

© РАЧКОВСКАЯ В. В., ГОРБУНОВ А. П., ПАШОВ А. И., ВОЛКОВА Л. В.

УДК 618.146-002.446

DOI: 10.20333/2500136-2020-3-30-37

Применение масс-спектрометрии при диагностике патологии шейки матки (обзор литературы)

В. В. Рачковская, А. П. Горбунов, А. И. Пашов, Л. В. Волкова

Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград 236041, Российская Федерация

Резюме. В научном обзоре рассматривается проблема ранней диагностики патологии шейки матки. Кратко описаны этиопатогенетические факторы развития цервикальных интраэпителиальных неоплазий и рака шейки матки, возможности и трудности диагностики. Большое внимание уделено новому и перспективному методу диагностики патологии шейки матки – изучению протеомного состава цервиковагинальной слизи и других биологических жидкостей путем применения масс-спектрометра. Проведен обзор литературных данных по эффективности применения данной методики в гинекологии. Предполагают, что в будущем методика и полученные белковые компоненты могут быть использованы в практике врача акушера-гинеколога для выявления ранних патологий шейки матки и предупреждения развития осложнений.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, шейка матки, рак шейки матки, фоновые заболевания шейки матки, ПАП-тест, вирус папилломы человека, дисплазия шейки матки, цервиковагинальная жидкость, протеомный анализ.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Рачковская ВВ, Горбунов АП, Пашов АИ, Волкова ЛВ. Применение масс-спектрометрии при диагностике патологии шейки матки (обзор литературы). *Сибирское медицинское обозрение*. 2020;(3):30-37. DOI: 10.20333/2500136-2020-3-30-37

The use of mass spectrometry in cervical pathology diagnostics (literature review)

V. V. Rachkovskaya, A. P. Gorbunov, A. I. Pashov, L. V. Volkova

I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad 236041, Russian Federation

Abstract. The scientific review covers the problem of early cervical pathology diagnostics. Etiopathogenetic factors for the development of cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer are briefly described along with the possibilities and difficulties of their diagnosis. Much attention is paid to new and promising method for cervical pathology diagnostics such as the study of proteomic composition of cervicovaginal mucus and other biological fluids by means of mass spectrometry. Literature data review on effectiveness of this technique used in gynecology is given. It is supposed that in future, the technique and the received protein components can be used in practice of obstetrician-gynecologist to identify early cervix pathologies and to prevent complications.

Key words: mass spectrometry, cervix uteri, cervical cancer, co-morbidity of cervix of the uterus, Pap test, human papillomavirus, cervical dysplasia, cervicovaginal fluid, proteomic analysis.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Rachkovskaya VV, Gorbunov AP, Pashov AI, Volkova LV. The use of mass spectrometry in cervical pathology diagnostics (literature review). *Siberian Medical Review*. 2020;(3):30-37. DOI: 10.20333/2500136-2020-3-30-37

Фоновые и предраковые заболевания шейки матки на данный момент занимают одно из лидирующих мест в структуре общей патологии в гинекологии. Именно рак шейки матки (РШМ) занимает одну из главных позиций в разделе онкогинекологии и смертности у женщин. Данный факт подтверждает, что патология шейки матки является важной медицинской и социальной проблемой [1].

К сожалению, данная патология по-прежнему не имеет тенденции к снижению, не смотря на всевозможные проводимые скрининговые мероприятия, а также различные методики углубленной диагностики и лечения данной патологии [1,2,3,4,5].

По данным ВОЗ, каждый год в мире выявляются 493,2 тысячи новых случаев рака шейки матки, из которых почти половина заканчивается летальным исходом. Нужно сказать, что высокий процент смертности приходится на женщин репродуктивного возраста [1].

Развитие патологии шейки матки у молодых нерожавших женщин связано, в первую очередь, с анатомо-физиологической особенностью: это биологическая незрелость эпителия шейки матки. Другим предрасполагающим фактором является небольшой промежуток времени от наступления менархе до начала половой жизни, активная половая жизнь, а также высокая заболеваемость инфекциями, передающимися половым путем [6,7].

На данный момент самой распространенной и значимой инфекцией является вирус папилломы человека (ВПЧ). До 70 % молодых женщин инфицировано этим вирусом [1,5,8,9].

В настоящее время известно о 201 типах вируса папилломы человека, которые способны вызвать как доброкачественные трансформации шейки матки, так и инвазивные опухолевые процессы. Доказано, что 25 видов ВПЧ обладают онкогенными свойствами.

Международное агентство по изучению рака (IARC) выделило из них 12 наиболее опасных: ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 и 59. Считается, что именно вышеперечисленные типы являются основным этиологическим фактором развития неоплазий и рака шейки матки [4,5,9,10].

Известно, что чаще всего ВПЧ-инфекция способна к самоэлиминации из организма женщины. По статистике, в течение первого года инфицирования выздоровление наступает в 70 %, в 91 % случаев элиминация наступает в течение последующих двух лет. Однако, по данным ВОЗ, при персистенции вируса папилломы человека более трех лет почти у каждой третьей женщины (в 27 %) развиваются цервикальные интраэпителиальные неоплазии (CIN) II и III степени. Именно это и является толчком к более углубленной диагностике патологии шейки матки на ранних этапах ее развития, преимущественно связанной с ВПЧ-инфекцией [4,5,7,10,11].

Для многих врачей акушеров-гинекологов вопрос по ведению женщин с дисплазией шейки матки легкой степени, которая способна к спонтанной регрессии, до настоящего времени, остается спорным, а именно: все еще придерживаться тактики динамического наблюдения патологии или уже начинать проводить активное лечение [3,8].

Если обратиться к клиническим рекомендациям 2019 года, то ведение пациентов с патологией шейки матки описано, весьма, однозначно: применение деструктивных методов лечения пациентов, исключительно относящихся к группе плоскоклеточных интраэпителиальных поражений высокого риска по прогрессии заболевания (HSIL). В случае женщин с низким риском прогрессии плоскоклеточных интраэпителиальных поражений (LSIL), в частности, к чему относится и спонтанная регрессия, возложено динамическое наблюдение патологии [3,10,12].

В связи с этим у исследователей и клиницистов возникает необходимость в поиске и определении более новых, эффективных и специфичных биологических маркеров, которые бы точно и быстро определяли стадии развития патологического процесса шейки матки, как следствие правильное ведение и сопровождение патологии без излишнего медицинского вмешательства [10,13].

Сейчас в науке особое внимание уделяется исследованию молекулярного состава биологических жидкостей и тканей сверхновыми, точными и высокоспецифичными методами диагностики. Если рассматривать патологию шейки матки, то научные разработки последних 10 лет доказали высокую значимость по изучению и прогнозированию различных заболеваний при помощи исследования цервикальной жидкости (ЦВЖ) в частности [13,14,15,16,17].

Ценность диагностики изучения состава цервикальной жидкости описывается тем, что в состав входят продукты жизнедеятельности микроорганизмов, обитающих в нижних отделах генитального тракта женщины; в составе также содержатся эпителиальные клетки, цервикального канала жидкость (слизь), секрет желез эндометрия и маточных труб, вода, разнообразные белковые субстанции, углеводы и неорганические вещества. Цервикальная жидкость имеет также огромное значение в поддержании гомеостаза, несет в себе иммунологическую функцию [15,16,18,19,20].

Так, новым направлением в исследовании патологии шейки матки является изучение белкового состава ЦВЖ. На данный метод ученый мир возлагает большие надежды. Предполагают, что метод может дать новую информацию о патологическом процессе, а также позволить нам более глубоко изучить этиопатогенез заболеваний [16,17,21,22].

К одному из таких методов исследования можно отнести масс-спектрометрию (МС). МС – это метод качественного и количественного определения биологических веществ в исследуемых пробах. Масс-спектрометрия помогает изучать молекулярные механизмы патогенеза неоплазий, а также злокачественных заболеваний репродуктивной системы женщины, выявлять патологические изменения на ранних этапах их развития [21,23,24,25,26].

Принцип работы масс-спектрометра основан на разделении потока ионов исследуемой биологической жидкости по их массам. Поток регистрируется в виде электрических сигналов, затем отображается на компьютере в виде масс-спектра [17,24,27,28].

Задачей масс-спектрометрического анализа в рамках клинического исследования, направленного на медицинскую диагностику, является открытие различных маркеров и их качественное и количественное определение в биологических материалах в широком интервале концентраций. Выявление прогностических маркеров в низких концентрациях имеет важное значение, так как в этом случае, возможно предотвращение проявления заболевания в его выраженной форме. Так же при исследовании биомаркеров можно выявить их специфичность для различных стадий патологического процесса. В таком видении особенно важен поиск маркеров именно для тех заболеваний, которые трудно поддаются лечению и вызывают существенную долю летальных исходов, т. е. онкологические заболевания. В современных научных исследованиях по онкологии роль МС очень велика [24,29,30].

Неинвазивность и простота забора ЦВЖ, стоимость исследования также сильно повышает диагностическую ценность масс-спектрометрии при выявлении патологии шейки матки [14,28,31,32].

Например, в исследовании А. С. Конохина с соавт. произведен анализ цервикальной жидкости путем применения масс-спектрометрии. Разработаны панели белков. Использование такого способа позволяет различать неопластические процессы в эпителии шейки матки у женщин с ВПЧ - инфекцией по степени тяжести, с помощью анализа протеомного состава цервикальной жидкости [33].

Выявлено, что при наличии в панели белков CAST, GM2A, SPINK5, SBSN, ACTG1, SERPINB1, CEACAM5, CRISP3, SPRR3 делают заключение о дисплазии тяжелой степени – HSIL, при наличии в панели белков ACTG1, SERPINB1, CEACAM5, CRISP3, SPRR3, IGHA1, SERPINB13, SPRR1A делают заключение о дисплазии легкой степени (LSIL). При наличии белков IGHA1, SERPINB 13, SPRR1A, CAST, GM2A, SPINK5, SBSN делают заключение об атипии плоских клеток неясного генеза (ASCUS). При наличии в панели белков CTSV, CD5L, CLU, COL1A2, SPRR1A, SPRR1B, CRISP3, CTSC, EVPL, CAPZB, H1F0, IVL, LYPD3, PIGR, SERPINB3, SPINK7, SPRR2D, SPRR3, SBSN, TXN, TAGLN2, WFDC2 делают заключение о раке шейки матки.

В статье А. А. Герта производится анализ цервикальной жидкости женщин с патологией шейки матки. Составлены две исследовательские группы: женщины ВПЧ-позитивные и без персистенции вируса. Анализ протеома выявил 238 схожих в обеих группах белков, из них 16 потенциальных маркеропредраковых состояний шейки матки (LSIL, HSIL). Из них наиболее характерными для предраковых состояний являлись альфа-актин-4 (ACTN4) и изозимпириваткиназа M1/M2 (PKM2). Доказано также, что уровень ACTN4 количественно был выше у женщин с ВПЧ инфекцией, и их уровень коррелировал со временем персистенции вируса в организме женщины. Более того, авторы считают, что выявление данных белков хорошо подходит для дальнейшей разработки теста для самодиагностики патологии шейки матки [34].

В исследовании М.Д. Зардиашвили были определены специфические белки-маркеры, которые, в ходе работы были сгруппированы по степени тяжести поражения слизистой оболочки шейки матки. Был сформирован специфический набор, состоящий из 21 белка цервикальной жидкости, которые достоверно изменялись в группах с «малыми» и «тяжелыми» поражениями шейки матки (ANXA1, ANXA2; ANXA2P2, SLPI, FBLN1, IL1RN, KLK6, PIGR, S100A9, CSTA, IGHA1, SERPINB13, SPRR1A, CAST, GM2A, SPINK5, SBSN, ACTG1, SERPINB1, CEACAM5, CRISP3, SPRR3). Были определены специфические белки цервикальной жидкости при «малых» поражениях эпителия шейки матки, применяемые для прогнозирования течения процесса и выявления групп женщин с высоким риском развития

дисплазии и рака шейки матки (ANXA2; ANXA2P2, S100A9, CSTA, SBSN, ACTG1, SERPINB1, CRISP3). Для ранней диагностики тяжелой степени дисплазии и рака шейки матки была сформирована группа белков цервикальной жидкости: CTSV, CLU, SPRR1A, SPRR1B, CRISP3, H1F0, IVL, LYPD3, SERPINB3, SPINK7, SPRR2D, SPRR3, SBSN, TXN и WFDC2 [35].

В исследовании Н. Л. Стародубцевой с соавт. было исследовано 40 ВПЧ – позитивных женщин. В группах пациентов, по анализу онкоцитологии которых было выявлено отсутствие клеточного атипизма (NILM), дисплазия шейки матки легкой степени (LSIL), дисплазия шейки матки умеренной и тяжелой степеней (HSIL), РШМ, было выявлено всего 117 значимых белков. 27 из них являются, по мнению исследователей, особо значимыми при развитии рака шейки матки: ACTN4, VTN, ANXA1, CAP1, ANXA2, MUSC5B и другие. Также были выявлены белки, достоверно отличающие HSIL/CANCER от NILM/LSIL (всего 33 образца белка) [19,36,37].

В работе Idanya Serafin-Higuera исследовалась и сравнивалась цервикальная жидкость, полученная от мексиканских женщин с раком шейки матки, с персистенцией ВПЧ 16 типа со здоровыми женщинами без наличия вирусной инфекции. Были идентифицированы такие белки, как остеоглицин, гладкая мышца аорты, белок Lumican, пероксиредоксин-1, 14-3-3, альфа-енолаза, кератин, цитоскелет 5 типа II. Авторы считают, что эти белки могут быть восприняты как биомаркеры рака шейки матки в связи с их появлением на ранних стадиях течения заболевания. Авторами также рассматриваются более детально каждый из белков, для более лучшего понимания роли ВПЧ-инфекции в патогенезе развития онкопатологии [38].

В работе Kristin L. M. Boylan исследовали белковый состав остаточной жидкости (n=40), собранной для проведения жидкостной цитологии у здоровых женщин. Всего было выявлено 714 уникальных белков. Почти 40 % полученных белков были внеклеточного происхождения или были лоцированы на плазматической мембране клеток. 20 % белков имели вовлечение в местный иммунитет и защиту шейно-вагинального тракта женщины. Путем тщательного отбора белков была создана панель протеома, состоящая из 153 уникальных белков, которые были характерны для жидкости, собранной для проведения жидкостной цитологии [39].

Основные функциональные группы содержали белки, которые участвовали в местном иммунитете и защите генитального тракта женщины (19 %), метаболизме и модификации белков (15 %), цитоскелете (10 %) и других клеточных процессах, таких как передача сигналов между клетками (10 %), клеточная

адгезия (5 %). Незначительные группы белков были вовлечены в клеточный транспорт (4 %), клеточный цикл (3 %) и репродукцию (2 %).

Авторы считают, что собранная жидкость для проведения жидкостной цитологии содержит достаточное количество белка для последующего анализа с помощью масс-спектрометрии, она легкодоступна и представляет собой ценный источник белковых биомаркеров гинекологической патологии.

В исследовании Брайан Дж. Морриса, путем применения метода инфракрасной масспектрометрии проведено изучение цервикагинальной жидкости при различных состояниях шейки матки. Было исследовано 25 образцов, взятых от женщин, страдающих дисплазией шейки матки различной степени выраженности (диагноз установлен путем проведения мазка на онкоцитологию, кольпоскопии, гистологического исследования). Авторы выявили высокую взаимосвязь между полученными инфракрасными масс-спектрами и результатами гистологического исследования. Высокая степень корреляции результатов масспектрометрии и гистологического исследования была выявлена при дисплазии шейки матки тяжелой степени, при этом установлена низкая корреляция для дисплазии легкой степени [30].

В работе М. Е. Некрасовой с соавт. у пациенток с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки (LSIL, HSIL, РШМ) методом масс-спектрометрии определялся уровень и корреляция не белкового профиля, а липидного [40, 41]. Последние относились к фосфатидилхолинам, фосфатидилэтаноламинам и плазмалогенам. Путем применения масс-спектрометра производилось исследование липидного профиля пораженной ткани шейки матки, которое в последующем помогало различать степень тяжести поражения эпителия: тяжелая, легкая дисплазия шейки матки, РШМ. Также данный анализ помогал дифференцировать воспалительные процессы от предракового и злокачественного процессов.

Диагностическая панель липидома тканей шейки матки у пациенток с HSIL характеризуется отсутствием фосфатидилхолинов (PC), преобладанием таких классов липидов лизофосфатидилэтаноламин (LPE), плазмалогенов (PEO), сфингомиелинов (SM), и выраженным снижением их уровней в пораженных тканях. При раке шейки матки выявлялось значительное преобладание таких классов липидов, как лизофосфатидилэтаноламины и плазмалогены, но выраженным снижением их уровней, однако повышением уровней фосфатидилхолинов в раковых тканях. Выявленная положительная корреляционная связь масс-спектрометрических показателей и гистологического диагноза, отражающая степень тяжести поражения эпителия шейки матки, показывает высокую эффективность масс-спектрометрической диагностики. Метод

помогает выявлять женщин, как с высоким риском развития дисплазии шейки матки умеренной и тяжелой степени, так и с раком шейки матки. Более того, также возможно определять и дальнейший прогноз течения заболевания [41].

Л. В. Боровковой с соавт. на базе Нижегородской государственной медицинской академии было проведено исследование сыворотки крови методом масс-спектрометрии, полученной от 45 женщин, которые имели патологию шейки матки: эктропион, эктопия, рубцовая деформация шейки матки, эндометриоз шейки матки, полип цервикального канала, дисплазия шейки матки различной степени выраженности и рак *in situ*. Диагноз установлен у всех женщин гистологически. В ходе исследования были установлены пики полос поглощения при доброкачественных заболеваниях шейки матки – 1320, 1241, 1200, 1169, 1117, 973, 943, 935 см⁻¹. При злокачественных заболеваниях шейки матки (тяжелая дисплазия шейки матки, cancer *in situ*). – 1200, 1169, 1117, 1035, 982, 891 см⁻¹. Так же было показано, что комплексы пики полос поглощения при дисплазии шейки матки легкой и умеренной степеней по инфракрасной спектрометрии относятся к доброкачественным заболеваниям шейки матки 1320, 1241, 1200, 1169, 1117, 973, 943, 935 см⁻¹. Полученные результаты показали, что чувствительность (81-93 %) и специфичность (95-100 %) инфракрасной спектрометрии при доброкачественных и злокачественных заболеваниях шейки матки выше по сравнению с другими методами диагностики [28].

В статье И. П. Аминова [42] представлены результаты оценки эффективности разнообразных методов диагностики дисплазии шейки матки в разных стадиях поражения. Проведен ретроспективный анализ медицинской документации 353 пациенток с диагностированной дисплазией шейки матки за период с 2002 по 2011 гг. Произведено сопоставление в точности диагностики дисплазии шейки матки при использовании одной или нескольких методик исследования одновременно: цитологического исследования, расширенной кольпоскопии и флуоресцентной цистоскопии. Окончательный диагноз определяли по результатам гистологического исследования. Доказано, что точность исследования методом цитологической диагностики составляла 67,5-80,7 %, применение кольпоскопии – 67,9-74,4 %. В 82,1-88,9 % случаев достигала точность диагностики в одновременном использовании цитологического исследования и кольпоскопии. Не смотря на высокие показатели последнего метода диагностики, наиболее высокая точность была зарегистрирована при включении в систему обследования флуоресцентной спектроскопии: 92,0-94,0 % при наличии CIN. Таким образом, комплексное проведение диагностических мероприятий

с включением методик флуоресцентной спектроскопии позволяет повысить точность диагностики преинвазивных заболеваний шейки матки.

Группа исследователей А. П. Бойченко, Н. Говорухина разработали схему работы для масс-спектрометра по идентификации набора белков (специфической панели), которые появляются в сыворотке крови пациентов, страдающих цервикальной интраэпителиальной неоплазией и плоскоклеточным раком шейки матки. Анализ образцов сыворотки, полученной от пациентов с патологией шейки матки, а также образцов здоровых женщин (контрольная группа), показал значительные изменения в содержании альфа-1-кислотного гликопротеина 1, альфа-1-антитрипсина, серотрансферрина, гаптоглобина, альфа-2-НС-гликопротеина, и витамин D-связывающий белок [43].

Таким образом, протеомика, несомненно, является очень важной и перспективной для медицины наукой. Задачей применения МС в гинекологической практике является разработка способа дифференциации цервикальных интраэпителиальных неоплазий с помощью анализа белкового состава цервикагинальной жидкости. С помощью протеомного анализа становится возможным выявление новых, ранее не изученных белковых маркеров, как цервикальной жидкости, так и других биологических сред (плазма крови), которые могут быть использованы в практике врача-акушера-гинеколога с целью ранней диагностики акушерско-гинекологической патологии и предупреждения возможных осложнений [13,15,21,44,45,46].

Литература / References

1. Роговская СИ. Папилломовирусная инфекция у женщин и патология шейки матки. Руководство для практикующего врача. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2014. 192 с. [Rogovskaya, SI. Papillomavirus infection in women and pathology of the cervix. A guide for a practitioner; 2014. 192 p. (In Russian)]
2. Патент РФ на изобретение № 2011105302/15, 15.02.2011. Сидорова ИС, Унанян АЛ, Евтина ИП, Залетаев ДВ. Способ прогнозирования рака шейки матки при доброкачественных и предраковых процессах шейки матки у женщин репродуктивного возраста. Ссылка активна на 16.02.2020. [Patent RU №. 2011105302/ February 15, 2011. Sidorova IS, Unanyan AL, Yevtina IP, Zaletaev DV. A method for predicting cervical cancer in benign and precancerous processes of the cervix in women of reproductive age. Accessed 16, February, 2020. (In Russian)] <http://www.freepatent.ru/patents/2466392>
3. Зароченцева НВ, Джиджихия ЛК. Цервикальные интраэпителиальные неоплазии: современный взгляд на проблему и пути решения. *Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения.* 2016; (4):

92-101. [Zarochentseva NV, Dzhidzhikhiya LC. Cervical intraepithelial neoplasia: a modern view of the problem and solutions. *Obstetrics and Gynecology: News. Opinions. Learning.* 2016; (4):92-101. (In Russian)]

4. Орехова ЕК, Хачатурян АР. Современные возможности диагностики папилломавирусной инфекции: обзор мировых исследований. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2014;(3):82-89. [Orekhova EK, Khachaturian AR. Current diagnostic capabilities for human papillomavirus infection: a review of global research. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases.* 2014;(3): 82-89. (In Russian)]

5. Леваков СА, Шешукова НА, Дабагян ЛС. Этиология и патогенез цервикальных интраэпителиальных неоплазий (обзор зарубежной литературы). *Медицинский совет.* 2015; (17):149-152. [Levakov SA, Sheshukova NA, Dabagyan L. Etiology and pathogenesis of cervical intraepithelial neoplasia (review of foreign literature). *Russian Bulletin of the Obstetrician-Gynecologist.* 2015; (17):149-152. (In Russian)] DOI: 10.17116/rosakush201616242-45

6. Патент РФ на изобретение № 2014129131/15 15.07.2014. Кузьмицкая ЕВ, Михельсон АФ, Лебеденко ЕЮ, Лемешко СИ, Леошко МП, Феоктистова ТЕ. Способ прогнозирования прогрессии легкой цервикальной интраэпителиальной неоплазии у женщин юного и первого периода зрелого возраста. Ссылка активна на 16.02.2020 [Patent RU № 2014129131/ July 15, 2014. Kuzmitskaya EV, Mikhelson AF, Lebedenko EY, Lemeshko SI, Leoshko MP, Feoktistova TE. A method for predicting the progression of mild cervical intraepithelial neoplasia in women of young and first adulthood. Accessed 16, February, 2020 (In Russian)] https://yandex.ru/patents/doc/RU2572340C1_20160110

7. Сычева ЕГ, Назарова НМ, Бурменская ОВ, Прилепская ВН, Трофимов ДЮ, Сухих ГТ. Персистенция вируса папилломы человека высокого онкогенного риска и другие молекулярно-генетические предикторы развития цервикальных интраэпителиальных неоплазий. *Акушерство и гинекология.* 2018; (12): 104-110. [Sycheva EG, Nazarova NM, Burmen OB, Prilepskaya VN, Trofimov DU, Dry GT. The persistence of human papillomavirus high oncogenic risk and other molecular genetic predictors of cervical intraepithelial neoplasia. *Obstetrics and Gynecology.* 2018; (12): 104-110. (In Russian)] DOI:10.18565/aig.2018.12.104-110

8. Андосова ЛД, Конторщикова КН, Качалина ОВ. Методы ранней диагностики и новые скрининговые технологии при заболеваниях шейки матки. *Медицинский альманах.* 2011;6(19):98-102. [Andosova LD, Kontorshchikova KN, Kachalina OV. Methods of early diagnosis and new screening technologies for cervical diseases. *Medical Almanac.* 2011; 6(19): 98-102. (In Russian)]

9. Киселев ВИ. Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки. М.: Димитрейд График

Групп; 2006. 184 с. [Kiselev VI. Human papillomaviruses in the development of cervical cancer. Moscow: Dimi-trade Chart Group; 2006.184 p. (In Russian)]

10. Краснополянский ВИ, Логутова ЛС, Зароченцева НВ, Джиджихия ЛК. Цервикальные интраэпителиальные неоплазии (диагностика, лечение, профилактика). М.: Политехника-Сервис; 2015: 72 с. [Krasnopolsky VI, Logutova LS, Zarochentseva NV, Dzhidzhikhiya LC. Cervical intraepithelial neoplasia (diagnosis, treatment, prevention). Moscow: Polytechnic Service; 2015.72 p. (In Russian)]

11. Пономарева ЮН, Манухин ИБ, Ашрафян ЛА. Молекулярно-биологические факторы в диагностике цервикальной интраэпителиальной неоплазии. *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2010; (1):72-75. [Ponomareva UN, Manukhin IS, Ashrafyan LA. Molecular biological factors in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Tumors of the Female Reproductive System*. 2010; (1): 72-75. (In Russian)]

12. Роговская СИ, Теребнева ЛИ. Клинические аспекты плоскоклеточных интраэпителиальных поражений низкой степени. *Акушерство и гинекология*. 2013;(2):136-143. [Rogovskaya SI, Terebneva LI. Clinical aspects of squamous intraepithelial lesions of a low degree. *Obstetrics and Gynecology*. 2013; (2): 136-143. (In Russian)]

13. Toon Van Gorp, Isabelle Cadron, Ignace Vergote. The utility of proteomics in gynecologic cancers. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. 2011;(1): 3-7. DOI: 10.1097/GCO.0b013e32834156e5

14. Прилепская ВН, Мгерян АН, Акопян АС, Назарова НМ, Довлетханова ЭР, Абакарова ПР, Стародубцева НЛ. Биомаркеры цервиковагинальной жидкости для диагностики заболеваний шейки матки, ассоциированных с вирусом папилломы человека (обзор литературы). *Гинекология*. 2019; 21(6): 6-11. [Prilepskaya VN, Mgeryan AN, Akopyan AS, Nazarova NM, Dovlethanova ER, Abakarova PR. Biomarkers of cervicovaginal fluid for the diagnosis of cervical diseases associated with human papillomavirus (literature review). *Gynecology*. 2019 21 (6): 6-11. (In Russian)] DOI: 10.26442/20795696.2019.6.190756

15. Van Ostade X, Dom M, Tjalma W, Van Raemdonck G. Candidate biomarkers in the cervical vaginal fluid for the (self-)diagnosis of cervical precancer. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2018; 297(2):295–311. DOI:10.1007/s00404-017-4587-2

16. Страшниковая НС, Мартынова ГП, Салмина АБ, Оловянная РЯ, Кутяков ВА, Тохидпур А. Возможности применения протеомного анализа в инфектологии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (2): 248–261. [Strashnikova NS, Martynova GP, Salmina AB, Olovyannikov RJ, Kutyaikov VA, Tohidpur A. Possibilities of using proteomic analysis in infectology. *Bulletin of Siberian medicine*. 2019; 18 (2): 248–261. (In Russian)] DOI:10.20538/1682-0363-2019-2-248–261

17. Сазонова НГ, Макаренко ТА, Оловянная РЯ, Кутяков ВА, Салмина АБ. Методики протеомного анализа и их роль в диагностике акушерской и гинекологической патологии. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2019;(1):69–82. [Sazonova NG, Makarenko TA, Olovyannikov OW, Kutyaikov VA, Salmina AB. Methods of proteomic analysis and their role in the diagnosis of obstetric and gynecological pathology. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2019; (1): 69–82. (In Russian)] DOI: 10.17816/JOWD68169-82

18. Гордещев АС. Инфракрасная спектроскопия биологических жидкостей и тканей. *Современные технологии в медицине*. 2010;(1):84-98. [Gordetsov AS. Infrared spectroscopy of biological fluids and tissues. *Modern Technologies in Medicine*. 2010; (1): 84-98. (In Russian)]

19. Starodubtseva NL, Brzhozovskiy AG, Bugrova AE, Kononikhin AS, Indeykina MI, Gusakov KI, Chagovets VV, Nazarova NM, Frankevich VE, Sukhikh GT, Nikolaev EN. Label-free cervicovaginal fluid proteome profiling reflects the cervix neoplastic transformation. *Journal of Mass Spectrometry*. 2019;54 (8): 693-703. DOI: 10.1002/jms.4374

20. Трубникова ЛИ, Вознесенская НВ, Савинова НА. Диагностика патологических состояний шейки матки, ассоциированных с вирусом папилломы человека, по структурным изменениям биологических жидкостей. *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2011;(3):41-49. [Trubnikova LI, Voznesenskaya NV, Savinova NA. Diagnosis of pathological conditions of the cervix associated with the human papillomavirus by structural changes in biological fluids. *Ulyanovsk Medical Biological Journal*. 2011; (3): 41-49. (In Russian)]

21. Good DM, Thongboonkerd V, Novak J, Bascands J, Schanstra JP, Coon JJ, Dominiczak A, Mischak H. Body fluid proteomics for biomarker discovery: lessons from the past hold the key to success in the future. *Journal of Proteome Research*. 2007;6(12):4549-4555. DOI:10.1021/pr070529w

22. Li H, DeSouza LV, Ghanny S, Li W, Romaschin AD, Colgan TJ, Siu KWM. Identification of candidate biomarker proteins released by human endometrial and cervical cancer cells using two-dimensional liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Proteome Research*. 2007 (7):2615-22. DOI: 10.1021/pr0700798

23. Piersma SR, Fiedler U, Span S, Lingnau A, Pham TV, Hoffmann S, Kubbutat MHG, Jiménez CR. Workflow Comparison for Label-Free, Quantitative Secretome Proteomics for Cancer Biomarker Discovery: Method Evaluation, Differential Analysis, and Verification in Serum. *Journal of Proteome Research*. 2010, 9 (4), 1913-1922. DOI: 10.1021/pr901072h

24. Mil'man BL, Zhurkovich IK. Mass spectrometric analysis of medical samples and aspects of clinical diagnostics. *Journal of Analytical Chemistry*. 2015;70(10):1179-1191. DOI: 10.1134/S1061934815100135

25. Рожнецов АА, Коптина АВ, Митраков АА, Шарипова Т, Цапаев И, Рыжков ВЛ, Лычагин КА, Фурина РР, Митракова НН. Метод диагностики онкологических заболеваний на основе анализа изображений хромато-масс-спектрограмм летучих метаболитов мочи. *Современные технологии в медицине*. 2014;(4):151-159. [Rozhentsov AA, Koptina AB, Mitrov AA, Sharipova T, Tsapaev I, Ryzhkov VL, Lychagin KA, Furina PP, Mitrakova NN. A method for diagnosing cancer based on an analysis of chromatographic-mass spectrograms of volatile urine metabolites. *Modern Technologies in Medicine*. 2014; (4): 151-159. (In Russian)]
26. Wiley J. Current literature in mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*. 2008;(43):269-278. DOI: 10.1002/jms.1299
27. Jimenez CR, Piersma S, Pham TV. High-throughput and targeted in-depth mass spectrometry-based approaches for biofluid profiling and biomarker discovery. *Biomarkers in Medicine*. 2007; 1(4):541-565. DOI: 10.2217/17520363.1.4.541
28. Боровкова ЛВ, Ионова ЕВ, Качалина ОВ, Першин ДВ, Игнатъев АА. Инфракрасная спектрометрия в диагностике заболеваний шейки матки. *Акушерство, Гинекология и Репродукция*. 2014;8(3):40-42. [Borovkova LV, Ionova EV, Kachalina OV, Pershin DV, Ignatiev AA. Infrared spectrometry in the diagnosis of cervical diseases. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2014; 8 (3): 40-42. (In Russian)]
29. Ralhan R, DeSouza LV, Matta A, Tripathi SC, Ghanny S, Gupta SD, Thakar A, Chauha SS, Siu KWM. ITRAQ-Multidimensional Liquid Chromatography and Tandem Mass Spectrometry-Based Identification of Potential Biomarkers of Oral Epithelial Dysplasia and Novel Networks between Inflammation and Premalignancy. *Journal of Proteome Research*. 2009; 8(1): 300-309. DOI: 10.1021/pr800501j
30. Morris BJ, Lee C, Nightingale BN, Molodysky E, Morris LJ, Appio R, Sternhell S, Cardona M, Mackerras D, Irwig L M. Fourier transform infrared spectroscopy of dysplastic, papillomavirus-positive cervicovaginal lavage specimens. *Gynecologic Oncology*. 1995;56(2):245-249. DOI 10.1006/gyno.1995.1040
31. Zhao Q, He Y, Wang XL, Zhang YX, Wu YM. Differentially expressed proteins among normal cervix, cervical intraepithelial neoplasia and cervical squamous cell carcinoma. *Clinical and Translational Oncology*. 2015;17(8):620-631. DOI: 10.1007/s12094-015-1287-x
32. Connie R Jimenez, Sander Piersma, Thang V Pham. High-throughput and targeted in-depth mass spectrometry-based approaches for biofluid profiling and biomarker discovery. *Biomarkers in Medicine*. 2007;1(4): 541-565. DOI: 10.2217/17520363.1.4.541
33. Патент РФ на изобретение № 0002674335/07.12.2018. Франкевич ВЕ, Назарова НМ, Чаговец ВВ, Бугрова АЕ, Стародубцева НЛ, Зардиашвили МД, Бржозовский АГ, Кононихин АС. Способ дифференциации цервикальных интраэпителиальных неоплазий с помощью анализа протеомного состава цервикальной жидкости. Ссылка активна на 16.02.2020. [Patent RU №0002674335 / December 07, 2018. Frankevich VE, Nazarova NM, Chagovets VV, Bugrova AE, Starodubtseva NL, Zardiashvili MD, Brzhozovsky AG, Kononikhin AS. A method for the differentiation of cervical intraepithelial neoplasia by analyzing the proteomic composition of cervicovaginal fluid. Accessed 16 February, 2020. (In Russian)]. https://yandex.ru/patents/doc/RU2532344C2_20141110.
34. Van Raemdonck GAA, Tjalma WAA, Coen EP, Depuydt CE, Van Ostade XWM (2014) Identification of Protein Biomarkers for Cervical Cancer Using Human Cervicovaginal Fluid. *PLoS ONE*. 2014; 9(9): e106488. DOI:10.1371/journal.pone.0106488
35. Патент РФ на изобретение № 2017143832/2018.12.07. Кононихин АС, Бржозовский АГ, Зардиашвили МД, Стародубцева НЛ, Бугрова АЕ, Чаговец ВВ, Назарова НМ, Франкевич ВЕ. Способ дифференциации цервикальных интраэпителиальных неоплазий с помощью анализа протеомного состава цервикальной жидкости. Ссылка активна на 16.02.2020 [Patent RU № 2017143832 / December 07, 2018. Kononikhin AS, Brzhozovsky AG, Zardiashvili MD, Starodubtseva NL, Bugrova AE, Chagovets VV, Nazarova NM, Frankevich VE. A method for the differentiation of cervical intraepithelial neoplasia by analyzing the proteomic composition of cervicovaginal fluid. Accessed 16 February, 2020. (In Russian)]. https://yandex.ru/patents/doc/RU2674335C1_20181207.
36. Стародубцева НЛ, Назарова НМ, Зардиашвили МД, Бурменская ОВ, Бугрова АЕ, Чаговец ВВ, Кононихин АС, Трофимов ДЮ, Франкевич ВЕ, Сухих ГТ. Комбинация протеомного и транскриптомного подходов для определения риска малигнизации неоплазий шейки матки при папилломавирусной инфекции. *Акушерство и гинекология*. 2017; (5): 64-71. [Starodubtseva NL, Nazarova NM, Zardiashvili MD, Burmenskaya OV, Bugrova AE, Chagovets VV, Kononikhin AS, Trofimov DU, Frankevich VE, Dry GT. A combination of proteomic and transcriptome approaches to determine the risk of malignancy of cervical neoplasia in human papillomavirus infection. *Obstetrics and Gynecology*. 2017; (5): 64-71. (In Russian)] DOI: 10.18565/aig.2017.5.64-71
37. Зардиашвили МД, Франкевич ВЕ, Назарова НМ, Бугрова АЕ, Кононихин АС, Бржозовский АГ, Стародубцева НЛ, Асатурова АВ, Сухих ГТ. Характеристика изменений протеомного состава цервикальной жидкости при заболеваниях шейки матки, ассоциированных с ВПЧ-инфекцией. *Акушерство и гинекология*. 2017; (4): 88-94. [Zardiashvili MD, Frankevich VE, Nazarova NM, Bugrova AE,

Kononikhin AS, Brzhozovsky AG, Starodubtseva NL, Asaturova AB, Sukhoi GT. Characterization of changes in the proteomic composition of cervicovaginal fluid in cervical diseases associated with HPV infection. *Obstetrics and Gynecology*. 2017; (4): 88-94. (In Russian)] DOI: 10.18565/aig.2017.4.88-94

38. Serafin-Higuera I, Garibay-Cerdenares OL, Illades-Aguir B, Flores-Alfaro E, Jiménez-López MA, Sierra-Martínez P, del Carmen Alarcón-Romero L. Differential proteins among normal cervix cells and cervical cancer cells with HPV-16 infection, through mass spectrometry-based Proteomics (2D-DIGE) in women from Southern México. *Proteome Science*. 2016;(14):10. DOI:10.1186/s12953-016-0099-4

39. Boylan KL, Afiuni-Zadeh S, Geller MA, Hickey K, Griffin TJ, Pambuccian SE, Skubitz APN. A feasibility study to identify proteins in the residual Pap test fluid of women with normal cytology by mass spectrometry-based proteomics. *Clinical Proteomics*. 2014;11(1):11-30. DOI:10.1186/1559-0275-11-30

40. Аттоева ДИ, Назарова НМ, Стародубцева НЛ, Чаговец ВВ, Франкевич ВЕ. Липидомные маркеры и перспективы их использования при заболеваниях шейки матки, ассоциированных с вирусом папилломы человека. *Акушерство и гинекология*. 2019;(11):40-45. [Attoeva DI, Nazarova NM, Starodubtseva NL, Chagovets VV, Frankevich VE. Lipidoma markers and prospects for their use in diseases of the cervix uteri associated with human papillomavirus. *Obstetrics and Gynecology*. 2019; (11): 40-45. (In Russian)] DOI: 10.18565/aig.2019.11.40-45

41. Некрасова МЕ, Чаговец ВВ, Стародубцева НЛ, Кононихин АС, Салимова ДФ, Токарева АО, Лагутин ВВ, Наумов ВА, Назарова НМ, Франкевич ВЕ, Сухих ГТ. Липидные маркеры неопластической трансформации эпителия шейки матки при заболеваниях, ассоциированных с вирусом папилломы человека. *Акушерство и гинекология*. 2018; (4): 64-70. [Nekrasova ME, Chagovets VV, Starodubtseva NL, Kononikhin AS, Salimova DF, Tokareva AO, Lagutin VV, Naumov VA, Nazarova NM, Frankevich VE, Dry GT. Lipid markers of neoplastic transformation of the cervical epithelium in diseases associated with the human papillomavirus. *Obstetrics and Gynecology*. 2018; (4): 64-70. (In Russian)] DOI:10.18565/aig.2018.4.64-70

42. Аминодова ИП. Новые технологии в диагностике преинвазивных заболеваний шейки матки. *Biomedical Photonics*. 2015;(4):11-16. [Aminodova IP. New technologies in the diagnosis of pre-invasive diseases of the cervix. *Biomedical Photonics* 2015; (4): 11-16. (In Russian)] DOI: 10.24931/2413-9432-2015-4-4-11-16

43. Boichenko AP, Govorukhina N, Klip HG. A panel of regulated proteins in serum from patients with

cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *Journal of Proteome Research*. 2014;13(11):4995-5007. DOI:10.1021/pr500601w

44. Evaggelia KP, Theodoros IR, Argyro C, Chrysanthi T, Ekatherina C, Paul AT, Kitty P, Spiros DG. The Shotgun Proteomic Study of the Human ThinPrep Cervical Smear Using iTRAQ Mass-Tagging and 2D LC-FT-Orbitrap-MS: The Detection of the Human Papillomavirus at the Protein Level. *Journal of Proteome Research*. 2013;12(5):2078-2089. DOI: 10.1021/pr301067r

45. Fabio DD, Federico DM, Marzia P. Proteomics strategies to analyze HPV-transformed cells: relevance to cervical cancer. *Expert Review of Proteomics*. 2013;10(5):461-472. DOI: 10.1586/14789450.2013.842469

46. Lili Q, Ruyi D, Wenjuan Y, Lanyou C, Jidong L, Jia L, Yu S, Shuiqing M, Jialiang Y, Weiwei W, Bo M, Geng T. Simultaneous detection and comprehensive analysis of HPV and microbiome status of a cervical liquid-based cytology sample using Nanopore MinION sequencing. *Scientific Reports*. 2019;9(1):19337. DOI: 10.1038/s41598-019-55843-y.

Сведения об авторах

Рачковская Валерия Валентиновна, аспирант кафедры акушерства и гинекологии, Балтийский федеральный университет имени И. Канта; адрес: Российская Федерация, 236041, г. Калининград, ул. А. Невского, 14; тел.: +7(952)1174818; e-mail: Losevavaleria2104@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4221-693X>

Горбунов Александр Петрович, ассистент кафедры акушерства и гинекологии, Балтийский федеральный университет имени И. Канта; адрес: Российская Федерация, 236041, г. Калининград, ул. А. Невского, 14; тел.: +7(921)1007048; e-mail: gbv_39-56@mail.ru

Пашов Александр Иванович, д.м.н., доцент, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии, Балтийский федеральный университет имени И. Канта; адрес: Российская Федерация, 236041, г. Калининград, ул. А. Невского, 14; тел.: +7(911)4614998; e-mail: rachov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5346-9185>

Волкова Лариса Владимировна, д.м.н., заведующая отделением лабораторной диагностики Клинико-диагностического центра, заведующая лабораторией иммуногистохимической и патологоанатомической диагностики, профессор кафедры фундаментальной медицины, Балтийский федеральный университет имени И.Канта; адрес: Российская Федерация, 236041, г. Калининград, ул. А. Невского, 14; тел.: +7(921)8522042; e-mail: volkova-lr@rambler.ru

Author information

Valeria V. Rachkovskaya, Postgraduate student of the Department of Obstetrics and Gynecology, I. Kant Baltic Federal University; Address: Russian Federation, 236041, Kaliningrad, A. Nevsky Str., 14; tel.: +7 (952) 1174818; e-mail: Losevavaleria2104@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4221-693X>.

Alexander P. Gorbunov, Assistant of the Department of Obstetrics and Gynecology, I. Kant Baltic Federal University; Address: Russian Federation, 236041, Kaliningrad, A. Nevsky Str., 14; tel.: +7 (921) 1007048; e-mail: gbv_39-56@mail.ru

Alexander I. Pashov, Dr. Med. Sci., Associate Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, I. Kant Baltic Federal University; Address: Russian Federation, 236041, Kaliningrad, A. Nevsky Str., 14; tel.: +7(911) 4614998; e-mail: rachov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5346-9185>

Larisa V. Volkova, Dr. Med. Sci., Head of the Laboratory Diagnostics Department of the Clinical Diagnostic Center, Head of the Laboratory of Immunohistochemically and Pathological Diagnostics, Professor of the Department of Fundamental Medicine, I. Kant Baltic Federal University; Address: Russian Federation, 236041, Kaliningrad, ul. A. Nevsky, 14; tel.: +7 (921) 8522042; e-mail: volkova-lr@rambler.ru

Дата поступления 28.02.2020 г.
Дата рецензирования 24.04.2020 г.
Принята к печати 13.05.2020 г.

Received 28 February 2020
Revision Received 24 April 2020
Accepted 13 May 2020



This work is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International License. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.