

ПАПИЛЛОМАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ И РАК ШЕЙКИ МАТКИ: НЕКОТОРЫЕ ПРОБЛЕМЫ СКРИНИНГА, РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗА

© Должигов А.А., Жернакова Н.И., Дмитриев В.Н., Жернаков Е.В., Мухина Т.С.,
Кокорина О.С., Кривчикова А.П.

Научно-образовательный центр прикладной иммуноморфологии и цитогенетики
Белгородского государственного национального исследовательского университета, Белгород

E-mail: ihcdaa@mail.ru

В обзоре представлены современные данные по проблеме скрининга, ранней диагностики предраковых изменений и рака шейки матки. Рассмотрены наиболее важные молекулярно-биологические характеристики папиллома-вирусной инфекции и основанные на них методы диагностики. Определены перспективные направления дальнейших исследований.

Ключевые слова: папилломавирусная инфекция, рак шейки матки.

PAPILLOMA-VIRUS INFECTION AND CERVICAL CANCER: SOME PROBLEMS OF SCREENING, EARLY DIAGNOSTICS AND PROGNOSIS

Dolzhirov A.A., Zhernakova N.I., Dmitriev V.N., Zhernakov E.V., Mukhina T.S., Kokorina O.S., Krivchikova A.P.

Scientific-Educational Centre of Applied Immunomorphology & Cytogenetic
of Belgorod State National Research University, Belgorod

The review contains the modern data concerning the problem of screening, early diagnostics of precancerous lesions and cervical cancer. The most important molecular-biological characteristics of papilloma-virus infection, and the advanced methods of diagnostics based on them, are revised. The directions of future scientific researches are established.

Keywords: papilloma-virus infection, cervical cancer.

Одним из важнейших достижений современной онкологии является определение некоторых этиологических факторов развития опухолей. К их числу относятся вирусы папилломы человека (ВПЧ), основная роль которых в развитии предраковых изменений и рака шейки матки является доказанной. В настоящее время ведущие направления исследований связаны с разработкой методов, повышающих точность диагностики и прогностической оценки ВПЧ ассоциированной патологии. ВПЧ инфекция является этиологическим фактором развития карцином не только аногенитальной области. Значение вирусов обосновано и в развитии назофарингеального рака. Однако наибольшее прикладное значение в настоящее время имеют исследования цервикальных интраэпителиальных неоплазий (дисплазий) и рака шейки матки в связи с ВПЧ инфекцией. Это именно та область онкологии, в которой достигнуты несомненные успехи, но еще больше можно сделать за счет совершенствования диагностических технологий и организационных мер по профилактике и раннему выявлению цервикальных неоплазий [21]. Основным аспектам обозначенной проблемы посвящен настоящий обзор.

Открытие роли ВПЧ в развитии рака шейки матки принадлежит немецкому исследователю Harald zur Hausen, который в 2008 году, спустя 34 года после начала исследований, был удостоен

Нобелевской премии в коллективе с французскими исследователями ВИЧ инфекции. К настоящему времени известны генетические характеристики ВПЧ, выявлено более 100 его типов, которые представлены двумя основными группами: кожные и слизистые [7]. К первой группе относятся вирусы, вызывающие различные кожные поражения. Вторая группа более многочисленная и представляет больший практический интерес. Она включает вирусы, индуцирующие папилломатоз ротовой полости, назофарингеальные неоплазии. Аногенитальные ВПЧ, наиболее значимые в настоящее время, включают вирусы низкого и высокого онкогенного риска. Вирусы высокого онкогенного риска (16, 18, 31, 33, 39, 45, 52, 56, 58 типы) обнаруживаются практически в 100% случаев рака шейки матки (РШМ) [7]. Имеются данные о большей частоте наличия нескольких типов вируса высокого онкогенного риска у молодых пациенток [28]. Основные биологические характеристики ВПЧ, имеющие значение в пато/морфогенезе РШМ, мы приведем ниже.

Распространенность ВПЧ существенно отличается в разных странах в зависимости от многих факторов. К ним относятся уровень социального развития, этногеографические условия, социокультурные особенности, определяющие в том числе особенности полового поведения, распро-

страненность других генитальных инфекций, уровень организации профилактических и диагностических мероприятий и ряд других. Распространенность ВПЧ может быть оценена несколькими путями [19]: по клиническим проявлениям в виде остроконечных кондилом, по субклиническим проявлениям по данным клинкоморфологических исследований, по клиническим проявлениям (дисплазии и рак шейки матки), выявлению вирусной ДНК в содержимом цервикального канала, выявлению цитологических признаков ВПЧ, заболеваемости интраэпителиальной неоплазией влагалища и вульвы. Частота инфицированности в разных странах варьирует от 5 до 70%, в России по имеющимся данным она составляет у здоровых женщин около 30% [7, 19].

В России в 2009 году зарегистрирован 14351 случай РШМ, стандартизованный (на 100 000 населения) показатель составляет 13,4. Под наблюдением у онкологов состоят 159 774 женщины, пролеченные по поводу РШМ [14]. В разных регионах России стандартизованный показатель варьирует от 8,11 (в Пензенской области) до 30,74 (в Забайкальском крае). В Москве он составляет 9,77, в Санкт-Петербурге - 9,55. Необходимо отметить, что в 70-х годах в России после создания централизованных цитологических лабораторий и начала скрининга в регионах с наиболее успешной его реализацией произошло существенное снижение заболеваемости РШМ. Демонстративным примером являются результаты организованного и контролируемого скрининга в системе медицинских учреждений Октябрьской железной дороги (с 1965-го по 1984 г.). Заболеваемость инвазивным РШМ снизилась с 31,61 до 8,13 на 100 000 женщин (на 74,3%), снизилась смертность. Соотношение инвазивного и преинвазивного РШМ изменилось с 2:1 в 1964 г. до 1:4 в 1984 г. Это важный, но уже только исторический факт. С 90-х годов наметилась отрицательная тенденция [16]. В качестве примера успеха скрининга РШМ приводятся результаты в Финляндии и Швеции, где смертность от РШМ в результате почти 100% охвата скринингом снизилась на 80%, тогда как в Норвегии при 5% охвате скринингом смертность от РШМ снизилась только на 10% [16]. Показательная статистика в Великобритании. С увеличением охвата скринингом с 45% в 1988 г. до 80,3% в 2005 г. произошло снижение заболеваемости РШМ на 42%, а смертности на 60%. В период до 2011 г. охват скринингом остается близким к 80% [35].

Исследования эпидемиологии РШМ и эффективности профилактических и скрининговых мероприятий на популяционном уровне в России единичные и проведены в основном в Северо-западном федеральном округе, а ранее, в Ленин-

градской области. В последних опубликованных данных [15] приведен анализ ситуации в республике Карелия. Материал представлен 526584 случаями цитологических исследований при скрининге. Выявлено, что с 2003-го по 2007 годы произошел рост стандартизованного показателя заболеваемости РШМ с 11,13 до 24,28, что значительно превышает среднероссийский уровень 12,48. В 2008 г. отмечено снижение заболеваемости инвазивным РШМ, однако общее число больных увеличилось по сравнению с 2007 г. на 14% и на 57,9% по сравнению с 2003 г. Показатель смертности находится при этом на уровне среднероссийского без увеличения по годам. В совокупности с ростом показателей заболеваемости это свидетельствует о своевременности выявления заболевания в большей части случаев и успехах в его лечении. Среди пациенток с карциномой *in situ* 58,6% составили больные в возрасте 19-35 лет, среди пациенток с инвазивным раком наибольшее число пришлось на возрастные интервалы от 31 до 35 лет и от 46 до 50 лет. Корреляция стадий заболевания с возрастом связана в определенной степени со стадийностью и относительной длительностью канцерогенеза в шейке матки. В значительной степени позитивные тенденции связаны с эффективностью цитологического скрининга, который в республике Карелия осуществляется с 1969 года. Соотношение случаев преинвазивного рака к случаям инвазивного рака составляет 0,19, и этот показатель значительно выше, чем в среднем по России (0,07-0,08). Однако авторы отмечают, что системных мер по организации скрининга РШМ в целом по России нет, слабой является преемственность между цитологами и гинекологами, отсутствует компьютерный учет пациенток, низкой является грамотность населения в отношении факторов риска РШМ.

В цитологическом скрининге более важным является широта охвата населения, а не частота его проведения. Связано это и с тем, что переход дисплазии в преинвазивный рак и переход преинвазивного рака в инвазивный являются процессами достаточно длительными (5-10 лет). Важным в технической реализации цитологических исследований является адекватность взятия материала, его полноценность в соответствии современными критериям (Bethesda system, 2001). Для получения материала именно из зоны трансформации, который должен содержать клетки плоского, призматического и метапластического эпителия, необходимо применять специальные щетки (Cytobrush, Cervix-brush), а не адаптированные инструменты (ложка Фолькмана, желобоватый зонд, шпатели), при использовании которых информативность материала снижается почти в 3 раза [15].

В последнем популяционном исследовании, проведенном в Северо-западном федеральном округе России, приведены данные в динамике с 1980-го по 2010 год [14]. До 1995 года происходило снижение заболеваемости РШМ, затем показатели плавно повысились до уровня около 400 случаев в год (в 1980 году – 525) и стабильно остаются на этом уровне. Более существенно то, что изменилась возрастная структура заболеваемости. С 90-х годов она возросла в возрастной группе от 25 до 45 лет (стандартизованный показатель в возрасте 25 лет в 1980 году – 1,4; в 2009 году – 6,9), а в старших возрастных группах произошло снижение. Интерпретировать эту динамику следует двояко. С одной стороны, социально-экономические изменения, нравы и уклад жизни с 90-х годов привели к увеличению частоты ВПЧ инфекции как основного фактора развития РШМ. С другой стороны, снижение заболеваемости в старших возрастных группах может свидетельствовать об улучшении раннего выявления предраковых изменений при профилактических осмотрах и своевременном их лечении. Однако уровень морфологической верификации в г. Санкт-Петербурге был наибольший в период 2001-2004 годов в возрастной группе 30-39 лет (96,3%), тогда как в последующие возрастные периоды он на 5-12% ниже. С 2005 года уровень морфологической верификации снизился. В возрастной группе 30-39 лет он составил 88,8%. Смертность от РШМ в г. Санкт-Петербурге за период с 1980 года значимо не снижалась, а к 2009 году возросла на 4,03% (среднегодовой прирост 0,14%). Такая картина, характеризующаяся не снижающейся и даже растущей смертностью на фоне снижения заболеваемости, свидетельствует о значительном увеличении доли лиц с поздними стадиями опухолевого процесса, о низкой эффективности массовых профилактических обследований для выявления предраковых изменений и преинвазивных форм РШМ.

РШМ является заболеванием, при котором скрининговые мероприятия могут быть заведомо эффективными, так как: 1) это важная проблема для здоровья, осознание чего населением возможно через просветительские мероприятия; 2) имеется длительная бессимптомная фаза, в течение которой возможно выявление признаков атипии (длительность прогрессии от преинвазивной стадии до инвазивного рака может составлять до 10 лет); 3) значительна доля доклинических поражений; 4) при ранней диагностике возможно эффективное и полное лечение.

История скрининга РШМ исходит от исследований George N. Papanicolaou – греческого исследователя, мигрировавшего в США, который в 1928 году сообщил о возможности цитологиче-

ского выявления злокачественных клеток в цитологических мазках, в том числе в преинвазивной стадии. Первоначально скептическое отношение к исследованиям Папаниколау в 1940-е годы сменилось подтверждением многими другими авторами, а разработанный метод получил название ПАП теста [27]. Впервые скрининг с использованием цитологического метода стал выполняться в канадской провинции Британская Колумбия в 40-х годах прошлого века, в 50–70-х годах скрининговые программы появились в Японии, США, Китае, Финляндии, Швеции, Исландии, Германии, Бразилии и других странах.

Доказанной является эффективность организованного скрининга, предусматривающего определение популяции женщин, подлежащих скринингу, четкую периодичность, активное приглашение женщин на обследование. Но до настоящего времени во многих странах преобладает неорганизованный (оппортунистический) скрининг, когда обследование выполняется при самообращении женщин, прежде всего по другим причинам. Обсуждаемым является вопрос о времени начала и окончания скрининга, его периодичности в зависимости от результатов предшествующих исследований, методика выполнения исследований.

Сопоставление трех вариантов программ скрининга в США: американской раковой ассоциации (American cancer society – ACS), целевой группы профилактического сервиса (U.S. Preventive services task force – USPSTF), американского колледжа акушеров и гинекологов (American college of obstetricians and gynecologists – ACOG) свидетельствует о наличии некоторых расхождений по организации скрининга [23, 26]. Возраст начала скрининга с применением обычного цитологического метода рекомендуется с 21 года вне зависимости от возраста начала сексуальной активности (ACOG) или примерно через 3 года после первых половых контактов, но не позже возраста 21 год (ACS, USPSTF). По частоте обследования основными являются два момента: частота в связи с возрастом и в связи с результатами предшествующих тестов. В возрасте до 30 лет рекомендуется либо ежегодное обследование (ACS), либо раз в 2 года (ACOG). В рекомендациях USPSTF указана необходимость исследования не реже одного раза в 3 года. У женщин старше 30 лет при 3-х отрицательных последних исследованиях рекомендовано обследование каждые 2-3 года (ACS) или 3 года (ACOG). Относительно возраста прекращения скрининга колебания находятся в интервале от 65 до 70 лет. ACS рекомендует прекращение скрининга в возрасте старше 70 лет при 3-х и более нормальных предыдущих тестах и отсутствии атипии в цитологиче-

ских тестах за последние 10 лет, аналогичный подход рекомендуется ACOG в возрастном интервале 65-70 лет. По рекомендациям USPSTF возраст составляет старше 65 лет. При наличии риска РШМ скрининг должен быть продолжен вне зависимости от возраста. Отдельно рассматриваются показания к проведению скрининга после гистерэктомии и у лиц, привитых от ВПЧ. Аналогичные рекомендации даны в национальной объединенной противораковой сети (National comprehensive cancer network) [25]. В целом рекомендации, принятые в США отличаются большей активностью, касаясь как меньшего возраста его начала (с 21 года), так и частоты (при определенных случаях ежегодно). В Великобритании скрининг проводится в возрастном интервале 25-49 лет каждые 3 года, в возрасте 50-64 года – каждые 5 лет [20, 35].

В организации и частоте скрининга существенное значение имеют материальные затраты, которые государство готово понести для выполнения исследований, но ни одно из государств не может обеспечить близкий к 100% ежегодный охват цитологическим скринингом. В связи с этим ВОЗ рекомендует при ограниченных ресурсах проводить скрининг хотя бы 1 раз у всех женщин 35-40 лет, а при наличии возможностей проводить его 1 раз в 10 или в 5 лет для всех женщин 35-55 лет. Как идеальный рекомендуется скрининг женщин в возрасте 25-65 лет сначала 2 года подряд, а затем каждые 3 года при отрицательных результатах. До 25 лет скрининг проводить не рекомендуется, так как у молодых пациенток в значительном числе случаев ВПЧ инфекция имеет транзитный характер. Для женщин старше 65 лет скрининг не нужен, если у них 2 раза подряд были отрицательные результаты [8]. В этой связи цитологический скрининг, интегрированный в СССР в систему ежегодных профилактических осмотров, был простым решением, но наиболее затратным и неэффективным [16].

Несмотря на наличие рекомендаций ВОЗ [WHO. Comprehensive Cervical Cancer Control. A Guide to Essential Practice. Geneva, 2006], разработанные алгоритмы, национальные стандарты диагностики предраковых изменений и рака шейки матки, дальнейшей клинической тактики, остается ряд проблем, прямо связанных с диагностическими технологиями. К ним относятся проблема ложноположительных цитологических заключений, отсутствие достоверных прогностических критериев биологического поведения дисплазий, неопределенность тактики в отношении пациенток с инфекцией ВПЧ высокого онкогенного риска, но без атипических цитологических изменений.

До настоящего времени актуальным является определение роли различных методов диагностики неопластических изменений шейки матки: цитологического, гистологического, тестирования на наличие ВПЧ инфекции, исходя из их диагностической чувствительности и специфичности, стоимости, технической сложности и степени инвазивности. Цитологическое исследование справедливо занимает место «золотого стандарта» при выполнении первичного обследования и скрининга. Однако сохраняется дискордантность между результатами цитологического и гистологического исследований, а чувствительность и специфичность традиционного цитологического исследования с окраской по Papanicolaou (ПАП тест) далеки от идеальных [27, 32]. Средняя чувствительность ПАП теста составляет 47% (от 30 до 80%), специфичность – 95% (86 – 100%). Даже при инвазивных карциномах шейки матки чувствительность варьирует от 16 до 82%, а у значительного числа пациенток (15- 35 %) с карциномами шейки матки ранее имелись негативные результаты ПАП теста [32]. Ложноположительные результаты при раке шейки матки встречаются в 10-15% случаев. Также низкой является межлабораторная воспроизводимость результатов. Пути решения проблемы заключаются, во-первых, в стандартизации взятия материала и его исследовании на всех этапах с введением единой системы регистрации и интерпретации изменений, во-вторых, в разработке более объективных и точных методов, в том числе основанных на известных закономерностях канцерогенеза в шейке матки. Безусловно, что с целью унифицированной интерпретации данных необходимо использование современной терминологии преинвазивных изменений (цервикальные интраэпителиальные неоплазии – CIN) и системы описания цитологических изменений (Bethesda, 1989, 2001). Визуальный осмотр с пробами с раствором Люголя или уксусной кислотой является дешевым, дает немедленный результат. Однако при высокой чувствительности этот метод обладает низкой специфичностью.

Вопросом выбора является определение предпочтений или варианта комбинации имеющихся в настоящее время основных скрининговых методов: традиционной цитологии, жидкостной цитологии, тестирование на наличие ДНК ВПЧ (ВПЧ тест). В большинстве исследований на больших когортах пациенток показана эффективность сочетания ВПЧ теста и цитологического исследования, но обсуждается оптимальный вариант их сочетания [29, 32, 33, 34, 36, 38, 40, 41]. Сочетания методов строятся из двух (цитология, ВПЧ тест) или трех (цитология, ВПЧ тест, кольпоскопия) составляющих.

В аналитической публикации из клиники Кливленда (США) [32] предлагается достаточно четкий алгоритм скрининга пациенток. Во-первых, рекомендуется проведение скрининга с возраста 30 лет и старше. Во-вторых, указывается, что положительный ВПЧ тест сам по себе не свидетельствует о возможном развитии CIN III и РШМ, в связи с чем существует избыточность в выполнении кольпоскопии и биопсии шейки матки. Группа по изучению атипичных плоскоклеточных изменений неопределенного потенциала (ASCUS – atypical squamous cells of undetermined potential) и плоскоклеточных интраэпителиальных изменений низкой степени (LSIL – low-grade squamous intraepithelial lesions) национального института рака США (ALTS – от ASCUS and LSIL trial study) выявила, что только у 77 из 611 пациенток с данными изменениями в последующем была диагностирована CIN III. Рекомендуется одновременное использование ВПЧ и ПАП тестов с дальнейшим определением тактики в зависимости от результатов. При отрицательных результатах обоих тестов риск развития РШМ крайне низкий и достаточным является повтор исследования через 3 года. В случаях ВПЧ+ ПАП- рекомендуется повтор исследования через 6-12 месяцев. При обнаружении атипичных цитологических изменений (ASCUS) и отрицательном ВПЧ тесте рекомендован повтор ПАП теста через 12 месяцев. В ситуациях с наличием ASCUS при позитивном ВПЧ тесте, а также при обнаружении LSIL или HSIL вне зависимости от результатов ВПЧ тестирования рекомендована кольпоскопия.

Обследование 6257 пациенток в Швеции (данные за период с 1997 по 2005 г.) выявило 104 случая с положительными ВПЧ и ПАП тестами, 328 – с положительным ВПЧ тестом при отрицательном ПАП, 41 – с отрицательным ВПЧ тестом, положительным ПАП тестом. В первой группе при стандартном дальнейшем обследовании в 35 наблюдениях выявлена CIN III, в 23 – CIN II. Во второй группе при повторном двойном тестировании из 255 пациенток у 114 выявлена персистирующая ВПЧ инфекция, из них 95 подвергнуты кольпоскопии, в результате которой выявлено 13 случаев CIN III и 12 – CIN II. По результатам статистического анализа авторы приходят к заключению, что использование первоначально ВПЧ теста с последующим цитологическим исследованием повышает чувствительность метода и является более предпочтительным [34].

Крупное исследование, выполненное в США на материале 20 810 пациенток, содержит анализ риска цервикальных неоплазий в зависимости от результатов цитологического исследования, дополненного ВПЧ тестом. Наблюдение за пациентками осуществлялось в течение 122 месяцев.

Из 171 пациентки с диагностированной CIN III или РШМ в течение периода наблюдения, у 123 (71,9%) была изначально выявлена цитологическая атипия и/или был положительный ВПЧ тест. Из них у 118 диагноз был поставлен в течение первых 45 месяцев. Комбинация ПАП теста и ВПЧ теста позволяет разделить пациенток на группы риска развития РШМ. При этом обнаруживаются существенные отличия в зависимости от результатов исследований. Кумулятивная частота CIN III или РШМ в течение 122 месяцев у пациенток с цитологической атипией, положительным ВПЧ тестом или их сочетанием была 6,83%, тогда как при отрицательных результатах обоих тестов она составила только 0,79%. В течение первых 45 месяцев также выявлено 5-кратное отличие в кумулятивной частоте CIN III и РШМ. Особое значение в эффективности скрининга имеет качество получения и подготовки исследуемого материала. Положительный ВПЧ тест вне зависимости от результатов ПАП теста указывает на необходимость продолжения участия в скрининге, так как отражает факт персистенции вирусной инфекции.

Одна из последних публикаций по результатам скрининга в Великобритании [33] содержит данные, полученные при обследовании 10 051 пациенток в возрасте 25-64 лет. Стартовым было цитологическое исследование с применением жидкостной цитологии. В дальнейшем обследовались пациентки с пограничными цитологическими изменениями (дискариозом), которые составили 64,7%, и пациентки с умеренным дискариозом (35,3%). После цитологического исследования в качестве сортировочного (triage) использован ВПЧ тест. При отрицательных результатах пациентки подлежали организованному скринингу через 3 или 5 лет в зависимости от возраста (до или старше 50 лет). При позитивном ВПЧ тесте следующим этапом было кольпоскопическое исследование с ранжированием пациенток в зависимости от результата. Последующее цитологическое исследование выполнялось с целью контроля эффективности лечения при CIN I и CIN II. Авторы приходят к выводу, что использование ВПЧ тестирования как сортировочного метода после первичного цитологического исследования позволяет ограничиться последующей кольпоскопией при позитивном тесте, не прибегая к повторному цитологическому исследованию, снижая нагрузку и стоимость скрининга.

В совместной публикации британских и американских авторов [30] предложен и финансово обоснован подход с изменением стратегии скрининга с использованием ВПЧ и ПАП теста. Начальное применение ПАП теста в возрасте между 21 и 25 годами с сортирующим использо-

ванием ВПЧ теста и последующим переходом на ВПЧ тестирование с сортирующим использованием цитологического исследования экономически более оправдано без потери качества скрининга.

Рекомендации ВОЗ [WHO. Comprehensive Cervical Cancer Control. A Guide to Essential Practice. Geneva, 2006] указывают на первостепенное значение цитологического исследования при больших скрининговых программах. ВПЧ тест в качестве первичного и визуальные скрининговые методы рекомендованы только в пилотных проектах или в случаях пристального мониторинга при наличии достаточных ресурсов. ВПЧ тестирование не рекомендуется у женщин моложе 30 лет [8].

Важнейший вопрос прогноза течения рака шейки матки в процессе и после лечения в настоящее время находится в стадии разработки. Одним из обоснованных критериев является наличие инфицирования ВПЧ и генотип вирусов. В отечественной литературе опубликованы данные, полученные у 110 пациенток с РШМ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) [9]. ВПЧ инфицирование выявлено в 89,1% случаев, при этом наблюдалось 12 различных генотипов вируса и их сочетания. В 87,6% наблюдений имелась моноинфекция, чаще (73,3%) ВПЧ 16 типа. Заслуживающие внимания отличия выявлены при инфекции ВПЧ высокого онкогенного риска (16, 18 типы). При ВПЧ-18 достоверно чаще преобладали аденокарциномы (третья часть случаев), при ВПЧ-16 все карциномы имели плоскоклеточную дифференцировку. При этом ВПЧ-18 в 77,7% выявлен в полностью интегрированном состоянии, а ВПЧ-16 только в 30,0%. Прогностически худшими оказались инфекции ВПЧ 18 типа и с редкими типами вируса (31, 33, 35, 39, 52, 59), при которых частота ремиссии заболевания спустя 3 года была достоверно ниже, чем при ВПЧ-16. Однако различий в эффективности лечения при моно- и полиинфекции не обнаружено. Ранее аналогичные данные были получены американскими исследователями [39], которыми при I-II стадиях РШМ установлена в 2-3 раза большая частота рецидивов и смертность при ВПЧ-18 инфекции в сравнении с ВПЧ-16. ВПЧ-18 отличает большая частота интеграции в геном, повышенное фосфорилирование E7 и снижение скорости апоптоза опухолевых клеток [22,37].

Характер морфологических изменений цервикального эпителия ассоциирован с типами ВПЧ. В исследовании Zuna R.E. et. al [42], выполненном на материале 282 случаев плоскоклеточных интраэпителиальных поражений и инвазивного РШМ, проведены сопоставления 27 генотипов ВПЧ и цитологических изменений. Выделены три

группы вирусов по степени онкогенности, которые закономерно сочетались со степенью неопластической трансформации эпителия. Суммарно инфицированность ВПЧ выявлена в 95,7%. В 38,7% наблюдений имелась полиинфекция. Выделено три варианта сочетаний: 1) интраэпителиальные поражения высокой степени и ВПЧ инфекция высокого онкогенного риска, что сопряжено с высоким риском РШМ; 2) интраэпителиальные поражения низкой или высокой степени в сочетании с ВПЧ инфекцией низкого или промежуточного риска, что маркирует ограниченный или промежуточный риск прогрессии; 3) низкая степень интраэпителиальных поражений в сочетании с инфекцией низкого риска, ассоциированные с низким или отсутствием риска развития РШМ. К ВПЧ высокого риска относятся 16, 18, 31, 45 типы, промежуточного риска – 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 68 [ME180], 73 [MM9, P238A], 82 [MM4, W13B], 83 [MM7, P291] типы.

Показана эффективность ВПЧ тестирования (методом гибридизационного захвата) в оценке органосохраняющего лечения больных РШМ [12]. На материале 525 больных после органосохраняющих вмешательств (деструкций, петлевых эксцизий и конизаций) выявлена 100% чувствительность и предсказательная ценность отрицательного результата ВПЧ тестирования, который свидетельствует об адекватности эксцизии и благоприятном прогнозе. Прогностическое значение ВПЧ тестирования демонстрирует также достоверно большая частота положительных результатов (сохранения ВПЧ инфекции) после деструкции или петлевой эксцизии в сравнении с конизацией, что может быть связано с неполным удалением участков CIN из зоны трансформации. В связи с этим при CIN II при неполной видимости зоны трансформации показана конизация.

Также крайне интересны данные о выявлении ВПЧ высокого онкогенного риска в лимфатических узлах как индикатора метастазирования [2]. Авторами исследованы регионарные подвздошные лимфатические узлы у 98 пациенток, подвергавшихся хирургическому лечению по поводу рака шейки матки. У 29 обнаружена ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска (16, 18, 31, 33 типы), с преобладанием 16-го типа (51,72%). Из этого числа пациенток у 27 выявлены метастазы. Во всех случаях генотип вируса в метастазах соответствовал генотипу в первичной опухоли. Чувствительность метода оказалась равной 43,6%, специфичность - 79,7%, диагностическая эффективность - 65,3% при ложноотрицательных ответах в 56,4%, ложноположительных – 20,3%. Делается достаточно обоснованный вывод о перспективности использования ВПЧ теста при исследовании лимфатических узлов с целью определения

прогноза и планирования адъювантной терапии. Ранее этими же авторами [1] было показано, что онкогенные типы ВПЧ обнаруживаются в первичной опухоли в 87,8% случаев, при этом в 75,58% обнаруживаются два и более генотипов ВПЧ. Однако метастазы в регионарные лимфоузлы значительно чаще выявляются у пациенток с моноинфекцией.

С проведением ВПЧ тестирования у пациенток молодого возраста связана просветительская и образовательная составляющая проблемы. При положительном результате ВПЧ теста перед пациенткой встает вопрос о дальнейшей судьбе. Как отечественные [19], так и зарубежные исследователи [33] отмечают, что современная доступность информации об онкогенных свойствах ВПЧ без адекватной интерпретации и разъяснения пациентке значения положительного ВПЧ теста могут привести к серьезным последствиям: ненужные многократные обследования, неоправданная агрессивность лечения, психологический, социальный дискомфорт и депрессивные состояния у пациенток.

Как уже отмечено, первостепенное значение для качества цитологической диагностики имеет взятие и подготовка материала. Во-первых, необходимо использование специального инструментария (различных вариантов щеток) для взятия материала из цервикального канала, зоны трансформации и экзоцервикса, а не адаптированных инструментов, которые заведомо снижают информативность исследования. Исследование вагинального лаважа, в том числе полученного самостоятельно пациентками [36], в настоящее время практически не обсуждается. Во-вторых, значение имеет выбор метода исследования (окраски) мазков. Традиционно используются окраска по Романовскому-Гимзе или ПАП-метод. Однако сохраняется существенная частота расхождений цитологического и последующего гистологического диагнозов. С целью объективизации получаемых результатов внимания заслуживают разработки количественных методов анализа изменений ядерных структур клеток – плоидности ДНК, изменения которой происходят при неопластической трансформации клеток во всех видах опухолей. Предлагается использование гистоплоидометрического метода с окраской цитологических препаратов по Фельгену с последующей фотометрией оптической плотности ядер и степени их плоидности [17]. Технология рекомендуется при расхождении результатов цито- и гистологического исследований. Безусловно, она интересна с точки зрения изучения цитогистологических параллелей в канцерогенезе, особенно на ранних стадиях, но вряд ли пригодна для большого пото-

ка повседневных исследований в силу трудоемкости и значительного технического усложнения.

Одним из наиболее перспективных направлений является внедрение методов жидкостной цитологии, которая устраняет многие недостатки традиционного цитологического метода. При сопоставлении жидкостной и традиционной цитологии преимуществ у жидкостного метода оказывается в 2 раза больше, чем недостатков в сравнении с традиционным [20]. К наиболее существенным недостаткам относятся увеличение стоимости расходных материалов, увеличение времени приготовления препарата и трудоемкости скрининга, возможные сложности интерпретации железистой патологии. Однако лучшая сохранность клеток, улучшение их визуализации, возможность приготовления до 15 препаратов с одного образца (что важно для использования дополнительных методов и автоматизированного анализа), минимизация артефактов и в 5 раз меньшая частота недостоверности (всего 1-2%) в сравнении с традиционной цитологией существенно перевешивают недостатки, имеющие в основном ресурсный, а не диагностический характер. Не случайно в Великобритании реализуется государственная программа полного перехода на методы жидкостной цитологии [20].

В настоящее время достаточно глубокое знание природы ВПЧ инфекции и механизмов ее канцерогенного действия привело к внедрению в практику иммуноморфологических маркеров активности вирусной инфекции и, соответственно, дифференциальной диагностики. К их числу относится белок $p16^{INK4a}$. Теоретические основы практической значимости оценки уровня его экспрессии следующие.

Важнейшим этапом в клеточном цикле, определяющем пролиферативную активность клеточных популяций, является переход от G_1 в S фазу. Белок $p16^{INK4a}$ (продукт гена $INK4a$; син. – $CDKN2A$, $MTS1$, $INK4a/ARF$) является одним из контролеров пролиферативной активности. Переход клеток из G_1 в S фазу клеточного цикла определяется активностью киназы $E2F$, которая в норме неактивна за счет связывания с супрессорным белком Rb (продукт гена ретинобластомы). Супрессорная активность Rb проявляется при его гипофосфорилированной форме. Контроль комплекса $E2F-Rb$ за счет предотвращения фосфорилирования белка Rb осуществляет белок $p16^{INK4a}$, который ингибирует увеличение пролиферации клеток посредством блокады циклин-зависимых киназ $cdk4$ и $cdk6$, определяющих G^1 - S переход. В нормальных клетках концентрация белка $p16^{INK4a}$ низкая, сдерживаемая механизмом обратных связей. При иммуногистохимическом исследовании

это проявляется отрицательной реакцией в нормальном эпителии [7].

Роль гена INK4a и белка p16^{INK4a} с точки зрения практической онкологии неоднозначна. Высокая частота инактивации белка p16^{INK4a} обнаружена во многих опухолях (лимфомы, рак поджелудочной и молочной железы, миелома, меланома, немелкоклеточный рак легкого). Поэтому закономерно, что поиски путей восстановления активности гена INK4a и продукции белка p16^{INK4a} являются одним из перспективных направлений в лечении опухолей методами генотерапии или с помощью технологии внутриклеточной доставки полноразмерных белков или их функциональных фрагментов с использованием интернализируемых пептидов [3]. При ВПЧ инфекции онкогенными типами вирусов ситуация с продукцией белка p16^{INK4a} и, соответственно, роль оценки его экспрессии иные. ВПЧ относятся к ДНК вирусам. ДНК вируса разделена на 3 функциональных региона: регулирующий транскрипцию вирусных генов (LCR), кодирующий белки репликации вируса (E), кодирующий белки вирусного капсида (L). Основными в канцерогенезе являются белки E1, E2, E6 и E7. Процессы опухолевой трансформации запускают белки E6 и E7. Они образуют комплексы с негативными регуляторами клеточного роста – p53 и Rb. Действие вирусного белка E7 приводит к разобщению комплекса E2F-Rb. В результате этого в клетках происходит усиленный синтез p16^{INK4a}, предназначенного для сдерживания пролиферативной активности. Однако в условиях отсутствия мишени для белка по механизму обратной связи продолжается усиленный его синтез, что приводит к картине гиперэкспрессии при проведении иммуногистохимической реакции [7].

Исследование экспрессии белка p16^{INK4a} наряду с вирусной E6/E7 мРНК на основании метаанализа рассматривается в ряде зарубежных работ как альтернатива ВПЧ тестированию [29].

В отечественной литературе публикации по проблеме использования иммуногистохимического исследования экспрессии белка p16^{INK4a} до настоящего времени немногочисленны и базируются на небольшом числе наблюдений. В одной из ранних публикаций [4] проведен анализ всего 7-ми случаев нормального цервикального эпителия на мазках, 3-х случаев дисплазий, 18 случаев инвазивного рака, 5 из которых были представлены аденокарциномами. Экспрессии p16^{INK4a} в образцах нормального эпителия не выявлено, тогда как при дисплазиях и раке шейки матки выявлена высокая частота значимой экспрессии белка. Изученное количество случаев не дает возможности какой-либо статистической оценки, но на описательном уровне авторы делают вывод о перспективности использования p16^{INK4a} как одного из

значимых маркеров цервикальных неоплазий. Поскольку p16^{INK4a} является ядерным белком, возникает закономерный вопрос о корректности оценки цитоплазматической экспрессии. В недавних работах отечественных исследователей на материале 15 образцов РШМ установлен ряд важных фактов [5]. Корреляций между количеством мРНК p16^{INK4a} и долей окрашенных клеток не выявлено. Транскрипционная активность p16^{INK4a} в раке с низким содержанием иммунопозитивных ядер была не ниже, а при попарных сравнениях во многих случаях выше, чем в образцах с высоким содержанием иммунопозитивных ядер. Такая же картина обнаружена при оценке цитоплазматической экспрессии как в образцах РШМ, так и в клеточных линиях. В совокупности с другими литературными данными сделан вывод о том, что учету подлежит не только реакция с наличием окрашенных ядер, но и исключительно цитоплазматическая. Установлено, что существуют ВПЧ-позитивные РШМ, в которых p16^{INK4a} отсутствует и соответствующий ген не транскрибируется, в связи с чем отрицательный результат иммуногистохимического окрашивания на p16^{INK4a} сам по себе не может быть критерием исключения пациенток из группы риска [5].

Заслуживающие пристального внимания данные опубликованы Г.А. Раскиным и соавт. [18]. Авторами проведено сравнительное исследование диагностики цервикальных неоплазий традиционным цитологическим методом, методом жидкостной цитологии в сочетании с иммуноцитохимическим исследованием белка p16^{INK4a} и ПЦР на вирусы высокого онкогенного риска. Из 199 исследованных случаев по результатам жидкостной цитологии в 38 выявлена легкая дисплазия (CIN I), в 22 - умеренная (CIN II), в 10 - тяжелая (CIN III), в 8 наблюдениях выявлено подозрение на плоскоклеточный рак *in situ*. При ПЦР анализе установлено, что при CIN III и карциноме *in situ* ВПЧ инфекция выявляется в 100% случаев, однако и при отсутствии дисплазии ее частота составляет 73%, отличаясь от CIN I только на 5%, а от CIN II – на 16%. Частота положительной реакции на p16^{INK4a} оказалась иной: в наблюдениях без дисплазии реакции не было ни в одном случае, при CIN I реакция позитивная в 16%, при CIN II – уже в 64%, при CIN III – 90%, при карциноме *in situ* реакция положительная в 100% наблюдений. В 3-х случаях CIN I с позитивной реакцией на p16^{INK4a} при последующем гистологическом исследовании был выявлен рак *in situ*, а в 2-х случаях CIN II также с положительной реакцией на p16^{INK4a} выявлен инвазивный рак. Полученные данные свидетельствуют о высокой диагностической значимости сочетания жидкостной цитологии и иммуноцитохимического исследования экс-

прессии белка p16^{INK4a}, что позволяет рекомендовать данную технологию в практику скрининга РШМ.

Использование иммуноцито/ иммуногистохимических методов при диагностике предраковых изменений и рака шейки матки не ограничивается только определением экспрессии белка p16^{INK4a}. Важным является определение пролиферативной активности клеток плоского эпителия и ее распределения в толще эпителиального пласта. Для этих целей в настоящее время наилучшим является использование реакции на белок Ki-67. Белок Ki-67 является ценным маркером клеточной пролиферации и широко используется в иммуногистохимической диагностике многих опухолей. При дифференциальной диагностике CIN и инвазивных карцином шейки матки он является вторым необходимым маркером наряду с определением экспрессии белка p16^{INK4a}. Экспрессия Ki-67 определяется в поздней G1, S, G2 и M фазах клеточного цикла, маркируя, таким образом, весь пролиферативный пул в составе тканей. Однако актуальным остается вопрос о количественных показателях, которые могли бы служить диагностическими и прогностическими критериями, а также связи с другими молекулярно-биологическими характеристиками неопластических клеток. Группой авторов из РОНЦ им. Н.Н. Блохина [11] на 52 случаях CIN различной степени изучена роль оценки экспрессии Ki-67, ангиогенного фермента – тимидин фосфорилазы, и индуцирующего апоптоз белка-онкосупрессора PTEN (Phosphatase and Tensin Homolog). Выявлена прямая зависимость индекса Ki-67 от степени CIN: в нормальном эпителии он не превышал 7%, по мере увеличения степени CIN происходило увеличение количества Ki-67-позитивных клеток: при CIN I до 18%, при CIN II до 57%, при CIN III до 87%. Уровень расположения Ki-67-позитивных клеток также прямо связан со степенью CIN. В норме они обнаруживаются только в базальном слое, при CIN I не выходят за пределы 1/3 толщины эпителиального пласта, при CIN II находятся в пределах его 1/2. Авторами установлена прямая корреляция и сходный характер локализации экспрессии Ki-67 и тимидин фосфорилазы. В нормальном эпителии, при CIN I и CIN II во всех клетках плоского эпителия выявлялась ядерная экспрессия PTEN, при CIN III в 15% случаев выявлена ее утрата. С персистенцией ВПЧ высокого онкогенного риска это явление не связано. Поэтому в отличие от экспрессии Ki-67 и тимидин фосфорилазы содержание PTEN пока не является надежным маркером степени неоплазии, хотя его утрата может быть связана с потенциальным утяжелением CIN до преинвазивного и инвазивного рака.

Кинетика клеточной пролиферации и убыли клеток имеет прямое прогностическое значение для оценки темпа роста опухолей и достижения ими «критического» объема, с которым несовместима жизнь пациента. На ретроспективном материале 1048 случаев РШМ установлено прогностическое значение оценки клеточного роста и потерь клеточной массы при РШМ [6]. Индекс Ki-67 при этом оценен только у 80 больных. Повышение митотической активности коррелировало с распространенностью опухоли только при T₁ и объеме опухоли до 40 см³. С возрастом (после 60 лет) величина митотического индекса достоверно снижалась. Время удвоения массы опухолей колебалось от 32 до 2000 суток (в среднем 307 сут.), находясь в обратной зависимости с T стадией. Возраст больных и морфологическое строение опухоли на скорость роста опухоли не влияли. Увеличение размеров опухоли во всех случаях сопровождалось уменьшением клеточных потерь, они были достоверно меньшими в возрастной группе старше 60 лет и при высокой степени дифференцировки опухолей. При этом связи скорости роста опухолей с уровнем митотической активности не было. Авторами делается обоснованный вывод о прогностическом значении оценки не только пролиферативной активности, но и величины клеточных потерь.

Оценка пролиферативной активности по экспрессии белка Ki-67 имеет значение не только в дифференциальной диагностике цервикальных неоплазий, но и в качестве этапной оценки чувствительности к лучевой терапии. Данные литературы по этому поводу противоречивы. В работах отечественных авторов [13] установлено, что в процессе лучевой терапии происходит снижение индекса Ki-67 и ответ тем значительнее, чем ниже были исходные показатели индекса. При начальной величине 42,3% снижение в процессе лечения с первичным клиническим излечением произошло до 20,5%, тогда как при отсутствии эффекта от лучевой терапии показатели индекса Ki-67 составили до лечения в среднем 69,9%, после него – 56,0%. Неоднозначность литературных данных свидетельствует о необходимости продолжения исследований в области поиска маркеров ответа на лучевую терапию и химиотерапию рака шейки матки.

Анализ современного состояния проблемы ранней диагностики предраковых изменений и рака шейки матки в связи с ВПЧ инфекцией показывает, что идеология и основные организационные вопросы имеют относительно согласованное решение. Однако рекомендации ВОЗ не являются догмой, так как в разных странах имеются существенные ресурсные отличия и особенности структуры здравоохранения. Важнейшим направ-

лением является внедрение современных диагностических методов, таких как жидкостная цитология, автоматизированные системы анализа, иммуноцитохимических методов, основанных на современных знаниях о РШМ и ВПЧ инфекции [24]. Естественно, что их внедрение требует продолжения исследований на большом количестве наблюдений. Самым важным и до сих пор открытым является вопрос прогноза выявленных предраковых изменений, точное определение вероятности перехода в преинвазивный и инвазивный рак.

Работа выполнена по проекту, выполняемому вузом в рамках государственного задания на оказание услуг (выполнение работ), рег. № 629632011.

ЛИТЕРАТУРА

- Бахидзе Е.В., Лавринович О.Е., Чепик О.Ф., Киселев О.И. Вирус папилломы человека и лимфогенное метастазирование плоскоклеточного рака шейки матки // Вопросы онкологии. – 2011. – Т. 57. – № 3. – С. 318 – 321.
- Бахидзе Е.В., Лавринович О.Е., Чепик О.Ф. [и др.]. Прогностическое значение теста на ДНК вируса папилломы человека при хирургическом лечении плоскоклеточного рака шейки матки // Вопросы онкологии. – 2012. – Т. 58. – № 2. – С. 233 – 237.
- Боженко В.К., Кулинич Т.М., Иванов А.В. [и др.]. Исследование влияния интернализируемого пептида p16INK4a на краткосрочные культуры опухолей человека // Вопросы онкологии. – 2009. – Т. 55. – № 4. – С. 451 – 454.
- Волгарева Г.М., Завалишина Л.Э., Франк Г.А. [и др.]. Экспрессия белкового маркера p16INK4a в раке шейки матки // Архив патологии. – 2002. – Т. 64, № 1. – С. 22 – 24.
- Волгарева Г.М., Завалишина Л.Э., Андреева Ю.Ю. [и др.]. Гиперэкспрессия клеточного белка p16INK4A в эпителиальных злокачественных опухолях, индуцированных вирусами папиллом человека // Архив патологии. – 2008. – Т. 70, № 5. – С. 57 – 61.
- Жаринов Г.М., Пожарисский К.М., Винокуров В.Л. [и др.]. Некоторые кинетические характеристики рака шейки матки // Вопросы онкологии. – 2009. – Т. 55, № 2. – С. 196 – 200.
- Имянитов Е.Н., Хансон К.П. Молекулярная онкология: клинические аспекты. – СПб, Издательский дом СПбМАПО, 2007. – 211 с.
- Кезик В. Скрининг рака шейки матки // Практическая онкология. – 2009. – Т. 10, № 2. – С. 59 – 61.
- Кисилева В.И., Крикунова Л.И., Любина Л.В. [и др.]. Инфицирование вирусом папилломы человека высокого канцерогенного риска и прогноз рака шейки матки // Вопросы онкологии. – 2010. – Т. 56, № 2. – С. 185 – 190.
- Кондриков Н.И. Патология матки. – М.: Практическая медицина, 2008. – 334 с.
- Короленкова Л.И., Степанова Е.В., Ермилова В.Д. [и др.]. Экспрессия Ki-67, тимидин фосфорилазы (ТФ) и PTEN в интраэпителиальных неоплазиях шейки матки // Вопросы онкологии. – 2011. – Т. 57, № 2. – С. 199 – 203.
- Короленкова Л.И. Роль ВПЧ-тестирования методом гибридизационного захвата (Hybrid Capture 2) в оценке эффективности органосохраняющего лечения тяжелых интраэпителиальных неоплазий, преинвазивного и микроинвазивного рака шейки матки // Вопросы онкологии. – 2011. – Т. 57, № 3. – С. 322 – 326.
- Кузнецова М.Е., Пожарисский К.М., Винокуров В.Л. [и др.]. Экспрессия Ki-767 как показатель эффективности лучевой терапии и исхода плоскоклеточного местнораспространенного рака шейки матки (иммуногистохимическое исследование) // Вопросы онкологии. – 2007. – Т. 53, № 2. – С. 175 – 180.
- Мерабишвили В.М., Лалианци Э.И., Субботина О.Ю. Рак шейки матки: заболеваемость, смертность (популяционное исследование) // Вопросы онкологии. – 2012. – Т. 58, № 1. – С. 41 – 44.
- Михетько А.А. Рак шейки матки в республике Карелия. Эпидемиология и скрининг // Вопросы онкологии. – 2010. – Т. 56, № 6. – С. 660 – 663.
- Новик В.И. Скрининг рака шейки матки // Практическая онкология. – 2010. – Т. 11. – 32. – С. 66 – 73.
- Новик В.И. Верификация цитологического диагноза карциномы in situ шейки матки при расхождении его с гистологическими данными // Вопросы онкологии. – 2012. – Т. 58, № 2. – С. 227 – 232.
- Раскин Г.А., Петров С.В., Орлова Р.В. [и др.]. Эффективность использования жидкостной цитологии в сочетании с иммуноцитохимическим исследованием p16ink4a в сравнении с традиционной цитологией и ПЦР-анализом ВПЧ высокого онкогенного риска в диагностике дисплазий и рака шейки матки // Вопросы онкологии. – 2009. – Т. 55, № 2. – С. 192 – 200.
- Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки: В помощь практическому врачу. – Изд. 2-е, испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 192 с.
- Титмуши Э., Адамс К. Шейка матки. Цитологический атлас /Пер. с англ. под ред. Н.И. Кондрикова. – М.: Практическая медицина, 2009. – 251 с.
- Чернобровкина А.Е. Важнейшие события в онкогинекологии: результаты к 2010 году и перспективы // Практическая онкология. – 2011. – Т. 12, № 1. – С. 43 – 48.
- Arends M., Wyllie A., Bird C. Yuman papillomavirus type 18 is associated with less apoptosis in fibroblast tumors than human papillomavirus type 16 // Brit. J. Cancer. – 1995. – Vol. 72. – P. 646 – 649.
- Armstrong C. Practice Guidelines. ACOG updates guidelines on cervical cytology screening // Amer. Fam. Physician. – 2010. – Vol. 81, N 11. – P. 1380 – 1385.
- Bibbo M., Wilbur D.C. Comprehensive cytopathology. – SAUNDERS Elsevier, 2008. – 1104 p.

25. *Cervical Cancer Screening*. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. – V.I.2010. www.nccn.org.
26. *Cervical cytology screening*. ACOG Practice Bulletin. – 2003. – N 45. – P. 417 – 427.
27. *Cibas E.S.* Cervical and vaginal cytology. Cytology. Diagnostic principles and clinical correlations. – SAUNDERS Elsevier, 2009. – P. 1 – 58.
28. *Cuschieri K.S., Cubie H.A., Whitley M.W. [et al.]*. Multiple high risk HPV infections are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population // *J. Clin. Pathol.* – 2004. – Vol. 57. – P. 68 – 72.
29. *Cuschieri K. S., Wentzensen N.* Human papillomavirus mRNA and p16 detections as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2008. – Vol. 17, N 10. – P. 2536 – 2545.
30. *Goldhaber-Fiebert J.D., Stout N.K., Salomon J.A. [et al.]*. Cost-effectiveness of cervical cancer screening with human papillomavirus DNA testing and HPV-16, 18 vaccination // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2008. – Vol. 100. – P. 308 – 320.
31. *Goldsmith M.R., Bankhead C.R., Kehoe S.T. [et al.]*. Information and cervical screening: a qualitative study of women's awareness, understanding and information need about HPV // *J. of Medical Screening.* – 2007. – Vol. 14, N 1. – P. 29 – 33.
32. *Jin X. W., Zanotti K., Yen-Lieberman B.* New cervical cancer screening strategy: combined Pap and HPV testing // *Cleveland Clinical J. of Medicine.* – 2005. – Vol. 72, N 2. – P. 141 – 148.
33. *Kelly R.S., Patnick J., Kitchener H.C. [et al.]*. HPV testing as a triage for borderline or mild dyskaryosis on cervical cytology: results from the sentinel sites study // *British J. of Cancer.* – 2011. – Vol. 105. – P. 983 – 989.
34. *Naucner P., Ryd W., Tornberg S. [et al.]*. Efficacy of HPV DNA testing with cytology triage and/or repeat HPV DNA testing in primary cervical cancer screening // *J. Natl. Cancer. Inst.* – 2009. – Vol. 101. – P. 88 – 99.
35. *NHS Cervical Screening Programme*. Annual Review, 2011 / www. Cancerscreening.nhs.uk
36. *Nobbenhuis M.A.E., Helmerhorst T.J.M., van den Brule A.J.C. [et al.]*. Primary screening for high risk HPV by home obtained cervicovaginal lavage is an alternative screening tool for unscreened women // *J. Clin. Pathol.* – 2002. – Vol. 55. – P. 435 – 439.
37. *Park J., Hwang E., Park S. [et al.]* Physical status and expression of HPV genes in cervical cancers // *Gynecol. Oncol.* – 1997. – Vol. 65. – P. 121 – 129.
38. *Rozendaal L., Westerga J., van der Linden J. C. [et al.]*. PCR based high risk HPV testing is superior to neural network based screening for predicting incident CIN III in women with normal cytology and borderline changes // *J. Clin. Pathol.* – 2000. – Vol. 53. – P. 606 – 611.
39. *Schwartz S., Daling J., Shera K. [et al.]* Human papillomavirus and prognosis of invasive cervical cancer: a population-based study // *J. Clin. Oncol.* – 2001. – Vol. 19. – P. 45 – 52.
40. *Sherman M. E., Lorinoz A. T., Scott D. R. [et al.]*. Baseline cytology, human papillomavirus testing, and risk for cervical neoplasia; a 10-year cohort analysis // *J. of Natl. Cancer Inst.* – 2003. – Vol. 95, № 1. – P. 46 – 52.
41. *Syrjanen K., Naud P., Derchain S. [et al.]*. Comparing PAP smear cytology, aided visual inspection, screening colposcopy, cervicography and HPV testing as optional screening tools in Latin America. Study design and baseline data of the LAMS study // *Anticancer Res.* – 2005. – Vol. 25. – P. 3469 – 3480.
42. *Zuna R.E., Allen R.A., Moore W.E. [et al.]* Distribution of HPV genotypes in 282 women with cervical lesions: evidence for three categories of intraepithelial lesions based on morphology and HPV type // *Modern Pathol.* – 2007. – Vol. 20. – P. 167 – 174.