

АОО «НАЗАРБАЕВ УНИВЕРСИТЕТ»
КОРПОРАТИВНЫЙ ФОНД
«UNIVERSITY MEDICAL CENTER»

УДК 618

№ гос. регистрации 0124РК01147

Инв. №

УТВЕРЖДАЮ



Председатель Правления
КФ «University Medical Center», д.м.н.
Пя Ю.В.

2024 г.

ОТЧЕТ

О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

по теме:

«НАЦИОНАЛЬНАЯ ПРОГРАММА ИЗУЧЕНИЯ ВПЧ С РАЗРАБОТКОЙ
ИНТЕГРИРОВАННОГО ПОДХОДА К ЭФФЕКТИВНОЙ ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ
ПРЕДРАКОВЫХ СОСТОЯНИЙ»

(промежуточный)

программа целевого финансирования

Руководитель научно-исследовательской работы
старший ординатор-консультант
Клинического Академического Департамента
Женского здоровья Корпоративного
Фонда «University Medical Center»,
д.м.н., профессор


Т.Мамбетова Укыбасова Т.М.

Астана, 2024

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Научный руководитель, д.м.н.,
профессор
старший ординатор-консультант
Клинического Академического
Департамента Женского здоровья
Корпоративного Фонда “University
Medical Center”.

Со-руководитель, ответственный
исполнитель, к.м.н.
врач акушер-гинеколог, онколог,
Клинического Академического
Департамента Женского здоровья КФ
«University Medical Center».

Главный научный сотрудник, к.м.н.,
ассоциированный профессор, МВА, врач
акушер-гинеколог, Клинического
Академического Департамента Женского
здравья КФ «University Medical Center»

Старший научный сотрудник, MD, врач
акушер - гинеколог, Клинического
Академического Департамента Женского
здравья КФ «University Medical Center».

Научный сотрудник, врач-резидент,
Клинического Академического
Департамента Женского здоровья КФ
«University Medical Center».

Т.М. Укыбасова
(введение, основная
часть, заключение)


22.11.2024
(подпись, дата)

Н.К. Камзаева,
(введение, основная
часть, заключение)


22.11.2024
(подпись, дата)

Б.Ж. Иманкулова
(результаты
исследований)


22.11.2024
(подпись, дата)

К.К. Конрттай
(введение, основная
часть, заключение)


22.11.2024
(подпись, дата)

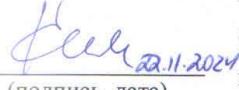
Н.О. Кадролдинова
(введение, основная
часть, заключение)


22.11.2024
(подпись, дата)

Старший научный сотрудник, врач-резидент, Клинического Академического Департамента Женского здоровья КФ «University Medical Center»

Старший научный сотрудник, ученый секретарь КФ «University Medical Center».

Старший научный сотрудник, главный специалист департамента науки, КФ «University Medical Center»

Е.О. Ким
(основная часть,
методы)

(подпись, дата)

Г.Д. Даниярова
(введение, основная
часть, заключение)

(подпись, дата)

С. Р. Хамитов
(введение, основная
часть, заключение)

(подпись, дата)

РЕФЕРАТ

Отчет: 72 стр., 3 рис., 9 табл., 51 источников, 2 приложения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ВИРУС ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА, ПРЕДРАКОВЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ШЕЙКИ МАТКИ, ЦЕРВИКО-ВАГИНАЛЬНЫЙ МИКРОБИОМ, РАК ШЕЙКИ МАТКИ, ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ, ОНКОБИОМ

Объекты исследования – женщины репродуктивного возраста (18-45 лет) согласно протоколу исследования. Отбор пациентов и забор биологических материалов производился на базе Корпоративного фонда «University Medical Center» (далее – КФ UMC) Национального научного центра материнства детства, г. Астана. Образцы для исследования цервико-вагинального микробиома и иммунологического профиля, выделенные из биологического материала пациентов, направлялись на исследование в частного учреждения «National Laboratory Astana» Назарбаев Университета, г. Астана. Образцы на цитологическое исследование, на полимеразную цепную реакцию (далее – ПЦР) для выявления инфекций, передающихся половым путем (далее - ИППП) и генотипирование вируса папилломы человека (далее – ВПЧ) направлялись в Отдел лабораторной медицины, КФ UMC Республиканский Диагностический Центр, г. Астана.

Целью данного исследования является Изучение взаимосвязи между ВПЧ и предраковыми состояниями с разработкой интегрированного подхода к эффективной диагностике и лечению, а также применение метагеномных данных для разработки индивидуализированных стратегий лечения и мониторинг.

Методы исследования: клинико-лабораторные, микробиологические и иммунологические методы исследования в соответствии с республиканскими и международными рекомендациями лечения.

В ходе данного проекта с группой исследователей начата работа над созданием центра профилактики предраковых заболеваний шейки матки с целью повышения квалификации врачей, обучения резидентов и студентов, телеконсультаций пациентов и врачей Республики Казахстан.

Область применения – акушерство и гинекология, молекулярно-генетические и мультиомные исследования в области медицины и науки;

Эффективность и значимость работы

Экономический эффект: Снижение заболеваемости раком шейки матки и всех сопутствующих затрат на его лечение, за счет ранней диагностики и соответствующего ведения предраковых поражений шейки матки

Социальный эффект: Повышение уровня здоровья женщин и снижение заболеваемости раком шейки матки, и улучшение доступа к качественной медицинской помощи для женщин из группы риска в Казахстане.

РЕФЕРАТ

Есепте: 72 бет, 3 сурет, 9 кесте, 51 дереккөз, 2 қосымша.

ТҮЙІН СӨЗДЕР: АДАМ ПАПИЛЛОМАВИРУСЫ, ЖАТАР МОЙНЫНЫҢ ҚАТЕРЛІ ИСІГІ, ЖАТАР МОЙНЫ-ҚЫНАПТЫҚ МИКРОБИОМЫ, ЖАТАР МОЙНЫ ОБЫРЫ, ИММУНОЛОГИЯЛЫҚ ПРОФИЛЬ, ОНКОБИОМ

Зерттеу объектілері: зерттеу хаттамасына сәйкес репродуктивті жастағы (18-45 жас) әйелдер. Пациенттерді іріктеу және биологиялық материалдарды алу «University medical center» корпоративтік қорының (келесіде – УМС КК) Ұлттық ғылыми ана мен бала орталығында жүргізілді. Пациенттердің биологиялық материалынан оқшауланған цервико-қынаптық микробиомын және иммунологиялық профилін зерттеуге арналған үлгілер Назарбаев Университетінің «National Laboratory Astana» жеке мекемесіне, зерттеуге жіберілді. Цитологиялық зерттеуге, жыныстық жолмен берілетін инфекцияға (келесіде - ЖЖБИ) полимеразды тіркемелі реакция (келесіде – ПТР) және адам папилломавирусы (келесіде – АПВ) генотипіне үлгілер Астана қаласындағы УМС КК Республикалық диагностикалық орталығындағы зертханалық медицина бөліміне жіберілді.

Бұл зерттеудің мақсаты тиімді диагностика мен емдеуге интеграцияланған тәсілді дамыта отырып, АПВ мен қатерлі ісікке дейінгі жағдайлар арасындағы байланысты зерттеу, сондай-ақ жекелендірілген емдеу стратегияларын әзірлеу үшін метагеномдық деректерді қолдану және бақылау.

Зерттеу әдістері: республикалық және халықаралық емдеу ұсыныстарына сәйкес клиникалық, лабораторлық, микробиологиялық және иммунологиялық зерттеу әдістері.

Осы жоба барысында зерттеушілер тобымен дәрігерлердің біліктілігін арттыру, резиденттер мен студенттерді оқыту, Қазақстан Республикасы пациенттері мен дәрігерлерінің телеконсультациялары мақсатында жатыр мойны обырына дейінгі аурулардың алдын алу орталығын құру бойынша жұмыс басталды.

Қолдану саласы-акушерлік және гинекология, медицина және ғылым саласындағы молекулалық-генетикалық және мультиомдық зерттеулер;

Жұмыстың тиімділігі мен маңыздылығы

Экономикалық әсер: жатыр мойны обырының жиілігін және оны емдеуге байланысты барлық шығындарды ерте диагностикалау және жатыр мойнының қатерлі ісікке дейінгі зақымдануын тиісті басқару арқылы азайту

Әлеуметтік әсері: әйелдердің денсаулық деңгейін арттыру және Жатыр мойны обырымен сырқаттанышты төмендету және Қазақстандағы тәуекел тобындағы әйелдер үшін сапалы медициналық көмекке қолжетімділікті жақсарту.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	9
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ ОТЧЕТА О НИР	14
1 Методы	22
2 Результаты исследований	37
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	44
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	46
ПРИЛОЖЕНИЕ А Календарный план	51
ПРИЛОЖЕНИЕ Б Список опубликованных работ	57

ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

В настоящем отчете о НИР применяют следующие сокращения и обозначения:

ACG	пролиферация (разрастание) клеток цилиндрического эпителия с признаками атипии (неправильное строение, несоответствие норме).
ASC-H	атипичные клетки плоского эпителия, которые не исключают HSIL
ASCUS	атипичные сквамозные клетки неясного значения
CIN	цервикальный интраэпителиальная неоплазия
HSIL	плоскоклеточное интраэпителиальное поражение высокой степени (по традиционной цитологии CIN III/ CIN III) или «средне-тяжелая дисплазия»
IL	интерлейкин
LSIL	плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени (по традиционной цитологии CIN I (Cervical Intraepithelial Neoplasia) или «легкая дисплазия»)
M-CSF	макрофагальный колониестимулирующий фактор
NILM	интраэпителиальные изменения и злокачественные процессы отсутствуют
NK	естественные клетки-убийцы
TGF-β1	Трансформирующий фактор роста бета
Th2	Т-хелперы 2
TNF-α	фактор некроза опухоли α
ВПЧ	вирус папилломы человека
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИППП	инфекции, передаваемые половым путем
ИФН	интерферон
мРНК	матричная РНК
ОАМ	опухоль-ассоциированные макрофаги
ПЦР	полимеразная цепная реакция
pРНК	рибосомная рибонуклеиновая кислота
ASC-H	атипичные клетки плоского эпителия, которые не исключают HSIL

ВВЕДЕНИЕ

Предраковые поражения шейки матки у женщин репродуктивного возраста являются актуальной проблемой современной медицины. Согласно статистическим данным за 2023 год в Казахстане рак шейки матки занимает второе место по распространённости после рака молочной железы, ежегодно диагностируется до 2030 новых случаев рака шейки матки среди женщин Казахстана; при этом это онкологическое заболевание является первой причиной смертности среди женщин Казахстана, ежегодно регистрируется до 600 смертей от этого заболевания [1]. Согласно современным данным многочисленных исследований, рак шейки матки имеет бимодальное распределение по возрасту: большинство случаев приходится на женщин репродуктивного возраста от 30 до 40 лет, в котором женщины часто создают семьи и обеспечивают финансовую жизнеспособность своих семей и сообществ. Рак шейки матки вызывается персистирующей инфекцией вирусом папилломы человека (далее - ВПЧ) [1,2]. В настоящее время известно и научно доказано, что ВПЧ 16 и 18 типа являются наиболее вирулентными генотипами высокого риска, вызывающими около 80% всех случаев инвазивного рака шейки матки в мире [3].

Имеются очень ограниченные данные о заболеваемости и распространенности ВПЧ в зависимости от генотипов в Центральной Азии и Восточной Европе. Согласно перекрестному исследованию за период 2018–2022 гг. была выявлена тенденция к увеличению распространенности ВПЧ среди женщин Астаны (Казахстан) в течение пяти последовательных лет [2,4,5]. В результате примерно 43% женщин, направленных на ВПЧ тестирование, оказались ВПЧ-положительными, при этом наиболее распространенным типом был ВПЧ 16 (20%), за которым следовали типы ВПЧ 31, 52, 51 [2,5,6]. По данным других исследований, распространенность ВПЧ-инфекции в Казахстане колеблется от 43,8% до 55,8%, при этом наиболее распространены типы ВПЧ 16 (10,7-27,7%), 18 (9,2-9,6%), 51 (5%) и 33 (3,6-5%) [7-10].

В последние десятилетия значительное внимание в медицинском и научном сообществе уделяется роли микробиома человека в поддержании здоровья и развитии различных заболеваний. Одним из важных направлений исследований стало изучение влияния микробиома влагалища на здоровье женщин, особенно в контексте его связи с инфекцией ВПЧ и развитием предраковых и раковых поражений шейки матки [10]. Результаты многочисленных исследований, демонстрирующих важное влияние микробиоты на процессы развития и прогрессирования опухолей, привели к тому, что в 2022 году микробиота была признана одним из ключевых отличительных признаков рака [11]. Предполагается, что после того, как будут выяснены механизмы взаимодействия между опухолью, иммунной системой, микробиомом и пробиотиками, возможным станет управление микробиомом. Это может

произойти, по крайней мере, в двух направлениях: усиление противоопухолевых свойств компонентов микробиома и воздействия пробиотиками.

В настоящее время имеются пробелы в изучении ассоциации между вагинальным и цервикальным микробиомами и развитием рака шейки матки [12]. Согласно данным, исследования полученные на основе бактериальных культур, указывают на то, что некоторые потенциальные проонкогенные патогены, которые могут быть членами комменсальной микробиоты, способствуют инициированию и развитию опухоли [12].

Предыдущие клинические и молекулярные исследования выявили иммунологические нарушения при плоскоклеточных интраэпителиальных поражениях шейки матки и у больных раком шейки матки. ВПЧ имеет несколько механизмов обхода иммунной системы: он подавляет экспрессию интерферона и повышает уровень интерлейкина (далее - IL)-10 и трансформирующего фактора роста (далее - TGF)- β 1, создавая местную иммуносупрессивную среду, который вместе с измененными поверхностными антигенами опухоли образует иммуносупрессивную сеть, ингибирующую противоопухолевый иммунный ответ [13].

Настоящая программа нацелена на комплексное изучение роли микробиома и иммунитета в развитии ВПЧ-ассоциированных предраковых поражений шейки матки, разработку новых методов диагностики и лечения, а также создание специализированного центра для повышения доступности медицинской помощи и профилактики рака шейки матки.

Цель программы.

Изучение взаимосвязи между ВПЧ и предраковыми состояниями с разработкой интегрированного подхода к эффективной диагностике и лечению, а также применение метагеномных данных для разработки индивидуализированных стратегий лечения и мониторинг.

Задачи программы.

Для достижения цели Программы мы ставим следующие задачи:

- Провести подбор и рекрутинг пациентов для участия в исследовании, осуществить первичное клинико-лабораторное обследование.

В рамках этой задачи будет проведен рекрутинг пациенток с предраковыми поражениями шейки матки и здоровых женщин.

Пациенты буду разделены на 2 группы, основную группу предполагается включить 300 женщин репродуктивного возраста (18 - 45 лет) с цитологически подтвержденными предраковыми поражениями шейки матки (цервикальной интраэпителиальной неоплазией различных степеней - CIN I, CIN II, CIN III).

В качестве контрольной группы будет обследовано 100 здоровых женщин репродуктивного возраста без предраковых поражений согласно критериям включения и исключения.

Всем участникам будет проведено: сбор анамнеза и жалоб; общий и гинекологический осмотр; кольпоскопия; жидкостное цитологическое исследование мазков из шейки матки; ПЦР на ВПЧ высокого канцерогенного риска; ПЦР на ИППП; забор вагинальных мазков для микробиомного и иммунологического статуса; гистологическое исследование биоптатов шейки матки (по показаниям).

- Изучить особенности микробиома шейки матки/влагалища в зависимости от типа ВПЧ среди женщин репродуктивного возраста в Казахстане, страдающих предраковыми заболеваниями шейки матки.

Реализация данной задачи позволит изучить таксономический состав микробиома шейки матки/влагалища, выявить связи между составом микробиома и клинико-лабораторными показателями, позволит идентифицировать потенциальные биомаркеры или специфические микроорганизмы/гены, ассоциированные с предраковыми поражениями. В рамках этой задачи будет выделена ДНК из всех образцов, подготовлены библиотеки, Локус V3-V4 16S рРНК будет просеквенировано на платформе Illumina NovaSeq6000. Полученные данные секвенса будут обрабатываться через конвейер LotuS.

Исследовать особенности локального иммунологического профиля в зависимости от типа 3. ВПЧ среди женщин репродуктивного возраста в Казахстане с предраковыми заболеваниями шейки матки.

ВПЧ играет ключевую роль в развитии предраковых поражений и рака шейки матки. Разные типы ВПЧ (онкогенные и неонкогенные) могут по-разному влиять на локальный иммунный ответ. Изучение локального иммунного профиля в цервикальной слизи и влагалище позволит понять механизмы, с помощью которых иммунная система реагирует на ВПЧ-инфекцию и развитие предраковых изменений. Выявление специфических иммунологических маркеров, ассоциированных с определенными типами ВПЧ, может иметь диагностическое и прогностическое значение, что будет способствовать разработке новых терапевтических подходов, направленных на коррекцию иммунного ответа.

Таким образом, исследование локального иммунологического профиля в зависимости от типа ВПЧ является необходимым шагом для выявления потенциальных биомаркеров, понимания механизмов развития патологии и разработки новых диагностических и терапевтических подходов.

- Разработка субстанции на основе биологически активных веществ с целью коррекции цервикального и влагалищного микробиома при предраковых патологиях.

Анализ микробиома влагалища и локального иммунитета, могут выявить нарушения, ассоциированные с развитием предраковых поражений шейки матки. Коррекция цервико-вагинального микробиома представляет собой потенциальный терапевтический подход для предотвращения прогрессирования этих состояний. Разработка субстанции на основе биологически активных веществ может восстановить нормальный состав и функции цервико-вагинального микробиома, создавая среду, неблагоприятную для персистенции онкогенных типов ВПЧ и развития предраковых изменений. Применение такой субстанции может стать альтернативой или дополнением к существующим методам лечения, таким как деструктивные методы удаления измененных тканей, которые зачастую травматичны и могут повлечь осложнения. Коррекция микробиома с помощью биологически активных веществ является менее инвазивным и потенциально более безопасным подходом по сравнению с традиционными методами лечения. Успешная разработка такой субстанции может открыть новые возможности для профилактики и лечения предраковых поражений шейки матки, связанных с ВПЧ-инфекцией и дисбиозом влагалища.

- Создать центр профилактики предраковых заболеваний шейки матки с целью повышения квалификации врачей, обучения резидентов и студентов, телеконсультаций пациентов и врачей РК.

Создание специализированного центра позволит обеспечить постоянное повышение квалификации врачей различных специальностей (гинекологов, онкологов, цитологов и др.) в области диагностики, профилактики и лечения предраковых заболеваний шейки матки. Регулярные тренинги, семинары и мастер-классы с привлечением ведущих экспертов будут способствовать распространению актуальных знаний и современных подходов. Центр станет учебной базой для практической подготовки резидентов и студентов медицинских вузов, что повысит качество их образования в этой области. Молодые специалисты смогут получать опыт под руководством высококвалифицированных наставников.

Телеконсультации для пациентов и врачей: позволит обеспечить доступность квалифицированной помощи для пациенток из отдаленных регионов Казахстана, а врачи первичного звена смогут получать консультации ведущих специалистов центра по сложным клиническим случаям.

Также центр станет площадкой для клинических испытаний и внедрения новых препаратов и терапевтических подходов, разработанных в ходе реализации программы.

Таким образом, создание специализированного центра профилактики предраковых заболеваний шейки матки является необходимым для обеспечения высокого уровня медицинской помощи, постоянного обучения специалистов, внедрения инновационных

методов и повышения доступности диагностики и лечения для пациенток по всему Казахстану.

На момент подачи заявки проекта уровень технологической готовности (УТГ) соответствует уровню 1: в рамках текущих работ определены клинические и лабораторные параметры предраковых патологий, имеются сведения роли ВПЧ в развитии предраковых заболеваний.

На этапе завершения проекта УТГ будет соответствовать уровню 3: будут определены количественные метагеномные и иммунологические маркеры, доказана их роль, а разработанная субстанция послужит основой препарата для профилактики предраковых патологий.

Практическая значимость результатов исследований заключается в том что, разработанные методы диагностики и лечения, основанные на изучении микробиома и иммунитета шейки матки, будут применены в клинической практике, способствуя улучшению качества оказания медицинской помощи женщинам репродуктивного возраста, обеспечивая комплексное решение, предусматривающее влияние на все аспекты стратегически важной государственной задачи. Создание специализированного центра способствует повышению доступности медицинской помощи и проведению профилактических мероприятий по предотвращению рака шейки матки.

Проект окажет значительное влияние на научно-исследовательские работы и повысить научно-технический потенциал участвующих организаций и их коллективов. Разработка новых методов диагностики и лечения предраковых поражений шейки матки на основе изучения микробиома и иммунитета значительно расширит научные горизонты и обогатит методические подходы в области онкологии и медицинской биотехнологии.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ ОТЧЕТА О НИР

Предраковые поражения шейки матки у женщин репродуктивного возраста являются актуальной проблемой в медицине. Несмотря на достигнутый прогресс в понимании молекулярных механизмов канцерогенеза, опосредованного ВПЧ, и внедрение программ скрининга и вакцинации, заболеваемость раком шейки матки остается на высоком уровне в мире.

Роль вагинального микробиома в развитии предраковых и раковых поражений шейки матки находится на стадии интенсивного исследования. Имеются единичные исследования о потенциальной проонкогенной роли патогенных бактерий, колонизирующих влагалище, таких как *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae* и других анаэробов, ассоциированных с бактериальным вагинозом. В то же время, лактобактерии, доминирующие в здоровом вагинальном микробиоме, обладают противоопухолевыми свойствами, в частности способностью нейтрализовать канцерогенные нитрозамины и подавлять рост патогенных бактерий [1]. Тем не менее, точные механизмы взаимодействия вагинального микробиома с ВПЧ-инфекцией и развитием опухоли остаются недостаточно изученными [2].

Предраковые поражения шейки матки у женщин репродуктивного возраста остаются актуальной проблемой в медицине. Эти состояния могут проявляться в виде дисплазий, которые могут прогрессировать до рака в отсутствие своевременного вмешательства. Факторы риска для развития предраковых поражений шейки матки включают в себя инфекцию вирусом папилломы человека, социально-демографические характеристики, факторы локального и общего иммунитета. Во всем мире рак шейки матки является четвертым по распространённости видом рака среди женщин. По данным Международного агентства за 2022 год ежегодно в мире регистрируется около 660 тысяч случаев рака шейки матки и 350 тысяч смертей от этого заболевания [3]. В Казахстане за 2023 год рак шейки матки занимал второе место по распространённости, ежегодно диагностируется 2030 новых случаев рака шейки матки среди женщин Казахстана; при этом это онкологическое заболевание является первой причиной смертности среди женщин Казахстана, ежегодно регистрируется до 600 смертей от этого заболевания [1,4]. Большинство случаев заболеваний приходится на женщин репродуктивного возраста от 30 до 40 лет, в котором женщины часто создают семьи и обеспечивают финансовую жизнеспособность своих семей и сообществ [5].

Рак шейки матки вызывается персистирующей инфекцией вирусом папилломы человека [6]. ВПЧ представляет собой вирус с двухцепочечной дезоксирибонуклеиновой кислоты (далее – ДНК), принадлежащий семейству Papovaviridae. На сегодняшний день известно более 200 типов ВПЧ, из которых более 40 типов колонизируют половые пути. Все типы инфекций ВПЧ можно разделить на две группы в зависимости от их канцерогенных

свойств; это группы высокого и низкого риска. К типам высокого риска относятся типы 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 68 и 59. В настоящее время научно доказано, что ВПЧ 16 и 18 являются наиболее вирулентными генотипами высокого риска, вызывающими около 80% всех случаев инвазивного рака шейки матки в мире.

Данные о распространенности, заболеваемости и распространенности ВПЧ в зависимости от генотипа в Центральной Азии и Восточной Европе ограничены. Согласно Официальной статистике центра ВПЧ, в Казахстане данные по эпидемиологии ВПЧ-инфекции отсутствуют, опубликовано лишь несколько статей в международных рецензируемых журналах. Согласно перекрестному исследованию за период 2018–2022 гг. была выявлена тенденция к увеличению распространенности ВПЧ среди женщин в течение пяти последовательных лет. В результате примерно 43% женщин, направленных на ВПЧ тестирование, оказались ВПЧ-положительными [7].

Необходимы дальнейшие изучения ВПЧ-ассоциированных поражений шейки матки, разработки передовых высокочувствительных методов ранней диагностики и медицинского менеджмента ВПЧ-положительных пациентов с предраковыми поражениями шейки матки. Расширение знаний о статусе ВПЧ и событиях прогрессирования рака способствует улучшению будущего ведения пациентов с поражениями шейки матки; это, в свою очередь, может помочь смягчить прогрессирование рака шейки матки среди женщин, инфицированных ВПЧ.

Учитывая персистирующий характер ВПЧ инфекций, риск развития предраковых поражений шейки матки значителен, которые варьируются от цервикальной интраэпителиальной неоплазии (далее - CIN) 1–3 до рака [8]. Новая модель канцерогенеза шейки матки было создано, основываясь на установление причинно-следственной связи между ВПЧ и раком шейки матки, совместно с эпидемиологией и естественного течения ВПЧ-инфекции: заражение ВПЧ, персистенция ВПЧ, прогрессирование до предрака и инвазия, что помогает проводить соответствующие возрасту мероприятия по предотвращению рака шейки матки [9].

Канцерогенез шейки матки – это сложный механизм неконтролируемого деления клеток, который может включать интеграцию гена ВПЧ вместе с другими клеточными изменениями и эпигенетическими факторами. При возникновении инфекции ДНК ВПЧ может подвергаться мутациям в клеточных и других условиях окружающей среды, что приводит к интеграции вирусной ДНК и работе с механизмом синтеза ДНК хозяина. В результате вирус может обходить механизмы клеточной и иммунной защиты, одновременно способствуя пролиферации клеток и ингибируя клеточные механизмы апоптоза [10].

Онкогенный потенциал ВПЧ тип 16 зависит от регуляции вирусных факторов транскрипции. В начале вирусной инфекции геном ВПЧ 16 может быть представлен в виде неинтегрированной небольшой молекулы ДНК, также называемой эпизомой, и приводит к доброкачественным и предраковым поражениям шейки матки. Однако ВПЧ16 может интегрировать свой геном в геном хозяина, что, в свою очередь, может привести к развитию рака шейки матки и цервикальной интраэпителиальной неоплазии III степени [11,12].

Инфекция ВПЧ активирует иммунный ответ, включая воспалительные процессы. Длительное воспаление может способствовать дальнейшему развитию предраковых изменений. Как следствие этих процессов, клетки шейки матки при ВПЧ инфекции могут претерпевать последовательные изменения, начиная от дисплазии легкой степени до инвазивного рака [13].

В последние десятилетия значительное внимание в медицинском и научном сообществе уделяется роли микробиома человека в поддержании здоровья и развитии различных заболеваний. Одним из важных направлений исследований стало изучение влияния микробиома влагалища на здоровье женщин, особенно в контексте его связи с инфекцией ВПЧ и развитием предраковых и раковых поражений шейки матки. Результаты многочисленных исследований, демонстрирующих важное влияние микробиоты на процессы развития и прогрессирования опухолей, привели к тому, что в 2022 году микробиота была признана одним из ключевых отличительных признаков рака [14]. Предполагается, что после того, как будут выяснены механизмы взаимодействия между опухолью, иммунной системой, микробиомом и пробиотиками, возможным станет управление микробиомом. Это может произойти, по крайней мере, в двух направлениях: усиление противоопухолевых свойств компонентов микробиома и воздействия пробиотиками.

В настоящее время имеются пробелы в изучении ассоциации между вагинальным и цервикальным микробиомами и развитием рака шейки матки. Некоторые потенциальные проонкогенные патогены, которые могут быть членами комменсальной микробиоты, способствуют инициированию и развитию опухоли [15].

Существует несколько механизмов, с помощью которых *Lactobacillus* могут обеспечить защиту, выходящую за рамки простого ингибирования анаэробного роста, связанного с CST IV. CST IV связан с более высоким уровнем продукции аминов по сравнению с CST, доминирующими у *Lactobacillus*, и эти биологические амины не только ответственны за характерный неприятный запах выделений, но приводят к выработке нитрозаминов. Эти нитрозамины, вырабатываемые при курении табака, являются известными канцерогенами, некоторые виды *Lactobacillus* нейтрализуют эти канцерогены *in vivo*. *Lactobacillus* spp. не только предотвращают колонизацию видов бактерий с высоким содержанием аминов, но

могут уничтожать потенциально канцерогенные производные амина, обеспечивая дополнительный уровень антиканцерогенной защиты [16].

Исследование взаимосвязи между изменениями в количественном и качественном составе микробиома репродуктивных органов и развитием рака представляет собой важную область исследований, хотя точные механизмы этой связи еще не до конца поняты. Более того, оценка потенциала использования микробиома в качестве биомаркера для ранней диагностики предрака репродуктивных органов, а также возможность использования микроорганизмов в качестве терапевтического инструмента для укрепления иммунной системы, усиления антиопухолевого ответа и улучшения прогноза у пациентов с раком, представляют значительный потенциал и вызывают большой интерес в медицинском сообществе [17].

Предыдущие клинические и молекулярные исследования выявили иммунологические нарушения при плоскоклеточных интраэпителиальных поражениях шейки матки и у больных раком шейки матки. ВПЧ имеет несколько механизмов обхода иммунной системы: он подавляет экспрессию интерферона и повышает уровень интерлейкина (IL)-10 и трансформирующего фактора роста (TGF)- β 1, создавая местную иммуносупрессивную среду, который вместе с измененными поверхностными антигенами опухоли образует иммуносупрессивную сеть, ингибирующую противоопухолевый иммунный ответ [18].

Перsistенция ВПЧ является ключевым фактором развития рака шейки матки. Белки ВПЧ E2, E6 и E7 индуцируют транскрипцию иммуносупрессивных цитокинов как средство уклонения ВПЧ от иммунной системы хозяина [19].

Большинство случаев инфекции вирусом папилломы человека характеризуются временным и периодическим характером, особенно у женщин до 30 лет [20]. Процесс клиренса ВПЧ объясняется специфическими иммунологическими реакциями, которые зависят от компетентности гуморальных и клеточно-опосредованных иммунных медиаторов. Факторы, влияющие на длительность наличия вируса в организме, включают генетические особенности хозяина (такие как возраст, иммуносупрессия, прием пероральных контрацептивов, курение) и вирусные факторы (например, генотип, варианты, вирусная нагрузка и интеграция вируса) [21].

Задержка между моментом заражения и развитием рака предполагает, что ВПЧ может избегать обнаружения иммунной системой. Инфекционный цикл ВПЧ характеризуется отсутствием виремии, низкой экспрессией вирусных белков, отсутствием воспаления и сигнала опасности для иммунной системы [22]. Иммунный ответ на ВПЧ обычно слабый, так как вирус защищен от циркулирующих иммунных клеток на ранних стадиях инфекции. Экспрессия вирусных белков ограничена, и другие факторы, такие как нелитический характер инфекции, ограничивают активацию иммунного ответа. ДНК ВПЧ достаточно

амплифицирована только в нижних слоях кожи, что затрудняет ее обнаружение иммунной системой хозяина [23].

Инфицирование организма одним из высокорисковых штаммов вируса папилломы человека инициирует цепочку событий, в ходе которой изменяются механизмы репарации и коррекции репликации клеток, контролируемые белками p53 и pRb. Таким образом, в соответствии с рисунком 1, вирус ВПЧ влияет на клеточный цикл, стимулируя изменения в клетках, которые могут привести к их трансформации и бессмертию, особенно в эпителиальных тканях, что в конечном итоге способствует развитию рака (Рисунок 1) [24].

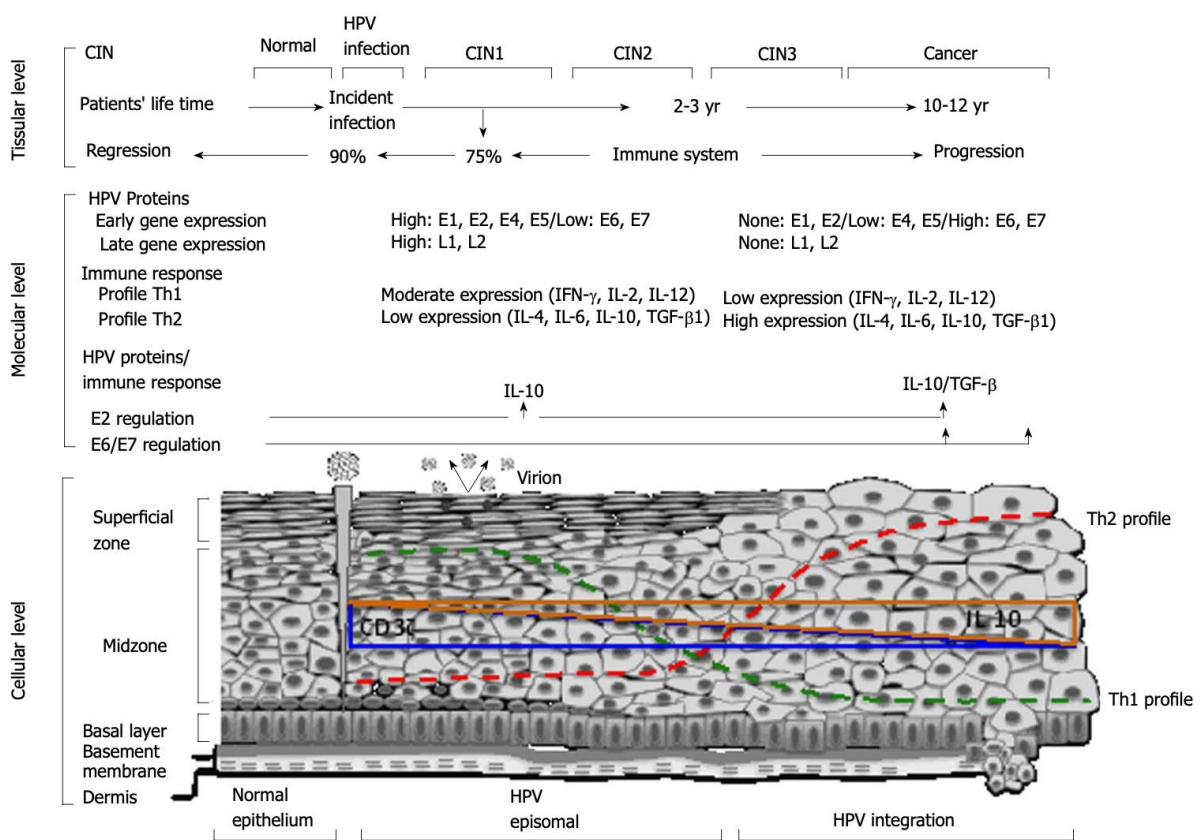


Рисунок 1 - Систематическое представление канцерогенеза вируса папилломы человека шейки матки: роль иммунного ответа [13].

Врожденный иммунный ответ, который включает в себя макрофаги, естественные клетки-убийцы (далее - NK) и естественные Т-клетки-убийцы, играет ключевую роль как первая линия обороны против инфекции вирусом папилломы человека. Одной из характеристик инфекции ВПЧ является эффективное уклонение от распознавания врожденным иммунитетом. В процессе инфекции ВПЧ происходят изменения в естественном иммунитете. Например, ответ на интерферон (далее - ИФН), который является важным механизмом противовирусной защиты, подавляется белками E6 и E7 ВПЧ высокого риска, которые блокируют сигнальные пути рецептора интерферона и мешают активации генов, ответственных за производство интерферона. Макрофаги активируются при взаимодействии

с компонентами вируса, такими как одноцепочечная ДНК, и цитокинами, которые способны уничтожать инфицированные ВПЧ клетки за счет выделения фактора некроза опухоли α (TNF- α). Белки E6 и E7 ВПЧ16 также могут затруднять перемещение макрофагов к месту инфекции ВПЧ путем ингибирования их транслокации (Рисунок 1) [25].

Экспрессия цитокинов IL-10 и TGF- $\beta 1$ при структурных изменениях в эпителии шейки матки (далее - SIL) и раке шейки матки указывает на наличие локальной иммуносупрессии.

В раке шейки матки противовирусный и противоопухолевый иммунитет активируется цитокинами типа Th1, в то время как цитокины типа Th2 его ингибируют. Зона трансформации шейки матки, чувствительная к развитию рака, связана с повышенным уровнем цитокинов типа II (IL-4/IL-6) или иммуносупрессивных цитокинов (IL-10 и TGF- $\beta 1$), которые вырабатываются различными клеточными типами, включая макрофаги, дендритные клетки и кератиноциты. Поскольку оба цитокина способны подавлять эффективное индуцирование иммунного ответа типа I антигенпрезентирующими клетками, их наличие может способствовать предрасположенности этой области к развитию рака шейки матки [26].

Определение точного состава и иммунного окружения влагалища до заражения ВПЧ, во время персистирующей инфекции и после элиминации дает понимание сложных механизмов канцерогенеза шейки матки. В микроокружении цервикального канала наличие иммуносупрессивных цитокинов (TGF- $\beta 1$, IL-10) способствует персистенции ВПЧ-инфекции [27]. Большинство исследований микробиома женских половых путей проводилось на вагинальном уровне, и лишь немногие исследования включали микробиоту шейки матки и профиль цитокинов [28].

Опухоль-ассоциированные макрофаги (далее - ОАМ) часто имеют M2-поляризованный фенотип, а наличие ОАМ коррелирует с прогрессированием опухоли и плохим прогнозом у больных раком шейки матки [29]. Поражения шейки матки высокой степени, вызванные ВПЧ+, характеризовались повышенной инфильтрацией макрофагов, при которой ОАМ оказались преобладающей популяцией [30]. Основной механизм рекрутирования ОАМ в поражениях, связанных с ВПЧ, до конца не изучен. Предполагают, что ОАМ дифференцируются от макрофагов, происходящих из моноцитов, после воздействия различных растворимых факторов, происходящих из опухолевых клеток. Эти элементы включают хемокин CCL2 и макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF), а также несколько иммуносупрессивных медиаторов, включая TGF- β , IL-10, IL-6 и PGE2, активность которых увеличивается в опухолях, ассоциированных с вирусом папилломы человека (ВПЧ). Кроме того, помимо факторов, исходящих из опухолевых клеток, цитокины Т-хелперов 2 (Th2), такие как IL-4, IL-10 и IL-13, способствуют дифференцировке опухолевых ассоциированных макрофагов, в то время как цитокины Th1 играют ингибирующую роль [31].

Пациенты на ранних стадиях заболевания шейки матки характеризуются высокими уровнями IL-10 как в сыворотке, так и на уровне ткани [32,33]. Уровень экспрессии мРНК IL-10 и уровень белка IL-10 в сыворотке существенно выше у лиц с SIL по сравнению с женщинами без поражений. Уровень IL-10 определяется наличием аллели A SNP в позиции 592 nt гена IL-10 человека [34]. Следовательно, наличие IL-10, вероятно, играет ключевую роль в прогрессивном развитии нарушенного иммунного ответа на поражения шейки матки [13]. Учитывая вышеизложенное, изменения в иммунном ответе, наблюдаемые на разных стадиях инфекции ВПЧ коррелируют с прогрессированием поражений в более агрессивную неоплазию.

Предполагается, что выражение некоторых цитокинов, таких как IL-10 и TGF- β 1, может быть стимулировано ВПЧ. Эти цитокины, IL-10 и TGF- β 1, могут быть вырабатываться трансформированной клеткой как механизм, способствующий уклонению от воздействия вируса на иммунный ответ. Некоторые генные промоторы человека регулируются белками ВПЧ: онкопротеины E5, E6 и E7 ВПЧ-16 активируют множество промоторов как вирусных, так и клеточных генов [35].

Крупномасштабное исследование распространенности ВПЧ в Центральноазиатском регионе Kongrtay et al., 2023 [36] установил, что почти у 50% людей, направленных на тестирование на ВПЧ в период 2018 по 2022гг, были получены положительные результаты. В частности, HPV16 оказался наиболее распространенным штаммом среди 14 проанализированных типов вируса высокого риска, распространность которого за последние пять лет составила 20%. Это согласуется с результатами более ранних исследований в Казахстане, где распространенность ВПЧ16 колебалась от 10,6% до 27,7% в Западных регионах и 18,4% в Астане [37,38]. В более позднем исследовании Babi et al. (2021), ВПЧ16 был обнаружен в 54% случаев единичной инфекции и в 57% случаев множественной инфекции [39]. Хотя ВПЧ-16 остается наиболее распространенным типом вируса в Казахстане, распространенность других генотипов ВПЧ варьируется в зависимости от исследования. Исследование от Kongrtay et al., 2023 [40] выявило ВПЧ-31, ВПЧ-52, ВПЧ-51, ВПЧ-39 и ВПЧ-68 в качестве следующих наиболее распространенных типов, хотя их распространенность была значительно ниже, чем у ВПЧ-16.

Профилактические меры, включая вакцинацию против ВПЧ и регулярный скрининг на рак шейки матки, играют решающую роль в снижении бремени заболеваний, связанных с ВПЧ, в стране. Однако важно признать, что распространенность ВПЧ, возможно, изменилась со времени проведения предыдущих исследований, что подчеркивает необходимость дальнейших исследований для получения всестороннего представления о нынешнем национальном ландшафте.

В настоящее время программа профилактики рака шейки матки в Казахстане не предусматривает скрининг на ВПЧ-инфекцию [41-44]. Кроме того, необходимо тщательно оценить экономическую эффективность тестирования на ВПЧ высокого риска (HR-HPV) с точки зрения финансовой осуществимости и доступности, поскольку тестирование на ВПЧ не покрывается ни государством, ни страховкой и ограничено только типами ВПЧ-16 и ВПЧ-18 [45]. На данный момент существует настоятельная необходимость расширить национальную программу профилактики рака шейки матки, включив в нее более комплексные методы скрининга, выходящие за рамки стандартного мазка Папаниколау, для чего и направлено данное исследование.

1 Методы

Данное исследование проводится на базе КФ УМС “Национального научного центра материнства и детства”. Данное исследование является когортным контролируемым, сравнительным и проспективным. В данное исследование включены женщины репродуктивного возраста (18-45 лет) с диагностированными предраковыми поражениями шейки матки (основная группа). У них производится забор ПЦР на ВПЧ высокого канцерогенного риска, ПЦР на ИППП, жидкостная цитология, мазок на исследование микробиома и иммунологического статуса, кольпоскопия и биопсия шейки матки с гистологическим исследованием по показаниям. В зависимости от полученных результатов они разделены на три подгруппы: а) ВПЧ положительные пациенты с атипичным цитологическим результатом; б) ВПЧ положительные пациенты с цитологических изменений; в) ВПЧ отрицательные пациенты с атипичным цитологическим результатом. В качестве контрольной группы обследованы ВПЧ отрицательные женщины без предраковых патологий шейки матки.

Отбор пациентов осуществляется среди пациентов города Астана с использованием лабораторно-функциональных тестирований в соответствии со стандартной клинической практикой.

Объектами исследования являются: женщины в возрасте 18–45 лет.

Критерии включения пациентов:

- Женщины в возрасте 18–45 лет
- Женщины не беременные на момент исследования, с регулярным менструальным циклом
- Женщины, подписавшие информированное согласие на участие в исследовании

Критерии исключения пациентов:

- Отказ от участия в данной программе и прохождения диагностических процедур, указанных в протоколе исследования
- Наличие сложных сопутствующих хронических заболеваний (гепатиты В и С, сахарный диабет, аутоиммунные заболевания, ВИЧ-инфицированные и онкологические заболевания в настоящее время и в анамнезе) любой локализации
- Острые воспалительные процессы любых локализаций на момент исследования
- Использование пробиотиков и/или антибактериальной терапии и/или иммуносупрессивной терапии в течение предшествующих 14 дней
- Курение
- Использование ВМК и гормональных контрацепций

- Любые инвазивные процедуры и оперативные вмешательства на органах, гениталий в течение 45 дней, предшествующих исследованию.

Исследовательская команда при работе соблюдает все принципы научной этики, этики биомедицинских исследований, а также поддерживает высокие стандарты интеллектуальной честности при реализации программы. После подписания информированного согласия пациент включен в исследование. Акушер-гинекологом, входящим в исследовательскую группу, заполняется карта пациента. Каждому участнику присвоен идентификационный номер, и все данные на бумажном носителе, собранные или использованные в ходе этого исследования, а также лабораторные отчеты хранятся в шкафу в запертом кабинете исследовательского персонала, а все электронные данные хранятся на компьютере, защищенный паролем. Только основной научный персонал имеет доступ к любому из этих файлов пациентов.

Научный коллектив следует принципам исследовательской этики, в частности, не допускает фабрикации научных данных и научное мошенничество, которое может привести к искажению научных данных, плагиату и научным нарушениям. Для обеспечения высокого качества исследований и полученных результатов анализ данных проводится слепыми методами.

Данная программа получила одобрение Локальной комиссии по биоэтике Корпоративного Фонда «University medical center» (Протокол № 2024/02-013 от 10.05.2024)

Забор необходимых материалов для последующих мазков и анализов будет производиться согласно следующим протоколам на 9–13 день менструального цикла.

Для диагностики предраковых изменений шейки матки проводился стандартный гинекологический осмотр с применением гинекологических одноразовых зеркал типа Куско. Эти инструменты позволяли обеспечить полный доступ к шейке матки, с фиксацией видимых изменений и возможностью забора материала для цитологического и микробиологического исследования.

Оценка состояния шейки матки:

- Здоровая шейка матки: Шейка имеет гладкий, розовый эпителий без признаков патологических изменений.
- Эктропион: Выход цилиндрического эпителия из цервикального канала на поверхность экзоцервикса
- Дисплазия (CIN): Нарушение клеточного строения, подразделяется на степени (CIN I, CIN II и CIN III) в зависимости от глубины и характера изменений в эпителии.

Для диагностики предраковых изменений шейки матки проводился стандартный гинекологический осмотр с применением гинекологических одноразовых зеркал типа Куско.

Эти инструменты позволяли обеспечить полный доступ к шейке матки, с фиксацией видимых изменений и возможностью забора материала для цитологического и микробиологического исследования.

Оценка состояния шейки матки:

- Здоровая шейка матки: Шейка имеет гладкий, розовый эпителий без признаков патологических изменений.
- Эктропион: Выход цилиндрического эпителия из цервикального канала на поверхность эзоцервикса
- Дисплазия (CIN): Нарушение клеточного строения, подразделяется на степени (CIN I, CIN II и CIN III) в зависимости от глубины и характера изменений в эпителии.

Классификационные системы предраковых состояний шейки матки:

Обследование и диагностика включали использование следующих классификационных систем, каждая из которых имеет определенные критерии и используется в медицинской практике для стандартизации данных.

Классификация «Бетесда (2015)» - используется для Пап-тестов, признана всемирной организацией здравоохранения (далее – ВОЗ) и актуальна в клинической практике.

- NILM (отсутствие внутриклеточных поражений);
- ASCUS (атипия неустановленной значимости);
- LSIL (низкая степень);
- HSIL (высокая степень);
- AGC (атипия железистых клеток).

Классификация «ВОЗ (2023)» - Современный международный стандарт классификации предраковых состояний.

- Норма;
- Легкие изменения (неоплазия);
- CIN I (легкая дисплазия);
- CIN II (умеренная дисплазия);
- CIN III (тяжёлая дисплазия).

На данном этапе кольпоскопия будет проводиться вторым этапом по показаниям после получения результатов и их интерпретации.

Методики онкоцитологии

Для цитологического исследования шейки матки были использованы следующие методики:

- Мазок Папаниколау на стекло:

Преимущества: Простота выполнения, низкая стоимость.

Недостатки: Высокий процент неинформативных мазков.

Диагностическая ценность: 50-60%.

- Жидкостная цитология:

Преимущества: Меньше неадекватных мазков, стандартизированное распределение клеток, возможность повторного тестирования.

Недостатки: Требует специального оборудования.

Диагностическая ценность: 85-90%.

Жидкостная цитология выбрана как основной метод благодаря её высокой информативности и возможности многократного использования образца для молекулярных исследований.

Рекомендации ВОЗ по методам исследования шейки матки

- ВОЗ, 2013: рекомендует жидкостную цитологию как альтернативу традиционным методам мазка Папаниколау.

- ВОЗ, 2021: важность использования ВПЧ-тестирования как самостоятельного метода скрининга для раннего выявления высокого риска.

- ВОЗ, 2023: кольпоскопия рекомендована как дополнительный метод при подозрении на предраковые состояния.

- ВОЗ, 2024: Подтверждает жидкостную цитологию как предпочтительный метод, при наличии оборудования.

Жидкостная цитология - альтернатива традиционному мазку, подразумевает размещениематериала с шейки матки вместе со щеткой не на стекле, а в транспортной жидкости, предупреждая утрату части материала. Дальнейшая работа с клеточной суспензией происходит в лаборатории, и может быть частично или полностью автоматизирована. Жидкостная технология позволяет получить стандартизованные цитологические образцы высокого качества, избежать "загрязнения" препарата эритроцитами и воспалительными элементами, и распределить клетки без нагромождения на небольшом участке диаметром 1,2 см в виде равномерного монослоя. Преимуществом метода является уменьшение числа неадекватных мазков примерно в 10 раз, сокращение времени, необходимого для интерпретации мазка, возможность использовать оставшуюся клеточную суспензию для ВПЧ-тестирования и молекулярных тестов из того же образца в случае сомнительных результатов мазков.

С помощью эндоцервикальной щетки производится забор клеток с поверхности влагалищной части шейки матки (экзоцервикса) и со стенок цервикального канала (эндоцервикс - «зона превращения» плоского и цилиндрического эпителия). Материал будет

получен в виде скарификата до "кровавой росы", чтобы был получен образец максимально богатый клетками, которые переносятся в жидкую фиксирующую и транспортную среду.

Для цитологического исследования стеклопрепараторов приготовленных методом жидкостной цитологии, необходимы следующее оборудование и материалы:

- Автоматическая система для жидкостной цитологии слайд-процессор HURO PATH T;
- Световой микроскоп Axiostarplus KarlZeiss;
- Световой микроскоп Axioskop-40 KarlZeis;
- Микроскоп слайд;
- Стекла покровные 24*24;
- Не стерильные марлевые салфетки 6*7 см;
- 2 стойки по 12 емкостей на 250 мл;
- Фильтр HURO PATH.
- Контейнер для сбора безопасной утилизации (КСБУ) для отходов класса Б;
- Средства индивидуальной защиты (халат/костюм, одноразовые не стерильные перчатки, медицинская шапочка, защитный экран/очки).

Требуемые реагенты: для исследования стеклопрепараторов приготовленных методом жидкостной цитологии, окрашенных методом Папаниколау, необходимы следующие реагенты:

- Спирт этиловый 700; 800; 960;
- Вода дистиллированная;
- Набор реагентов для окраски урогенитальных мазков по Папаниколау (ДИАХИМ-ПАП);
- Био-Маунт НМ;
- О-ксилол.

Шаги выполнения процедуры

- Включить питание и нажать кнопку ПИТАНИЕ. «POWER»!
- Выберите меню на экране основного меню.
- После входа в режим проверьте значение параметра.
- Если значение параметра неверно, коснуться синей части и ввести правильное значение.
- Вставить фильтр, повернув его на 90 градусов по часовой стрелке.
- Вставить слайд в гнездо слайда на аппарате.
- Смешайте HURO PATH раствор с вихревой мешалкой и залить 3 мл в фильтр.
- Нажать «START» и дождаться звукового сигнала.

- Проверить наличие мазка на слайде! Поместить смазанный мазок в 96° спирт, для фиксации клеток.
 - После звукового сигнала снять фильтр против часовой стрелки.
 - В конце рабочего дня налить 3 мл 96°спирт в фильтр и запустить его, чтобы очистить патрубок фильтра и весь сливной шланг.
 - Нажмите кнопку «ESC», возврат на главный экран.
 - Нажмите кнопку «Выключить» и дождитесь завершения операции.
 - Если на экране отображается «Выключить», выключите питание.
- Производится окрашивание стеклопрепараторов приготовленных методом жидкостной цитологии по методу Папаниколау с соблюдением временных интервалов окрашивания:

Фиксация: 96° спирт - 30 мин;

Гидратация:

- 96° спирт – 1 минута
- 80° спирт - 1 минута
- 70° спирт - 1 минута;

Промывка: проточная вода - до полного удаления спирта около 40 секунд;

Окраска ядра: 4) гематоксилин Харриса-1 (ДНК) 6 минут (фильтровать перед краской);

Промывка: проточная вода – до полного удаления около 1 минуты;

Дифференцировка: 5) 96°спирт – 1 минута;

- 96°спирт – 1 минута;
- 70°спирт – 1 минута;
- 80°спирт – 1 минута;9) 96°спирт – 1 минута;

Окраска цитоплазмы: 10) OG - 6–6 минут;

Дегидратация: 96°спирт –1 минута

Окраска цитоплазмы: ЕА-50–6 минут;

Дегидратация: 96° спирт–1 минута

Просветление: О-Ксилол–10 минут

- О-Ксилол–10 минут

Заключение: Био-Маунт НМ или канадский бальзам-покрыть покровным стеклом.

- Микроскопия при помощи микроскопов Axostar plus Karl Zeiss; Axioskop-40 Karl Zeis (смотри алгоритм эксплуатации микроскопа). Просмотр препаратов начинать с малого увеличения, при этом необходимо прежде всего обращать внимание на: фон препарата (бесструктурные массы, элементы воспаления и элементы крови, казеозные массы и т.д.); расположение клеточного состава (в виде железистых и папиллярных структур, сплошными

полями, разрозненно, пластами и т.д.); размеры и форма клеток (мелкие, средние, крупные, гигантские, округлые, овальные, вытянутые, бобовидные, причудливые и т. д.); ядро клетки (размеры, форма, контуры, гипо, гипер, нормо-хромия, полихромазия, включения. Структура хроматина: мелкозернистая, грубозернистая, петлистая, комковатая и т.д.), наличие ядрышек (нуклеолы) их количество, окраска, форма, наличие вакуолизации в ядрах; цитоплазму (количество, расположение по полюсам, в виде узкого или широкого ободка вокруг ядра, окраска нежно-базофильная, темно-базофильная, фиолетовая, контуры ровные, зазубренные, вдавления, кружевные и т.д.). Наличие фигур деления (амитозы, митозы, эндомитозы);

Наличие «голых» ядер и много ядерность; Оценку степени информативности по распространенности и выраженности признака; Просмотр препарата под большим увеличением для выявления тонких особенностей цитологической картины с просмотром картины по всему периметру-краю мазка, затем остальных полей зрения при помощи перекрестного зигзагообразного движения в направлении слева направо.

- Формулировка заключения: активный поиск диагностически значимых цитологических признаков при разных патологических процессах (пролиферативные, дегенеративные изменения, гиперплазия); группировка выявленных признаков (гипо-, нормо-, гиперхромия ядер, моно- или полиморфизм клеток, ядер, формирование атипичных структур); интерпретация сути выявленных изменений (соответствие изменений воспалительному, неопластическим, опухолевым процессам, аллергическому состоянию и т.д.); построение диагностической гипотезы; установление и формулировка цитологического диагноза; сформулировать окончательный цитологический диагноз вслед за описанием микроскопической картины с использованием принятых международных терминов, но допустимо в качестве дополнительного замечания применять привычные в данном учреждении названия опухолей.

Полимеразная цепная реакция - многократное копирование определенного участка вирусной ДНК типоспецифическими и видооспецифическими праймерами - качественное определение ВПЧ высокого канцерогенного риска с типированием вируса.

Получение материала производится с помощью универсального зонда в пробирку со специальной транспортной средой. Рабочая часть зонда погружается в шейку матки и вращая зонд, производится по поверхности эпителия, чтобы максимально полно набрать материал на зонд. Далее зонд переносится в пробирку с транспортной средой. Рабочую часть зонда, содержащую исследуемый материал, обламывается в области насечки и остается в пробирке с транспортной средой. Пробирку плотно закрывается крышкой, не допуская зазора и промаркировать. При хранении +2-+8С при сроке доставки материала в лабораторию составляет не более 24 часов.

Используется набор реагентов «Реалбест ДНК ВПЧ ВКР генотип количественный», предназначенный для дифференциального выявления и количественного определения ДНК вирусов папилломы человека 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58, и 59 типов высокого канцерогенного риска

Выделение ДНК из клинических проб проводится с помощью наборов: РеалБест ДНК-ДНК ВПЧ ВКР генотип количественный

Чувствительность выявления ДНК ВПЧ 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59 типов (100 копий ДНК в пробе) – 100%. Специфичность выявления ДНК ВПЧ 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59 типов (по образцам, не содержащим ДНК данного типа ВПЧ, но содержащим ДНК восьми других типов ВПЧ) – 100%. Чувствительность выявления ДНК гена HMBS человека (250 копий ДНК в пробе) – 100%. Коэффициент вариации для значений логарифма концентрации ДНК ВПЧ - не более 10%.

ПЦР на ИППП исследование для диагностики заболеваний, передающихся половым путем. (*Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Herpes simplex virus types 1 and 2*, *Cytomegalovirus (CMV)*, *Candida albicans*, *Trichomonas vaginalis*).

Инфекции, передающиеся половым путем – это объединенное название нескольких бактериальных, вирусных или протозойных инфекций, которые могут приводить к воспалению различных отделов мочеполовой системы, в том числе уретриту, цервициту и простатиту. ИППП часто протекают бессимптомно – так, около 50 % женщин с гонореей и около 50 % пациентов с хламидиозом (женщин и мужчин) не имеют никаких признаков инфекции, по этой причине скрининг на ИППП целесообразно проводить всем сексуально активным пациентам, не использующим барьерный метод контрацепции, а не только пациентам с признаками ИППП.

Шаги выполнения 1процедуры ПЦР диагностики на ИППП и ВПЧ

- Подготовка бокса.
- Извлечь набор из холодильника, выдержать контрольные образцы и готовую реакционную смесь для ПЦР (ГРС) в упаковке (не вскрывая) при температуре 18-25 С не менее 30 минут.
- Вскрыть упаковку, аккуратно, с помощью канцелярского ножа, отрезать необходимое количество по числу подготовленных проб, включая контроли ОКО, ПКО пробирок с ГРС. Отрезать пробирки следует вместе покрывающей их пленкой. Оставшиеся неиспользованные пробирки с ГРС упаковать в цефленовый пакет с осушителем, удалить из него лишний воздух и плотно закрыть зажим.
- Микропробирки (по числу подготовленных проб, включая контроли)

с готовой реакционной смесью для ПЦР (ГРС) расположить в микротитровую по протоколу исследования.

- В ламинарном шкафу в каждую микропробирку пипеткой, с отдельным наконечником с фильтром, внести 50 мкл соответствующей пробы, выделенной ДНК/РНК. Планшет закрыть оптической пленкой.
- Включить компьютер управления и принтер.
- Затем включить анализатор: основной тумблер находится на боковой поверхности прибора, имеющий обозначения OFF/ON.
- Поместить планшет в амплификатор и закрыть крышку.
- Запрограммировать прибор для проведения амплификации специфического фрагмента ДНК/РНК и ВКО и детекции флуоресцентных сигналов.
- Запустить реакцию амплификации в соответствии с инструкцией.
- Получить распечатку полученных результатов на амплификаторе.
- Проанализировать и зафиксировать полученные контрольные образцы согласно контролю качества.
- Проанализировать полученные результаты образцов согласно учету результатов реакции строго по инструкции.

Материалом для исследования является урогенитальные соскобы. Выделение ДНК из клинических проб проводится с помощью наборов «РеалБест ДНК - экспресс», «РеалБест – экстракция 3». Чувствительность – выявление 100 копий ДНК возбудителя в стандартных образцах предприятия – 100%. Специфичность выявления ДНК возбудителя (по стандартной панели предприятия отрицательных ДНК - экстрактов) – 100%. Референсные результаты – отрицательно / не обнаружено (для всех перечисленных возбудителей). Положительный результат обозначает наличие той или иной половой инфекции.

Образцы собираются в пробирку для сбора ДНК/РНК (Zymo Research, R1101) и хранится в холодильнике при +4°C до момента экстракции ДНК. Для экстракции геномной ДНК из образцов используется набор ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit (Zymo Research, D4300). Качественный контроль выделения ДНК осуществляется с помощью OD260/280 Nanodrop и электрофореза в 1% агарозном геле. Концентрацию и чистоту каждого образца ДНК определяется с помощью флуориметра Invitrogen Qubit 3.0 (Invitrogen, Карлсбад, Калифорния, США). Стерильная вода μQ используется в качестве отрицательного контроля. Секвенирование выполняется на Illumina NovaSeq 6000 в соответствии со стандартными протоколами Illumina.

Анализы Luminex проводятся с использованием наборов Milliplex HCYTMA60PMX38VK от EMD Millipore Corporation на системе Flexmap 3D. Образцы

сыворотки немедленно заморожены и сохранены при температуре -80°C, а анализ проводится в соответствии с рекомендациями производителя для образцов сыворотки, используя рекомендуемые разведения образцов и концентрации по стандартной кривой (Merck-Millipore). Список анализов: sCD40L EGF Этаксин FGF-2 Лиганд Flt-3 Фракталкин G-CSF GM-CSF GRO α IFN α 2 IFN γ IL-1 α IL-1 β IL-1ra IL-2 IL-3 IL-4 IL-5 IL-6 IL-7 Ил-8 Ил-9 Ил-10 Ил-12 (п40) Ил-12 (п70) Ил-13 Ил-15 Ил-17А Ил-17Е/Ил-25 Ил-17Ф Ил-18 Ил-22 Ил-27 IP-10 MCP-1 MCP-3 M-CSF MDC (CCL22) MIG MIP-1 α MIP-1 β PDGF-AA PDGF-AB/BB TGF α TNF α TNF β VEGF-A

Развитие современных технологий секвенирования нового поколения (Next Generation Sequencing - NGS) открыло новые перспективы для изучения микробиома человека. Особое внимание уделяется женскому репродуктивному здоровью. Недавние исследования показывают, что состав микробиома шейки матки играет важную роль в поддержании здоровья женской репродуктивной системы и фертильности. Он также помогает защитить организм от патогенных бактерий. Нарушения баланса микробиома могут привести к различным патологиям: от бактериального вагиноза и цервицита до увеличенного риска инфекций, передающихся половым путем, а также раковых заболеваний шейки матки. Изучение бактериальной флоры в шейке матки с использованием современных методов молекулярной генетики является важным направлением исследований в настоящее время.

Исследования в области персонализированной медицины приобретают особенное значение, когда речь идет о использовании индивидуальных характеристик микробиома для создания индивидуализированных методов лечения. Применение технологии шотгансеквенирования позволяет получить наиболее полное представление о разнообразии микроорганизмов, включая некультивируемые виды, что значительно расширяет наши знания о микробиоме человека. В рамках данного исследования была проведена комплексная работа по сбору и подготовке биологического материала для последующего полного геномного секвенирования.

В исследовании приняли участие 100 женщин в возрасте от 18 до 45 лет, которые посетили плановый гинекологический осмотр. Каждая участница была проинформирована о целях исследования и добровольно подписала информированное согласие. Для взятия биологического материала использовали соскоб эпителия шейки матки при помощи стерильных одноразовых цервикальных щеток во время стандартной процедуры кольпоскопии. Сразу после этого материал помещали в стерильные пробирки, морозили при температуре -20 °C до начала процедуры экстракции ДНК для сохранения биоматериала и минимизации риска заражения. Процедура выделения ДНК проводилась с использованием коммерческого набора QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Германия), который был выбран на

основании предварительных экспериментов, показавших наилучшие результаты по качеству и количеству выделяемой ДНК. В стандартный протокол производителя были внесены несколько модификаций, направленных на повышение эффективности выделения ДНК из цервикального материала. В частности, время инкубации с протеиназой К было увеличено до 3 часов, что обеспечило более полный лизис клеток и повысило выход ДНК. Дополнительно был введен этап обработки РНКазой А (10 мг/мл) с инкубацией в течение 30 минут при 37°C, что позволило избавиться от РНК-контаминации. Элюция ДНК проводилась в два этапа с использованием предварительно прогретого буфера, что способствовало более эффективному выходу ДНК с колонки.

Для оценки качества и количества выделенной ДНК использовался комплексный подход, включающий спектрофотометрический анализ на приборе NanoDrop 2000 (Thermo Scientific), флуориметрическое определение концентрации с помощью Qubit dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen) и электрофорез в 1% агарозном геле. Такой многосторонний контроль позволил получить наиболее точную информацию о количестве и качестве выделенной ДНК. Концентрация выделенной ДНК варьировала в диапазоне 12-48 нг/мкл, что полностью удовлетворяло требованиям для последующей пробоподготовки. Важным показателем чистоты препаратов служило соотношение поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (A260/A280), которое для всех образцов находилось в пределах 1.8-2.0, что свидетельствует об отсутствии значимых белковых загрязнений.

Следующим этапом работы стала пробоподготовка для шотган секвенирования, которая проводилась с использованием набора NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit (New England Biolabs) (Рисунок 2). Процесс начинался с фрагментации ДНК на ультразвуковом дезинтеграторе Covaris M220, где 100 нг геномной ДНК подвергались обработке в течение 65 секунд при температуре 4°C. Данные условия были оптимизированы для получения фрагментов с целевым размером около 350 пар нуклеотидов, что является оптимальным для последующего секвенирования. После фрагментации проводилась репарация концов ДНК и А-тейлинг с использованием End Prep Enzyme Mix. Эта стадия включала последовательные инкубации при 20°C и 65°C по 30 минут каждая, что обеспечивало формирование необходимых концевых структур для последующего лигирования адаптеров.

Особое внимание было удалено этапу лигирования адаптеров, где использовались двухцепочечные адаптеры с уникальными баркодами, что позволило в дальнейшем идентифицировать каждый образец при мультиплексном секвенировании. Лигирование проводилось при 20°C в течение 15 минут, после чего следовала двухэтапная очистка с помощью магнитных частиц AMPure XP. Использование различных соотношений

бид:образец (0.9Х и 0.2Х) позволило эффективно выделить фрагменты размером 250-450 пар нуклеотидов, удалив при этом несвязавшиеся адаптеры и димеры адаптеров.

Заключительным этапом пробоподготовки стала ПЦР-амплификация, которая проводилась в течение 8 циклов с использованием специфических праймеров к адаптерным последовательностям. Количество циклов было подобрано экспериментально для минимизации ПЦР-дупликатов при сохранении достаточного количества материала для секвенирования. После амплификации проводилась финальная очистка на магнитных частицах в соотношении 1:1, что позволило получить высококачественные библиотеки для секвенирования.



Рисунок 2 - Пробоподготовка образцов цервикального микробиома для NGS- секвенирования.

Анализ полученных библиотек показал высокое качество подготовленного материала. Средняя концентрация библиотек составила 23.8 ± 3.9 нМ, средний размер вставки - 335 ± 18 пар нуклеотидов, а индекс качества библиотек (далее - DIN) превышал 8.5, что соответствует высоким стандартам качества для шотган секвенирования. Все 50 подготовленных образцов успешно прошли контроль качества и были признаны пригодными для последующего секвенирования. До момента загрузки на секвенатор библиотеки хранились при температуре -20°C , что обеспечивало их стабильность.

Таким образом, проведенная работа по сбору биологического материала и подготовке библиотек для шотган секвенирования была выполнена с соблюдением всех необходимых методических требований и позволила получить высококачественный материал для дальнейшего анализа микробиома шейки матки. Полученные результаты создают надежную

основу для последующего секвенирования и биоинформационического анализа, что позволит получить новые данные о составе и функциональных особенностях микробиома женского репродуктивного тракта.

Исследование взаимосвязи между типами вируса папилломы человека и особенностями локального иммунного ответа приобретает особую значимость для Казахстана. Согласно национальным эпидемиологическим данным, распространенность ВПЧ-инфекции среди женщин репродуктивного возраста достигает 28.3% [45], варьируя от 23.4% в северных до 33.2% в южных регионах [46]. По данным систематического обзора, страны Центральной Азии демонстрируют один из самых высоких показателей персистенции ВПЧ высокого онкогенного риска в мире [47].

Исследования Казахского НИИ онкологии и радиологии выявили значимые этнические особенности в распределении генотипов ВПЧ [48]. У женщин казахской этнической группы преобладают типы 16 и 31 (41.2% и 12.8%), тогда как у русских женщин чаще встречаются типы 18 и 33 (38.9% и 15.3%) [49]. Многоцентровое исследование продемонстрировало нарушения локального иммунного ответа у 42.3% пациенток с персистирующей ВПЧ-инфекцией [50], при этом профиль цитокинов цервикальной слизи, в частности соотношение IL-10/IFN- γ , является надежным предиктором элиминации вируса [51].

В исследование были включены 100 женщин репродуктивного возраста (18-45 лет) из различных регионов Казахстана. Все участницы предоставили информированное согласие, одобренное этическим комитетом. Критерии включения предусматривали: отсутствие острых воспалительных и системных аутоиммунных заболеваний, ВИЧ-инфекции, неприменение гормональной контрацепции и антибактериальной терапии в течение трех месяцев до начала исследования.

Забор биологического материала (цервикальной слизи) осуществлялся на 7-11 день менструального цикла для минимизации гормонального влияния на иммунологические показатели. Образцы хранились при температуре -20°C до проведения анализов.

Анализ локального иммунологического профиля проводился методом мультиплексного анализа на платформе Luminex FLEXMAP 3D® с использованием наборов Milliplex HCYTMAG60PMX38VK (EMD Millipore Corporation) (Рисунок 3). Данная технология основана на принципе проточной флуориметрии с применением магнитных микросфер, что позволяет одновременно определять множество анализаторов в одном образце.

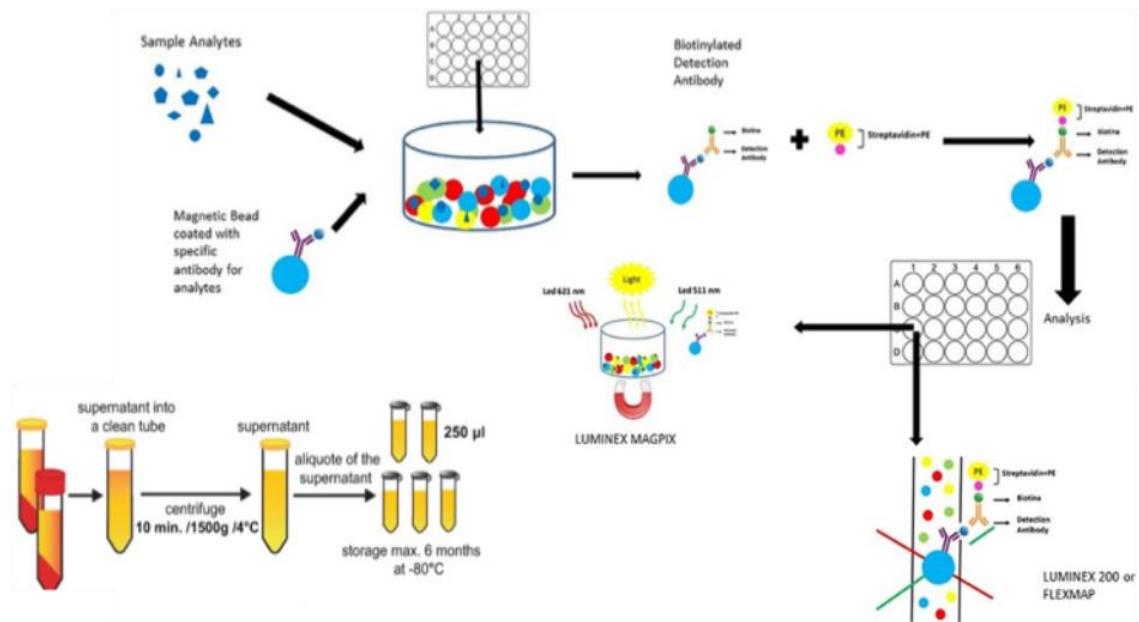


Рисунок 3 – Схема исследования

Исследовался широкий спектр цитокинов и хемокинов, включая:

- Провоспалительные факторы: IL-1 α / β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF α / β
- Противовоспалительные медиаторы: IL-4, IL-10, IL-13
- Факторы роста: EGF, FGF-2, PDGF-AA, PDGF-AB/BB, VEGF-A
- Хемокины: Эотаксин, IP-10, MCP-1, MCP-3, MIG, MIP-1 α / β
- Колониестимулирующие факторы: G-CSF, GM-CSF, M-CSF
- Регуляторные молекулы: sCD40L, IL-1ra, IL-17A/E/F, IL-22, IL-27, TGF α

Анализ проводился согласно стандартному протоколу производителя, который включал несколько последовательных этапов. На этапе подготовки реагентов все компоненты были доведены до комнатной температуры (20-25°C), выполнено серийное разведение стандартов с использованием Assay Buffer, подготовлены Quality Controls путем восстановления лиофилизированных контролей в 250 мкл десорбированной воды, разведен 10X Wash Buffer (60 мл буфера + 540 мл десорбированной воды) и подготовлена смесь антител-микросфер путем сонификации каждого флакона в течение 30 секунд. Пробоподготовка образцов включала центрифугирование при 1000g в течение 10 минут для удаления дебриса, разведение образцов в соотношении 1:2 с Assay Buffer, последующее аликвотирование и хранение при -20°C до момента анализа. Иммуноанализ проводился в несколько этапов: после промывки планшета (200 мкл Wash Buffer на лунку) последовательно вносились 25 мкл стандартов и контролей в соответствующие лунки, 25 мкл Assay Buffer в лунки для образцов, 25 мкл Matrix Solution в лунки стандартов и контролей, 25 мкл подготовленных образцов и 25 мкл смеси микросфер во все лунки. После инкубации в течение ночи (16-18 часов) при 2-8°C с перемешиванием и двукратной промывки планшета

добавлялись 25 мкл Detection Antibodies с часовой инкубацией при комнатной температуре, затем 25 мкл Streptavidin-Phycoerythrin с 30-минутной инкубацией, после чего следовала двукратная промывка планшета и ресуспендривание в 150 мкл Sheath Fluid. Анализ проводился на платформе FLEXMAP 3D® со следующими параметрами: 50 событий на микросферу, объем образца 100 мкл, Gate Settings 8,000-15,000, Reporter Gain в режиме Default (low PMT), Time Out 60 секунд, с использованием калибровочного набора F3D-CAL-K25 и верификационного набора F3D-PVER-K25. Обработка данных включала анализ медианной интенсивности флуоресценции (MFI), построение стандартных кривых методом 5-параметрической логистической регрессии и расчет концентраций анализаторов с учетом фактора разведения. Из 100 собранных образцов 98 (98%) успешно прошли все этапы анализа; 2 образца были исключены из-за недостаточного количества материала или несоответствия критериям качества, которые включали концентрацию общего белка > 0.5 мг/мл, отсутствие гемолиза, достаточный объем образца (\geq 100 мкл) и корректные значения внутренних контролей качества. Контроль качества анализа обеспечивался использованием стандартных кривых с $R^2 > 0.98$, анализом Quality Controls с приемлемым диапазоном отклонений (80-120%), поддержанием коэффициента вариации между дубликатами < 15% и регулярной калибровкой прибора согласно рекомендациям производителя. Полученные данные составили основу для последующего анализа взаимосвязи между иммунологическими параметрами и клиническими характеристиками пациентов.

2 Результаты исследований

Клинический анализ данных пациентов с патологией шейки матки. Дополнительно на начальном этапе научного исследования с целью определения набора пациентов в исследовательскую и контрольную группы, нами было проведено следующие исследования: Ретроспективный анализ медицинских амбулаторных карт пациентов, базы данных скрининга рака шейки матки из Республиканского диагностического центра КФ УМС (далее – РДЦ), Астана, Казахстан.

Целью анализа было получить предварительные результаты выявления распространенности предраковых поражений шейки матки среди невакцинированных женщин, посещающие национальную больницу третичного уровня в Казахстане.

Исследование было одобрено Локальной комиссией по Биоэтическе КФ УМС. Не ожидалось никаких известных рисков для участников. Амбулаторные карты пациентов представлены анонимной базой данных без какой-либо идентифицирующей информации о пациентах

Посещаемость гинекологической поликлиники РДЦ около 10 000 пациентов в год. Потенциальные участники были включены в исследование, если они соответствовали следующим критериям включения: женщины 18 лет и старше, прошедших Пап-тест в гинекологической поликлинике РДЦ в 2018 году.

За период анализа (2018 г.) этим пациентам было проведено исследование 6682 образцов мазков из цервикального канала методом Пап-теста. Возраст, место жительства, социальное положение пациенток были взяты из электронной базе данных РДЦ.

Из всех 6682 ПАП-тестов у 249 пациентов (3,73%) выявлены аномальные результаты мазков на онкоцитологическое исследование.

Средний возраст этих женщин составил $35,6 \pm 5,62$ года. Повозрастное распределение выглядело следующим образом: от 20 до 30 лет - 92 (37,0%), 31–37 лет - 90 (36,0%), 38–45 лет - 67 (27,0%). 38,15% (95) женщин были относительно здоровы, то есть у них не установлено гинекологических заболеваний. У 61,85% женщин были выявлены различные гинекологические заболевания: хроническое воспаление придатков матки у 24,5% (61), вагинит - у каждой десятой - 10,04% (25), эктропион шейки матки - 5,62% (14), полип шейки матки – у 2,41% (6), бесплодие 4,82% (12), подозрение на рак шейки матки - 2,41% (6), лейомиома матки 5,22% (14). Распределение патологии шейки матки выглядело следующим образом: ASCUS + ASCs-H - 18,47% (46 случаев) LSIL - 62,25% (155 случаев), HSIL - 19,28% (48).

Распространенность плоскоклеточных поражений, стратифицированная по возрастным группам распределена следующим образом. Самая высокая распространенность ASCUS и

ASCs-H (37% из всех) наблюдалась среди женщин в возрасте от 38 до 45 лет. Легкая степень дисплазии шейки матки встречалась среди молодых женщин в возрасте от 20 до 30 лет - 30%. 33% случаев тяжелой дисплазии приходилось на женщин в возрасте от 31 до 37 лет. Поскольку значение p , полученное с помощью критерия хи-квадрат Пирсона, превышает значение значимости (0,05), связь между плоскоклеточными предраковыми поражениями шейки матки и возрастными группами не является статистически значимой.

Доля атипичных плоских клеток неопределенной значимости (ASCUS) и атипичных плоских клеток, не позволяющих исключить плоскоклеточное поражение высокой степени злокачественности (ASCs-H), составила 18,47%.

Таким образом, результаты ASCUS + ASCs-H и HSIL были почти одинаковыми среди участников с аномальными результатами цитологии шейки матки. Эти результаты предварительного анализа исследований шейки матки у женщин репродуктивного возраста явились основанием для проведения данного исследования.

На 14 ноября 2024 года в исследование включено 48 женщин согласно критериям включения в исследование. 97,9% женщин коренной национальности – казашки. Средний возраст пациенток составил $35,16 \pm 5,4$ года (19,9–43,0). Все женщины имеют регулярные половые контакты, при этом 91,6% ($n=44$) имеют одногоosexualного партнера, 8,3% ($n=4$) - 2 партнеров. В браке состоят 64,5% ($n=31$), разведены 16,7% ($n=8$), не состояли в браке - 16,7% ($n=8$). По уровню образования - 75,0% ($n=36$) имеют высшее образование, 25% ($n=12$) - среднее специальное. Рост пациенток в среднем $164 \pm 4,2$ см (154–170), вес - $62,6 \pm 4,3$ кг (49,0–97,0 кг), индекс массы тела - $23,4 \pm 2,6$ (17,5–29,3).

Менархе в среднем началось в $13,7 \pm 2,3$ (12–17) лет, 97,9% (47) имели регулярные менструальный цикл. Болезненность менструального цикла отмечена лишь у одной пациентки. По объему менструального цикла скучные отмечены у 3 (6,2%), умеренные у 45 (93,7%). Продолжительность менструации в среднем 4,9 (2,0–10,0) дней.

Среднее число беременностей на одну женщину составило 2,6 (1,0–4,0), в том числе из них закончились родами 1,5 (1,0–1,05), абортами - у 7 (14,6%) пациенток. Внематочных беременностей не было. У 31 (64,6%) женщин роды были самопроизвольными и у 4 (8,3%) – закончились операцией кесарева сечения. Самопроизвольные выкидыши в анамнезе отмечены у 12 (25%) пациенток.

В таблице 1 представлены показатели контрацепции. Контрацепцией пользовались 27% (13) пациенток, из них комбинированную оральную контрацепцию используют только двое, что составило 4,7%, внутриматочную спираль - 3 (6,2%), барьерными методами, в частности –презервативами пользовались 8 (16,7%).

Таблица 1 - Показатель контрацепции среди исследуемых женщин

Всего	Комбинированная оральная контрацепция	Внутриматочная спираль	Презерватив
1	2	3	4
13 (27%)	2 (4,7%)	3 (6,2)	8 (16,7%)

Из гинекологических заболеваний отмечены в анамнезе эндометриоз -3 (6,2%), киста яичника - 5 (10,4%), полип эндометрия - 2 (4,1%), генитальный пролапс 2 (4,1%), миома матки - 2 (4,1%), дисплазия шейки матки легкой степени - 1 (2,1%), дисплазия тяжелой степени - 1 (2,1%), вагинит -1 (2,1%). Эктопия шейки матки отмечена у 27 (56,2%). Бесплодия, случаев применения вспомогательных репродуктивных технологий не было (Таблица 2).

Таблица 2 - Гинекологические заболевания среди исследуемых

Нозология	Частота
1	2
Эндометриоз	3 (6,2%)
Киста яичника	5 (10,4%)
Полип эндометрия	2 (4,1%)
Генитальный пролапс	2 (4,1%)
Миома матки	2 (4,1%)
Дисплазия шейки матки легкой степени	1 (2,1%)
Дисплазия шейки матки тяжелой степени	1 (2,1%)
Вагинит	1 (2,1%)
Эктопия шейки матки	27 (56,2%)

Из перенесенных ранее инфекций, передаваемых половым путем, отмечены: хламидийная инфекция – в 2,1 % (1), трихомонадная – в 2,1 % (1) случаев, бактериальный вагиноз – у 2,1 % (1) женщин.

Экстрагенитальная патология выявлена у пациенток: анемия - 2 (4,2%), заболевания щитовидной железы - 3(6,3%), артериальная гипертензия -2 (4,2%), сахарный диабет 2 типа - 1 (2,1%), хронический гастрит - 2 (4,2%), хронический пиелонефрит - 2(4,2%), гайморит - 1 (2,1%), дисгормональные заболевания молочных желез - 1(2,1%) случаев (Таблица 3).

Таблица 3 - Экстрагенитальная патология среди исследуемых

Нозология	Частота
1	2
Анемия	2 (4,2%)

Продолжение таблицы 3

1	2
Заболевания щитовидной железы	3(6,3%)
Артериальная гипертензия	2 (4,2%)
Сахарный диабет 2 типа	1 (2,1%)
Хронический гастрит	2 (4,2%)
Хронический пиелонефрит	2(4,2%)
Гайморит	1 (2,1%)
Дисгормональные заболевания молочных желез	1(2,1%)

Отягощенный наследственный фактор отмечен по следующим заболеваниям в таблице 4: - сердечно-сосудистые заболевания - 1 (2,1%), рак толстой кишки - 2 (4,2%), варикозное расширение вен таза - 1 (2,1%), артериальная гипертензия -7 (14,6%), рак шейки матки - 1 (2,1%), бронхиальная астма -1 (2,1%), сахарный диабет -1 (2,1%).

Таблица 4 - Наследственные заболевания среди исследуемых

Нозология	Частота	
	1	2
Сердечно-сосудистые заболевания	1 (2,1%)	
Рак толстой кишки		2 (4,2%)
Варикозное расширение вен таза	1 (2,1%)	
Артериальная гипертензия		7 (14,6%)
Рак шейки матки	1 (2,1%)	
Бронхиальная астма		1 (2,1%)
Сахарный диабет	1 (2,1%)	

10,4% женщин имели аллергические реакции различного характера: сезонные поллины – 5, на пищевые продукты – 3 (6,3% - помидоры,, молочные продукты, гранатовый сок), на шерсть -1(2,1%), химические средства - 1(2,1%), лекарственные препараты – 12,6% (йод, аспирин, антибиотики, супрастин) в виде анафилактического шока.

При изучении анамнеза в части перенесенных заболеваний шейки матки установлено, что в цитологических исследованиях в 4 случаях (8,3%) соответствовали поражению многослойного плоского эпителия тяжелой степени (HSIL), в 3 случаях LSIL(6.2%), в одном случае ACG (2,1%), в 7 случаях (14,6 %) выявлены атипичные клетки плоского эпителия неясного значения (ASCUS), в 25 случае (52%) зафиксировано отсутствие внутриклеточного поражения или злокачественности (NILM) (Таблица 5).

Таблица 5 - Цитологическое исследование

Результаты цитологии	Частота
1	2
HSIL	4 (8,3%)
LSIL	3 (6,2%)
ACG	1 (2,1%)
ASCUS	7 (14,6%)
NILM	25 (52%)

Согласно Таблица 6 положительный ВПЧ статус отмечен у 9 пациенток (18,75%), у 10 пациенток (20,8%) отрицательный и 29 (60,4%) пациенток не обследованы на ВПЧ. Типы ВПЧ обнаружены: 16 типа у 4 (8,3%), 31 типа - 2 (4,2%), 51 типа - 1 (2,1%), 52 тип - 1 (2,1%), 58 типа - 1 (2,1%), 66 типа - 2 (4,2).

Таблица 6 - ВПЧ статус среди исследуемых

Статус	Частота
1	2
Положительный	9 (18,75%)
Отрицательный	10 (20,8%)
Не обследованы	29 (60,4%)

Из проведенных манипуляций на шейке матки отмечены диатермоэлектрокоагуляция у 9 (18,7%), конизация шейки матки у 2 (4,2%), петлевая эксцизия – 2 (4,2%), биопсия шейки матки у 3 (6,2%) пациенток.

Проведена кольпоскопия в анамнезе у 19 (39,6%) пациенток.

Вакцинация от ВПЧ проведена лишь у одной пациентки в анамнезе.

Из обследованных 48 пациентов на 14 ноября 2024 года получены результаты лабораторных исследований ПЦР методом на инфекции, передающиеся половым путем. Наиболее часто выявлен отмечен гарднереллез в 52,0% случаев (n =25), уреаплазмоз в 23% случаев (n =11), цитомегаловирус в 14,6%(n=7), микоплазмоз 10,4% (n =5). У 10 (21,0%) пациенток отмечена по 2 инфекции, у трех пациентов (6,2%) по 4 инфекции и у одной (2,0%) диагностированы 3 инфекции. Структура инфекции отмечена в Таблице 7.

Таблица 7 - Инфекции, диагностированные у пациенток

Инфекции	Частота
1	2
Candida albicans	3(6,2%)
Chlamydia trachomatis	1(2,1%)

Продолжение таблицы 7

1	2
Gardnerella vaginalis	25 (52,0%)
Trichomonas vaginalis	1 (2,1%)
Ureaplasma urealyticum цитомегаловируса (ВПГ-V) цитомегаловируса (ВПГ-V)	11(23,0%)
Цитомегаловируса (ВПГ-V)	7 (14,6%)
Mycoplasma hominis	5 (10,4)
Mycoplasma genitalium	2 (4,2%)
Итого	55

Таким образом, следует отметить высокую инфицированность шейки матки и цервикального канала женщин различными видами инфекций, передаваемых половым путем, что указывает на неблагоприятный коморбидный фон и наличие воспалительного процесса. В 56,2% случаев (n =27) отмечен положительный ВПЧ. Из них наиболее часто отмечен ВПЧ 16 и 45 типов (Таблица 8).

Таблица 8 - ВПЧ статус у обследованных пациентов

ВПЧ	Статус
1	2
16 типа	5 (10,4%)
18 типа	3 (6,2%)
31 типа	3 (6,2%)
33 типа	1 (2,1%)
35 типа	4 (8,3%)
45 типа	5 (10,4%)
51 типа	1 (2,1%)
52 типа	3 (6,2%)
56 типа	1 (2,1%)
59 типа	1 (2,1%)
Всего	27(56,2%)

При этом вирусная нагрузка по ВПЧ 16 типа составила $3,1 \times 10^5$ КОЕ/мл, ВПЧ 35 типа - $5,1 \times 10^5$ КОЕ/мл. ВПЧ 45 типа - $3,9 \times 10^5$ КОЕ/мл. ВПЧ 51 типа - $3,3 \times 10^5$ КОЕ/мл, ВПЧ 52 типа - $6,5 \times 10^5$ КОЕ/мл.

Обследование цервикального канала методом жидкостной онкоцитологии и продемонстрировало отсутствие изменений клеток как железистого, так и плоского эпителия(NILM) у половины пациенток. Случаев выявления атипических клеток не наблюдалось. Изменения клеток неизвестного происхождения наблюдалось у каждой третьей пациентки – 33,3% и у 4,2% - изменения железистого эпителия. (Таблица 9).

Таблица 9 - Результаты цитологических исследований у женщин репродуктивного возраста основной группы

Результаты цитологии	Частота
1	2
LSIL	6 (12.5%)
ASC-H	2 (4.2%)
ASCUS	16 (33.3%)
NILM - гиперкератоз -реактивные изменения многослойного плоского эпителия	24 (50%) 2 2
Итого	48

Как показали результаты исследования у 12,5% отмечена дисплазия плоского эпителия шейки матки легкой степени.

Установление связи между инфицированием ВПЧ и дисплазией легкой степени позволило установить, что у пациенток также имеются инфекции, передающиеся половым путем как микоплазмоз и хламидиоз. Среди женщин, инфицированных ВПЧ у 3 (6,2%) выявлена дисплазия плоского эпителия, у 4(8,3%) – ASCUS, у одной пациентки (2,1%) - ASC-H.

Коэффициент корреляции по предварительным расчетам на эту часть обследованных женщин ставил $r=0, (P \leq 0,05)$.

По обследованию на иммунологический статус цервикального канала у женщин с инфицированием ВПЧ, имеющих предраковые заболевания шейки матки, не получены результаты – они в настоящее время находятся в работе.

Таким образом, несмотря на малочисленность полученных результатов исследования, предварительно можно заключить высокую инфицированность ВПЧ – 56,2% среди женщин репродуктивного возраста, имеющих заболевания шейки матки. В этой же группе высокий процент инфекций, передающихся половым путем, что может послужить неблагоприятным фоном для присоединения ВПЧ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предраковые поражения шейки матки у женщин репродуктивного возраста являются актуальной проблемой современной медицины. Эти состояния могут прогрессировать до рака шейки матки при отсутствии своевременной диагностики и лечения. Основными факторами риска предракового поражения шейки матки являются вирус папилломы человека (ВПЧ), особенности образа жизни, а также состояние вагинального микробиома и мукозного иммунитета.

Настоящая программа направлена на комплексное изучение роли микробиома и иммунитета в развитии ВПЧ-ассоциированных предраковых поражений шейки матки, разработку новых методов диагностики и лечения, а также создание специализированного центра для повышения доступности медицинской помощи и профилактики рака шейки матки.

Результаты данного научного проекта существенно расширят существующие знания о микробиоме влагалища и его роли в патогенезе предраковых поражений шейки матки у женщин репродуктивного возраста. В ходе исследования удастся выявить ключевые особенности микробиома шейки матки/влагалища, а также связь его состава с типами вируса папилломы человека (ВПЧ), что позволит углубить понимание молекулярных механизмов развития предраковых изменений. Такой подход будет способствовать более точной диагностике и разработке индивидуализированных методов профилактики и лечения, что является важным шагом в борьбе с раком шейки матки, одной из ведущих причин смертности женщин в мире.

Особое внимание в ходе исследования будет уделено разработке и клинической оценке новой биологически активной субстанции, направленной на коррекцию микробиома шейки матки при предраковых состояниях. Будет изучена и обоснована биобезопасность и клиническая эффективность предложенного средства, что откроет перспективы для его дальнейшего использования в клинической практике. Эти разработки существенно повысят уровень медицинской помощи и обеспечат снижение заболеваемости раком шейки матки в Казахстане и других странах с аналогичной эпидемиологической ситуацией.

Создание центра профилактики предраковых заболеваний шейки матки будет важным этапом в реализации программы, направленной на повышение квалификации медицинских специалистов, внедрение современных методов диагностики и лечения, а также улучшение доступа к качественной медицинской помощи для женщин из групп риска. Данный центр не только обеспечит проведение высококачественных профилактических мероприятий, но и будет служить платформой для научных исследований и обмена опытом среди специалистов.

Практическая значимость полученных результатов заключается в том, что разработанные методы и технологии, основанные на исследовании микробиома и

иммунологического профиля шейки матки, могут быть внедрены в повседневную клиническую практику. Это обеспечит комплексное решение проблемы ранней диагностики и эффективного лечения предраковых состояний, что, в свою очередь, окажет положительное влияние на здоровье женщин и будет способствовать снижению заболеваемости и смертности от рака шейки матки.

Реализация данного проекта значительно повлияет на развитие научно-исследовательской работы в области медицины, онкологии и биотехнологии, способствуя повышению научно-технического потенциала участвующих организаций. В конечном итоге, исследования в области микробиома и локального иммунитета расширят горизонты науки и внесут значительный вклад в развитие новых подходов к диагностике и лечению предраковых заболеваний шейки матки.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Laversanne M, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I, Bray F. Global Cancer Observatory: Cancer Today // Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. – 2024. - Available from: <https://gco.iarc.who.int/today>
2. Aimagambetova, G., & Azizan, A. Epidemiology of HPV Infection and HPV-Related Cancers in Kazakhstan: a Review //Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP. – 2018. – T.19 - № 5. – C. 1175–1180.
3. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation //Nat Rev Cancer. – 2010. – T.10. – C. 550-560.
4. Aimagambetova, G., Babi, A., Issa, T., & Issanov, A. What Factors Are Associated with Attitudes towards HPV Vaccination among Kazakhstani Women? Exploratory Analysis of Cross-Sectional Survey Data //Vaccines. – 2022. – T. 10. - № 5. – C. 824.
5. Babi, A., Issa, T., Gusmanov, A., Akilzhanova, A., Issanov, A., Makhmetova, N., Marat, A., Iztleuov, Y., & Aimagambetova, G. Prevalence of high-risk human papillomavirus infection and genotype distribution among Kazakhstani women with abnormal cervical cytology //Annals of medicine. – 2024. T. 56. - № 1. – C. 2304649.
6. Aimagambetova, G., Chan, C. K., Ukybassova, T., Imankulova, B., Balykov, A., Kongrtay, K., & Azizan, A. Cervical cancer screening and prevention in Kazakhstan and Central Asia //Journal of Medical Screening. – 2021. T. 28. - № 1. – C. 48–50.
7. Balmagambetova, S. K., Tinelli, A., Urazayev, O. N., Sakieva, K. Z., Koyshybaev, A. K., Zholtukhamedova, D. A., & Urazayeva, S. T. HPV Types Distribution in General Female Population and in Women Diagnosed with Cervical Cancer Across Western Kazakhstan. // Asian Pacific journal of cancer prevention APJCP. – 2019. – T. 20. - № 4. – C. 1089–1096.
8. Babi, A., Issa, T., Issanov, A., Akhanova, S., UdalovaN., Koktova, S., Balykov, A., Sattarkyzy, Z., Imankulova, B., Kamzayeva, N., Almawi, W. Y., & Aimagambetova, G. Knowledge and attitudes of mothers toward HPV vaccination: A cross-sectional study in Kazakhstan //Women's health. – 2023. – T. 19. - № 17455057231172355.
9. Kuralay Kongrtay, Nazira Kadrlodinova, Sultankulova, F., Aigul Batpanova, Kim, Y., Danagul Zhumasheva, Nasrulla Shanazarov, & Nazira Kamzayeva. Prevalence of high-grade HPV types among women in Astana, Kazakhstan (2018-2022) //Journal of Cancer Metastasis and Treatment.- 2023. – T. 10. - № 10.
10. Imankulova, B., Babi, A., Issa, T., Zhumakanova, Z., Knaub, L., Yerzhankyzy, A., & Aimagambetova, G. Prevalence of Precancerous Cervical Lesions among Nonvaccinated Kazakhstani Women: The National Tertiary Care Hospital Screening Data (2018) //Healthcare. – 2023. - T. 11- № 2. – C. 235.

11. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions //*Cancer Discov.* – 2022. – T. 12. - № 1. – C. 31-46.
12. Audirac-Chalifour, Astride, et al. Cervical Microbiome and Cytokine Profile at Various Stages of Cervical Cancer: A Pilot Study //*PLOS ONE*. – 2016. – T. 11. - № 4. – C. e0153274.
13. Torres-Poveda, K. Role of IL-10 and TGF-β1 in local immunosuppression in HPV-associated cervical neoplasia //*World Journal of Clinical Oncology*. – 2014. – T. 5. - № 4. – C. 753.
14. Ravel, J., et al. Vaginal Microbiome of Reproductive-Age Women //*Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2010. – T. 108. - № 1. – C. 4680–4687.
15. Chen, Y., Qiu, X., Wang, W., Li, D., Wu, A., Hong, Z., Di, W., & Qiu, L. Human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia progression are associated with increased vaginal microbiome diversity in a Chinese cohort //*BMC infectious disease*. – 2020. – T. 20. - № 1. – C. 629.
16. Peremykina A.V., Andreyev A.O., Bayramova G.R., Priputnevich T.V., Mikhanoshina N.V., Dobrovolskaya D.A. The role of the microbiome and transcriptome in the development and progression of CIN //*Meditsinskiy sovet. Medical Council*. – 2021. – T.13. – C.223–230.
17. Bruni L, Albero G, Serrano B, Mena M, Collado JJ, Gómez D, Muñoz J, Bosch FX, de Sanjosé S. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre) //*Human Papillomavirus and Related Diseases in Kazakhstan. Summary Report*. – 2023. – T. 3. – C. 54 - 77.
18. Chan, C. K., Aimagambetova, G., Ukybassova, T., Kongrtay, K., & Azizan, A. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cancer: Epidemiology, Screening, and Vaccination-Review of Current Perspectives //*Journal of oncology*. – 2019. - № 2019. – C. 3257939.
19. Mirabello L, Clarke MA, Nelson CW, et al. The Intersection of HPV Epidemiology, Genomics and Mechanistic Studies of HPV-Mediated Carcinogenesis // *Viruses*. – 2018. – T. 10. - № 2. – C. 80.
20. Wang, S., Liu, S., Tan, S., Yin, J., Li, Y., Zhao, F., & Qiao, Y. Characteristics of human papillomavirus prevalence and infection patterns among women aged 25-64 according to age groups and cytology results in Ordos City, China //*Virology journal*. – 2024. – T. 21. - № 1. – C. 12.
21. Rositch AF, Burke AE, Viscidi RP, et al. Contributions of recent and past sexual partnerships on incident humanpapillomavirus detection: Acquisition and reactivation in older women //*Cancer Res*. – 2012. – T. 72. - № 23. – C. 6183-6190.
22. Insinga RP, Perez G, Wheeler CM, Koutsoky LA, Garland SM, Leodolter S, Joura EA, Ferris DG, Steben M, Hernan- dez-Avila M, Brown DR, Elbasha E, Muñoz N, Paavonen J, Haupt RM. Incident cervical HPV infections in young women: transition probabilities for CIN and infection clearance //*Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. – 2011. – T. 20. – C. 287-296.

23. Syrjänen K. Mechanisms and predictors of high-risk human papillomavirus (HPV) clearance in the uterine cervix //*Eur J Gynaecol Oncol.* – 2007. – T. 28. – C. 337-351.
24. Denis F, Hanz S, Alain S. Clearance, persistence and re- currence of HPV infection //*Gynecol Obstet Fertil.* - 2008. – T. 36. – C. 430-440.
25. Syrjänen K, Shabalova I, Naud P, Kozachenko V, Derchain S, Zakharchenko S, Roteli-Martins C, Nerovjna R, Longatto- Filho A, Kljukina L, Tatti S, Branovskaja M, Hammes LS, Branca M, Grunjberga V, Erzen M, Sarian LO, Juschenko A, Costa S, Podistov J, Syrjänen S. Persistent high-risk human papillomavirus infections and other end-point markers of progressive cervical disease among women prospectively followed up in the New Independent States of the Former Soviet Union and the Latin American Screening study co- horts //*Int J Gynecol Cancer.* – 2009. T. 19. – C. 934-942.
26. Rodríguez AC, Schiffman M, Herrero R, et al. Rapid clearance of human papillomavirus and implications for clinical focus on persistent infections //*J Natl Cancer Inst.* – 2008. – T. 100. - № 7. – C. 513-7.
27. Lehoux M, D'Abromo CM, Archambault J. Molecular Mechanisms of Human Papillomavirus-induced Carcinogenesis //*Public Health Genomics.* – 2009. – T. 12. - № 5-6. – C.:268-280.
28. Jing Y, Wang T, Chen Z, et al. Phylogeny and polymorphism in the long control regions E6, E7, and L1 of HPV Type 56 in women from southwest China //*Mol Med Rep.* – 2018. – T. 17. - № 5. – C. 7131-7141.
29. Ye, J., Zheng, L., He, Y., & Qi, X. Human papillomavirus associated cervical lesion: pathogenesis and therapeutic interventions //*MedComm.* – 2023. – T. 4. - № 5. – C. e368.
30. Jit M, Gay N, Soldan K, Hong Choi Y, Edmunds WJ. Estimating progression rates for human papillomavirus infection from epidemiological data //*Med Decis Making.* – 2010. – T. 30. – C. 84-98.
31. Kyrgiou, Maria, et al. “Does the Vaginal Microbiota Play a Role in the Development of Cervical Cancer?” // *Translational Research.* – 2017. – № 179. – C. 168–182.
32. Kushugulova, A., Forslund, S. K., Costea, P. I., Kozhakhmetov, S., Khassenbekova, Z., Urazova, M., Nurgozhin, T., Zhumadilov, Z., Benberin, V., Driessen, M., Hercog, R., Voigt, A. Y., Benes, V., Kandels-Lewis, S., Sunagawa, S., Letunic, I., & Bork, P. Metagenomic analysis of gut microbial communities from a Central Asian population //*BMJ open.* – 2018. – T. 8. - № 7. – C. e021682.
33. Zhou, C., Tuong, Z. K., & Frazer, I. H. Papillomavirus Immune Evasion Strategies Target the Infected Cell and the Local Immune System //*Frontiers in Oncology.* – 2019. – T. 2. - № 9. – C. 682.9.

34. Tindle RW. Immune evasion in human papillomavirus-associated cervical cancer //*Nat Rev Cancer*. - 2002. - Т. - № 2. - С. 59-65.
35. Stanley M. Immune responses to human papillomavirus //*Vaccine*. - 2006. - Т. 24. - № 1. - С. S16-S2.
36. Stanley M. HPV - immune response to infection and vaccination // *Infect Agent Cancer*. - 2010. - Т. 20. - № 5. - С. 19.
37. Feller L, Wood NH, Khammissa RA, Chikte UM, Meyerov R, Lemmer J. HPV modulation of host immune responses //*SADJ*. - 2010. - Т. 65. - С. 266-268.
38. Woodman CB, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues //*Nat Rev Cancer*. - 2007. - Т. 7. - С. 11-22.
39. Pim D, Banks L. Interaction of viral oncoproteins with cellular target molecules: infection with high-risk vs low-risk human papillomaviruses //*APMIS*. - 2010. - Т. 2. - № 118. - С. 471-493.
40. Davis RJ, Van Waes C, Allen CT. Overcoming barriers to effective immunotherapy: MDSCs, TAMs, and Tregs as mediators of the immunosuppressive microenvironment in head and neck cancer //*Oral Oncol*. - 2016. - Т. 58. - С. 59-70.
41. Ghittoni R, Accardi R, Hasan U, Gheit T, Sylla B, Tommasino M. The biological properties of E6 and E7 oncoproteins from human papillomaviruses //*Virus Genes*. - 2010. - Т. 40. - С. 1-13.
42. Peghini BC, Abdalla DR, Barcelos AC, Teodoro Ld, Murta EF, Michelin MA. Local cytokine profiles of patients with cervical intraepithelial and invasive neoplasia //*Hum Immunol*. - 2012. - Т. 73. - С. 920-926.
43. Moscicki A-B, Shi B, Huang H, Barnard E, Li H. Cervical vaginal microbiome and associated cytokine profiles in a prospective study of HPV 16 acquisition, persistence, and clearance //*Front Cell Infect Microbiol*. - 2020. - Т. 10. - № 569022.
44. Ali KS, Ali HY, Jubrael JM. Concentration levels of IL-10 and TNF α cytokines in patients with human papilloma virus (HPV) DNA+ and DNA- cervical lesions //*J Immunotoxicol*. - 2012. - Т. 9. - С. 168-172.
45. Mantovani A, Sica A. Macrophages, innate immunity and cancer: balance, tolerance, and diversity //*Curr Opin Immunol*. - 2010. - Т. 22. - С. 231-7.
46. Nunes RAL, Morale MG, Silva GÁF, Villa LL, Termini L. Innate immunity and HPV: friends or foes //*Clinics*. - 2018. - Т. 73. - № Suppl 1. - С. e549s.
47. Kongrtay K, Kadrlodinova N, Sultankulova F, Batpanova A, Kim Y, Zhumasheva D, Shanazarov N, Kamzayeva N. Prevalence of high-grade HPV types among women in Astana, Kazakhstan (2018-2022) //*J Cancer Metastasis Treat*. - 2023. - Т. 9. - № 32.

48. Bekmukhambetov YZ, Balmagambetova SK, Jarkenov TA, Nurtayeva SM, Mukashev TZ, Koysybaev AK. Distribution of high risk human papillomavirus types in western Kazakhstan - retrospective analysis of PCR data //Asian Pac J Cancer Prev. – 2016. – T. 17. – C. 2667-72.
49. Niyazmetova L, Aimagambetova G, Stambekova N, Abugalieva, Z, Seksembayeva K, Ali S, Azizan A. Application of molecular genotyping to determine prevalence of HPV strains in pap smears of Kazakhstan women //Int J Infect Dis. – 2017. -№ 54. – C. 85-8.
50. Babi A, Issa T, Issanov A, et al. Prevalence of high-risk human papillomavirus infection among Kazakhstani women attending gynecological outpatient clinics //Int J Infect Dis. – 2021. - № 109. – C. 8-16.
51. Aimagambetova G, Chan CK, Ukybassova T, Imankulova B, Balykov A, Kongrtay K, Azizan A. Cervical cancer screening and prevention in Kazakhstan and central Asia //J Med Screen. – 2020. - № 28. – C.48-50.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Календарный план

7

389/пчр-24-26
№ от « 01 » 10

Приложение 1
к настоящему договору
2024 года

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН

1. Наименование организации

1.1 По приоритету: Наука о жизни и здоровье.

1.2 По подприоритету: Инновационные исследования в медицине и общественном здравоохранении.

1.3 По теме программы: ИРН BR24992853 «Национальная программа изучения ВПЧ с разработкой интегрированного подхода к эффективной диагностике и лечению предраковых состояний».

1.4 Общая сумма программы 544 519 786,64 (пятьсот сорок четыре миллиона пятьсот девятнадцать тысяч семьсот восемьдесят шесть) тенге 64 тиын, в том числе с разбивкой по годам, для выполнения работ согласно пункту 3:

на 2024 год - в сумме 144 975 033 (сто сорок четыре миллиона девяносто семьдесят пять тысяч тридцать три) тенге;

на 2025 год - в сумме 199 887 844,04 (сто девяносто девять миллионов восемьсот восемьдесят семь тысяч восемьсот сорок четыре) тенге 04 тиын;

на 2026 год - в сумме 199 656 909,60 (сто девяносто девять миллионов шестьсот пятьдесят шесть тысяч девяносто девять) тенге 60 тиын.

2. Характеристика научно-технической продукции по квалификационным признакам и экономические показатели

2.1 Направление работы: Медицина и здравоохранение. Клиническая медицина. Акушерство и гинекология. Фундаментальное

2.2 Область применения: Акушерство и гинекология.

2.3 Конечный результат:

- за 2024 год: будет проведен подбор и рекрутинг пациентов для участия в исследовании, будет проведено первичное клинико-лабораторное обследование. Будет проведен сбор биоматериала и выделено ДНК из биоматериала участников, проведена пробоподготовка. Будет проведен сбор биоматериала участников. Будет подготовлен промежуточный отчет.

- за 2025 год: будет проведен подбор и рекрутинг пациентов для участия в исследовании, будет проведено первичное клинико-лабораторное обследование. Будет проведен сбор биоматериала и выделено ДНК из биоматериала участников. Будет проведена пробоподготовка, выполнено секвенирование всех образцов. Будет проведен сбор биоматериала участников. Будет проведена пробоподготовка и получены первичные данные по всем образцам. Будет проведена разработка субстанции, обоснованы компоненты, получена лабораторная партия, проведена оценка безопасности полученной субстанции. Будет открыт центр профилактики предраковых заболеваний шейки матки. Будет проведено обучение для врачей и врачей резидентов, студентов. Будут опубликованы не менее 5 (пяти) статей и (или) обзоров в рецензируемых научных изданиях по научному направлению программы, входящих в 1 (первый), 2 (второй) и (или) 3 (третий) quartile по импакт-фактору в базе данных Web of Science и (или) имеющих процентиль по CiteScore в базе данных Scopus не менее 50 (пятидесяти); не менее 6 (шести) статей в журналах, рекомендованных КОКНВО; не менее 3 (трех) объектов интеллектуальной собственности (патент или авторское



N DN-2277 от 26.09.2024

свидетельство), зарегистрированных в Национальном Институте интеллектуальной собственности Республики Казахстан. Будет подготовлен промежуточный отчет.

- за 2026 год: будет проведен биоинформационный и статистический анализ полученных данных. Будет проведена статистическая обработка полученных данных и анализ с клинико-лабораторными показателями. Будет проведено исследование эффективности полученной субстанции. Будут проведены телеконсультации пациентов и врачей из регионов. Будут проведены тематические усовершенствования врачей (презентации, лекции, консультации). Будут опубликованы не менее 4 (четырех) статей и (или) обзоров в рецензируемых научных изданиях по научному направлению программы, входящих в 1 (первый), 2 (второй) и (или) 3 (третий) квартиль по импакт-фактору в базе данных Web of Science и (или) имеющих процентиль по CiteScore в базе данных Scopus не менее 50 (пятидесяти); не менее 4 (четырех) статей в журналах, рекомендованных КОКНВО; не менее 1 (одной) монографии или учебных пособий в зарубежных и (или) казахстанских издательствах, рекомендованных ученым советом и (или) научно-техническим советом организации заявителя; не менее 2 (двух) объектов интеллектуальной собственности (патент или авторское свидетельство), зарегистрированных в Национальном Институте интеллектуальной собственности Республики Казахстан. Будет подготовлен заключительный отчет.

2.4 Патентоспособность: Будут получены не менее 2 (двух) патентов в зарубежных патентных бюро (европейском, американском, японском) или не менее 2 (двух) зарубежных или международных патентов, включенных в базу данных Derwent Innovations Index (Web of Science, Clarivate Analytics) либо не менее 5 (пяти) объектов интеллектуальной собственности (патент или авторское свидетельство), зарегистрированных в Национальном Институте интеллектуальной собственности Республики Казахстан.

2.5 Научно-технический уровень (новизна):

Настоящий проект направлен на комплексное изучение взаимосвязи между составом вагинального микробиома, локальным иммунитетом и развитием предраковых поражений шейки матки у женщин Казахстана репродуктивного возраста. Несмотря на достигнутый прогресс в понимании молекулярных механизмов канцерогенеза, опосредованного ВПЧ, и внедрение программ скрининга и вакцинации, заболеваемость раком шейки матки остается на высоком уровне в мире. Тем не менее, точные механизмы взаимодействия вагинального микробиома с ВПЧ-инфекцией и развитием опухоли остаются недостаточно изученными.

Таким образом, результаты данного проекта внесут значительный вклад в понимание роли вагинального микробиома и иммунитета в патогенезе ВПЧ-ассоциированных поражений шейки матки, а также позволят разработать новые подходы к диагностике, профилактике и лечению этих состояний у женщин Казахстана.

2.6 Использование научно-технической продукции осуществляется: Медицинские организации, оказывающие акушерско-гинекологическую помощь.

2.7 Вид использования результата научной и (или) научно-технической деятельности: Разработка новых методов диагностики и лечения предраковых поражений шейки матки на основе изучения микробиома и иммунитета значительно расширит научные горизонты и обогатит методические подходы в области онкологии и медицинской биотехнологии.

3. Наименование работ, сроки их реализации и результаты

Шифр задания, этапа	Наименование работ по Договору и основные этапы его выполнения*	Срок выполнения		Ожидаемый результат*
		Начало	Окончание	
			2024 год	



N DN-2277 ot 26.09.2024

1.	Провести подбор и рекрутинг пациентов для участия в исследовании, осуществить первичное клинико-лабораторное обследование	Август 2024	До 1 декабря 2024	Будет проведён набор пациентов для участия в исследовании, а также их первичное клинико-лабораторное обследование.
2.	Изучить особенности микробиома шейки матки/влагалища в зависимости от типа ВПЧ среди женщин репродуктивного возраста в Казахстане	Август 2024	До 1 декабря 2024	Будет проведен сбор биоматериала и выделено ДНК из биоматериала участников. Проведена пробоподготовка
3.	Исследовать особенности локального иммунологического профиля в зависимости от типа ВПЧ среди женщин репродуктивного возраста в Казахстане	Август 2024	До 1 декабря 2024	Будет проведен сбор биоматериала участников
2025 год				
1.	Провести подбор и рекрутинг пациентов для участия в исследовании, осуществить первичное клинико-лабораторное обследование	Январь 2025	До 1 Ноября 2025	Будет проведён набор пациентов для участия в исследовании, а также их первичное клинико-лабораторное обследование
2.	Изучить особенности микробиома шейки матки/влагалища в зависимости от типа ВПЧ среди женщин репродуктивного возраста в Казахстане	Январь 2025	сентябрь 2025	Будет проведен сбор биоматериала и выделено ДНК из биоматериала участников. Проведена пробоподготовка. Выполнено секвенирование всех образцов
3.	Исследовать особенности локального иммунологического профиля в зависимости от типа ВПЧ среди женщин репродуктивного возраста в Казахстане	Январь 2025	сентябрь 2025	Будет проведен сбор биоматериала участников. Будет проведена пробоподготовка и получены первичные данные по всем образцам
4.	Разработка субстанции на основе биологически активных веществ с целью	Январь 2025	До 1 Ноября 2025	Будет проведена разработка субстанции, обоснованы компоненты, получена



N DN-2277 от 26.09.2024

	коррекции цервикального микробиома при предраковых патологиях.			лабораторная партия, проведена оценка безопасности полученной субстанции
5.	Создать центр профилактики предраковых заболеваний шейки матки с целью повышения квалификации врачей, обучения резидентов и студентов, телеконсультаций пациентов и врачей РК	Январь 2025	До 1 Ноября 2025	Будет открыт центр профилактики предраковых заболеваний шейки матки. Будет проведено обучение для врачей и врачей резидентов, студентов
6.	Публикация результатов	Январь 2025	До 1 Ноября 2025	Будут опубликованы не менее 5 (пяти) статей и (или) обзоров в рецензируемых научных изданиях по научному направлению программы, входящих в 1 (первый), 2 (второй) и (или) 3 (третий) quartile по импакт-фактору в базе данных Web of Science и (или) имеющих процентиль по CiteScore в базе данных Scopus не менее 50 (пятидесяти); не менее 6 (шести) статей в журналах, рекомендованных КОКНВО; не менее 3 (трех) объектов интеллектуальной собственности (патент; или авторское свидетельство), зарегистрированных в Национальном Институте интеллектуальной собственности Республики Казахстан.

2026 год

1	Изучить особенности микробиома шейки матки/влагалища в зависимости от типа ВПЧ среди женщин репродуктивного возраста в Казахстане	Январь 2026	До 30 июня 2026	Будет проведен биоинформационический и статистический анализ полученных данных
2	Исследовать особенности локального иммунологического	Январь 2026	До 30 июня 2026	Будет проведена статистическая обработка полученных данных и



N DN-2277 ot 26.09.2024

	профиля в зависимости от типа ВПЧ среди женщин репродуктивного возраста в Казахстане			анализ с клинико-лабораторными показателями
3	Разработка субстанции на основе биологически активных веществ с целью коррекции цервикального микробиома при предраковых патологиях	Январь 2026	До 1 Ноября 2026	Будет проведено исследование эффективности полученной субстанции
4	Создать центр профилактики предраковых заболеваний шейки матки с целью повышения квалификации врачей, обучения резидентов и студентов, телеконсультаций пациентов и врачей РК	Январь 2026	До 1 Ноября 2026	Будут проведены телеконсультации пациентов и врачей из регионов. Будут проведены тематические усовершенствования врачей (презентации, лекции, консультации).
5	Публикация результатов	Январь 2026	До 1 Ноября 2026	Будут опубликованы не менее 4 (четырех) статей и (или) обзоров в рецензируемых научных изданиях по научному направлению программы, входящих в 1 (первый), 2 (второй) и (или) 3 (третий) quartile по импакт-фактору в базе данных Web of Science и (или) имеющих процентиль по CiteScore в базе данных Scopus не менее 50 (пятидесяти); не менее 4 (четырех) статей в журналах, рекомендованных КОКНВО; не менее 1 (одной) монографии или учебных пособий в зарубежных и (или) казахстанских издательствах, рекомендованных ученым советом и (или) научно-техническим советом организации заявителя; не менее 2 (двух) объектов интеллектуальной собственности (патент или авторское свидетельство), зарегистрированных в



N DN-2277 ot 26.09.2024

				Национальном интеллектуальной собственности Казахстан.	Институте Республики
--	--	--	--	---	-------------------------

От Заказчика:
Председатель
ГУ «Комитет науки Министерства науки и
высшего образования РК»

 Жанкуатов Г.Ж.



От Исполнителя:
Председатель правления
КФ «University Medical Center»

 Пя Ю.В.



Ознакомлен:
Научный руководитель программы

 Уқыбасова Т. М



ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Список опубликованных работ

1. Публикация Scopus

Aimagambetova G, Bapayeva G, Ukybassova T, Kamzayeva N, Sakhipova G, Shanazarov N, Terzic M. Risks of Cervical Cancer Recurrence After Fertility-Sparing Surgery and the Role of Human Papillomavirus Infection Types. // *Journal of Clinical Medicine*. -2024; -13(21):6318. <https://doi.org/10.3390/jcm13216318> (Citescore 5.7, Scopus 87%)



Review

Risks of Cervical Cancer Recurrence After Fertility-Sparing Surgery and the Role of Human Papillomavirus Infection Types

Gulzhanat Aimagambetova ^{1,*}, Gauri Bapayeva ², Talshyn Ukybassova ², Nazira Kamzayeva ², Gulnara Sakhipova ³, Nasrulla Shanazarov ⁴ and Milan Terzic ^{1,2}

¹ Department of Surgery, School of Medicine, Nazarbayev University, Astana 010000, Kazakhstan

² Clinical Academic Department of Women's Health, CF "University Medical Center", Astana 010000, Kazakhstan; talshynu@yandex.ru (T.U.)

³ Department General Practitioners, West Kazakhstan Medical University, Aktobe 030000, Kazakhstan

⁴ Center for Photodynamic Therapy, Medical Center Hospital of The President's Affairs Administration of The Republic of Kazakhstan, Astana 010000, Kazakhstan

* Correspondence: gulzhanat.aimagambetova@nu.edu.kz; Tel.: +7-7017529301

Abstract: Cervical cancer is a largely preventable malignancy of the uterine cervix. The tendencies in cervical morbidity and mortality have remained similar for the past decade, albeit with increasing frequency in low- and middle-income countries (LMICs). Moreover, in the majority of LMICs, cervical cancer is the second most prevalent cancer and the second most common cause of cancer-related death among reproductive-age women. High-risk human papillomavirus (HR-HPV) infections have been proven to be associated with up to 95% of cervical cancer cases, with HPV-16 and HPV-18 types being responsible for approximately 70% of all cervical cancers, with the other high-risk HPV types accounting for up to a further 25%. More recently, the latest data appear to confirm there is a change in the frequency of HR-HPV occurrence, especially HPV-16 and HPV-18, as a reflection of the implementation of preventive vaccination programs. Owing to the growing incidence of cervical cancer among reproductive-age women and with the development of cancer management approaches, fertility-sparing options have been proposed for early-stage cervical cancer management as an option for young women, especially those with unaccomplished reproductive desires. However, methods applied for this purpose (cold-knife conization, loop electrosurgical excision, trachelectomy) have variable outcomes and do not prevent risks of relapse. Multiple factors are involved in cervical cancer recurrence, even in cases treated at the early stage of the disease. In this review, the authors unveil whether HPV infection and virus type could be one of the key factors associated with cervical cancer recurrence after fertility-sparing surgery. Reviews of the literature reveal that recurrent and persistent HR-HPV infection is a strong predictor of cervical lesions' relapse. In particular, HPV-16 and HPV-18 infections and their persistence have been reported to be associated with cervical cancer recurrence. HR-HPV genotyping before and after fertility-sparing surgery for cervical cancer could facilitate a personalized approach and improve the overall survival rate. Screening for HR-HPV is essential during the follow-up of cervical cancer-treated women and will help to predict possible cancer recurrence.

Keywords: cervical cancer; early-stage cervical cancer; HPV type; HR-HPV; fertility-sparing surgery; recurrence



Citation: Aimagambetova, G.; Bapayeva, G.; Ukybassova, T.; Kamzayeva, N.; Sakhipova, G.; Shanazarov, N.; Terzic, M. Risks of Cervical Cancer Recurrence After Fertility-Sparing Surgery and the Role of Human Papillomavirus Infection Types. *J. Clin. Med.* **2024**, *13*, 6318. <https://doi.org/10.3390/jcm13216318>

Academic Editor: Ferdinando Antonio Gulino

Received: 4 September 2024

Revised: 26 September 2024

Accepted: 19 October 2024

Published: 22 October 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Cervical cancer is a malignant condition of the uterine cervix affecting women worldwide [1–5]. The causative agents and risk factors associated with cervical cancer are well-investigated [6,7]. The main etiological factor is human papillomavirus (HPV) infection, especially the high-risk (HR) types [6]. However, it should be noted that approximately 5% of cervical cancer cases are not associated with HPV infection [8].

Apart from HR-HPV infection, other factors may also play a role in the onset and development of cervical cancer. Such factors may include one or more of the following: the onset of sexual life before the age of 15; multiple sexual partners [9,10]; immunosuppressive conditions (e.g., HIV, long-term treatment with steroid hormones); cervical and vaginal microbiome alterations [11–13]; sexually transmitted infections (STIs) [14–16]; estrogen and progesterone imbalance, and sex-steroid hormone receptors malfunction [17–20]; genetic predisposition through polymorphism of HLA, MTHFR, PALB2, POLE3, as well as other possible genes and smoking [21–23].

Since the development and implementation of prophylactic HPV vaccination from 2006 onwards, an opportunity to prevent HPV infection dissemination and decrease the incidence of cervical cancer has become possible [24]. Currently, 136 countries worldwide have implemented HPV vaccination programs, which were originally recommended for girls aged 9–15 years old. However, recent study results suggest that the vaccination program can be useful for a wider range of age groups (i.e., females up to 45 years old) [24]. Moreover, HPV vaccination is increasingly recommended for patients diagnosed with precancerous cervical lesions and existing HPV infection as a complementary treatment [25]. Nevertheless, despite being one of the preventable cancers via HPV vaccination and cervical cancer screening programs, cervical cancer remains one of the top three cancers affecting females worldwide in the 35–45 age group [3,13,26].

Since many women are being diagnosed with cervical cancer in their reproductive age, before the completion of their fertility plans, modern gynecologic oncology is developing and implementing fertility-sparing approaches/guidelines to manage these young patients [27,28]. More recent sources have reported a success rate of fertility-preserving management of approximately 90% [29]. However, the risk of cervical cancer recurrence after fertility-sparing surgery still exists due to many factors [29–31]. In this review article, the authors disclose whether HPV infection, particularly infection with HR-HPV and other virus types, could be one of the critical factors associated with cervical cancer recurrence post-fertility-sparing surgery. This study's hypothesis is that the presence of HPV infection and long-term persistence of the high-risk virus types result in higher recurrence post-fertility-sparing surgery.

2. Material and Methods

2.1. Literature Search

Articles published in English were searched in PubMed/MEDLINE, Google Scholar, and EBSCO from January 2000 to September 2024. The search was performed using the following keywords: “early-stage cervical cancer”, “fertility-sparing”, “fertility preservation”, “fertility-sparing surgery”, “human papillomavirus”, “HPV”, “high-risk HPV”, “recurrence”, and “risk-factors”. Medical subject heading (MeSH) terms were used whenever available: “Uterine Cervical Neoplasms” (MeSH Unique ID D002583) as a major topic, “human papillomavirus” (MeSH Unique ID: D000094302), “fertility preservation” (MeSH Unique ID: D059247), and “E7 protein, HPV type 16” (MeSH Unique ID C059731). The search was specified and targeted by using “cervical cancer” OR “early-stage cervical cancer”, AND “fertility-sparing”, OR “fertility preservation”, OR “fertility-sparing surgery”, AND “recurrence”, AND “risk-factors”, AND “human papillomavirus”, OR “HPV”, AND/OR “high-risk HPV” (Figure 1).

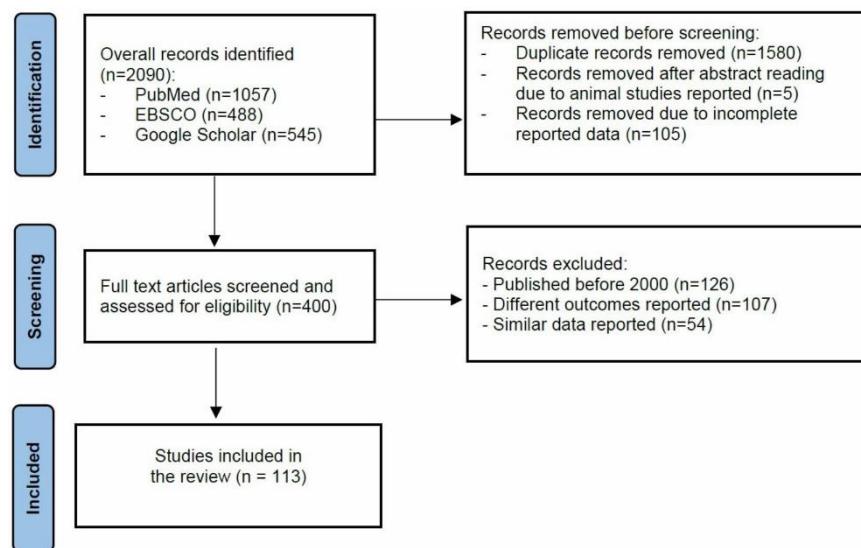


Figure 1. Data extraction flowchart.

2.2. Inclusion and Exclusion Criteria

Original studies, previously published reviews, and one case report were identified using the highlighted keywords, and keyword combinations were included in this comprehensive review article. Inclusion criteria: articles published in English from January 2000 to September 2024 (the literature search period) and fulfilling the keywords applied. Exclusion criteria: articles published in languages other than English prior to January 2000 and not meeting the keywords in the search strategy. Titles and abstracts of articles were retrieved by applying the search strategy and investigated individually by two review authors to categorize samples that could potentially meet the aims of this review. Duplicated studies and irrelevant articles that did not fulfill the listed search criteria were excluded. Full texts of these hypothetically eligible studies were retrieved (whenever available) and independently evaluated for suitability by the other two team members. Any discrepancy regarding the eligibility of specific papers was resolved through mutual discussion among the research team members. Peer-reviewed articles published in English and discussing HPV infection, HPV type, cervical cancer, and recurrence after fertility-sparing surgery were included in this review. Based on the content of this study's findings and the heterogeneity of the articles, a narrative synthesis of the data was applied.

3. Results and Discussion

3.1. Epidemiology of Cervical Cancer

Cervical cancer remains a global public health issue [32]. It continues to appear as the fourth most common cancer among women worldwide and one of the primary causes of cancer-related mortality among females in the developing world [1,3,4,26,32,33]. The situation with cervical cancer incidence is more or less stable and under control in the developed world due to the impact of successful primary and secondary prevention programs [34–36]. However, low- and middle-income countries (LMICs) have a high prevalence and increasing incidence of the disease as a result of the inconsistent implementation of preventative measures [2–4,32,33,37].

The tendencies in cervical cancer incidence and mortality have remained similar for the past 10 years, with increasing proportions in LMICs [4,32,38,39]. In 2018, 569,000 new cervical cancer cases and 311,000 cervical cancer-related deaths were reported [2], while in 2020, there were more than 600,000 cervical cancer cases and almost 350,000 cervical cancer-

related deaths occurred globally [32]. The global estimated age-standardized incidence of cervical cancer is 13.3 per 100,000 women/year, and the average age at death from cervical cancer is 59 years (age range 45–79 years) [4,32,33]. However, these indicators vary widely among countries, with the maximum incidence and mortality rates being registered in low-income countries [32]. Overall, 84% of new cervical cancer cases and up to 90% of the disease-related deaths occur in LMICs [2].

Based on the age-standardized incidence of the reports, cervical cancer ranks as the third most frequent cancer among women younger than 45 years in almost 80% of countries in the world [3]. Moreover, according to the recent International Agency for Research on Cancer (IARC) report, cervical cancer is the second most prevalent cancer and the second most common cause of cancer-related death among reproductive-age women (15–44 years) in 23 countries globally (mostly in sub-Saharan Africa) [3].

3.2. Cervical Cancer and Human Papillomavirus

Human papillomavirus is the most common sexually transmitted virus in the world; however, the non-sexual route of transmission is also considered important [37,40,41]. The lifetime risk of HPV contraction is estimated at 85% [42]. Fortunately, up to 80–90% of HPV infections are resolved by the host immune system without any clinical consequences [37].

Based on their cancerogenic properties, HPVs are divided into two groups—low-risk (LR) and high-risk (HR) HPV infections [43,44]. The high-risk cancerogenic HPV types include HPV-16, -18, -31, -33, -35, -39, -45, -51, -52, -56, -58, -59, -68, -73, and -82 [45]. Approximately 5% of all types of cancers worldwide are related to HPV infection [37,46]. The association between HPV infection and cervical cancer has been proven, and more than 95% of cervical cancer cases are associated with HR-HPV genotypes [6,37,40,43,46].

Prevalence of HR-HPV in Cervical Specimens

More than 35 HPV genotypes have been identified from anogenital neoplastic lesions [40,41,43]. Of all HPV-related cervical cancers, HPV-16 and HPV-18 types are responsible for approximately 70%, and the remaining HR-HPV types account for up to 25% [37]. The detailed analysis of the HR-HPV types' distribution reveals that HPV-16 accounts for 50–60% and HPV-18—for 10–20% of cervical cancer cases in most countries [40]. Of the other most common HR-HPV types, HPV-45 and HPV-31 can be found in 4–8% and 1–5% of samples, respectively [40]. One of the recent sources reported the global frequency of the most prevalent HR-HPV genotypes detected in cervical cancer specimens are HPV-16 (up to 83.8%) and HPV-18 (41%). The other most prevalent HR-HPV types include HPV-52 (40.7%), HPV-51 (18.8%), HPV-58 (15.6%), HPV-39 (13.3%), HPV-68 (11%), HPV-31, HPV-33, HPV-45, and HPV-56, with equal distribution of approximately 9%, HPV-59 (4.4%), and HPV-35 (3.2%) [47].

The prevalence and distribution of the HPV types that are responsible for cervical carcinogenesis vary depending on the region (Figure 2). An earlier study from the UK identified HR-HPV genotypes in 87% of samples of microinvasive (stage IA) cervical cancer [48]. In the USA, the most prevalent HR-HPV types are HPV-16 and HPV-18 [37,49]. In Central and South American regions, HPV-12, HPV-14, HPV-52, HPV-58, and HPV-59 were the most prevalent, accounting for 15% to 25% of all HR-HPVs [37]. In a study from Sweden, the most common HR-HPV types identified in cervical cancer specimens were HPV-16 (60%), followed by HPV-18 (19%), HPV-45 (7%), and HPV-31 (3%), with HPV-33 and HPV-52 contributing equally (2%) [50]. The other HR-HPV types had an equal contribution of 1%, these being HPV-39, HPV-70, HPV-56, HPV-35, HPV-58, and HPV-59. In a study from Poland assessing the prevalence of specific HPV types among patients with high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL), HPV-16, HPV-31, HPV-52, HPV-66, HPV-53, and HPV-51 genotypes were the most prevalent [51].

USA	Europe	Southeast Asia	Sub-Saharan Africa	South America
• HPV-16 • HPV-18	• HPV-16 • HPV-18 • HPV-31 • HPV-33 • HPV-45 • HPV-52	• HPV-16 • HPV-18 • HPV-45 • HPV-52	• HPV-16 • HPV-18 • HPV-26 • HPV-34 • HPV-53	• HPV-12 • HPV-14 • HPV-52 • HPV-58 • HPV-59

Figure 2. Most prevalent HPV types identified in cervical specimens.

A study from Southeast Asia found HR-HPV types in up to 97% of confirmed invasive cervical cancer and in 100% of adenocarcinoma in situ (AIS) cases [52]. The most prevalent HR-HPV types observed in patients with invasive cervical cancer were HPV-16 (61%), HPV-18 (35%), HPV-45 (17%), and HPV-52 (10%) [52]. A later study from the region reported that the most frequently detected HR-HPV types in cervical lesions are HPV-16, HPV-18, HPV-31, and HPV-33 [47]. The HR-HPV types and distribution among women with cervical cancer may differ depending on patients' age and cancer stage [47].

A more recent study from Iran reported HR-HPV types identified among 78.8% of cervical cancer samples, including HPV-16 in 43.4% and HPV-18 in 8% of cases [53]. The average age of women with cervical cancer in the reported study was 53 years old. In a study from Botswana among patients with invasive cervical cancer, the most common HR-HPV types listed according to the frequency of identification were HPV-26, HPV-34, HPV-16, HPV-18, and HPV-53 [54].

The most recent large-scale study from China investigating the prevalence and characteristics of HPV among Chinese women with cervical lesions of various severity reported HPV-16 to be the most prevalent high-risk type (59.4%), followed by HPV-18 (22.2%), HPV-52 (7.7%), HPV-58 (7.3%), and HPV-33 (4.8%) [5]. Moreover, the authors highlighted that the magnitudes of non-HPV 16/18-attributed cervical cancers increased with the study participants' age.

Interestingly, co-contamination with both high- and low-risk HPVs was reported to have reduced risk association with future invasive cervical cancer [55]. Thus, the researchers proposed that co-infection of LR-HPV and HR-HPV affects the probability of progression to invasive cervical cancer.

3.3. Fertility-Sparing Surgery for Women with Cervical Cancer

Many women are being diagnosed with reproductive organ cancers in their reproductive age [56,57]. According to the USA National Cancer Institute (NCI), nearly 40% of women diagnosed with cervical cancer are younger than 40 years [58–60], and based on the CDC reports, the maximum incidence of cervical cancer is among women aged 35 to 49 years [61,62]. Moreover, the maternal age at first pregnancy has been increasing over the recent decade [59,63]. Thus, fertility-sparing treatment is a crucially important management option, especially for those who have not completed their reproductive plan [31,58,64,65].

A standard of treatment for the early stages of cervical cancer implies a radical hysterectomy with lymph node assessment [60]. However, according to the most recent guideline from the European Society of Gynecological Oncology (ESGO) with the European Society for Radiotherapy and Oncology (ESTRO) and the European Society of Pathology (ESP), fertility-sparing surgery could be applied for early-stage cervical cancer patients (IB1, IB2, and IIA1 stages by Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique (FIGO)) [27].

3.3.1. Fertility-Sparing Surgical Procedures

Currently, several effective methods are available for fertility-sparing treatment of cervical cancer [61]. These include cold knife conization (CKC) with endocervical curettage, a loop electrosurgical excision procedure (LEEP), as well as simple and radical trachelectomy [61,65,66].

CKC with endocervical curettage may be considered for patients with cervical cancer at stage IA1 (FIGO) [61,62,65]. A recent report confirms progressively improving performance of CKC with lymph node assessment for early-stage cervical cancer (IB1, IB2, and IIA1) management [67]. The risk of treatment failure is lower in CKC compared to LEEP [68,69]. Thus, CKC is preferable to LEEP due to the possibility of missing margins during electro-excision surgery [61]. In women post-CKC, for early-stage cervical cancer, the five-year survival rate is reported at the level of 98–99% [61]. These data are in line with reports highlighting that there is “no difference in disease-specific survivals between patients treated with conization, trachelectomy, or hysterectomy” [58].

Simple trachelectomy, likewise CKC, is suggested as an acceptable fertility-sparing procedure in patients with IA1 and IA2 cervical cancer, “regardless of LVSI status” [27,61,69]. The procedure has a lower risk of complications compared to radical trachelectomy [60,65] and less subsequent obstetric morbidity [58]. Particularly, the live-birth rate was higher post-CKC and simple trachelectomy compared to abdominal radical trachelectomy (86.4% and 65.7%, respectively) [58].

Radical trachelectomy implies the removal of the uterine cervix with surrounding parametrial tissues and can be performed via laparotomic (abdominal) and vaginal approaches or minimally invasive surgery [61,66]. Considering the fertility-sparing purpose of this procedure, the proximal 5 mm of the cervix should be left in place in order to allow cervical cerclage later if pregnancy is achieved [61].

According to the recent ESGO/ESTRO/ESP guidelines, radical trachelectomy is the standard of treatment for patients who desire fertility-sparing surgery with cervical cancer stage IA1, IA2, or IB1 because the recurrence rate is similar to those after radical hysterectomy and ranges between 95% to 100% [27,61]. However, patients with tumors larger than 2 cm are not appropriate candidates for radical trachelectomy due to the increased risk of recurrence [58,70]. Moreover, a radical trachelectomy itself may lead to further conception- and pregnancy-related complications [60]. Thus, fertility-sparing treatment should be considered for appropriately selected candidates after assessment of their fertility potential [69].

Another recent study included patients with tumors ≤ 2 cm and depths of stromal invasion < 10 mm with negative nodes and who were treated by a simple hysterectomy [71,72]. In this study, patients with early-stage cervical cancer were reported to have a similar outcome compared with patients where a radical hysterectomy was performed [71,72]. This definitely appears to have an impact on the fertility-sparing treatment of patients with a tumor size ≤ 2 cm and depths of stromal invasion < 10 mm.

While considering the fertility-sparing approach for cervical cancer, the possibility of the disease recurrence has to be kept in consideration [27].

3.3.2. Success Rates and Outcomes of Fertility-Sparing Surgery

The success rates of fertility-sparing surgery for cervical cancer can be measured by live-birth rate, rates of obstetric complications, and cervical cancer recurrence rate. To date, there is evidence that, for many patients, fertility-sparing treatments have resulted in reproductive function preservation and improved obstetrical outcomes “without compromising oncologic safety” [73–75].

Recent research reported excellent obstetric outcomes after fertility-sparing surgery [58,60,76]. These studies identified fertility rates of 55% after fertility-sparing treatments [59], while the pregnancy rates after vaginal, abdominal, and laparoscopic radical trachelectomies were 37.8%, 10.4%, and 9.2%, respectively [58].

The overall live-birth rate after fertility-sparing surgery is reported as 70% [60]. The live-birth rate was higher post-CKC, and simple trachelectomy compared to abdominal radical trachelectomy yielded results of 86.4% and 65.7%, respectively [58]. However, the success rate is lower after vaginal and minimally invasive surgery.

The overall preterm birth rates after fertility-sparing surgeries range between 31 and 38% [58,60], including the lowest rate post-CKC or simple trachelectomy (25%), and the highest rate after vaginal trachelectomy (34.6%) [58]. Infertility rates after fertility-sparing surgery range between 14% and 41% [60]. One of the major causes of infertility (with a rate of 33%) after fertility-sparing surgery is cervical stenosis [60,77].

Many women require assisted reproductive technologies (ART) treatment after fertility-sparing management [60,75]. The ART-related pregnancy rate after fertility-sparing surgery for cervical cancer ranges between 13% and 67%, with a live-birth rate of 16–100% [78]. Preterm labor rates after ART are higher than in spontaneous pregnancy after fertility-sparing surgery and reach 50% [78,79].

Overall, gestations after fertility-sparing surgery appear with a higher risk of obstetric complication (preterm premature rupture of membranes and preterm birth) [58,79,80].

3.4. Cervical Cancer Recurrence After Fertility-Sparing Management

Cervical cancer recurrence is the relapse of the cervical tumor more than six months after the end of treatment and complete regression of the tumor [30,81,82]. It usually appears within 2 years after the initial treatment [82]; however, the longest timeframe of cervical cancer recurrence after non-radical surgery reported to date was recorded as 18 years, and the case was associated with HR-HPV-positive cancer [83].

Recurrence of cervical cancer occurs mainly within 3 years after the initial surgery, while late recurrence is rare (0.8–4%) [84]. The estimated recurrence rate in patients with tumors < 2 cm following surgery is reported to be around 1.2% [82]. However, with an increase in the tumor stage and size, the chance of recurrence likewise increases [82]. According to recent reports, the recurrence rates of early-stage cervical cancer (stage IB and IIA, FIGO) are approximately 10% and 17%, respectively [82,84], while in later stages, the recurrence after surgery (IIB, III, and IVA, FIGO) has been estimated at 23%, 42%, and 74%, respectively [84].

3.4.1. Cervical Cancer Recurrence After Fertility-Sparing Surgery

The problem of cervical cancer recurrence after fertility-sparing surgery has been investigated in many studies; however, mostly with a relatively low or limited sample size [66,78,85,86].

Earlier studies on the outcomes of fertility-sparing surgeries for early-stage cervical cancer (IA1–IB1, FIGO) reported a recurrence rate of 2.9% for tumor size < 2 cm and a high risk of cancer relapse in cases with tumor size of > 2 cm (up to 20.8%) [69,85].

In a study that focused on recurrence rates in stages IB1 and IB2 of cervical cancer post-CKC, simple and radical trachelectomy, the lowest rate of recurrence is observed in women undergoing abdominal radical trachelectomy—2.4% [66]. The recurrence post-CKC, simple trachelectomy, and radical laparoscopic trachelectomy were 4.1%, 4.7%, and 5.2%, respectively [66].

A study of the outcomes after vaginal radical trachelectomy for early-stage cervical cancer with most of the participants at stage IB1 resulted in a 6.8% recurrence rate [87]. The researchers reported that the non-squamous cell histological type of cervical carcinoma and high-grade disease were associated with a “significantly higher risk of recurrence” [85–87].

A systematic review of fertility-sparing surgery outcomes in gynecologic cancers reported a significantly higher recurrence in women with stage IB1 and IB2 disease than in women with stage IA1 and IA2, at 3.1% and 5.6% vs. 0.2% and 0.7%, respectively [88]. The cervical cancer recurrence rate after fertility-sparing surgery and subsequent ART was reported to be 3.9% and “comparable to the outcomes after radical hysterectomy” [78,88].

Thus, based on the studies analyzed, it is clear that the recurrence rate after fertility-sparing surgery largely depends on the cancer stage and size, and, therefore, appropriate and accurate patient selection may help to improve fertility-sparing surgery outcomes.

3.4.2. Cervical Cancer Recurrence After Neoadjuvant Chemotherapy and Fertility-Sparing Surgery

Currently, researchers suggest combining neoadjuvant chemotherapy (NACT) with fertility-sparing surgery as an alternative management to the standard treatment of cervical cancers >2 cm. However, the efficacy and validity of the suggested approach remain a topic for the current debate concerning safety in relation to future pregnancy [89].

A retrospective study of women with cervical cancer from 2 to 6 cm who received NACT prior to abdominal radical trachelectomy demonstrated that this option may be reasonable and safe only in selected patients with cervical cancer >2 cm [89]. Another retrospective study, which explored the optimum fertility-sparing treatment for early-stage cervical cancer (stage IB2, FIGO), reported the results of treatment for patients who have undergone NACT with radical trachelectomy [90]. The researchers concluded that NACT followed by radical trachelectomy could be “a feasible fertility-sparing option for selected patients with 1B2 cervical cancer” [90].

A systematic review of oncological outcomes after fertility-sparing management for early-stage cervical cancer revealed significant heterogeneity in clinical management [91]. According to the mentioned study, considering the oncological outcomes, treatment techniques limited to minimally invasive or vaginal surgery exhibited the highest recurrence rate. Another systematic review on this field, which assessed the oncologic and fertility outcomes of patients with cervical cancer >4 cm of women post-NACT followed by fertility-sparing surgery, reported a complete pathological response in 56% [92]. In this study, the recurrence occurred in 7.7% of cases. However, according to the cited authors, evidence supporting the application of fertility-sparing surgery post-r NACT in patients with cervical cancer >4 cm is limited.

A recently published paper highlighted the point that for patients with cervical tumors > 2 cm and histopathologically cancer-free lymph nodes, NACT and radical vaginal trachelectomy could be applied to women planning pregnancy [86]. In the cited study, the pregnancy rate resulting in healthy newborns was 55%. The authors underlined the fact that this fertility-sparing tactic is associated with higher relapse and mortality compared with previously available literature for patients undergoing radical vaginal trachelectomy for a tumor size of <2 cm. Considering the fact that insufficient data are available, patients with cervical cancer >2 cm and histopathologically tumor-free lymph nodes should not be offered the mentioned approach on a routine basis [86]. Thus, due to the unavailable standards for NACT for patients with early-stage cervical cancer with future fertility plans and heterogeneous results of the existing study results, this method should be considered as a research intervention and requires further investigations with a larger sample size.

However, another recent research reported the importance of fertility-sparing treatment for young women with early-stage cervical cancer when the tumor size is >2 cm [69]. This study suggests that “fertility-sparing approaches hold promise for preserving reproductive function” among young women diagnosed with early-stage cervical cancer [69]. Nevertheless, the authors highlighted that more studies with a long-term follow-up are required to evaluate the “oncologic safety and fertility preservation efficacy” of contemporary fertility-sparing approaches.

3.5. Risk Factors for Cervical Cancer Recurrence After Fertility-Sparing Management

Multiple factors play a role in cervical cancer recurrence. These are cervical cancer stage, morphological type (adenocarcinoma or squamous cell carcinoma), lympho-vascular space invasion, type of treatment, HPV persistence, patient's age, etc. (Figure 3) [30,31,82,93].

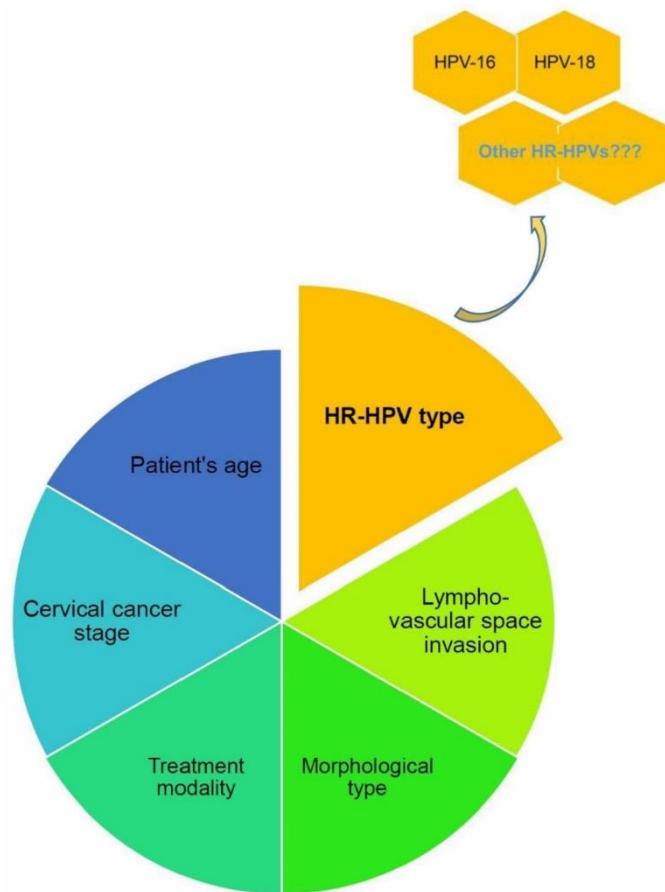


Figure 3. Factors related to cervical cancer recurrence.

The most recent study investigating risks of cervical cancer recurrence after fertility-sparing treatment reported that “fertility-sparing cervical procedures were not associated with an increased risk of recurrence compared with radical procedures in patients with tumors ≤ 2 cm in size” [31]. Studies among women with early-stage cervical cancer and a tumor size ≤ 2 cm report similar oncological outcomes in women who had radical cervical surgery and those who underwent fertility-sparing surgery [31,94,95]. Similar findings were received by the recent SHAPE study [71,72]. Moreover, researchers reported that parametrectomy, which may later negatively impact perinatal outcomes, did not result in a better prognosis in women with stage IB1 cervical cancer [31]. Fertility-sparing management, “regardless of their radicality, were associated with substantially worse oncologic outcomes” in women with stages IB2 and higher by FIGO. Lympho-vascular space invasion is another key risk factor used for the prediction of cervical cancer recurrence risk [30,31].

The results of the FERTISS study representing the largest cohort after fertility-sparing surgery for early-stage cervical cancer have confirmed that the oncological outcomes after non-radical treatment depend on the tumor size [30]. In this study, women after fertility-sparing surgery with a tumor size ≤ 2 cm had excellent oncological outcomes “in patients with HPV-associated tumors” without lymph nodes involvement, while in women with

tumors > 2 cm in size “a significantly higher risk of recurrence, regardless of the tumor type” was found [31].

Other than the cancer stage, size, and patient age, there are other individual risk factors for cervical cancer recurrence. Obesity, smoking, and excessive alcohol intake after fertility-sparing surgery also increase the risk of recurrence [82].

3.6. Role of HPV Type in Cervical Cancer Recurrence After Fertility-Sparing Surgery

Whilst the contributing factors leading to cervical cancer recurrence are not fully proven, what is clear is that the research data show that patients with cervical cancer recurrence have a worse prognosis and high mortality rates [82].

The fact that women vaccinated with one of the available HPV vaccines at the time of surgical treatment for high-grade cervical lesions had a lower risk of recurrence compared with unvaccinated controls confirms the definitive role of HPV infection in cervical cancer recurrence [93,94,96,97]. The HPV types responsible for the infection recurrence could be identified by the same methods as used for initial HPV infection: PCR genotyping or mRNA tests. Moreover, circulating HPV DNA was reported as a useful marker to predict the recurrence of cervical cancer [98,99]. One of the recent studies suggests that young women <35 years old with cervical lesions and p16-positive immunohistochemistry tests had a worse “post-excisional course” prognosis after the “cervix-sparing” procedure compared with p16-negative controls [98].

An earlier study concluded that patients with HPV-negative cervical cancer had a significantly worse prognosis after radiotherapy. They suggested the use of HPV status as a marker for the optimization of cervical cancer management [100,101]. A later systematic review reported that HPV detection in lymph nodes may improve the “accuracy of micro-metastasis detection”, thus helping women with a high risk of cervical cancer recurrence and allowing the identification of appropriate patients for fertility-sparing treatment [102].

A Norwegian study on the role of specific HPV types in the recurrence of cervical lesions concluded that high-grade cervical lesions were associated with persistent HPV-16 and HPV-18 in patients undergoing CKC [103]. This was confirmed by other studies evaluating the risk factors for relapse of high-grade cervical lesions or cervical cancer in situ, which determined that postoperative persistent HPV-16 and HPV-18 infections cause recurrence of high-grade cervical lesions and, therefore, serve as a potential risk factor for cervical cancer recurrence [93,104–110]. Another study exploring risk factors for cervical cancer recurrence reported that patients with persistent HPV-16 infection after cervical excision were at a particularly high risk of cancer relapse and progression [111]. Thus, according to the available evidence, persistent HPV-16 and HPV-18 in women undergoing CKC can serve as a risk factor for cervical cancer recurrence.

Moreover, HPV testing and colposcopy revealed the highest sensitivity for the detection of cervical cancer recurrence after fertility-sparing surgery [29]. Thus, HR-HPV testing plays an essential role in the follow-up of women after fertility-sparing surgery for early-stage cervical cancer [48,94,98,103,105]. Moreover, research evidence shows that HPV vaccination reduces the risk of cervical lesion recurrence in patients after surgically treated high-grade cervical lesions (precancer) [65,112,113].

Study strengths and limitations. The main strength of this study is based on the comprehensive review of up-to-date information related to HR-HPV infection and cervical lesion recurrence after initial management. The authors investigated literature covering the past 24 years to validate the hypothesis of the study. However, some limitations should be taken into account: (1) only papers written in the English language were included; (2) a narrative, non-systematic synthesis was performed due to the heterogeneity of studies identified in the existing literature; (3) insufficient data were found on HR-HPV types that are the most frequently associated with the recurrence with the link to the type of fertility-sparing surgery in women with early-stage cervical cancer.

Future research implications. Since the findings of researchers on the role of the HR-HPV type in cervical lesion recurrence are controversial [108,109], more studies with large

sample sizes investigating factors of cervical cancer recurrence after fertility-sparing surgery and specifically focusing on the role of HR-HPVs are required to shed more light on the causes of the disease relapse [95].

Clinical implications. Identifying certain HR-HPV infection types responsible for cervical lesions' recurrence after fertility-sparing treatment could improve the potential preventive measures used after treatment. As highlighted by previous studies, up to 8% of women after fertility-sparing treatment of precancerous cervical lesions may experience a recurrence of the condition [65,113]. Understanding the HPV types responsible for cervical lesion recurrence might assist in helping to choose the appropriate prophylactic HPV vaccine, which could be used "before or after surgical management of premalignant cervical lesions" and thus reduce the risk of relapse [65].

4. Conclusions

Fertility-sparing surgery for cervical cancer management has been proven as a valid and reliable approach in young women. Persistent HR-HPV infection is a strong predictor of disease relapse. In particular, HPV-16 and HPV-18 infections and their persistence were reported to be associated with cervical cancer recurrence. HR-HPV genotyping before and after fertility-sparing surgery for cervical cancer could facilitate a personalized approach and may improve the survival rate. Long-lasting follow-up studies utilizing HR-HPV genotyping and involving patients with cervical cancer recurrence after fertility-sparing surgery will help in a better understanding of the HR-HPV role in cervical cancer recurrence and identify the most common types associated with disease relapse. Thus, screening for HR-HPV is essential during the follow-up of cervical cancer-treated women and will help to predict the likelihood of cancer recurrence.

Funding: This research has been funded by the Science Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (grant No. BR24992853, name: national program for the study of HPV with development of an integrated approach to the effective diagnosis and treatment of precancerous conditions). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Acknowledgments: The authors would like to acknowledge Nazarbayev University School of Medicine for the continuous support that enabled the completion of this study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Klein, C.; Kahesa, C.; Mwaiselage, J.; West, J.T.; Wood, C.; Angeletti, P.C. How the Cervical Microbiota Contributes to Cervical Cancer Risk in Sub-Saharan Africa. *Front. Cell Infect. Microbiol.* **2020**, *10*, 23. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Hull, R.; Mbele, M.; Makhafola, T.; Hicks, C.; Wang, S.; Reis, R.M.; Mehrotra, R.; Mkhize-Kwitshana, Z.; Kibiki, G.; Bates, D.O.; et al. Cervical cancer in low and middle-income countries. *Oncol. Lett.* **2020**, *20*, 2058–2074. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Arbyn, M.; Weiderpass, E.; Bruni, L.; de Sanjose, S.; Saraiya, M.; Ferlay, J.; Bray, F. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: A worldwide analysis. *Lancet Glob. Health* **2020**, *8*, e191–e203. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Bruni, L.; Albero, G.; Serrano, B.; Mena, M.; Collado, J.J.; Gomez, D.; Muñoz, J.; Bosch, F.X.; de Sanjose, S. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. Summary Report 10 March 2023. Available online: <https://hpvcentre.net/statistics/reports/XWX.pdf> (accessed on 5 September 2023).
5. Huiyun, J.; Jie, D.; Huan, W.; Yuebo, Y.; Xiaomao, L. Prevalence and characteristics of cervical human papillomavirus genotypes and cervical lesions among 58,630 women from Guangzhou, China. *J. Infect. Public Health* **2023**, *16*, 1531–1536. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. zur Hausen, H. Papillomaviruses in the causation of human cancers—A brief historical account. *Virology* **2009**, *384*, 260–265. [[CrossRef](#)]
7. Araldi, R.P.; Sant'Ana, T.A.; Módolo, D.G.; de Melo, T.C.; Spadacci-Morena, D.D.; de Cassia Stocco, R.; Cerutti, J.M.; de Souza, E.B. The human papillomavirus (HPV)-related cancer biology: An overview. *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *106*, 1537–1556. [[CrossRef](#)]
8. Cancer Genome Atlas Research Network; Albert Einstein College of Medicine; Analytical Biological Services. Integrated genomic and molecular characterization of cervical cancer. *Nature* **2017**, *543*, 378–384. [[CrossRef](#)]
9. Park, Y.; Baik, S.; Ho, C.; Lin, C.Y.; Chung, S.H. Progesterone Receptor Is a Haploinsufficient Tumor-Suppressor Gene in Cervical Cancer. *Mol. Cancer Res.* **2021**, *19*, 42–47. [[CrossRef](#)]

10. Bowden, S.J.; Bodinier, B.; Kalliala, I.; Zuber, V.; Vuckovic, D.; Doulgeraki, T.; Whitaker, M.D.; Wielscher, M.; Cartwright, R.; Tsilidis, K.K.; et al. Genetic variation in cervical preinvasive and invasive disease: A genome-wide association study. *Lancet Oncol.* **2021**, *22*, 548–557. [[CrossRef](#)]
11. Ntuli, L.; Mtshali, A.; Mzobe, G.; Liebenberg, L.J.; Ngcapu, S. Role of Immunity and Vaginal Microbiome in Clearance and Persistence of Human Papillomavirus Infection. *Front. Cell Infect. Microbiol.* **2022**, *12*, 927131. [[CrossRef](#)]
12. Frąszczak, K.; Barczyński, B.; Kondracka, A. Does Lactobacillus Exert a Protective Effect on the Development of Cervical and Endometrial Cancer in Women? *Cancers* **2022**, *14*, 4909. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Kyrgiou, M.; Moscicki, A.B. Vaginal microbiome and cervical cancer. *Semin. Cancer Biol.* **2022**, *86 Pt 3*, 189–198. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Fracella, M.; Oliveto, G.; Sorrentino, L.; Roberto, P.; Cinti, L.; Viscido, A.; Di Lella, F.M.; Giuffrè, F.; Gentile, M.; Pietropaolo, V.; et al. Common Microbial Genital Infections and Their Impact on the Innate Immune Response to HPV in Cervical Cells. *Pathogens* **2022**, *11*, 1361. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Fazlollahpour-Naghibi, A.; Bagheri, K.; Almukhtar, M.; Taha, S.R.; Zadeh, M.S.; Moghadam, K.B.; Tadi, M.J.; Rouholamin, S.; Razavi, M.; Sepidarkish, M.; et al. Trichomonas vaginalis infection and risk of cervical neoplasia: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* **2023**, *18*, e0288443. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Hamar, B.; Teutsch, B.; Hoffmann, E.; Hegyi, P.; Váradí, A.; Nyírády, P.; Hunka, Z.; Ács, N.; Lintner, B.; Hermánné, R.J.; et al. Trichomonas vaginalis infection is associated with increased risk of cervical carcinogenesis: A systematic review and meta-analysis of 470,000 patients [published online ahead of print, 2023 Apr 3]. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* **2023**, *163*, 31–43. [[CrossRef](#)]
17. Baik, S.; Mehta, F.F.; Unsal, E.; Park, Y.; Chung, S.H. Estrogen Inhibits Epithelial Progesterone Receptor-Dependent Progestin Therapy Efficacy in a Mouse Model of Cervical Cancer. *Am. J. Pathol.* **2022**, *192*, 353–360. [[CrossRef](#)]
18. Asthana, S.; Busa, V.; Labani, S. Oral contraceptives use and risk of cervical cancer-A systematic review & meta-analysis. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **2020**, *247*, 163–175. [[CrossRef](#)]
19. Gadducci, A.; Cosio, S.; Fruzzetti, F. Estro-progestin Contraceptives and Risk of Cervical Cancer: A Debated Issue. *Anticancer. Res.* **2020**, *40*, 5995–6002. [[CrossRef](#)]
20. Kamani, M.; Akgör, U.; Gültekin, M. Review of the literature on combined oral contraceptives and cancer. *Ecancermedicalscience* **2022**, *16*, 1416. [[CrossRef](#)]
21. Tu, S.; Zhang, H.; Yang, X.; Wen, W.; Song, K.; Yu, X.; Qu, X. Screening of cervical cancer-related hub genes based on comprehensive bioinformatics analysis. *Cancer Biomark.* **2021**, *32*, 303–315. [[CrossRef](#)]
22. Gong, J.M.; Shen, Y.; Shan, W.W.; He, Y.X. The association between MTHFR polymorphism and cervical cancer. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 7244. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Shim, H.; Park, B.; Shin, H.-J.; Joo, J.; Yoon, K.-A.; Kim, Y.M.; Hayashi, T.; Tokunaga, K.; Kong, S.-Y.; Kim, J.-Y. Protective association of HLA-DRB1*13:02, HLA-DRB1*04:06, and HLA-DQB1*06:04 alleles with cervical cancer in a Korean population. *Hum. Immunol.* **2019**, *80*, 107–111. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Akhatova, A.; Azizan, A.; Atagelidiyeva, K.; Ashimkhanova, A.; Marat, A.; Izteuov, Y.; Suleimenova, A.; Shamkeeva, S.; Aimagambetova, G. Prophylactic Human Papillomavirus Vaccination: From the Origin to the Current State. *Vaccines* **2022**, *10*, 1912. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Pruski, D.; Millert-Kalińska, S.; Łagiedo, M.; Sikora, J.; Jach, R.; Przybylski, M. Effect of HPV Vaccination on Virus Disappearance in Cervical Samples of a Cohort of HPV-Positive Polish Patients. *J. Clin. Med.* **2023**, *12*, 7592. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Ferrall, L.; Lin, K.Y.; Roden, R.B.S.; Hung, C.F.; Wu, T.C. Cervical Cancer Immunotherapy: Facts and Hopes. *Clin. Cancer Res.* **2021**, *27*, 4953–4973. [[CrossRef](#)]
27. Cibula, D.; Raspollini, M.R.; Planchamp, F.; Centeno, C.; Chargari, C.; Felix, A.; Fischerová, D.; Jahnn-Kuch, D.; Joly, F.; Kohler, C.; et al. ESGO/ESTRO/ESP Guidelines for the management of patients with cervical cancer—Update 2023. *Int. J. Gynecol. Cancer* **2023**, *33*, 649–666. [[CrossRef](#)]
28. Koh, W.J.; Abu-Rustum, N.R.; Bean, S.; Bradley, K.; Campos, S.M.; Cho, K.R.; Chon, H.S.; Chu, C.; Clark, R.; Cohn, D.; et al. Cervical Cancer, Version 3.2019, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J. Natl. Compr. Cancer Netw.* **2019**, *17*, 64–84. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Wolswinkel, J.T.; Eikelder, M.L.G.T.; Verhoef, C.G.; Zusterzeel, P.L.M. High- or Intermediate-Risk Histologic Features in Patients with Clinical Early-Stage Cervical Cancer Planned for Fertility-Sparing Surgery: A Systematic Review. *Cancers* **2023**, *15*, 3920. [[CrossRef](#)]
30. Moreira, A.S.L.; Cunha, T.M.; Esteves, S. Cervical cancer recurrence-can we predict the type of recurrence? *Diagn. Interv. Radiol.* **2020**, *26*, 403–410. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
31. Slama, J.; Runnebaum, I.B.; Scambia, G.; Angeles, M.A.; Bahreman, K.; Kommoos, S.; Fagotti, A.; Narducci, F.; Matylevich, O.; Holly, J.; et al. Analysis of risk factors for recurrence in cervical cancer patients after fertility-sparing treatment: The FERTILITY Sparing Surgery retrospective multicenter study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2023**, *228*, 443.e1–443.e10. [[CrossRef](#)]
32. Singh, D.; Vignat, J.; Lorenzoni, V.; Eslahi, M.; Ginsburg, O.; Lauby-Secretan, B.; Arbyn, M.; Basu, P.; Bray, F.; Vaccarella, S. Global estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2020: A baseline analysis of the WHO Global Cervical Cancer Elimination Initiative. *Lancet Glob. Health* **2023**, *11*, e197–e206. [[CrossRef](#)]
33. Buskwofie, A.; David-West, G.; Clare, C.A. A Review of Cervical Cancer: Incidence and Disparities. *J. Natl. Med. Assoc.* **2020**, *112*, 229–232. [[CrossRef](#)]

34. Issanov, A.; Karim, M.E.; Aimagambetova, G.; Dummer, T.J.B. Does Vaccination Protect against Human Papillomavirus-Related Cancers? Preliminary Findings from the United States National Health and Nutrition Examination Survey (2011–2018). *Vaccines* **2022**, *10*, 2113. [CrossRef]
35. Simms, K.T.; Steinberg, J.; Caruana, M.; Smith, M.A.; Lew, J.-B.; Soerjomataram, I.; Castle, P.E.; Bray, F.; Canfell, K. Impact of scaled up human papillomavirus vaccination and cervical screening and the potential for global elimination of cervical cancer in 181 countries, 2020–2099: A modelling study. *Lancet Oncol.* **2019**, *20*, 394–407. [CrossRef]
36. Vaccarella, S.; Franceschi, S.; Engholm, G.; Lönnberg, S.; Khan, S.; Bray, F. 50 years of screening in the Nordic countries: Quantifying the effects on cervical cancer incidence. *Br. J. Cancer.* **2014**, *111*, 965–969. [CrossRef]
37. Petersen, L.M.; Fenton, J.M.; Kennedy, L.S.; LaRochelle, E.P.M.; Bejarano, S.; Tsongalis, G.J. HPV, vaccines, and cervical cancer in a low- and middle-income country. *Curr. Probl. Cancer* **2020**, *44*, 100605. [CrossRef]
38. Aimagambetova, G.; Azizan, A. Epidemiology of HPV Infection and HPV-Related Cancers in Kazakhstan: A Review. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* **2018**, *19*, 1175–1180. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
39. Aimagambetova, G.; Chan, C.K.; Ukybassova, T.; Imankulova, B.; Balykov, A.; Kongrtay, K.; Azizan, A. Cervical cancer screening and prevention in Kazakhstan and Central Asia. *J. Med. Screen.* **2021**, *28*, 48–50. [CrossRef] [PubMed]
40. Bosch, F.X.; de Sanjose, S. The epidemiology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Dis. Markers* **2007**, *23*, 213–227. [CrossRef]
41. Bosch, F.X.; Qiao, Y.L.; Castellsagué, X. CHAPTER 2 The epidemiology of human papillomavirus infection and its association with cervical cancer. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* **2006**, *94* (Suppl. S1), S8–S21. [CrossRef]
42. Centers for Disease Control and Prevention. Available online: <https://www.cdc.gov/hpv/index.html> (accessed on 6 October 2023).
43. Castellsagué, X. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *Gynecol. Oncol.* **2008**, *110* (Suppl. S2), S4–S7. [CrossRef]
44. Burd, E.M.; Dean, C.L. Human Papillomavirus. *Microbiol. Spectr.* **2016**, *4*, 177–195. [CrossRef] [PubMed]
45. Okunade, K.S. Human papillomavirus and cervical cancer. *J. Obstet. Gynaecol.* **2020**, *40*, 590, Erratum in *J. Obstet. Gynaecol.* **2020**, *40*, 602–608. [CrossRef]
46. Yuan, Y.; Cai, X.; Shen, F.; Ma, F. HPV post-infection microenvironment and cervical cancer. *Cancer Lett.* **2021**, *497*, 243–254. [CrossRef]
47. Xia, C.; Li, S.; Long, T.; Chen, Z.; Chan, P.K.S.; Boon, S.S. Current Updates on Cancer-Causing Types of Human Papillomaviruses (HPVs) in East, Southeast, and South Asia. *Cancers* **2021**, *13*, 2691. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
48. Cairns, M.; Cuschieri, K.S.; Cubie, H.A.; Cruickshank, M.E. High-risk HPV genotyping in the follow-up of women treated conservatively for microinvasive cervical cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer.* **2010**, *20*, 154–157. [CrossRef]
49. Chaturvedi, A.K.; Graubard, B.I.; Broutian, T.; Xiao, W.; Pickard, R.K.L.; Kahle, L.; Gillison, M.L. Prevalence of Oral HPV Infection in Unvaccinated Men and Women in the United States, 2009–2016. *JAMA* **2019**, *322*, 977–979. Erratum in *JAMA* **2019**, *322*, 1925; Erratum in *JAMA* **2020**, *323*, 282. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
50. Lagheden, C.; Eklund, C.; Lamin, H.; Kleppe, S.N.; Lei, J.; Elfström, K.M.; Sundström, K.; Andrae, B.; Sparén, P.; Dillner, J. Nationwide comprehensive human papillomavirus (HPV) genotyping of invasive cervical cancer. *Br. J. Cancer.* **2018**, *118*, 1377–1381. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
51. Przybylski, M.; Pruski, D.; Wszolek, K.; de Mezer, M.; Żurawski, J.; Jach, R.; Millert-Kalińska, S. Prevalence of HPV and Assessing Type-Specific HPV Testing in Cervical High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions in Poland. *Pathogens* **2023**, *12*, 350. [CrossRef]
52. Quek, S.C.; Lim, B.K.; Domingo, E.; Soon, R.; Park, J.-S.; Vu, T.N.; Tay, E.H.; Le, Q.T.; Kim, Y.-T.; Vu, B.Q.; et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical intraepithelial neoplasia across 5 countries in Asia. *Int. J. Gynecol. Cancer* **2013**, *23*, 148–156. [CrossRef]
53. Farahmand, Z.; Soleimanjahi, H.; Garshasbi, M.; Hasanzadeh, M.; Zafari, E. Distribution of the most common types of HPV in Iranian women with and without cervical cancer. *Women Health* **2021**, *61*, 73–82. [CrossRef]
54. Grover, S.; Seckar, T.; Gao, L.; Bhatia, R.; Lin, X.; Zetola, N.; Ramogola-Masire, D.; Robertson, E. Characterization of HPV subtypes in invasive cervical cancer in Botswana patients using a pan-pathogen microarray technology. *Tumour Virus Res.* **2023**, *15*, 200262. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
55. Sundström, K.; Ploner, A.; Arnhem-Dahlström, L.; Eloranta, S.; Palmgren, J.; Adami, H.-O.; Helm, N.Y.; Sparén, P.; Dillner, J. Interactions Between High- and Low-Risk HPV Types Reduce the Risk of Squamous Cervical Cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* **2015**, *107*, djv185. [CrossRef]
56. Aimagambetova, G.; Terzic, S.; Laganà, A.S.; Bapayeva, G.; la Fleur, P.; Terzic, M. Contemporary Fertility-Sparing Management Options of Early Stage Endometrioid Endometrial Cancer in Young Nulliparous Patients. *J. Clin. Med.* **2021**, *11*, 196. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
57. IARC. Cervical Cancer Screening. In *IARC Handbooks of Cancer Prevention*; IARC: Lyon, France, 2022; Volume 18, ISBN -13.
58. Zaccarini, F.; Sanson, C.; Maulard, A.; Schérier, S.; Leary, A.; Pautier, P.; Chargari, C.; Genestie, C.; Gouy, S.; Morice, P. Cervical Cancer and Fertility-Sparing Treatment. *J. Clin. Med.* **2021**, *10*, 4825. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
59. Gwacham, N.I.; McKenzie, N.D.; Fitzgerald, E.R.; Ahmad, S.; Holloway, R.W. Neoadjuvant chemotherapy followed by fertility sparing surgery in cervical cancers size 2–4 cm; emerging data and future perspectives. *Gynecol. Oncol.* **2021**, *162*, 809–815. [CrossRef] [PubMed]

60. Stewart, K.; Campbell, S.; Frumovitz, M.; Ramirez, P.T.; McKenzie, L.J. Fertility considerations prior to conservative management of gynecologic cancers. *Int. J. Gynecol. Cancer* **2021**, *31*, 339–344. [CrossRef] [PubMed]
61. Kohn, J.R.; Katebi Kashi, P.; Acosta-Torres, S.; Beavis, A.L.; Christianson, M.S. Fertility-sparing Surgery for Patients with Cervical, Endometrial, and Ovarian Cancers. *J. Minim. Invasive Gynecol.* **2021**, *28*, 392–402. [CrossRef] [PubMed]
62. Nezhat, C.; Roman, R.A.; Rambhatla, A.; Nezhat, F. Reproductive and oncologic outcomes after fertility-sparing surgery for early stage cervical cancer: A systematic review. *Fertil. Steril.* **2020**, *113*, 685–703. [CrossRef] [PubMed]
63. Sarria-Santamera, A.; Bapayeva, G.; Utепова, G.; Krstic, J.; Terzic, S.; Aimagambetova, G.; Shauyen, F.; Terzic, M. Women's Knowledge and Awareness of the Effect of Age on Fertility in Kazakhstan. *Sexes* **2020**, *1*, 60–71. [CrossRef]
64. Silvestris, E.; Paradiso, A.V.; Minoia, C.; Daniele, A.; Cormio, G.; Tinelli, R.; D'Oronzo, S.; Cafforio, P.; Loizzi, V.; Dellino, M. Fertility preservation techniques in cervical carcinoma. *Medicine* **2022**, *101*, e29163. [CrossRef]
65. Terzic, M.; Makhadiyeva, D.; Bila, J.; Andjic, M.; Dotlic, J.; Aimagambetova, G.; Sarria-Santamera, A.; Laganà, A.S.; Chiantera, V.; Vukovic, I.; et al. Reproductive and Obstetric Outcomes after Fertility-Sparing Treatments for Cervical Cancer: Current Approach and Future Directions. *J. Clin. Med.* **2023**, *12*, 2614. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
66. Morice, P.; Maulard, A.; Scherier, S.; Sanson, C.; Zarokian, J.; Zaccarini, F.; Espenel, S.; Pautier, P.; Leary, A.; Genestie, C.; et al. Oncologic results of fertility sparing surgery of cervical cancer: An updated systematic review. *Gynecol. Oncol.* **2022**, *165*, 169–183. [CrossRef] [PubMed]
67. Furey, K.B.; Anderson, Z.S.; Kuznicki, M.L.; Klar, M.; Roman, L.D.; Wright, J.D.; Matsuo, K. Increasing trends of cervical conization with lymph node evaluation for fertility-sparing surgery in early cervical cancer. *Gynecol. Oncol.* **2023**, *173*, 122–129. [CrossRef] [PubMed]
68. Athanasiou, A.; Veroniki, A.A.; Efthimiou, O.; Kalliala, I.; Naci, H.; Bowden, S.; Paraskevaidi, M.; Arbyn, M.; Lyons, D.; Martin-Hirsch, P.; et al. Comparative effectiveness and risk of preterm birth of local treatments for cervical intraepithelial neoplasia and stage IA1 cervical cancer: A systematic review and network meta-analysis. *Lancet Oncol.* **2022**, *23*, 1097–1108. Erratum in *Lancet Oncol.* **2022**, *23*, e370. [CrossRef]
69. D'Amato, A.; Riemma, G.; Agrifoglio, V.; Chiantera, V.; Laganà, A.S.; Mikuš, M.; Dellino, M.; Maglione, A.; Faioli, R.; Giannini, A.; et al. Reproductive Outcomes in Young Women with Early-Stage Cervical Cancer Greater than 2 cm Undergoing Fertility-Sparing Treatment: A Systematic Review. *Medicina* **2024**, *60*, 608. [CrossRef]
70. Floyd, J.L.; Campbell, S.; Rauh-Hain, J.A.; Woodard, T. Fertility preservation in women with early-stage gynecologic cancer: Optimizing oncologic and reproductive outcomes. *Int. J. Gynecol. Cancer* **2021**, *31*, 345–351. [CrossRef] [PubMed]
71. Plante, M.; Kwon, J.S.; Ferguson, S.; Samouélian, V.; Ferron, G.; Maulard, A.; de Kroon, C.; Van Driel, W.; Tidy, J.; Williamson, K.; et al. Simple versus Radical Hysterectomy in Women with Low-Risk Cervical Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2024**, *390*, 819–829. [CrossRef]
72. Takekuma, M. Challenges and perspectives on less invasive surgery for early-stage cervical cancer: A critical analysis of the SHAPE trial and its implications. *J. Gynecol. Oncol.* **2024**, *35*, e48. [CrossRef]
73. Willows, K.; Lennox, G.; Covens, A. Fertility-sparing management in cervical cancer: Balancing oncologic outcomes with reproductive success. *Gynecol. Oncol. Res. Pract.* **2016**, *3*, 9. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
74. Šimják, P.; Cibula, D.; Pařízek, A.; Sláma, J. Management of pregnancy after fertility-sparing surgery for cervical cancer. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **2020**, *99*, 830–838. [CrossRef] [PubMed]
75. Piątek, S.; Szymusik, I.; Bidziński, M. Reproductive Results in Cancer Survivors after Fertility Sparing Management: The Need for the Standardization of Definitions. *Cancers* **2023**, *15*, 3569. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
76. Robova, H.; Rob, L.; Halaska, M.J.; Drozenova, J.; Pichlik, T.; Drochytka, V.; Hruda, M. Twenty years of experience with less radical fertility-sparing surgery in early-stage cervical cancer: Pregnancy outcomes. *Gynecol. Oncol.* **2023**, *174*, 76–79. [CrossRef] [PubMed]
77. van der Plas, R.C.J.; Bos, A.M.E.; Jürgenliemk-Schulz, I.M.; Gerestein, C.G.; Zweemer, R.P. Fertility-sparing surgery and fertility preservation in cervical cancer: The desire for parenthood, reproductive and obstetric outcomes. *Gynecol. Oncol.* **2021**, *163*, 538–544. [CrossRef] [PubMed]
78. Kuznicki, M.L.; Chambers, L.M.; Morton, M.; Son, J.; Horowitz, M.; Crean-Tate, K.K.; Hackett, L.; Rose, P.G. Fertility-Sparing Surgery for Early-Stage Cervical Cancer: A Systematic Review of the Literature. *J. Minim. Invasive Gynecol.* **2021**, *28*, 513–526.e1. [CrossRef] [PubMed]
79. Ronsini, C.; Solazzo, M.C.; Moliterno, R.; De Franciscis, P.; Pasanisi, F.; Cobellis, L.; Colacurci, N. Fertility-Sparing Treatment for Early-Stage Cervical Cancer \geq 2 cm: Can One Still Effectively Become a Mother? A Systematic Review of Fertility Outcomes. *Ann. Surg. Oncol.* **2023**, *30*, 5587–5596. [CrossRef]
80. Somigliana, E.; Mangili, G.; Martinelli, F.; Noli, S.; Filippi, F.; Bergamini, A.; Bocciolone, L.; Buonomo, B.; Peccatori, F. Fertility preservation in women with cervical cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2020**, *154*, 103092. [CrossRef] [PubMed]
81. Sabeena, S.; Kuriakose, S.; Damodaran, B.; Ravishankar, N.; Arunkumar, G. Human papillomavirus (HPV) DNA detection in uterine cervix cancer after radiation indicating recurrence: A systematic review and meta-analysis. *J. Gynecol. Oncol.* **2020**, *31*, e20. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
82. Adiga, D.; Eswaran, S.; Pandey, D.; Sharan, K.; Kabekkodu, S.P. Molecular landscape of recurrent cervical cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2021**, *157*, 103178. [CrossRef] [PubMed]

83. Aisagbonhi, O.; Zare, S.Y.; Haste, F.; Binder, P.; Roma, A.A.; Fadare, O. PTEN Loss and ARID1A Mutation in an HPV-positive Metastatic Adenocarcinoma Diagnosed Almost 18 yr After an Intact Cone Excision for Endocervical Adenocarcinoma In Situ. *Int. J. Gynecol. Pathol.* **2022**, *41*, 307–312. [CrossRef] [PubMed]

84. Chen, Y.; Zhu, Y.; Wu, J. Prognosis of Early Stage Cervical Cancer according to Patterns of Recurrence. *Cancer Manag. Res.* **2021**, *13*, 8131–8136. [CrossRef]

85. Kim, J.H.; Park, J.Y.; Kim, D.Y.; Kim, Y.M.; Kim, Y.T.; Nam, J.H. Long-term outcomes after fertility-sparing laparoscopic radical trachelectomy in young women with early-stage cervical cancer: An Asian Gynecologic Cancer Group (AGCG) study. *J. Surg. Oncol.* **2014**, *110*, 252–257.

86. Plaikner, A.; Siegler, K.; Hertel, H.; Jacob, A.; Petzel, A.; Schubert, M.; Blohmer, J.U.; Böhmer, G.; Marnitz, S.; Ragosch, V.; et al. Fertility sparing therapy in women with lymph node negative cervical cancer > 2 cm—Oncologic and fertility outcomes of neoadjuvant chemotherapy followed by radical vaginal trachelectomy. *Int. J. Gynecol. Cancer* **2023**, *33*, 1542–1547. [CrossRef]

87. Zusterzeel, P.L.; Pol, F.J.; van Ham, M.; Zweemer, R.P.; Bekkers, R.L.; Massuger, L.F.; Verheijen, R.H. Vaginal Radical Trachelectomy for Early-Stage Cervical Cancer: Increased Recurrence Risk for Adenocarcinoma. *Int. J. Gynecol. Cancer* **2016**, *26*, 1293–1299. [CrossRef] [PubMed]

88. Schuurman, T.; Zilver, S.; Samuels, S.; Schats, W.; Amant, F.; van Trommel, N.; Lok, C. Fertility-Sparing Surgery in Gynecologic Cancer: A Systematic Review. *Cancers* **2021**, *13*, 1008. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]

89. Tesfai, F.M.; Kroep, J.R.; Gaarenstroom, K.; De Kroon, C.; Van Loenhout, R.; Smit, V.; Trimbos, B.; Nout, R.A.; van Poelgeest, M.I.E.; Beltman, J.J. Fertility-sparing surgery of cervical cancer > 2 cm (International Federation of Gynecology and Obstetrics 2009 stage IB1-IIA) after neoadjuvant chemotherapy. *Int. J. Gynecol. Cancer* **2020**, *30*, 115–121. [CrossRef] [PubMed]

90. Li, X.; Jiang, Z.; Lu, J.; Chen, X.; Ge, H.; Wu, X.; Li, J. Neoadjuvant chemotherapy followed by radical trachelectomy versus upfront abdominal radical trachelectomy for patients with FIGO 2018 stage IB2 cervical cancer. *Gynecol. Oncol.* **2023**, *169*, 106–112. [CrossRef] [PubMed]

91. Ronsini, C.; Solazzo, M.C.; Bizzarri, N.; Ambrosio, D.; La Verde, M.; Torella, M.; Carotenuto, R.M.; Cobellis, L.; Colacurci, N.; De Franciscis, P. Fertility-Sparing Treatment for Early-Stage Cervical Cancer ≥ 2 cm: A Problem with a Thousand Nuances—A Systematic Review of Oncological Outcomes. *Ann. Surg. Oncol.* **2022**, *29*, 8346–8358. [CrossRef]

92. Viveros-Carreño, D.; Rodriguez, J.; Rendon Pereira, G.J.; Slama, J.; Halaska, M.J.; Robova, H.; Pareja, R. Fertility-sparing surgery after neo-adjuvant chemotherapy in women with cervical cancer larger than 4 cm: A systematic review. *Int. J. Gynecol. Cancer* **2022**, *32*, 486–493. [CrossRef] [PubMed]

93. Baiocchi, G.; Tsunoda, A.T.; Guitmann, G.; Vieira, M.A.; Zanvettor, P.H.; Silvestre, J.B.C.H.; Santos, M.H.; Sacramento, R.M.M.; de Araujo, E.O.; Lopes, R.H.; et al. Brazilian Society of Surgical Oncology consensus on fertility-sparing surgery for cervical cancer. *J. Surg. Oncol.* **2022**, *126*, 37–47. [CrossRef] [PubMed]

94. Hruda, M.; Robova, H.; Rob, L.; Halaska, M.J.; Drozenova, J.; Pichlik, T.; Malikova, H. Twenty years of experience with less radical fertility-sparing surgery in early-stage cervical cancer: Oncological outcomes. *Gynecol. Oncol.* **2021**, *163*, 100–104. [CrossRef] [PubMed]

95. Corrado, G.; Anchora, L.P.; Bruni, S.; Sperduti, I.; Certelli, C.; Chiofalo, B.; Giannini, A.; D’Oria, O.; Bizzarri, N.; Legge, F.; et al. Patterns of recurrence in FIGO 2018 stage IB1-IB2 cervical cancer: Comparison between minimally invasive and abdominal radical hysterectomy. *Eur. J. Surg. Oncol.* **2023**, *49*, 107047. [CrossRef]

96. Eriksen, D.O.; Jensen, P.T.; Schroll, J.B.; Hammer, A. Human papillomavirus vaccination in women undergoing excisional treatment for cervical intraepithelial neoplasia and subsequent risk of recurrence: A systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **2022**, *101*, 597–607. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]

97. Kechagias, K.S.; Kalliala, I.; Bowden, S.J.; Athanasiou, A.; Paraskevaidi, M.; Paraskevaidis, E.; Dillner, J.; Nieminen, P.; Strander, B.; Sasieni, P.; et al. Role of human papillomavirus (HPV) vaccination on HPV infection and recurrence of HPV related disease after local surgical treatment: Systematic review and meta-analysis. *BMJ* **2022**, *378*, e070135. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]

98. Lukic, A.; Rossi, S.; Frega, A.; Ruscito, I.; Bianchi, P.; Nobili, F.; Caserta, D.; Vecchione, A. Prognostic role of immunohistochemical overexpression of the p16 protein in women under the age of 35 and diagnosed with HSIL (CIN2) subjected to “cervix sparing” excision. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **2021**, *25*, 1261–1273. [CrossRef] [PubMed]

99. Jeannot, E.; Latouche, A.; Bonneau, C.; Calméjane, M.A.; Beaufort, C.; Ruigrok-Ritstier, K.; Bataillon, G.; Larbi Chérif, L.; Dupain, C.; Lecerf, C.; et al. Circulating HPV DNA as a Marker for Early Detection of Relapse in Patients with Cervical Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2021**, *27*, 5869–5877. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]

100. Harima, Y.; Sawada, S.; Nagata, K.; Sougawa, M.; Ohnishi, T. Human papilloma virus (HPV) DNA associated with prognosis of cervical cancer after radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **2002**, *52*, 1345–1351. [CrossRef] [PubMed]

101. Song, Y.J.; Kim, J.Y.; Lee, S.K.; Lim, H.S.; Lim, M.C.; Seo, S.S.; Kang, S.; Lee, D.O.; Park, S.Y. Persistent human papillomavirus DNA is associated with local recurrence after radiotherapy of uterine cervical cancer. *Int. J. Cancer* **2011**, *129*, 896–902. [CrossRef] [PubMed]

102. Noventa, M.; Ancona, E.; Cosmi, E.; Saccardi, C.; Litta, P.; D’Antona, D.; Nardelli, G.B.; Gizzo, S. Usefulness, methods and rationale of lymph nodes HPV-DNA investigation in estimating risk of early stage cervical cancer recurrence: A systematic literature review. *Clin. Exp. Metastasis* **2014**, *31*, 853–867. [CrossRef] [PubMed]

103. Vintermyr, O.K.; Iversen, O.; Thoresen, S.; Quint, W.; Molijn, A.; de Souza, S.; Rosillon, D.; Holl, K. Recurrent high-grade cervical lesion after primary conization is associated with persistent human papillomavirus infection in Norway. *Gynecol. Oncol.* **2014**, *133*, 159–166. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
104. Bai, H.; Liu, J.; Wang, Q.; Feng, Y.; Lou, T.; Wang, S.; Wang, Y.; Jin, M.; Zhang, Z. Oncological and reproductive outcomes of adenocarcinoma *in situ* of the cervix managed with the loop electrosurgical excision procedure. *BMC Cancer* **2018**, *18*, 461. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
105. Byun, J.M.; Jeong, D.H.; Kim, Y.N.; Jung, E.J.; Lee, K.B.; Sung, M.S.; Kim, K.T. Persistent HPV-16 infection leads to recurrence of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Medicine* **2018**, *97*, e13606. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
106. Bogani, G.; Pinelli, C.; Chiappa, V.; Martinelli, F.; Lopez, S.; Ditto, A.; Raspagliesi, F. Age-specific predictors of cervical dysplasia recurrence after primary conization: Analysis of 3,212 women. *J. Gynecol. Oncol.* **2020**, *31*, e60. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
107. Bogani, G.; Di Donato, V.; Sopracordevole, F.; Ciavattini, A.; Ghelardi, A.; Lopez, S.; Simoncini, T.; Plotti, F.; Casarin, J.; Serati, M.; et al. Recurrence rate after loop electrosurgical excision procedure (LEEP) and laser Conization: A 5-year follow-up study. *Gynecol. Oncol.* **2020**, *159*, 636–641. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
108. Spinillo, A.; Dominoni, M.; Boschi, A.C.; Sosso, C.; Fiandrino, G.; Cesari, S.; Gardella, B. Clinical Significance of the Interaction between Human Papillomavirus (HPV) Type 16 and Other High-Risk Human Papillomaviruses in Women with Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) and Invasive Cervical Cancer. *J. Oncol.* **2020**, *2020*, 6508180. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
109. Spinillo, A.; Dominoni, M.; Boschi, A.C.; Cesari, S.; Fiandrino, G.; Gardella, B. The relationship of human papillomavirus infection with endocervical glandular involvement on cone specimens in women with cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol. Oncol.* **2020**, *159*, 630–635. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
110. Kulkarni, A.; Covens, A.; Durand, N.; Ghorab, Z.; Gien, L.T.; Osborne, R.; Vicus, D.; Kupets, R. Role of HPV in the Prediction of Persistence/Recurrence After Treatment for Cervical Precancer. *J. Obstet. Gynaecol. Can.* **2023**, *45*, 102171. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
111. Zang, L.; Hu, Y. Risk factors associated with HPV persistence after conization in high-grade squamous intraepithelial lesion. *Arch. Gynecol. Obstet.* **2021**, *304*, 1409–1416. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
112. Han, L.; Zhang, B. Can prophylactic HPV vaccination reduce the recurrence of cervical lesions after surgery? Review and prospect. *Infect. Agent. Cancer* **2023**, *18*, 66. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
113. Jentschke, M.; Kampers, J.; Becker, J.; Sibbertsen, P.; Hillemanns, P. Prophylactic HPV vaccination after conization: A systematic review and meta-analysis. *Vaccine* **2020**, *38*, 6402–6409. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.