

УДК 618.146-07:614.2

МЕТОДЫ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ И НОВЫЕ СКРИНИНГОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ШЕЙКИ МАТКИ

Л.Д. Андосова, К.Н. Контршикова, О.В. Качалина,
ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия»

Андосова Лариса Дмитриевна – e-mail: larisa-andosova@yandex.ru

В диагностике предраковых заболеваний и рака шейки матки применяются различные методы, но наиболее доступными для практики считают клинко-визуальный метод, применение кольпоскопии, молекулярно-биологические методы исследования (ПЦР или тест DIGENE) и морфологические исследования. Совместное использование этих методов и новых лабораторных технологий с определением биомаркеров E7 и p16ink4a для ранней диагностики заболеваний шейки матки позволит выявлять онкопатологию на начальных этапах развития. Методы ранней диагностики и внедрение новых скрининговых технологий при заболеваниях шейки матки открывают дополнительные возможности для профилактики рака шейки матки, что является основой для снижения заболеваний в целом и открывает перспективы сохранения здоровья женщин.

Ключевые слова: заболевания шейки матки, ВПЧ-тест, онкобелок E7, маркер p16ink4a.

Different methods are applied in diagnostics of precursor of cancer and carcinoma of uterine cervix. However, the most available methods are clinicovisual method, colposcopy, molecular-biological methods (PCR or DIGENE-test) and morphologic examinations. Joint use of this methods and new laboratory technologies with detection of biomarkers E7 and p16ink4a will allow detecting oncopathology at initial stages of progress. Methods of early detection and adoption of new screening technologies at the development of the cervix uteri diseases open additional opportunities for the cervical carcinoma prevention. The cervical carcinoma prevention is the basis of diseases reduction, in whole, and offers the challenge of women health preservation.

Key words: cervix uteri diseases, HPV-test, oncoprotein E7, marker p16ink4a.

Патология шейки матки (ШМ) является одним из наиболее часто встречающихся гинекологических заболеваний, особенно в условиях женской консультации – 25–45%. В гинекологии и акушерстве ранняя диагностика и адекватное лечение фоновых и предраковых заболеваний, а также начальных форм рака шейки матки остаются одной из важнейших проблем [Г.Т. Сухих, академик РАМН; В.Н. Прилепская, д. м. н., профессор; Т.С. Качалина, д. м. н., профессор. Материалы региональной научно-практической конференции «Патология шейки матки и генитальные инфекции. Профилактика рака шейки матки», 20–21 апреля 2009 года, г. Нижний Новгород].

В диагностике предраковых заболеваний и рака шейки матки (РШМ) применяются различные методы, но наиболее доступными для практики считают клинко-визуальный метод, применение кольпоскопии, молекулярно-биологические методы выявления ПВИ (полимеразная цепная реакция – ПЦР или тест DIGENE), цитологическое исследование мазков и гистологическое исследование прицельно взятого биоптата шейки матки.

Клинко-визуальный метод является одним из наиболее распространенных в диагностике заболеваний ШМ и других отделов гениталий. С помощью рутинного осмотра ШМ и влагиалища с применением теста с 3–5% раствором уксусной кислоты и раствором Люголя выявляется большинство выраженных патологических состояний ШМ. Визуальный метод в сочетании с другими тестами в некоторых исследованиях показал чувствительность, эквивалентную цитологическому методу. Так, чувствительность его для цервикальных интраэпителиальных повреждений высокой

степени (HSIL) составила 80–83% при специфичности 64–87% (EURIGIN, 2004). Поэтому при отсутствии возможности выполнить кольпоскопию при первичном осмотре следует оценить состояние слизистых оболочек и кожи гениталий визуально, с применением указанных проб. Атипически измененный эпителий можно увидеть невооруженным глазом как ацетобелое пятно после аппликации раствором уксусной кислоты или как йоднегативный участок после нанесения раствора Люголя, что, безусловно, является основанием для направления пациентки на кольпоскопическое исследование.

Кольпоскопия показана всем женщинам с визуально измененной шейкой матки, а также при наличии отклонений от нормы по данным цитологического исследования, независимо от подтверждения наличия ВПЧ-инфекции. Выделяют пять классов кольпоскопических картин: нормальные, анормальные, неясные (неудовлетворительная кольпоскопия), подозрительные на рак и смешанные (разные). Кольпоскопическими признаками ПВИ шейки матки могут быть ацетобелый эпителий, пунктация, мозаика после обработки уксусом, атипические сосуды, йоднегативные участки после обработки раствором Люголя, гиперкератоз. В связи с большим разнообразием проявлений субклинической инфекции специфического комплекса кольпоскопических картин нет, но несмотря на неспецифичность кольпоскопии несомненным её достоинством является возможность выявления различных типов эпителия, оценки размеров и качества патологических образований, состояния сосудистого рисунка и возможность прицельно произвести биопсию ткани с наиболее атипически измененных участков.

Цитологическое исследование – мазок по Папаниколау. Мазок по Папаниколау (Pap-тест) – один из эффективных методов выявления рака шейки матки и предшествующих ему состояний. Внедрение цитологического метода скрининга (Pap-теста) в США, Европе, Австралии позволило снизить заболеваемость раком шейки матки за последние 40–50 лет на 80–90%. Поскольку прогрессия ПВИ в РШМ занимает долгое время (7–15 лет), то цель такого скрининга – диагностировать болезнь на ранней стадии и вылечить ее еще на стадии предрака. Цитологический скрининг признан классическим методом и рекомендован ВОЗ для проведения в масштабах национальных программ [1].

В настоящее время все большее распространение получает новая технология приготовления цитопрепаратов, известная как **жидкостная цитология**. Она основывается на размещении материала не на стекле, а в транспортной жидкости и имеет более высокую чувствительность, чем традиционный мазок. Исследование мазков по Папаниколау, полученных традиционным методом сбора материала, показывает, что не все, а только от 6,5 до 18% взятых клеток наносятся на мазок. Кроме того, вследствие плохого нанесения многие из этих клеток трудно или невозможно анализировать [2]. Не вызывает сомнения, что традиционный метод анализа цитологического мазка имеет высокую диагностическую значимость. Тем не менее, существует мнение, что его применение дает от 6 до 55% ложноотрицательных результатов. По данным обзора M.T. Fahey, чувствительность традиционного метода составляет 55–65%, а специфичность – 65–70% [3]. В работах многих авторов отмечаются преимущества жидкостного метода в определении патологии ШМ легкой и тяжелой степени, чувствительность которого составляет 71,4–95%, специфичность – 58–76,2%. Кроме того, в литературе представлены данные о сокращении на 54% мазков, непригодных для исследования [4]. Не исключено, что оно связано с улучшением сохранности клеток и их репрезентативностью, которые и обеспечивают более точную интерпретацию цитологической картины. Это объясняет и данные, полученные D. Schledermann (2004), согласно которым частота обнаружения клеток с пограничными изменениями ядра при использовании жидкостного метода может быть на 41% ниже таковой при применении традиционного метода с соответствующим улучшением диагностики неопластических поражений при последующем врачебном наблюдении [5]. Одна из потенциальных трудностей – дифференциальная диагностика между группами клеток аденокарциномы и клетками, похожими на них из-за измененной структуры. G.R. Johnson и H.L. Rahemtulla в небольшом исследовании (1999) сравнивали цитологические особенности аденокарциномы *in situ* в мазках по методу ThinPrep на основе жидкостной цитологии и аденокарциномы при взятии материала традиционным методом. В мазках ThinPrep авторы обнаружили все характерные особенности клеток, присущие им при взятии материала традиционным методом, а также отметили улучшение визуализации деталей ядра, неровности очертания ядерных мембран и наличие ядрышек, которые позволяют с большой вероятностью отличить аденокарциному от иной, сходной с ней, патологии [5].

В последние годы получены новые данные о роли вируса папилломы человека (ВПЧ) в генезе РШМ, поэтому предла-

гаются новые технологии цервикального скрининга: ВПЧ-тест, биомаркеры.

Применение теста на вирус папилломы человека в скрининге на рак шейки матки (ВПЧ-тест). Установление этиологической роли ВПЧ в развитии РШМ привело к тому, что диагностика папилломавирусной инфекции (ПВИ) наряду с цитологическими исследованиями стала рассматриваться как важнейший элемент скрининга и профилактики РШМ. На основании данных, полученных во многих крупных международных исследованиях, были сформулированы рекомендации по применению теста на ВПЧ в указанных ниже случаях [6,7]:

- в первичном скрининге в сочетании с цитологическими исследованиями или в качестве самостоятельного теста;
- при ведении пациенток, у которых при цитологическом исследовании выявлены атипичные клетки плоского эпителия неопределенной значимости (atypical squamous cells of undetermined significance – ASC-US);
- для мониторинга терапии поражений высокой степени (ЦИН II/III) и рака.

Обзор последних скрининговых исследований, проведенных с целью оценки диагностических характеристик цитологического исследования и тестирования на ВПЧ, показал, что чувствительность теста на ДНК ВПЧ онкогенных типов для диагностики ЦИН II/III исключительно высока. Несмотря на различия в дизайне исследований, обследуемых популяциях, показателях распространенности ПВИ, а также в используемых методах детекции ВПЧ и ЦИН, анализ полученных данных позволил сделать следующие общие выводы [8]:

- чувствительность тестирования на ВПЧ (88–98%) превышает чувствительность цитологического исследования (51–86%);
- специфичность тестирования на ВПЧ (83–94%) уступает специфичности цитологического метода (92–99%);
- чувствительность и прогностическая значимость отрицательного теста на ВПЧ в сочетании с отрицательным результатом цитологического теста приближаются к 100%.

Важным аргументом сторонников использования теста на ВПЧ в первичном скрининге является также то, что высокая чувствительность и прогностическая значимость отрицательных результатов позволяют существенно увеличить интервал скрининга для женщин с отрицательным ВПЧ-тестом. Относительно невысокие показатели специфичности и прогностической значимости положительных результатов ВПЧ-теста обусловлены тем, что у большинства женщин, особенно молодых, ПВИ носит транзитный характер. Однако среди женщин старше 30–35 лет показатели спонтанной элиминации вируса значительно ниже и, следовательно, выше диагностическая ценность теста на ВПЧ. На этом основании тестирование на ВПЧ в сочетании с цитологическим тестом официально одобрено в США для первичного скрининга среди женщин старше 30 лет. В случае отрицательных результатов обоих тестов рекомендуемый интервал скрининга составляет 3 года. Женщинам с отрицательным результатом цитологического исследования, но положительным тестом на ВПЧ онкогенных типов, рекомендуется повторить оба теста через 6–12 месяцев. Если при повторном обследовании результат какого-либо теста окажется положительным, показано проведение кольпоскопии [9].

Динамическое наблюдение за ПВИ показало, что более чем в 80% случаев она носит транзитный характер. Развитие тяжелой дисплазии возможно только у женщин с персистирующей ПВИ. Наиболее эффективным методом выявления персистенции вируса является **генотипирование**, так как тестирование на ВПЧ без определения типа не позволяет дифференцировать персистенцию от реинфекции. Скрининговые тест-системы для выявления ДНК ВПЧ определяют принадлежность папилломавирусов к той или иной группе онкогенного риска, без уточнения типа вируса внутри группы. Однако степень риска развития рака напрямую зависит от принадлежности ВПЧ к тому или иному типу из группы высокого онкогенного риска, от инфицирования несколькими типами ВПЧ одновременно. Наиболее онкогенными являются HPV-16, HPV-18, HPV-31, HPV-33 и HPV-45, среди которых HPV-16 обнаруживается в 70% случаев рака, HPV-18 – в 10%, выявление HPV-31 и HPV-45 при раке достигает 4%, HPV-33 – в 2% случаев [10]. Типирование ВПЧ позволяет также выявить персистенцию онкогенных папилломавирусов, на которую указывает неоднократное повторное обнаружение одного и того же генотипа вируса. Длительная персистенция HPV-16 и HPV-18 является маркером повышенного риска развития рака шейки матки [11].

В качестве одного из критериев клинически значимой инфекции, способной развиться в заболевание, рассматривается количество вируса – **вирусная нагрузка**. Было установлено, что показатель спонтанной элиминации вируса ниже, а риск прогрессии выше в случаях ПВИ с большой вирусной нагрузкой. Точную количественную оценку ДНК можно провести с применением метода ПЦР в реальном времени [12]. Однократное определение титра малоинформативно. Использование тестов по определению вирусной нагрузки высокоонкогенных ВПЧ в качестве маркеров высокого риска развития рака оправдано только в режиме мониторинга.

Определение ВПЧ может играть существенную роль в скрининге на рак шейки матки. Основные стратегии выявления ВПЧ при данном скрининге могут быть основаны на следующих положениях [13]:

1. идентификация ВПЧ у женщин с нормальной цитологической картиной при исследовании шеечных мазков позволяет выделить группу риска развития раковых изменений (скрининговая функция);

2. существенное количество вируса папилломы человека приводит к ВПЧ-зависимым цервикальным интраэпителиальным неоплазиям;

3. у женщин в возрасте до 30 лет более 90% цервикальных интраэпителиальных неоплазий спонтанно регрессируют, тогда как у женщин среднего возраста, в связи с персистенцией ВПЧ, поражения регрессируют значительно реже;

4. только у женщин с персистирующей папилломавирусной инфекцией (ВПЧ высокого риска) возможно развитие рака шейки матки.

Таким образом, у женщин старше 30 лет необходимы скрининг, улучшающий определение ВПЧ, и цитологическое исследование цервикальных мазков по Папаниколу. Только при одновременном отрицательном результате PAP-и ВПЧ-тестов можно делать вывод об отсутствии патологии (Бибнева Т.Н., Прилепская В.Н., 2009 г.).

Молекулярные маркеры в скрининге на рак шейки матки. Как известно, ключевую роль в индукции цервикального канцерогенеза играют ранние белки ВПЧ E6 и E7: неконтролируемая экспрессия генов E6 и E7 в базальных и парабазальных слоях эпителия выводит из строя два ключевых белка клетки – p53 и pRb, регулирующих клеточный цикл [14].

Современная концепция скрининга на РШМ ставит его основной задачей выявление пациенток с цервикальными интраэпителиальными повреждениями высокой степени (ЦИН II/III), которые в данный момент в медицинском вмешательстве не нуждаются. Теоретически можно выделить три уровня риска развития цервикального рака [15]:

- инфицирование онкогенными типами ВПЧ;
- появление в базальном и парабазальном слоях эпителия клонов клеток, в которых нарушена регуляция транскрипции вирусных онкогенов и, таким образом, инициирована дестабилизация гена;
- прогрессия этих клонов до популяций клеток с высоким уровнем нестабильности хромосом и затем до клеток инвазивного рака.

Основываясь на этих концептуальных положениях и принимая во внимание высокий показатель транзитной папилломавирусной инфекции, можно утверждать, что самым эффективным подходом к ранней диагностике цервикального рака будет выявление популяции клеток, инициированных для процессов клеточной трансформации. Специфические и чувствительные маркеры, способные точно идентифицировать эти клетки, позволят существенно повысить качество цервикального скрининга. Белки человека, которые в норме не экспрессируются в клетках цервикального эпителия, но значительно интенсивнее синтезируются вследствие неконтролируемой экспрессии вирусных онкогенов, являются одной из сфер поиска эффективных маркеров [16].

Исследование уровня экспрессии маркерного онкобелка E7 вируса папилломы человека 16-го и 18-го типов в цервикальных пробах методом иммуноферментного анализа. Основную роль с позиции ВПЧ-зависимого канцерогенеза играют онкобелки E5, E6, E7, экспрессия которых начинается после интеграции вируса. Белки E5 и E6 обладают слабой трансформирующей активностью, которая во многом зависит от E7. Белок E7 играет одну из ведущих ролей в процессе злокачественной трансформации. Спектр его негативного воздействия весьма широк: он не только является посредником в нарушении контроля клеточного роста, но и стимулирует выделение транскрипционного фактора E2F, индуцирует проонкогенные свойства белка E6, активирует репликацию ВПЧ в клетках, подавляет синтез интерферона б [17]. Частоту выявления ВПЧ можно сопоставить с частотой выявления E7, так как последний является продуктом «жизнедеятельности» вируса, вызывающим процессы клеточной трансформации. Соответственно, при выявлении E7 в клеточном материале, полученном с шейки матки, можно говорить о начале или инициации канцерогенеза. Установлено, что наличие белка E7 в образцах цервикальных проб коррелирует с агрессивностью зарождающегося опухолевого процесса и может рассматриваться как неблагоприятный прогностический признак [18]. По данным литературы, белок E7 обнаруживается более чем в 65% обследованных дисплазий,

которые к тому же являются ВПЧ-положительными, что неоспоримо доказывает его ведущую роль в процессах клеточной трансформации [19,20]. Возможность определить белок E7 в органе-мишени в лабораторных условиях делает его очень привлекательным для использования в комплексном скрининге, тем более, что метод ИФА проще, быстрее и дешевле, чем ПЦР. При достаточно высокой частоте вирусносительства у здоровых женщин (по разным данным от 10 до 30%) в практическом применении это означает, что если у ВПЧ-положительной пациентки выявлен онкобелок E7, то на субклиническом уровне уже запущены процессы клеточной трансформации, что подразумевает более активную лечебно-диагностическую тактику в отношении данной больной.

Иммуноцитохимическое исследование онкомаркера p16ink4a. Нормальный клеточный цикл состоит из G1, S, G2 и M фаз. Эпителий шейки матки представляет собой динамическую ткань с постоянным клеточным обновлением. Киназа, которая обеспечивает прохождение клетки из G1 в S фазу клеточного цикла – это E2F. В норме она неактивна, находясь в связанном состоянии с белком-супрессором Rb (продукт гена ретинобластомы). Белок p16ink4a осуществляет контроль разобщения комплекса E2F-Rb, не допуская безудержной пролиферации клеток. Однако синтез p16ink4a в норме по механизму обратной связи сдерживается, таким образом, концентрация данного белка в нормальной клетке чрезвычайно мала, что проявляется негативной иммуноци-

тохимической реакцией. Белок E7 вируса папилломы человека ВПЧ высокого онкогенного риска при своем взаимодействии с продуктом гена ретинобластомы приводит к разобщению комплекса E2F-Rb. E2F остается постоянно в активном состоянии, стимулируя безудержную пролиферацию клетки. Белок p16ink4a пытается сдерживать пролиферацию клетки, что приводит к бесконтрольному его синтезу. Однако p16 лишен своей мишени, что в условиях отсутствия обратной связи значительно повышает его концентрацию в клетке. Иммуноцитохимически это проявляется позитивной реакцией, что является биомаркером инициации канцерогенеза в эпителии шейки матки [21].

Разработка фирмы «mtm laboratories AG» (Германия) – тест Cervatec™ p16(INK4a) ELISA представляет собой вариант иммуноферментного анализа, который позволяет выявлять белок p16ink4a непосредственно в цитологических мазках. Белок p16ink4a накапливается в клетках при выраженной дисплазии. Использование данного биомаркера для диагностики ЦИН помогает значительно снизить количество неясных цитологических мазков при скрининге и способствует более точной диагностике [22].

Гистологический метод диагностики. Гистологический метод мог бы служить «золотым стандартом» диагностики папилломавирусной инфекции, однако высокая стоимость, невозможность частого проведения, не всегда точный прицельный забор материала ограничивают его использование.

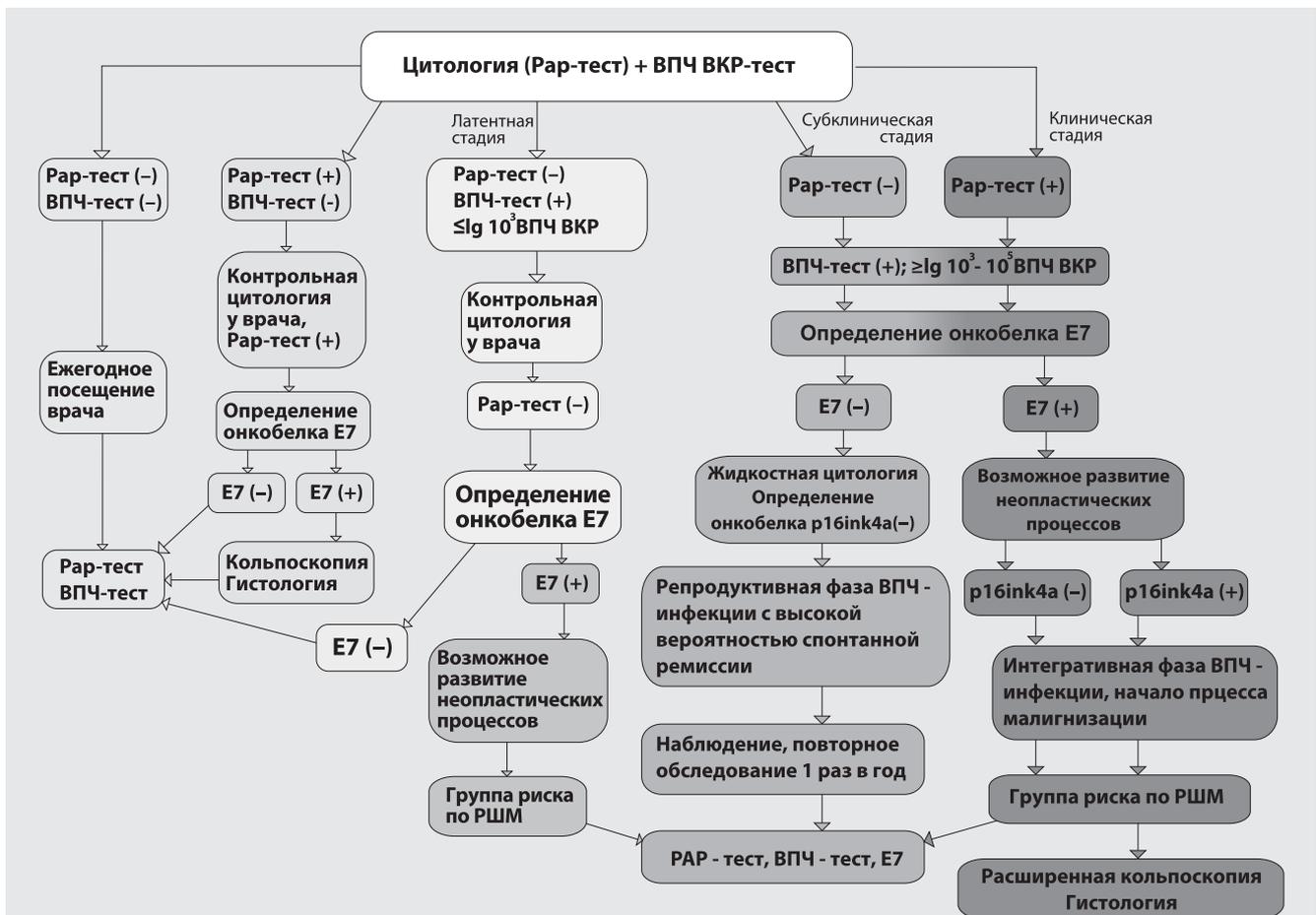


Рис.
Алгоритм лабораторной диагностики патологии шейки матки.

При этом четкие признаки ВПЧ-инфицирования не всегда понятны даже при гистологическом исследовании, особенно при дифференцировке картины ЦИН и ВПЧ-инфекции, которые часто сопровождаются воспалительным процессом. К проведению биопсии ШМ имеются определенные показания, однако, практика свидетельствует о том, что лучше произвести биопсию с последующим гистологическим исследованием, чем недооценить серьезность процесса и поздно провести эту процедуру [23]. Гистологический метод нельзя считать скрининговым, он используется в клинической практике только на этапе окончательной постановки диагноза.

Резюмируя представленную информацию, следует отметить, что диагностика, направленная на прогнозирование патологии шейки матки, должна основываться на цитологическом методе, подкрепленном ПЦР-диагностикой вируса папилломы человека и внедрением молекулярных биомаркеров (рис.). Методы ранней диагностики и внедрение новых скрининговых технологий при заболеваниях шейки матки открывают дополнительные возможности для профилактики РШМ, что является основой для снижения заболеваемости в целом и открывает перспективы сохранения здоровья женщин.



ЛИТЕРАТУРА

1. Прилепская В.Н., Роговская С.И. Новые технологии профилактики рака шейки матки. В кн.: Патология шейки матки и генитальной инфекции. М.: МЕДпресс-информ, 2008. С. 8-14.
2. Comparison of conventional Papanicolaou smears and a fluid-based. Thin-lav system for cervical cancer screening. K. Lee [et al.] *Obstet. Gynecol.* 1997. № 90. P. 278-284.
3. Fahey M.T., Irwig L., Macaskill P. Meta-analysis of Pap tests accuracy. *Am. J. of Epidemiology.* 1995. № 141. P. 680-689.
4. Lee J.S., Nelson A.C., Stanley F., Patten Jr. and the development of an automated Papanicolaou smear screening system. *Cancer.* 1997. № 81. P. 20-26.
5. Schledermann D., Ejrso D., Hoelund B., Significance of atypia in conventional smears and liquid based cytology: a follow-up study. *Cytopathology.* 2004. № 15. P. 148-153.
6. Cervical Cancer Control priorities and new direction. J. Monsenego [et al.]. *Int.J.Cancer.* 2004. № 108. P. 32-333.
7. Saslow D., Runwiz C. D., Solomon B. American Society Guideline for the Early Detection of Cervical Neoplasia and Cancer. *CA Cancer J. Clin.* 2002. № 52. P. 342-362.
8. Human papillomavirus testing for primary cervical cancer screening. V.Dalstein [et al.]. Basel: Karger. 2006. P. 103-119.
9. Бебнева Т.Н., Прилепская В.Н. Профилактика рака шейки матки: скрининг (обзор литературы). Научно-практический медицинский журнал «Доктор.Ру». 2009. № 6 (50). С. 14-15.
10. Семенов Д.М., Занько С.Н., Дмитраченко Т.И. Папилломавирусная инфекция. С.-Пб.: Диалект, 2008. С. 84.
11. Куевда Д.А., Шипулина О.Ю. ВПЧ-тестирование: алгоритмы диагностики и требования к молекулярным тестам для выявления вирусов папилломы человека. В сб. тр.: 6-й Всероссийской научно-практической конференции «Генодиагностика инфекционных болезней». М. 2007. Т. III. С. 108-119.
12. Куевда Д.А., Шипулина О.Ю., Минкина Г.Н. и др. Количественный подход в диагностике генитальной папилломавирусной инфекции. В сб. тр.: 6-й Всероссийской научно-практической конференции «Генодиагностика инфекционных болезней». М. 2007. Т. III. С. 120-124.
13. Куевда Д.А., Шипулина О.Ю., Генодиагностика папилломавирусной инфекции высокого канцерогенного риска. Количественный подход. В кн.: Патология шейки матки и генитальной инфекции. М.: МЕДпресс-информ, 2008. С. 284-293.
14. Duensing S., Munger K. Mechanisms of genomic instability in human cancer: insights from studies with human papillomavirus oncoproteins. *Int. J. Cancer.* 2004. № 109. P. 157-162.
15. Knebel Doeberitz M. Biomarkers in screening of cervical cancer. Emerging issues on HPV infections: from science to practice. Basel: Karger. 2006. P. 1-19.
16. Baldwin P., Laskey R., Coleman N. Translation approach to improving cervical screening. *Nat. Rev. Cancer.* 2004. № 3. P. 217-226.
17. Киселев В.И., Киселев О.И. Этиологическая роль вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки: генетические и патогенетические механизмы. Цитокина и воспаление. 2003. Т. 2. № 4. С. 31-38.
18. Питер Л. Стерн, Китченера Генри С. Вакцины для профилактики рака шейки матки. Перевод с английского под общей редакцией акад. РАМН Г.Т. Сухих, проф., В.Н. Прилепской. М.: МЕДпресс-информ, 2009. С. 49-58.
19. Шварц Г.Я., Прилепская В.Н. Иммуномодулирующие средства в лечении ВПЧ-инфекции. В кн.: Изопринозин в лечении папилломавирусной инфекции в гинекологической практике. М.: Промоушн Микс, 2011. С. 5-13.
20. Папилломавирусная инфекция. Под ред. В.М. Говоруна. М.: НПФ Литех, 2009. С. 43-45.
21. Котов В.А., Раскин Г.А., Протасова А.Э. и др. Применение жидкостной цитологии и иммуноцитохимического определения онкомаркера p16ink4a для скрининга, диагностики и выбора тактики лечения заболеваний шейки матки: учебное пособие. С.-Пб. 2009. С. 23.
22. P16ink4a et al.: predictive biomarkers in cervical preinvasive neoplasia and cervical cancer. N. Murphy [et al.]. *Clin.Pathol.* 2005. № 58. P. 525-534.
23. Клиническая онкогинекология. /перевод с англ., под ред. Е.Г.Новиковой. М.: Рид Элсивер, 2011. с. 73-97.