbie Saslow, Kimberly S. Andrews, Deana Manassaram-Baptiste, Lacey Loomer, Kristina E. Lam et al. on behalf of the American Cancer Society Guideline Development Group. Human papillomavirus vaccination guideline update: American Cancer Society guideline endorsement // CA Cancer J Clin. - 2016. – Vol. 66. - P.375–385.

87 STROBE Statement - Checklist of items that should be included in reports of observational studies // <http://www.strobe-statement.org>.

88 WHO / Informed Consent Form // http://www.who.int/rpc/research_ethics/informed_consent/en/.

89 Численность населения РК по областям, городам и районам на 01.01.2014 г. Комитет по статистике Министерства национальной экономики РК. // <https://www.stat.gov.kz>.

90 Данные по уровню прожиточного минимума за IV квартал 2014 г. Комитет по статистике Министерства национальной экономики РК. // <https://www.stat.gov.kz>.

91 Руководство по проведению скрининга целевых групп женского населения на раннее выявление предопухолевых процессов и злокачественных новообразований шейки матки / под ред. д.м.н. Нургазиева К.Ш. – Алматы, 2012.- С. 6-10.

92 Coppleson M, Pixley E, Reid B. Colposcopy: a Scientific and Practical Approach to the Cervix in Health and Disease. 3rd ed. Springfield, IL / Charles C. Thomas. - 1975. – P. 67-75.

93 Роговская С.И., Подзолкова Н.М., Минкина Г.Н., Короленкова Л.И., Аكوпова Е.С. Новое в кольпоскопии // Гинекология. –2011.– № 06. - С. 14-18.

94 Rosella Saulle, Silvia Miccoli, Brigid Unimetal. Validation of a questionnaire for young women to assess knowledge, attitudes and behaviors towards cervical screening and vaccination against HPV in Italy // Epidemiology Biostatistics and Public Health. – 2014. - Vol. 11, № 2. – P.173-181.

95 Katarzyna Jaglarz, Krzysztof A. Tomaszewski, Wojciech Kamzol, Mirosława Puskulluoglu, Krzysztof Krzemieniecki. Creating and field-testing the questionnaire for the assessment of knowledge about cervical cancer and its prevention among schoolgirls and female students // J Gynecol Oncol. – 2014. - Vol. 25, № 2. - P. 81-89.

96 Бекмухамбетов Е.Ж., Балмагамбетова С.К., Койшыбаев А.К., Уразаев О.Н., Уразаева Ж.Ж. Применение альфы Кронбаха в контроле согласованности опросника на предмет выявления факторов риска ВПЧ-инфекции // Серия конференций ЗКГМУ им. М. Оспанова, Батыс Казахстан медицина журналы. – Актобе, 2017. – Т.1. – С. 130-135.

97 Мониторинг доходов и уровня жизни населения в Республике Казахстан // Аналитическая записка Агентства Республики Казахстан по статистике Департамента статистики труда и уровня жизни.–Астана, 2011. - С. 6. // http://www.stat.kz/publishing/Pages/UZHN_2011.aspx.

98 Мониторинг доходов и уровня жизни населения в Республике Казахстан // Аналитическая записка Агентства Республики Казахстан по статистике.–Астана, 2013. - С. 10-12. // http://www.stat.kz/publishing/Pages/UZHN_2013.aspx.

99 Куница С., Кудашева Т. Оценка пространственного неравенства в Казахстане, порожденного нефтяными доходами // Казахский экономический вестник. -2014. - №1-2.- С. 2-14.

100 Итоговый отчет по результатам кластерного обследования по многим показателям (MICS), проведенного в Казахстане в 2015 г. – Астана: Комитет по статистике МНЭ РК, ЮНИСЕФ и ЮНФПА, 2016.–332 с.

101 Igissinov N., Zatoskikh V., Moore MA., Igissinov S., Aldiyarova G. Laryngeal Cancer in Kazakhstan - Ethnic, Age and Gender Differences over Time //Asian Pacific J Cancer Prev.–2013. – Vol. 14, № 11. – P. 7033-7037.

102 Freire MP, Pires D, Forjaz R, Sato S, Cotrim I. Genital prevalence of HPV types and co-infection in men// Int braz j urol.–2014. – Vol. 40, №1. – P. 67-71.

103 Preparing for the Introduction of HPV Vaccine in the WHO European Region. Strategy paper. Vaccine-Preventable Diseases and Immunization Programme. WHO Regional Office for Europe. World Health Organization 2008// <http://www.euro.who.int/pubrequest>.

104 Van Krieking G., Castellsague X., Cibula D., Demarteau N. Estimation of the potential overall impact of human papillomavirus vaccination on cervical cancer cases and deaths // Vaccine.– 2014. – Vol. 32, № 6. – P. 733-739.

105 Orlando G., Fasolo M., Mazza F., Ricci E., Esposito S. Risk of cervical HPV infection and prevalence of vaccine-type and other high risk HPV types among sexually active teens and young women (13-26 years) enrolled in the VALHIDATE study // Human Vaccines and Immunotherapeutics.– 2014. – Vol. 10, № 4. – P. 986-994.

106 Osborne S.L., Tabrizi S.N., Brotherton J.M. Assessing genital human papillomavirus genoprevalence in young Australian women following the introduction of a national vaccination program // Vaccine.– 2015. – Vol. 1, S.33, № 1. – P. 201-208.

107 De Flora S., Bonanni P. The prevention of infection-associated cancers // Carcinogenesis. - 2011. - Vol. 32. – P. 787–795.

108 de Martel C., Ferlay J., Franceschi S., Vignat J., Bray F., Forman D., et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis // Lancet Oncol.- 2012. – Vol. 13. - P. 607–615.

109 Karamanidou C., Dimopoulos K. Greek health professionals' perceptions of the HPV vaccine, state policy recommendations and their own role with regards to communication of relevant health information // BMC Public Health.– 2016. – Vol. 16, № 467. – P.2831-2835.

110 FDA approval of nonavalent HPV vaccine adds new tool to eradicate cervical cancer. FDA Approval Letter // <https://www.sgo.org/.../fda-approval-of-nonavalent-vaccine...>

111 Riethmuller D., Jacquard A-C., Lacau St Guily J., Aubin F., Carcopino X. et al. Potential impact of a nonavalent HPV vaccine on the occurrence of HPV-related diseases in France // BMC Public Health.–2015. – Vol. 15, №453. – P. 1779-1781.

112 Fishman J., Taylor L., Kooker P., Frank I. Parent and Adolescent Knowledge of HPV and Subsequent Vaccination // Pediatrics. – 2014. –Vol. 134, № 4.–P. 1049-1056.

113 Yousefzadeh A., Mostafavizadeh S.M., Jarollahi A., Raeisi M., Garshasbi

M. Human Papillomavirus (HPV) Prevalence and Types among Women Attending Regular Gynecological Visit in Tehran, Iran // *Clinical Laboratory*. – 2014. – Vol. 60, № 2. – P. 267-273.

114 Sadvosky ADI et al. Human Development Index and secondary prevention of breast and cervical cancer: an ecological study // *Cad. Saude Publica, Rio de Janeiro*. – 2015. – Vol. 31, №7. – P. 1539-1550.

115 Human Development Report 2016. UNDP// <https://www.hdr.undp.org>.

116 Bekmukhambetov Y.Z., Balmagambetova S.K., Jarkenov T.A., Koysybaev A.K., Urazayev O.N., Zavalennaya O.V., Koktova S.I., Sarkulova K.K., Yerimbetova G.G., Balmagambetova Zh., Yakupova L.M., Zholdybayeva E.V. HPV prevalence, type distribution and vaccination awareness in women of Mangystau province of Western Kazakhstan // *Fundamental and Applied Sciences Today X, Proceedings of the Conference*. - North Charleston, 2016. -Vol. 3.–P. 36-39; North Charleston, SC, USA: CreateSpace, 2017.

117 Бекмухамбетов Е.Ж., Балмагамбетова С.К., Койшыбаев А.К., Уразаев О.Н., Еримбетова Г.Г., Каримсакова Б.К., Рыжкова С.Н., Заваленная О.В., Саханова С.К., Уразаева Ж.Ж., Коктова С.Е., Саркулова К.К., Якупова Л.М., Тауекелова К.А. Инфицированность вирусом папилломы человека и осведомленность о вакцинации против рака шейки матки у женщин г. Уральска Западно-Казахстанской области // *Медицина*. - 2017. -№ 6.–С. 27-36.

118 Morabia A, Zhang FF. History of medical screening: from concepts to action // *Postgraduate Medical Journal*. BMJ. – 2003. - Vol. 80. – P. 946.

119 Кулаков В.И. Современные подходы к диагностике папилломавирусной инфекции гениталий женщин и их значение для скрининга рака шейки матки // *Гинекология*. - М., 2000. - №1 (2). - С. 4 - 8.

120 Michalas SP. The Pap test: George N. Papanicolaou (1883-1962). A screening test for the prevention of cancer of uterine cervix // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. - 2000. – Vol.90. - P. 135 –138.

121 Karen Cormier, Michael Schaaf, Stephanie Hamilton, Ronald J. Tickman, Nuria Perez-Reyes and Charles D. Sturgis. NILM Pap Slides From Women 30 Years of Age and Older With Positive High-Risk HPV DNA. Focused Rescreening Prior to Report Issuance, An Enhanced Quality Control Measure // *Am J Clin Pathol*. – 2014. – Vol. 141. – P. 494-500.

122 Saslow D., Solomon D., Lawson HW., et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer // *Am J Clin Pathol*. - 2012. – Vol. 137. – P. 516-542.

123 Taoka H., Yamamoto Y., Sakurai N., Fukuda M. et al. Comparison of conventional and liquid-based cytology, and human papillomavirus testing using SurePath preparation in Japan // *Human Cell*. - 2010. – Vol. 23. – P. 126–133.

124 Ye. Zh. Bekmukhambetov, S.K. Balmagambetova, A.K. Koysybaev, O.N. Urazayev, B.K. Karimsakova, S.N. Ryzhkova, G.G. Yerimbetova, S.K. Sakhanova, O.V. Zavalennaya, Zh. Zh. Urazayeva. Comparative analysis of diagnostic tools for cervical cancer screening in Western Kazakhstan // *The 6th*

Annual International Scientific-Practical Conference“Medicine Pressing Questions”. Proceedings book.–Azerbaijan: Baku, Medical Review, 2017. -Vol. 4.- P. 41-42.

125 De Sanjosé S., Diaz M., Castellsagué X., Clifford G., Bruni L., Muñoz N., Bosch F.X. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis // *Lancet Infect Dis.*– 2007. – Vol. 7, № 7. – P. 453-459.

126 Jung Eun Lee, Sunghee Lee, Heetae Lee, Yun-Mi Song et al. Association of the Vaginal Microbiota with Human Papillomavirus Infection in a Korean Twin Cohort // *PLoS One.*– 2013. – Vol. 8, № 5.- P. 54-63.

127Болдырева М.Н., Липова Е.В., Трофимов Д.Ю., Витвицкая Ю.Г., Гуськова И.А. Особенности биоты урогенитального тракта здоровых женщин репродуктивного возраста при исследовании методом ПЦР в режиме реального времени // *Вестник дерматологии и венерологии.* – 2010. - №1. – С. 80-84.

128 Определитель бактерий Берджи / пер. с англ; под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса. – М.: Мир, 1997. – Т.2.- 368 с.

129 David N. Fredrics, Tina L. Fiedler, Jeanne M. Marazzo. Molecular Identification of Bacteria Associated with Bacterial Vaginosis // *The NEJM.*–2005. – Vol. 353, № 18. – P.1899-1911.

130 Donder GG, Vereecken A, Bosmans E, Dekeersmaecker A, Salembier G, Spitz B. Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis: aerobic vaginitis // *BJOG.* – 2002. – Vol. 109, №1. – P. 34-43.

131 Ferris MJ, Masztal A, Aldridge KE, Fortenberry JD, Fidel PL, Martin DH. Association of *Atopobiumvaginae*, a recently described metronidazole resistant anaerobe, with bacterial vaginosis // *BMC Infect Dis.* – 2004. – Vol. 4, №5.- P. 2334-2335.

132 Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M. Preliminary Evaluation of CytoRich®: An improved automated cytology preparation // *Diagn Cytopathol.* - 1993. – Vol. 9. - P. 417-422.

133 Grohs HK, Zahniser DJ, Geyer JW. Standarization of specimen preparation through mono/thin-layer technology in Automated Cervical Cancer Screening. Edited by HK Grohs, OAN Husain. - New York, Igaku-Shoin, 1994. - P. 176-185.

134 Howell LP., Davis RL., Belk TI., Agdigos R., Lowe J. The AutoCyte preparation system for gynecologic cytology // *Acta Cytol.* – 1998. – Vol. 42, №1. - P. 171-177.

135Заваленная О.В, Балмагамбетова С.К, Каримсакова Б.К, Уразаев О.Н, Саханова С.К, Коктова С.И, Якупова Л.М, Саркулова К.К, Жолдыбаева Е.В, Балмагамбетова Ж. Результаты экспериментальной работы по экстракции ДНК вируса папилломы человека и генитальных инфекций из жидкостной цитологической транспортной среды CELLSCAN // *Батыс Казахстан медицина журналы.* - Актобе, 2017. - №1 (53). - С. 25-36.

136 F. Xavier Bosch, Thomas Broker, David Forman, Anna-Barbara Moscicki et al. Comprehensive control of Human Papillomavirus Infections and Related Diseases // *Vaccine.*–2013.-Vol.31,№8.–P.11-131.

//<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24229716>.

137 Yerbol Bekmukhambetov, Saule Balmagambetova, Arip Koysybaev, Olzhas Urazayev, Oxana Zavalennaya, Zhanna Balmagambetova, Elena Zholdybayeva, Kogershin Taukelova. Some peculiarities of HPV types causing cervical cancer in Western Kazakhstan // World Congress on Cancer and Infectious Diseases. Proceedings book. -Spain, Madrid, 2017. - P. 29.

138 Yong Mi Kim, Jin Young Park, Kyung Mi Lee, Tae-Wook Kong, Seung-Chul Yoo, Woo Young Kim, Jong-Hyuck Yoon, Suk-Joon Chang. Does pretreatment HPV viral load correlate with prognosis in patients with early stage cervical carcinoma? // J Gynecol Oncol. – 2008. - Vol. 19, № 2. – P. 113–116.

139 World Health Organization: The Astana recommendations 07.11.2014. // http://gicr.iarc.fr/public/docs/Astana_Recommendations/.

140 M. Jentschke, P. Hillemanns. Systematic comparison of different meta-analyses, systematic reviews and HTA reports in Cervical Cancer screening based on cytology or HPV test // Geburtshilfe Frauenheilkd. – 2016. – Vol. 76, №10. – P. 1081–1085.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(электронная версия Отчета о стажировке докторанта)

РГП на ПХВ «ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ имени МАРАТА ОСПАНОВА» МЗ РК

Факультет послевузовского и дополнительного образования
«Утверждено»
Декан факультета проф. Нургалиева Р.Е.

20.09.2016 г.

**ОТЧЕТ О ПРОХОЖДЕНИИ ЗАРУБЕЖНОЙ СТАЖИРОВКИ
ДОКТОРАНТА**

Докторант: Балмагамбетова Сауле Кабиевна

Специальность: Медицина 6D110100

Научный консультант:

Бекмухамбетов Ербол Жасуланович, д.м.н., профессор, ректор ЗКГМУ имени
М. Оспанова

Зарубежный научный консультант:

Andrea Tinelli, MD, Prof, Ph.D. Adjunct Professor at the Laboratory of Human
Physiology, Moscow Institute of Physics and Technology (State University).
Department of Obstetrics and Gynecology, Division of Experimental Endoscopic
Surgery, Imaging, Technology and Minimally Invasive Therapy, Vito Fazzi Hospital.
Lecce, Salento University, Italy.

Место прохождения стажировки: Университет Саленто, Италия.

Сроки стажировки: сентябрь 2016 г.

АКТОБЕ, 2016

Учебная работа

Прошла научную стажировку в Университете Саленто (Лечче, Италия) по приглашению научного руководителя проф. Андреа Тинелли, для освещения следующего круга практических вопросов:

- Эффективность ThinPrep или других широко используемых технологий жидкостной цитологии в скрининге цервикального рака в Италии (в Казахстане используется южно-корейская технология CellScan, продемонстрировавшая недостаточную эффективность в решении скрининговых задач, по предварительным данным научного проекта по эпидемиологии ВПЧ);
- Дублируют ли итальянские специалисты данные жидкостной цитологии данными традиционного цитологического метода (казахстанская практика);
- Как итальянские специалисты извлекают и используют данные влагалищной микробиоты из транспортных сред жидкостной цитологии?;
- Повседневная практика ведения и наблюдения за женщинами в рамках общенациональной итальянской скрининговой программы, а также за пациентками, инфицированными «слабыми» карциногенными типами ВПЧ (6, 11, 26, 44, 53 и т.д.).

Научно-исследовательская работа

Актуальность, практическая значимость проблемы:

Всемирный Фонд Исследований Рака сообщает, что рак шейки матки (РШМ) является четвертой наиболее распространенной формой рака у женщин - 528000 новых случаев были диагностированы по всему миру в 2012 году и 266000 смертей, к тому же, почти 9 из 10 таких случаев происходят в менее развитых странах. ICO (Барселонская) рабочая группа в своем ежегодном докладе от 2015 года сообщает, что рак шейки матки в Казахстане занимает 2-ое по частоте место среди раков у женщин и 1-ое среди женщин в возрасте от 15 до 44 лет. По данным IARC, по состоянию на 2012 год по заболеваемости раком шейки матки, Республика Казахстан занимает одно из самых высоких мест среди по крайней мере, пограничных стран с возрастным стандартизированным показателем на 100000 женского населения 29.4 (уточнен ICO group в 2015 г. – 32.8), в то время как соответствующий показатель в Российской Федерации составляет 15,3, 13,5 в Узбекистане и 7,5 соответственно в Китае.

Несмотря на быстрое накопление знаний об этиологии и патологии шейки матки, общая заболеваемость раком и его ранг среди причин женской смертности во всем мире остается высоким, из-за большого числа стран, не способствующих в достаточной степени надлежащим исследованиям и профилактике, например, постсоветских стран, в том числе и Казахстан. Согласно мета-анализа глобальной доступности данных дистрибуции типов

ВПЧ, вклад постсоветского пространства ограничен 0-2 изданиями ежегодно. Исследователи из России, Роговская и др, в своей статье, опубликованной в 2013 году, подробно описали текущее неудовлетворительное состояние вопросов ВПЧ и связанных с ними мер профилактики рака шейки матки в вышеупомянутых странах. Например, распространенность ВПЧ и распределение генотипов по-прежнему остаются неизвестными в Республике Казахстан в целом, согласно упомянутому годовому отчету ICO группы. Исследования по распространенности ВПЧ в стране только начались. В 2013-2014 годах наша исследовательская группа проводила экспериментальное исследование в Западном Казахстане и выявила общую распространенность типов HR-HPV в пределах 26%, но у исследования было много ограничений.

Научное исследование, в рамках которого выполняется докторская диссертация, направлено на решение широкого круга вопросов, касающихся сферы ВПЧ-инфекции и связанного с ней рака шейки матки в Западном Казахстане.

Цели исследования:

- Заполнить пробел в мировой базе данных о распространенности как высоко-, так и потенциально канцерогенных типов ВПЧ, циркулирующих на территории региона;
- Оценить основные диагностические инструменты существующей системы скрининга, а также факторы риска, способствующие заболеваемости раком шейки матки;
- Наметить альтернативный способ для осуществления профилактических мер на основе выполненной оценки.

Выполненная в рамках стажировки исследовательская работа:

Прошла полный цикл итальянской общенациональной скрининговой программы:

1. Участие в приеме пациенток и забор мазков в амбулатории Отделения оперативной гинекологии и акушерства Госпиталя Вито-Фацци, регионального медицинского учреждения III уровня итальянской провинции Апулия, столицей которой является город Лечче.

Забор мазков на ВПЧ и их интерпретация осуществляются методом НС-II (гибридной ловушки), позволяющим выявить свыше 40 генотипов ВПЧ, как высоко-, так и потенциально карциногенных.

Забор мазков на цитологию осуществляется на универсальную транспортную среду Cobas (Roche Int.), огромным преимуществом которой является возможность извлечь ДНК и м-РНК ВПЧ, а также практически полную картину влагалищной микробиоты пациентки. Далее, если тест на ВПЧ – позитивный, осуществляется цитологическая сортировка. Если негативный тест – женщина приглашается через 1 год на повторный тест ВПЧ.

При результатах цитологии AS-CUS и выше – женщина направляется на кольпоскопию, в осуществлении которой я участвовала вместе со штатным врачом отделения.

2. Участие в работе лаборатории молекулярной вирусологии Госпиталя Святой Катерины Новеллы, Галатина, Италия. Руководитель: dott. Anna Rita Bruno.

Именно в эту лабораторию поступают скрининговые тесты всех подлежащих обследованию в области Апулия женщин в возрасте 25-30 (только цитология) и 31-64 года (ВПЧ+цитология), здесь производится обработка и сортировка ВПЧ тестов и цитологических мазков и выдача заключений.

Участвовала в постановке реакции амплификации ДНК ВПЧ и электрофоретическом анализе продуктов амплификации под руководством dott. Bruno, в приготовлении и идентификации цитологических стеклопрепаратов.

3. Участие в работе лаборатории генетической протеомики Онкологического отделения Госпиталя Вито-Фацци. Руководитель – PhD, dott. Daniele Vergara.

В этой лаборатории также осуществляются работы по идентификации ВПЧ тестов женщин, подлежащих скринингу. В частности, у ВПЧ-положительных женщин старше 30 лет по показаниям определяется молекулярная РНК, являющаяся маркером активности вируса папилломы человека. Если м-РНК неактивна, значит, вирус находится в спящем состоянии и женщина приходит на повторное обследование на ВПЧ через 1 год. Если м-РНК активна, женщину следует обследовать и лечить согласно общепринятого алгоритма ВОЗ: кольпоскопия, противовирусное лечение + хирургические процедуры (LLETZ или иное вмешательство и биопсия шейки матки по показаниям).

В этой лаборатории активно ведется изучение ЕМТ - Эпителиально-мезенхимального перехода (ЕМТ), который определяется как трансдифференцировка эпителиальных клеток в мезенхимальные клетки, и имеет решающее значение для эмбрионального развития, заживления ран, регенерации тканей, фиброза органов и прогрессирования рака. В последнее время роль ЕМТ в канцерогенезе привлекла большое внимание. Онковирусы, в том числе папилломы человека (ВПЧ), вирус Эпштейна-Барра (EBV), а также вирусы гепатита В и С (HBV, HCV), как известно, участвуют в этиологии рака и было обнаружено, что они играют важную роль в метастазировании раковых заболеваний, особенно в процессе ЕМТ.

4. Посещение и консультации по широкому кругу вопросов в Лаборатории гигиены, Отделения биологических и экологических наук и технологий Факультета биологических наук, Университет Salento, Лечче, Италия. Руководитель - PhD, Prof. Marcello Guido. Доктор Гвидо является автором свыше 100 статей, посвященных вопросам ВПЧ и эффективности скрининговых мероприятий в Италии.

Участие в научных семинарах, конференциях, публикации в научных изданиях.

Участвовала в научно-практической Конференции University Affiliated Hospital Research Center (DREAM) Университета Саленто с докладом - презентацией «HPV infection in Western Kazakhstan. Preliminary findings of the combined study on HPV prevalence and attributable to cervical cancer issues – screening efficacy, vaccination awareness, first results of gene L1 sequencing» (Сертификат приложен).

Опубликованные и подготовленные статьи для peer-reviewed журналов:

1. Bekmukhambetov YZ, Balmagambetova SK, Jarkenov TA, Nurtayeva SM, Mukashev TZ, Koysybaev AK. DISTRIBUTION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS TYPES OF HIGH CARCINOGENICITY IN WESTERN KAZAKHSTAN – RETROSPECTIVE ANALYSIS OF PCR DATA. Asian Pac J Cancer Prev. Vol. 17(5), pages 2667-2672. Импакт-фактор журнала – 0.743.

2. Подготовила статью «HUMAN PAPILLOMAVIRUS EPIDEMIOLOGY IN WESTERN KAZAKHSTAN: PROTOCOL FOR A COMBINED STUDY TO DETERMINE A SCOPE OF INFECTION AND EVALUATE CERVICAL CANCER PREVENTION MEASURES» для публикации, в данный момент находится в процессе отправки в журнал.

Дата «16» сентября 2016г.

Подпись докторанта _____

Подпись научного консультанта _____

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

(список опубликованных работ по теме диссертации)

1 Bekmukhambetov Y.Z., Balmagambetova S.K., Jarkenov T.A., Nurtayeva S.M., Mukashev T.Z., Koysybaev A.K. Distribution of High Risk Human Papillomavirus Types in Western Kazakhstan – Retrospective Analysis of PCR Data // *Asian Pac J Cancer Prev.* – 2016. – Vol. 17, № 5. – P. 2667-72.

2 Бекмухамбетов Е.Ж., Балмагамбетова С.К., Жылкайдарова А.Ж., Елеубаева Ж.Б., Койшыбаев А.К., Уразаев О.Н., Каримсакова Б.К., Рыжкова С.Н., Заваленная О.В., Саханова С.К., Уразаева Ж.Ж., Коктова С.Е., Саркулова К.К., Якупова Л.М. Современные тенденции в области скрининга рака шейки матки // *Онкология и радиология Казахстана.* - 2017. - № 2 (44). – С. 30-38.

3 Бекмухамбетов Е.Ж., Балмагамбетова С.К., Койшыбаев А.К., Уразаев О.Н., Уразаева Ж.Ж. Применение альфы Кронбаха в контроле согласованности опросника на предмет выявления факторов риска ВПЧ-инфекции // *Серия конференций ЗКГМУ им. М. Оспанова, Батыс Казахстан медицина журналы.* - Актобе, 2017. – Т.1. – С. 130-135.

4 Bekmukhambetov Y.Z., Balmagambetova S.K., Jarkenov T.A., Koysybaev A.K., Urazayev O.N., Zavalennaya O.V., Koktova S.I., Sarkulova K.K., Yerimbetova G.G., Balmagambetova Zh., Yakupova L.M., Zholdybayeva E.V. HPV prevalence, type distribution and vaccination awareness in women of Mangystau province of Western Kazakhstan // *Fundamental and Applied Sciences Today X, Proceedings of the Conference.* - North Charleston, 2016. -Vol. 3. - P. 36-39.

5 Бекмухамбетов Е.Ж., Балмагамбетова С.К., Койшыбаев А.К., Уразаев О.Н., Еримбетова Г.Г., Каримсакова Б.К., Рыжкова С.Н., Заваленная О.В., Саханова С.К., Уразаева Ж.Ж., Коктова С.Е., Саркулова К.К., Якупова Л.М., Таукелова К.А. Инфицированность вирусом папилломы человека и осведомленность о вакцинации против рака шейки матки у женщин г. Уральска Западно-Казахстанской области // *Медицина.* - 2017. - № 6. - С. 27-36.

6 Ye.Zh. Bekmukhambetov, S.K. Balmagambetova, A.K. Koysybaev, O.N. Urazayev, B.K. Karimsakova, S.N. Ryzhkova, G.G. Yerimbetova, S.K. Sakhanova, O.V. Zavalennaya, Zh.Zh. Urazayeva. Comparative analysis of diagnostic tools for cervical cancer screening in Western Kazakhstan // *The 6th Annual International Scientific-Practical Conference “Medicine Pressing Questions”, Proceedings book.* May 10-11. - Baku, Azerbaijan. *Medical Review.* – 2017. -Vol. 4. -P. 41-42.

7 Заваленная ОВ, Балмагамбетова СК, Каримсакова БК, Уразаев ОН, Саханова СК, Коктова СИ, Якупова ЛМ, Саркулова КК, Жолдыбаева ЕВ, Балмагамбетова Ж. Результаты экспериментальной работы по экстракции ДНК вируса папилломы человека и генитальных инфекций из жидкостной цитологической транспортной среды CELLSCAN // *Батыс Казахстан медицина журналы.* – Актобе, 2017. - №1 (53). - С. 25-36.

8 Yerbol Bekmukhambetov, Saule Balmagambetova, Arip Koysybaev, Olzhas Urazayev, Oxana Zavalennaya, Zhanna Balmagambetova, Elena Zholdybayeva,

Kogershin Tauekelova. Some peculiarities of HPV types causing cervical cancer in Western Kazakhstan // World Congress on Cancer and Infectious Diseases, Proceedings book. May 03-05, 2017.–Spain: Madrid. JBR–Translational Clinical and Experimental Oncology, 2017. -P. 29.

ПРИЛОЖЕНИЕ В
(справка о публикации в индексируемых изданиях)

Исх. № 229
от 30.10.2017 года



**РГП на ПХВ Западно-Казахстанский
государственный медицинский
университет им. М. Оспанова
докторанту PhD
Балмагамбетовой Сауле Кабдасовне**

Западно-Казахстанский филиал АО «Национальный центр государственной научно-технической экспертизы» согласно Вашего запроса № 12/4-2-20-3355 от 23.10.2017 г. предоставляет информацию о наличии публикаций **Балмагамбетовой С.К.** в журнале **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention (Thailand)** ISSN 1513-7368, входящем в базу **Scopus** (Elsevier, Нидерланды), с 2000 года по настоящее время. Предметная область – медицина, здоровье окружающей среды и гигиена труда.

Статья **Балмагамбетовой С.К.:**

1. Bekmukhambetov Y.Z., **Balmagambetova S.K.**, Jarkenov T.A., Nurtayeva S.M., Mukashev T.Z., Koysybaev A.K. Distribution of high risk human papillomavirus types in Western Kazakhstan - retrospective analysis of PCR data // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. – 2016. – Vol.17, Is. 5. – P. 2667-2672.

Данная статья **выявлена** в базе **Scopus**. В момент ее опубликования в первой половине 2016 года журнал «**Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**» имел **SJR** за 2016 год, **равный 0.743** действительный до июня 2017 г.

Директор ЗКФ АО «НЦГНТЭ»



Е.П. Галиева

Джафарова Ұ. А.
8 7112 50-04-83

ПРИЛОЖЕНИЕ Г
(Акт внедрения по учебно-методической работе)

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по учебно-воспитательной работе
ЗКГМУ им. Марата Оспанова
Тусупкалиев А.Б.
«19» _____ 2016 г.



АКТ
внедрения по учебно-методической работе

№ 556 « 19 » 11 2016 г.

Основание: необходимость базовой подготовки докторантов онкологического профиля по основам онкологической генетики вируса папилломы человека, ответственного не только за рак шейки матки у женщин, но и за 5 % всех человеческих злокачественных опухолей: головы, шеи, репродуктивных органов мужчин и женщин, органов ЛОР.

Место проведения: курс онкологии ФПиДО ЗКГМУ им. М. Оспанова

Наименование предложения: Рабочая учебная программа дисциплины по выбору «Ранняя диагностика злокачественных опухолей гениталий в условиях ПМСП» в составе Модульной учебной программы «Диагностика онкологической патологии шейки матки» для преподавания в докторантуре на 2017-2018 гг.

Работа выполнена: курс онкологии ЗКГМУ им. М. Оспанова

Специальность: _____ 6D110100-«медицина» _____

Дисциплина (Модуль): _____ «Ранняя диагностика злокачественных опухолей гениталий в условиях ПМСП» в составе Модульной учебной программы «Диагностика онкологической патологии шейки матки» _____

Содержание внедрения: «Рабочая учебная программа дисциплины по выбору «Ранняя диагностика злокачественных опухолей гениталий в условиях ПМСП» в составе Модульной учебной программы «Диагностика онкологической патологии шейки матки» для преподавания в докторантуре на 2017-2018 гг.» с Силлабусом и контрольно-измерительными средствами.

Исполнитель: докторант PhD, координатор НТП «Эпидемиологический анализ вируса папилломы человека в регионе Западного Казахстана в контексте ВПЧ-ассоциированной патологии шейки матки - социальные, клинические и генетические аспекты» Балмагамбетова С.К.

Сроки внедрения: 2017-2018 учебный год.

Эффективность внедрения: учитывая высокий уровень инфицированности высококарциногенными типами ВПЧ среди женщин Западного региона Казахстана (25,1

%, по данным университетского исследовательского проекта, на основе которого производится внедрение), а также высокий инцидент рака шейки матки в Казахстане (32,8 на 100000 женского населения, данные взяты из доклада за 2015 г. международной исследовательской группы по РШМ, ICO-group). необходимо подготовить будущий научно-преподавательский состав университета к преподаванию и ведению исследований в обстановке быстро изменяющейся в общемировом масштабе ситуации в области регуляции процедур скрининга на рак шейки матки – в частности, к переходу со скрининга на основе цитологического обследования женщин на комбинированный скрининг – на основе молекулярно-биологической диагностики ВПЧ-инфекции, данных секвенса генов ВПЧ и цитологических данных. Ожидается высокая лечебно-диагностическая и дидактическая значимость внедрения обучающего материала.

Предложения, замечания осуществляющего внедрение:

при освоении темы по комплексной диагностике онкопатологии шейки матки необходимо использовать в качестве закрепления и освоения навыков, умений и компетенций по диагностике опрос в письменной или устной форме на владение докторантами современными онкологическими Протоколами диагностики и лечения, знание современных классификаций стадирования злокачественных опухолей (FIGO, TNM, пересмотр 2009 г.).

Руководитель курса онкологии ФПиДО:



Койшыбаев А.К.

Исполнитель:
PhD докторант 2-го года обучения,
координатор НТП:



Балмагамбетова С.К.

ПРИЛОЖЕНИЕ Д
(Акт внедрения результатов
научно-исследовательской работы)



УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Актобинского
Областного управления
Здравоохранения
Калиев А.А.
24 10 2016 г.



УТВЕРЖДАЮ
Проректор по научно-клинической
работе ЗКГМУ имени Марата Оспанова
Джаркенов Т.А.
27 10 2016 г.

5263 АКТ

внедрения результатов научно-исследовательской работы
Западно-Казахстанский государственный медицинский университет имени Марата
Оспанова

(наименование учреждения, где внедряется работа)

Наименование предложения: разработка и проведение обучающей лекции-семинара по диагностике и ведению женщин с выявленной ВПЧ-инфекцией на основе данных НТП «Эпидемиологический анализ вируса папилломы человека в регионе Западного Казахстана в контексте ВПЧ – ассоциированной патологии шейки матки – социальные, клинические и генетические аспекты» для врачей практического здравоохранения, работающих в ПМСП г. Актобе и Актобинской области.

Работа включена из: университетского плана внедрения _____
(республиканского, областного планов внедрения:

_____ планов внедрения научно-исследовательских, учебных институтов, внедрена в

_____ инициативном порядке;

_____ заимствована из методических рекомендаций,

_____ журнальных статей, диссертацией, монографий – указать)

Форма внедрения: проведение обучающей лекции-семинара продолжительностью 45 минут по основам диагностики ВПЧ-инфекции шейки матки и ведения инфицированных женщин для врачей практического здравоохранения, работающих в ПМСП г. Актобе и области (презентация в PowerPoint обучающей лекции-семинара на 26 слайдов приложена).

_____ (лекции, семинары, подготовка на рабочем месте и прочее – указать)

Ответственный за внедрение и исполнитель: координатор НТП Балмагамбетова С.К., ассистент кафедры акушерства и гинекологии ЗКГМУ имени М. Оспанова, PhD докторант.

Эффективность внедрения: учитывая высокий уровень инфицированности высококарциногенными типами ВПЧ среди женщин Западного региона Казахстана (25.1 %, по данным исследовательского проекта, на основе которого производится внедрение), а также высокий инцидент рака шейки матки в Казахстане (32,8 на 100000 женского населения, данные взяты из доклада за 2015 г. международной исследовательской группы по РШМ, ICO-group), необходимо подготовить врачей практического здравоохранения к быстро изменяющейся в общемировом масштабе ситуации в области регуляции процедур скрининга на рак шейки матки – в частности, к переходу со скрининга на основе

Ф ЗКГМУ 605-03-15. Акт внедрения научно-исследовательской работы. Издание третье.

цитологического обследования женщин на комбинированный скрининг – на основе ПЦР-диагностики ВПЧ-инфекции и цитологических данных. Ожидается высокая лечебно-диагностическая и социальная значимость внедрения обучающего материала.

(лечебно-диагностическая, экономическая, социальная – указать)

Предложения, замечания учреждения, осуществляющего внедрение:

1. В течение года провести первый обучающий семинар и включить его в план проведения собраний областного Общества акушеров-гинекологов (первый обучающий семинар проведен 31.03.2016 г. на очередном заседании областного Общества акушеров-гинекологов).
2. Разработать план-график для проведения обучающего семинара в лечебных учреждениях гинекологического профиля областного центра (Консультативно-диагностическое отделение Актюбинского областного перинатального центра, гинекологическое отделение Актюбинской областной больницы и т.д.).

Срок внедрения: 2016 – 2017 учебный год

Председатель комиссии: главный врач ГП №1  Биханов М.Ж.

Члены (ответственные за внедрение):

Руководитель кафедры
общей врачебной практики №1,
доц. к.м.н.



Каримсакова Б.К.

Исполнитель:
Координатор НТП,
PhD докторант



Балмагамбетова С.К.