

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки 06.04.01 Биология

Магистерская программа Биохимия

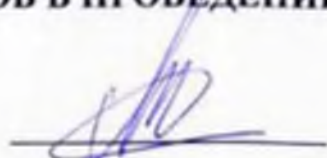
Форма обучения очная

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

на тему:

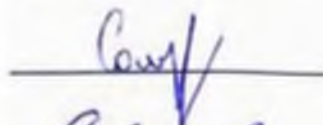
«СРАВНЕНИЕ ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ
МЕТОДОВ В ПРОВЕДЕНИИ ОНКОСКРИНИНГА»

Студент



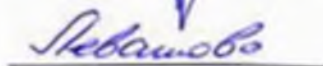
Абсулова Алсу Зюфьяревна

Руководитель



Солдатов С. А.

Рецензент



Левашова О. А.

Нормоконтролер



Клыченков С. В.

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от 21.05.25 № 12)

Заведующий кафедрой



Карпова Г. А.

Работа защищена с отметкой

отлично

(протокол заседания ГЭК от 27.06.25 № 1)

Секретарь ГЭК



Клыченков С. В.

Пенза, 2025

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	5
1.1 Этиология, патология и классификация рака шейки матки....	5
1.2 Место заболевания рака шейки матки в общей структуре онкозаболеваний.....	8
1.3 Рак шейки матки и вирус папилломы человека.....	11
1.4 Основные положения скрининга рака шейки матки.....	14
1.5 Обзор методов диагностики рака шейки матки.....	16
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	23
2.1 Материалы исследования.....	23
2.2 Методы исследования.....	23
2.2.1. Традиционный цитологический метод (Пап-тест).....	24
2.2.2. Метод жидкостной цитологии.....	32
2.2.3. Биохимические методы диагностики.....	34
2.2.4. Иммуноцитохимический метод.....	37
2.2.5. Метод ПЦР-диагностики ВПЧ.....	41
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	44
3.1. Результаты цитологических методов (Пап-тест, жидкостная цитология).....	44
3.2. Результаты биохимических и иммуноцитохимических методов исследования.....	55
3.3. Сравнительный анализ эффективности цитологических и биохимических методов исследования патологий шейки матки...	56
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	61
ВЫВОДЫ.....	63
ЛИТЕРАТУРА.....	66

ВВЕДЕНИЕ

Рак шейки матки является одной из наиболее распространенных форм онкологических заболеваний среди женщин во всем мире. По данным Всемирной организации здравоохранения, это заболевание занимает значительное место в структуре заболеваемости и смертности от рака, особенно в развивающихся странах, где доступ к современным методам диагностики и лечения ограничен [9, 30, 32].

Актуальность данной работы обусловлена необходимостью повышения эффективности ранней диагностики рака шейки матки, что, в свою очередь, может существенно улучшить прогнозы для пациенток и снизить уровень смертности от этого заболевания.

В условиях современного здравоохранения, где акцент делается на профилактику и раннее выявление заболеваний, исследование методов диагностики рака шейки матки становится особенно важным.

Целью нашей работы было провести всесторонний обзор существующих методов ранней диагностики рака шейки матки, с акцентом на сравнительный анализ цитологических и биохимических методов.

В связи с этим были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить этиология, патология и классификация рака шейки матки;
2. Изучить распространённость ВПЧ-ВКР и сопряжённой с ним патологии шейки матки среди организованных женщин репродуктивного возраста;
3. Рассмотреть цитологические методы диагностики патологии шейки матки (традиционная и жидкостная цитология);
4. Рассмотреть биохимические и иммуноцитохимические методы диагностики (SCC, CA 125);
5. Сравнить прогностическую ценность традиционного цитологического метода, жидкостной цитологии, биохимического и иммуноцитохимического метода исследования.

Интеграция методов диагностики, то есть синергия цитологических и биохимических подходов, будет рассмотрена как перспективное направление в диагностике рака шейки матки. Объединение этих методов может повысить общую точность диагностики и улучшить результаты лечения, что является важным аспектом для дальнейшего развития онкологической практики.

Таким образом, данная работа направлена на всестороннее освещение темы диагностики рака шейки матки, что позволит не только углубить понимание существующих методов, но и предложить новые подходы к их интеграции и применению в клинической практике.

Работа выполнена на базе в клинко-диагностической лаборатории ГБУЗ «Областное бюро судебно-медицинской экспертизы» в 2023-2025 гг. Но также в работе были использованы данные за 3 предыдущих года.

Магистерская диссертация составляет 71 страниц текста, содержит 23 рисунка и 3 таблицы, список литературы состоит из 41 источник русскоязычной и англоязычной литературы.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Этиология, патология и классификация рака шейки матки

Главное место среди женских патологий отводится заболеваниям шейки матки. Шейка матки — это нижний отдел матки, соединяющий её полость с влагалищем через цервикальный канал. Эта область играет ключевую роль в женской репродуктивной системе, обеспечивая менструальную функцию и вынашивание беременности. Любые патологические изменения в шейке матки требуют своевременной диагностики и лечения.

Спектр патологии, охватывающий тело и шейку матки, очень велик. Патологии шейки матки встречаются у женщин всех возрастов, включая пациенток репродуктивного периода. Каждое заболевание имеет специфические симптомы и причины развития.

Классификация патологий шейки матки:

- Инфекционно-воспалительные (цервициты, вызванные ИППП или условно-патогенной флорой);
- Фоновые заболевания (эрозии, эктопии, полипы);
- Предраковые состояния (дисплазия различной степени);
- Злокачественные опухоли (рак шейки матки);
- Аномалии развития (врождённые дефекты строения).

Рак шейки матки — это злокачественное новообразование, формирующееся из эпителиальных клеток влагалищной части шейки или цервикального канала [11]. Опухоль может иметь эндофитный (внутриканальный) характер роста (рис.1).

Стадирование рака шейки матки

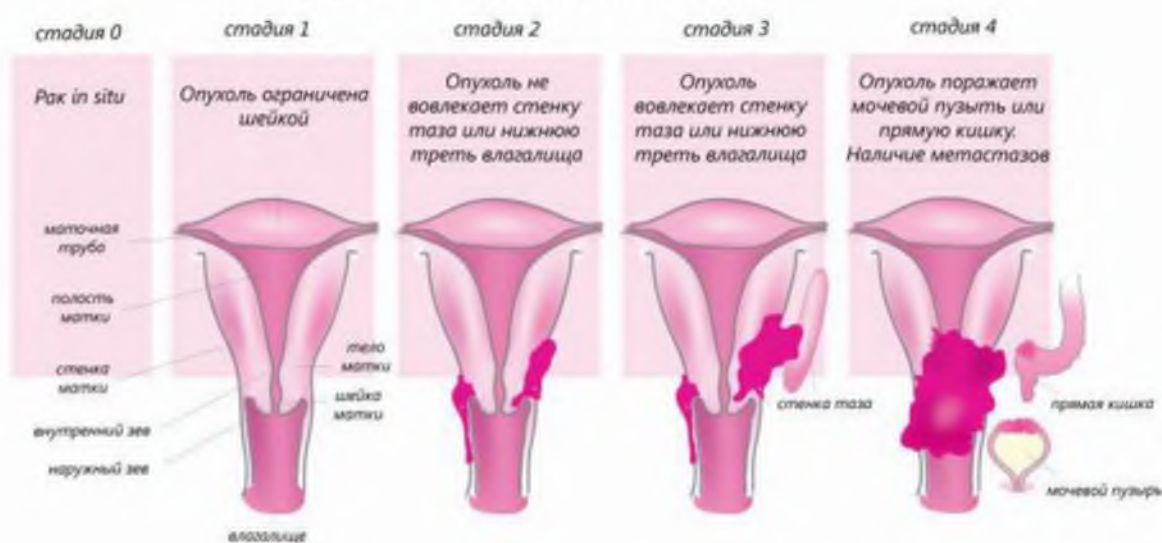


Рисунок 1. Стадии развития рака шейки матки

Развитие этого заболевания не связано с наличием известных наследственных синдромов. Причиной развития рака шейки матки является вирус папилломы человека (ВПЧ) [1,2,14]. Онкогенные подтипы ВПЧ 16/18 обнаруживаются у большинства больных раком шейки матки. В странах с высоким уровнем заболеваемости раком шейки матки, персистирующий ВПЧ встречается у 10-20% женщин, в то время как в странах с низким уровнем заболеваемости – только у 5-10% [14]. В качестве факторов риска развития данной патологии рассматриваются: раннее начало половой жизни и ранние первые роды, частая смена половых партнеров, отказ от контрацептивов «барьерного» типа, курение, применение оральных контрацептивов, иммуносупрессия [2]. Дискутируется вопрос о влиянии различных инфекций, передаваемых половым путем.

Согласно Международной гистологической классификации Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), 4-ое издание, 2014 неоплазии из плоского эпителия (плоскоклеточные интраэпителиальные поражения – SIL) подразделяют на: внутриэпителиальное поражение плоского эпителия легкой

степени (LSIL); внутриэпителиальное поражение плоского эпителия тяжелой степени (HSIL) [40].

Гистологическая градация тяжести поражения зависит от количества и расположения незрелых недифференцированных клеток в эпителиальном пласте – его стратификации.

- CIN I – недифференцированные клетки занимают нижнюю треть эпителиального пласта.
- CIN II – незрелые клетки занимают нижние две трети толщины эпителия;
- CIN III (включают тяжелую дисплазию и преинвазивный рак) – незрелые аномальные клетки занимают более чем две трети толщи эпителиального пласта или всю его толщину, но инвазия в подлежащую строму отсутствует.

Степени прогрессирования дисплазии шейки матки можно рассмотреть на рисунке 2.



Рисунок 2. Степени прогрессирования патологии шейки матки

В настоящее время общепринятой цитологической классификацией заболеваний шейки матки является классификация Бетесда (Terminology Bethesda System, 2014) [37].

Основные категории классификации Bethesda:

- NILM (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy) – отсутствие интраэпителиальных поражений и злокачественных изменений. Результат в норме;
- LSIL (Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion) – слабовыраженные изменения плоского эпителия низкой степени. Включает: признаки ВПЧ-инфекции, лёгкую дисплазию (CIN I). Риск озлокачествления минимален;
- HSIL (High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion) – выраженные изменения плоского эпителия высокой степени. Включает: умеренную (CIN II) и тяжёлую дисплазию (CIN III);
- Карциному in situ (CIS). Требуется срочного дообследования и лечения из-за высокого риска рака.

1.2 Место заболевания рака шейки матки в общей структуре онкозаболеваний

Рак шейки матки занимает особое место среди онкологических заболеваний, поскольку представляет собой одну из немногих форм рака, которую можно полностью искоренить в масштабах популяции. Это возможно благодаря комплексному применению профилактических мер (включая вакцинацию и скрининговые программы), а также раннему выявлению и адекватному лечению патологии.

Однако, несмотря на значительные достижения в изучении этиологии и патогенеза этого заболевания, разработку эффективных методов ранней диагностики и современных подходов к терапии, ситуация с заболеваемостью остается тревожной. Согласно статистическим данным за 2018 год, в Российской Федерации было зарегистрировано более 17,5 тысяч новых случаев злокачественных новообразований шейки матки, при этом более 6 тысяч пациенток скончались от этого заболевания. Эти цифры

свидетельствуют о необходимости совершенствования существующих профилактических и диагностических программ. [8, 10].

По данным GLOBOCAN, заболеваемость раком шейки матки в России и Европе выглядит следующим образом немого по разному.

В 2020 году в РФ были зарегистрированы следующие показатели: заболеваемость раком шейки матки составила 14,1 на 100 тыс. населения, тогда как смертность 6,1 на 100 тыс. населения. В Европе эти данные отличны: заболеваемость – 10,1 на 100 тыс. населения, а смертность – 3,8 на 100 тыс. населения.

Российская Федерация занимает 36-е место по заболеваемости (14,1 на 100 тыс.) и 40-е по смертности (6,1 на 100 тыс.) среди 51 страны Европы. Показатели РФ выше среднеевропейских: заболеваемость на 40%, смертность на 60% [9].

Например Швейцария, демонстрирует один из лучших результатов в борьбе с раком шейки матки, там заболеваемость ниже в 4 раза (3,4), смертность — в 6 раз (1,0). [31].

Такое отставание России в борьбе с раком шейки матки связано, вероятно, с недостатками скрининга, поздней диагностикой и ограниченной доступностью современных методов лечения. Опыт стран-лидеров (например, Швейцарии) указывает на необходимость усиления профилактических программ, вакцинации от ВПЧ и повышения качества медицинской помощи.

В 2023 г. было выявлено 16 356 больных со злокачественными новообразованиями шейки матки, что на 5,5% больше, чем десятилетие назад, в 2013 г. (15 457 наблюдений). «Грубый» показатель заболеваемости в 2023 г. составил 20,89 на 100 тыс. женского населения. За 10 лет этот показатель вырос на 0,87, средний темп прироста составил около 4,2% в год. За этот же период времени стандартизованные показатели мало изменились: 14,2 в 2013 году и 14,09 в 2023 году [10].

По сравнению с другими злокачественными новообразованиями женской половой сферы (злокачественными новообразованиями тела матки, яичника) пик заболеваемости злокачественными новообразованиями шейки матки в 2023 г. определялся в более молодом возрасте 45-49 лет (38,46 на 100 тыс. соответствующего населения).

В 2023 г. от злокачественных новообразований шейки матки умерли 5711 женщин. В структуре причин онкологической смертности женщин злокачественные новообразования шейки матки в России занимают 10-е место (4,9%) [9].

Показатели смертности женщин от злокачественных новообразований шейки матки имеют тенденцию к снижению. В динамике за 10 лет «грубый» показатель смертности от злокачественных новообразований шейки матки снизился на 7,6% и составил в 2023 г. 7,29 на 100 тыс. женского населения, стандартизованный показатель смертности женщин от злокачественных новообразований шейки матки за этот же период снизился на 10,2% и составил 8,46 на 100 тыс. женского населения [16].

Наиболее высокое значение «грубого» показателя смертности в 2023 г. от злокачественных новообразований шейки матки отмечался в возрастной группе 75-79 лет – 17,51 и в группе 80-84 лет – 17,55 на 100 тыс. женского населения соответствующего возраста.

Анализ показывает снижение кумулятивного 10-летнего риска смерти от рака шейки матки на 0,07 пункта до уровня 0,48. Особый интерес представляют регионы с высокой долей ранней диагностики (I-II стадии) заболевания. В их числе – Костромская, Смоленская, Вологодская, Ростовская, Самарская, Пензенская, Саратовская, Ульяновская области, республики Мордовия, Удмуртия, Чувашия, а также Курганская, Амурская области и Забайкальский край. Среди них особенно выделяется Вологодская область, где показатели выявляемости на ранних стадиях достигают 81,1-93,5% на протяжении всего периода наблюдений. Эти успешные практики требуют детального изучения и возможного тиражирования. [19, 22].

Наихудшие показатели поздней диагностики рака шейки матки (рак III-IV стадии) зарегистрированы в следующих регионах:

- Республика Кабардино-Балкария (52,9% случаев)
- Челябинская область (51,2%)
- Республика Ингушетия (50%)
- Краснодарский край (49,9%)
- Астраханская область (49,6%)

Наиболее благополучная ситуация с ранним выявлением заболевания наблюдается в:

- Пензенской области (всего 10,6% запущенных случаев)
- Республике Марий Эл (13%)
- Вологодской области (13,7%)
- Амурской области (14,9%)
- Тамбовской области (15,2%)

Данные демонстрируют значительную региональную дифференциацию по уровню своевременной диагностики онкопатологии шейки матки. [9].

Однако в Пензенской области по данным ГБУЗ «Областное бюро судебно-медицинской экспертизы» с начала 2025 года установлено увеличение случаев тяжелых дисплазий в два раза.

Основным причинным фактором рака шейки матки являются вирусы папилломы человека (ВПЧ) высокого риска, которые также ассоциированы с другими аногенитальными видами рака. Более 99% случаев рака шейки матки у человека связаны с ВПЧ, передаваемыми половым путем [7].

1.3 Рак шейки матки и вирус папилломы человека

Вирус папилломы человека (ВПЧ) был впервые идентифицирован в 1956 году и относится к семейству паповавирусов (род А). На сегодняшний день науке известно свыше 600 разновидностей этого вируса, встречающихся у людей.

Генетический материал ВПЧ представлен кольцевой двуцепочечной ДНК, которая в процессе репликации кодирует 8-10 функциональных белков. Особенностью этих вирусов является их способность избирательно поражать эпителиальные ткани кожи и слизистых оболочек, вызывая их патологическое разрастание.

Примечательно, что, несмотря на детальное изучение ВПЧ, специфические рецепторы, обеспечивающие проникновение вируса в клетки эпителия, до сих пор не идентифицированы. Это остается одной из нерешенных задач в исследовании механизмов папилломавирусной инфекции. [2, 25, 35].

Среди взрослого населения наиболее распространенные пути передачи являются половой, включая различные виды сексуальных контактов и контактно-бытовой, то есть при тесном контакте, через кожу и слизистые. Так же мать может заразить ребенка вирусом папилломы человека несколькими способами: во время естественных родов при прохождении через инфицированные родовые пути; при аспирации (вдыхании) вагинального секрета. Интересно, что даже после кесарева сечения у детей иногда развивается папилломатоз дыхательных путей. Это доказывает возможность передачи вируса ещё во время беременности – через плаценту. Отмечен риск заразиться вирусом для медиков. Зафиксированы случаи, когда врачи заражались ВПЧ во время лазерного удаления папиллом у пациентов, с последующим развитием папилломатоза гортани и глаз.

Самоизлечение в случае попадания вируса может составлять 60-90% случаев. Иммунная система большинства здоровых людей справляется с вирусом самостоятельно в течение 6-12 месяцев после заражения. В таких случаях ВПЧ полностью выводится из организма без каких-либо последствий.

Персистенция вируса – (10-40% случаев). Если иммунитет не смог устранить инфекцию, особенно при заражении высокоонкогенными штаммами ВПЧ (16, 18, 31, 33, 45 и др.), возможно развитие патологических

процессов: возникновение цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) – предракового состояния шейки матки, постепенная прогрессия изменений от легкой дисплазии к тяжелой, а в отдаленной перспективе (5 – 15 лет) возможно развитие рака шейки матки [15, 33, 39].

Заражение ВПЧ долгие годы может протекать бессимптомно. Большую роль в установлении диагноза играют предраковые заболевания. К таким заболеваниям относят: гиперпластические процессы шейки матки, лейкоплакии, эрозии, дискератозы шейки матки.

Наиболее эффективным методом профилактики папилломавирусной инфекции является вакцинация. В настоящее время в мировой практике используются три типа вакцин:

- Бивалентная вакцина (Церварикс) – защищает от 16 и 18 типов ВПЧ;
- Квадривалентная вакцина (Гардасил-4) – обеспечивает защиту от 6, 11, 16 и 18 типов;
- Девятивалентная вакцина (Гардасил-9) – охватывает 9 онкогенных типов: 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 и 58 [2, 26].

Особенностью этих вакцин является наличие перекрестной защиты – способности формировать иммунный ответ против невакцинных штаммов вируса. Бивалентная вакцина вызывает выработку нейтрализующих антител (>50% серопозитивность) против дополнительных типов 31, 33, 45 и 52, квадривалентная вакцина формирует иммунный ответ против типов 31, 33 и 52. Примечательно, что уровень перекрестной защиты против невакцинных штаммов у бивалентной вакцины в 10 раз превышает аналогичный показатель у четырехвалентного препарата. Это подтверждено исследованиями уровня нейтрализующих антител у привитых пациентов. [26]. Есть данные, которые показывают, что при вакцинации титр антител против ВПЧ после вакцинации может сохраняться более 8 лет [26].

Уровень последствий после вакцинации, когда вакцинировано свыше 50% женского населения: распространенность инфекции ВПЧ 16, 18 типов снизилась на 64% после начала программы вакцинации у девочек моложе 20

лет. Кроме того, заболеваемость ВПЧ 31, 33 и 45 типов снизилась на 28% за счет перекрёстной защиты. 444 627 случаев рака шейки матки было предотвращено с помощью вакцинации. [33]

Вакцины можно также применять у мужчин с целью уменьшения у них риска развития половых кондилом и предраковых состояний, вызванных вирусом. Ожидается, что уменьшение частоты предраковых состояний уменьшит частоту заболеваемости раком полового члена и раком прямой кишки у мужчин [29].

Настороженность по поводу ВПЧ – инфекции и ассоциированных с ней заболеваний оправдана влиянием не только на женскую репродуктивную систему. В настоящее время список стран с вакцинацией против ВПЧ, включенной в национальный календарь профилактических прививок, расширяется. Опыт других стран демонстрирует, что в краткосрочной перспективе после проведения вакцинации с должным охватом населения снижается заболеваемость аногенитальными кондиломами, в среднесрочной – частота предраковых поражений, в долгосрочной – распространенность и заболеваемость раком шейки матки. Национальная программа вакцинации стартовала в Австралии в 2007 году. В группе вакцинированных не выявлено ни одного случая ВПЧ – ассоциированного рака, тогда как в группе без вакцинации выявлено 6 случаев новых случаев раком шейки матки, 1 случай рака вульвы, 1 случай орофарингеального рака, что говорит о приближающейся к 100% эффективности вакцинации [36].

1.4 Основные положения скрининга рака шейки матки

Скрининг рака шейки матки – периодическое, комплексное обследование женщин определенной возрастной группы в рамках специальной медицинской программы по профилактике и снижению заболеваемости и смертности от рака шейки матки [15].

Программа организованного цитологического скрининга рака шейки матки предусматривает:

1. Организацию активного привлечения женщин к цитологическому скринингу на основе использования популяционного регистра населения.
2. Сохранение существующих и создание новых смотровых кабинетов и централизованных цитологических лабораториях.
3. Осуществление двухступенчатого цитологического исследования мазков из шейки матки (1-й этап – цитотехнолог, 2-й этап – врач клинический цитолог/цитопатолог).
4. Передача информации о результатах обследования в территориальное координационное учреждение. Направление пациенток с выявленной патологией для дальнейшего онкологического/неонкологического обследования и лечения в профильные медицинские учреждения.
5. Обеспечение и контроль качества скрининговых цитологических исследований (внутрилабораторный, межлабораторный, региональный, федеральный).
6. Организация обучения и продолженного обучения врачей, биологов, медицинских технологов (врачей клинических цитологов/цитопатологов и цитотехнологов), занимающихся цитологическим скринингом, проведение контроля уровня знаний и навыков с выдачей удостоверения, подтверждающего квалификацию специалиста, участвующего в скрининге.

Возрастные группы женщин для проведения скрининга – 21 – 65 лет

Периодичность: в возрасте женщин 21 – 49 лет – 1 раз в 3 года, в возрасте 50 – 65 лет – 1 раз в 5 лет.

Клинические рекомендации для скрининга:

1. общий (клинический) анализ крови развернутый;
2. анализ крови биохимический общетерапевтический (общий белок, глюкоза, билирубин, креатинин, мочевины, железо, аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспаратаминотрансфераза (АСТ), билирубин общий,

лактатаминотрансфераза (ЛДГ), щелочная фосфатаза (ЩФ), электролиты плазмы (калий, натрий, хлор) с оценкой показателей функции печени, почек;

3. общий (клинический) анализ мочи;

4. коагулограмма (фибриноген, протромбин, МНО, протромбиновое время, протромбиновый индекс, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), тромбиновое время) [15,16].

В общем (клиническом) анализе крови развернутом целесообразна оценка следующих параметров – гемоглобин, гематокрит, эритроциты, средний объем эритроцитов, распределение эритроцитов по величине, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах, тромбоциты лейкоциты, лейкоцитарная формула, скорость оседания эритроцитов. В анализе крови биохимическом общетерапевтическом оцениваются показатели функции печени, почек.

В общем (клиническом) анализе мочи – определение цвета, прозрачности мочи, ее удельного веса, белка в моче, pH, глюкозы, кетоновых тел, уробилиногена, лейкоцитарной эстеразы, путем аппаратной микроскопии – клеток эпителия, эритроцитов, цилиндров, соли, слизи, бактерий и грибов [16].

В рамках исследования системы гемостаза оценивается коагулограмма, а по показаниям, дополнительно – антитромбин III, Д димер, плазминоген, % активности).

Рекомендуется исследование уровня антигена плоскоклеточного рака – SCC (при возможности) у всех пациенток с плоскоклеточным раком шейки матки и подозрением на него с целью оценки текущей клинической ситуации и дальнейшего течения заболевания. [15]

1.5 Обзор методов диагностики рака шейки матки

В Советском Союзе первые шаги по организации национальной программы профилактики рака шейки матки были сделаны в начале 1960-х

годов. Именно тогда впервые рассматривалась концепция массовых осмотров населения с обязательным цитологическим исследованием мазков с шейки матки. Практическая реализация этой программы началась в 1964 году. Тогда в Ленинградской области впервые начали применять цитологический метод при проведении массовых профилактических осмотров по инициативе специалистов Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена. При поддержке Министерства здравоохранения СССР была создана первая экспериментальная цитологическая лаборатория в городе Калинин (ныне Тверь). Эти мероприятия заложили основу для развития системы онкологического скрининга в стране. [15].

Результаты внедрения системы профилактических осмотров с цитологическим исследованием в Калининской области продемонстрировали значимую эпидемиологическую эффективность. За период с 1965 по 1974 год стандартизированный показатель заболеваемости раком шейки матки снизился с 25,6 до 21,1 на 100 тыс. женского населения ($p < 0,05$), что свидетельствует о положительном влиянии скрининговых мероприятий. После, 30 декабря 1976 года Министерством здравоохранения СССР был издан приказ №1253, регламентирующий универсальный охват скринингом женского населения старше 30 лет (вне зависимости от наличия жалоб или визуальных изменений) и стандартизацию цитологической диагностики через создание централизованных цитологических лабораторий (ЦЦЛ).

Организационная модель централизованных цитологических лабораторий предусматривала их размещение на базе многопрофильных лечебных учреждений, при крупных стационарах и поликлиниках городского и районного уровней, а так же внедрение в структуру онкологических диспансеров.

Реализация указанных мер способствовала формированию многоуровневой системы цитологического скрининга, которая обеспечивала широкий охват женского населения профилактическими осмотрами,

централизованный контроль качества лабораторной диагностики и стандартизацию методов исследования.

Такая модель организации скрининговых мероприятий демонстрировала соответствие лучшим мировым практикам 1970-х годов в области профилактики онкогинекологических заболеваний.

Особенностью советской системы являлось сочетание всеобщего характера обследований (обязательный охват целевых групп), научно обоснованного подхода к диагностике, четкой этапности проведения исследований, единых стандартов интерпретации результатов.

Подобная интеграция массовости и централизации позволяла одновременно решать задачи как эпидемиологического мониторинга, так и индивидуальной ранней диагностики патологических изменений шейки матки. [17].

В задачи ЦЦЛ входило проведение цитологических исследований для выявления злокачественных новообразований (в диагностических и профилактических целях), включающих исследования мазков из шейки матки при профилактических осмотрах (скрининге), поступающих из смотровых кабинетов. Цитологический метод играет ведущую роль в диагностике заболеваний шейки матки и используется как скрининговый в выявлении предраковых поражениях во многих странах[6].

Для получения мазков были организованы смотровые кабинеты (в основном при поликлиниках), в которых брали материал из шейки матки специально обученные акушерки. Недостатками системы было то, что мазки получали только при обращении женщины в поликлинику или при профилактических осмотрах по месту работы, без активного привлечения женщин к организованному скринингу, а также отсутствие стандартизованных приспособлений для получения мазков. Однако благодаря тому, что скрининговые интервалы составляли 1 год, любое обращение женщины в поликлинику по поводу любого заболевания с выдачей «больничного листа», оформления санаторно-курортной карты,

приеме на работу, ежегодной диспансеризации по месту работы в большинстве учреждений приводило ее в смотровой кабинет, где обязательно обследовали шейку в зеркалах и брали цитологические мазки. Мазки направляли в ЦЦЛ или в цитологические лаборатории при лечебных учреждениях. В каждой ЦЦЛ существовала картотека: учет и анализ результатов дальнейшего обследования осуществляли с помощью «сигнальных карт», которые заполняли на каждую женщину с выявленной при цитологическом исследовании патологией. Критериями оценки эффективности скрининга являлись снижение показателей заболеваемости и особенно смертности от рака шейки матки, а также изменение структуры заболеваемости за счет увеличения доли выявляемого количества ранних стадий рака и уменьшения запущенных форм. Благодаря вышеперечисленным организационным мерам заболеваемость раком шейки матки в СССР за 25 лет (с 1965 по 1989 гг.) снизилась на 53,1% [17], а в некоторых регионах были достигнуты еще лучшие результаты. Так, при организованном и контролируемом скрининге, проводимом в системе медицинских учреждений Октябрьской железной дороги за 20 лет (с 1965 по 1984 гг.), заболеваемость инвазивным раком шейки матки снизилась с 31,6 до 8,13 на 100 тыс. обследованных женщин (на 74,3%); такое же снижение отмечено и в показателях смертности от рака шейки матки [18].

Комплексный подход к ранней диагностике рака шейки матки включает в себя использование как цитологических, так и биохимических методов.

Важность цитологического скрининга позволяет ставить вопрос о более широком и активном внедрении более дорогостоящих методов исследования клеточного материала шейки матки, таких как молекулярные методы, иммуноцитохимические исследования и жидкостная цитология (ЖЦ).

В 1998–2002 гг. в рамках программы INCO-COPERNICUS выполнено многоцентровое исследование по изучению возможностей цитологического

исследования мазков из шейки матки с использованием молекулярных исследований [18].

В рамках исследования, проведенного в шести медицинских центрах России, Беларуси и Латвии с участием 3 175 женщин, были получены следующие данные:

Распространенность ВПЧ высокого риска: Метод Hybrid Capture II выявил ВПЧ у 33% обследованных, наибольшая частота инфицирования (44%) зарегистрирована у пациенток с ИППП, а наименьшая (21%) – в группе профилактического скрининга [1, 18].

Сравнительный анализ методов диагностики. Конкордантность цитологии и ВПЧ исследования варьировала в зависимости от степени поражения:

- 54,6% - при реактивных изменениях
- 84,6-100% - при дисплазии II-III степени
- 87,5% - при раке шейки матки

Цитологическое исследование показало более высокую специфичность (77-89%) по сравнению с ВПЧ тестированием (16-28%).

В связи с этим была сформирована оптимальная диагностическая стратегия – комбинированное использование Пап-теста (при выявлении LSIL) и метода ВПЧ исследования, что позволило достичь максимальной специфичности диагностики (98,7%; 95% ДИ 98,3-99,0)

В 1993–1994 годах p16ink4a белок был независимо открыт несколькими научными группами как ингибитор циклин-зависимых киназ (CDK4 и CDK6), которые регулируют переход клетки из G1-фазы в S-фазу клеточного цикла [1].

Примерно в 1994–1996 годах было обнаружено, что ген CDKN2A, кодирующий p16ink4a часто делетирован, мутирован или гиперметилован в различных опухолях, включая: меланому, рак поджелудочной железы, глиомы и рак шейки матки.

Позже данный белок стал рассматриваться не только как опухолевый супрессор, но и как прогностический маркер в онкологии.

Комплексное исследование шейки матки, позволяет одновременно проводить цитологическое исследование методом жидкостной цитологии и иммуноцитохимическое исследование онкомаркера p16ink4a для определения биологического потенциала диспластических изменений в эпителии шейки матки. Он участвует в опосредованном через белок ретинобластомы (pRB) контроле перехода клетки из фазы G1 в фазу S, подавляет опухолевый рост; повышенная экспрессия p16ink4a может запускать остановку цикла клеточного деления.

Многие виды опухолей характеризуются инактивацией гена p16ink4a, что приводит к нарушению регуляции клеточного цикла и бесконтрольной пролиферации клеток. Но в опухолях, связанных с трансформирующим действием ВПЧ, отмечается увеличение экспрессии данного белка. Это может являться биомаркером инициации канцерогенеза в эпителии шейки матки. [34].

Тест определяет клинически значимую концентрацию вируса, которая характеризует угрожающий уровень инфекции, приводящий к развитию неоплазии шейки матки, в тоже время, например, ПЦР - исследование определяет только наличие вируса вне зависимости от его клинического проявления. Данный тест обеспечивает качественную детекцию 14 высокоонкогенных типов ВПЧ, а также генотипирование ВПЧ 16 и 18 типов в этом же анализе. Показана корреляция между степенью тяжести плоскоклеточных интраэпителиальных поражений и наличием ВПЧ высокоонкогенных типов – чувствительность тест-системы Cobas составила 90,6 %, Digene-теста – 86,1 %, специфичность – 92,9 % и 91,8 % соответственно.

Метилирование генов человека тесно связано с развитием цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) и рака. Около 20 генов были зарегистрированы в различных исследованиях, и приблизительно 10

генов имеют повышенный уровень метилирования при раке шейки матки и CIN (CIN2 и CIN3), наиболее заметно CADM1, EPB41L3, FAM19A4, MAL, микроРНК-124, Pax1 и Sox1. Количественные тесты метилирования могут быть полезны при прогнозировании CIN2 и CIN3, которые могут прогрессировать в рак [35]. Определение уровней экспрессии СУРВИВИНА, и BCL-2, и KAI1. Доказана связь между экспрессией данных белковых молекул и развитием рака шейки матки, а также с метастазированием [41].

МикроРНК представляют собой перспективные биомаркеры для прогнозирования исхода заболевания при раке шейки матки. Изменения в экспрессии определенных микроРНК отражают активность вирусных онкогенов E6 и E7: повышение уровней miR-16, miR-25, miR-92a и miR-378, а также снижение miR-22, miR-27a, miR-29a и miR-100 коррелируют с онкогенной трансформацией клеток. Особый диагностический потенциал имеет соотношение miR-25/92a к miR-22/29a: значение $\geq 1,5$ может служить важным дифференциальным критерием, позволяющим различать нормальную ткань шейки матки, цервикальную интраэпителиальную неоплазию (CIN) и инвазивный рак. Эти молекулярные изменения отражают ключевые этапы канцерогенеза и могут быть использованы для разработки более точных методов диагностики и прогнозирования течения заболевания[35].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы исследования

Исследования проводились в течение 2 лет (2023-2025 гг.) на базе клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ «Областное бюро судебно-медицинской экспертизы». Объектом нашего исследования стали результаты цитологических и биохимических проб, взятых у женщин в возрасте от 20 до 84 лет, проходивших обследование на наличие патологических изменений в структуре тканей шейки матки в районах Пензенской области и государственных поликлиниках г. Пензы.

Всего было обработано 14 653 образца, из них 6 130 методом традиционной цитологии, 8 523 – методом жидкостной цитологии. В 407 образцах были выявлены патологии шейки матки разной степени.

Далее нами была сформирована выборка из 12 пациенток, которым было проведено комплексное исследование по всем имеющимся методам диагностики.

В ходе исследования мы использовали несколько методов которые можно разделить на биохимические и цитологические, которые включают: традиционный цитологический метод, метод жидкостной цитологии, и иммуноцитохимический анализ.

2.2. Методы исследования

В ходе исследования мы использовали несколько методов которые можно разделить на биохимические и цитологические: традиционный цитологический метод, метод жидкостной цитологии, и иммуноцитохимический анализ [3, 4, 20, 23, 24].

Для каждого метода оценивалось качество полученных результатов.

Данные о качестве методов заносятся в таблицу Excel и анализируются по нескольким критериям: инвазивность, чувствительность, специфичность, уровень достоверности доказательств, возможность использования для ранней диагностики.

2.2.1. Традиционный цитологический метод (Пап-тест)

Метод Папаниколау представляет собой специально разработанную цитологическую методику, обеспечивающую высокую диагностическую точность при оценке состояния эпителия при диспластических изменениях. В ходе исследования анализируются стеклянные препараты, содержащие клеточный материал, полученный при соскобе с поверхности эндоцервикального канала и влагалищной части шейки матки. Процедура забора биоматериала проводится в амбулаторных условиях, после чего подготовленные микропрепараты герметизируются и транспортируются в цитологическую лабораторию для последующего микроскопического анализа. Данная методика позволяет с высокой степенью достоверности выявлять патологические изменения клеточных структур на ранних стадиях развития патологического процесса.

Требования к забору цитологического материала. Правила подготовки пациентки к исследованию:

1. Оптимальные сроки забора. Плановый профилактический осмотр рекомендуется проводить между 10-20 днями менструального цикла. Минимальный интервал после начала цикла – 5 дней. Необходимо исключить: половые контакты за 48 часов до процедуры, использование вагинальных препаратов, спермицидов, лубрикантов, спринцевания. Исключение: при визуально определяемой патологии шейки матки мазок берется немедленно независимо от перечисленных факторов.

2. Последовательность процедур. Цитологическое исследование выполняется первым этапом, только после взятия мазка проводятся. Расширенная кольпоскопия или бимануальное исследование.

3. Условия проведения. Допускается только в условиях медицинского учреждения. Обязательное использование гинекологического кресла. Категорически запрещено: взятие мазков на дому, использование непредназначенных для этого инструментов, проведение процедуры без специального оборудования.

4. Требования к материалу. Для получения информативных цитологических препаратов необходимо соблюдать ряд важных требований к технике забора материала.

В первую очередь мазки должны быть достаточно тонкими, без избыточного наслоения клеток. Перед взятием материала необходимо аккуратно удалить слизь, которая, не имея диагностической ценности, существенно снижает качество препарата. Идеальный мазок представляет собой "сухой" образец с чистой клеточной популяцией, лишенный слизистых примесей, остатков лекарственных препаратов и других артефактов. Что касается крови, то ее умеренное присутствие в препарате допустимо и может даже свидетельствовать о хорошей эксфолиации клеток, однако избыточное количество крови делает мазок неинформативным. Основными причинами появления крови в препарате могут быть: технические ошибки при слишком грубом взятии материала; проведение процедуры во время менструации, когда в образец попадает большое количество крови, макрофагов, лейкоцитов и фрагментов дегенерированного эндометрия; наличие эктопии цилиндрического эпителия на экзоцервиксе, который легко травмируется при заборе; либо опухолевый процесс, характеризующийся повышенной васкуляризацией и некротическими изменениями, что приводит к попаданию в мазок крови, некротических масс и воспалительных элементов. Крайне важно использовать для забора материала только специальные современные цитощетки - применение пальца или других непредназначенных для этого

приспособлений недопустимо. В случаях явного нарушения методики забора цитолог вправе классифицировать такой препарат как неадекватный и назначить повторное исследование. Материал необходимо брать отдельно.

А) Экзоцервикс (влагиальная часть шейки матки). Техника забора цитологического материала требует использования специальной загнутой цитощетки. Перед процедурой необходимо тщательно очистить поверхность шейки матки от слизи и других выделений. Цитощеткой последовательно обрабатывают все участки экзоцервикса, применяя умеренное давление для обеспечения качественного взятия клеточного материала. Полученный образец наносят на предметное стекло, располагая мазок горизонтально - параллельно анатомическому положению шейки матки. Важно размещать материал между зоной маркировки и мазком из цервикального канала, соблюдая четкие границы между разными образцами. Такая методика обеспечивает оптимальное распределение клеток для последующего микроскопического исследования.

Б) Эндоцервикс (цервикальный канал). Отдельно производится забор материала прямой цитощеткой из глубины эндоцервикса. Техника выполнения включает 2-3 полных оборота щетки по часовой стрелке и обратно для полноценного получения клеточного материала. Полученный образец наносится на предметное стекло вертикально – в соответствии с анатомическим направлением цервикального канала. При этом важно распределять материал тонким равномерным слоем, осторожно прокручивая щетку со всех сторон. Особое внимание уделяется тому, чтобы на стекло попадали именно клетки эпителия, а не слизистая пробка канала, так как диагностическую ценность представляют именно клеточные элементы, а не слизистый компонент.

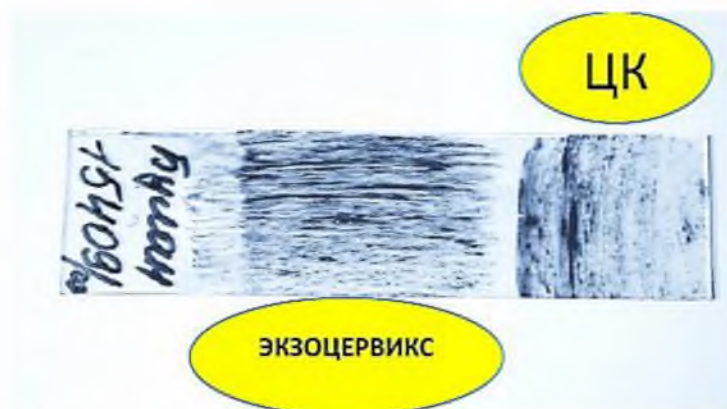


Рисунок 2. Правильно нанесенный мазок на стекло для традиционного метода исследования

Допускается отсутствие материала из этой локализации при глубокой менопаузе в связи с атрезией просвета канала, а также при полном отсутствии шейки матки.

Отдельно производится забор из патологических очагов влагалища, что указывается в бланке направления.

У женщин с надвлагалищной (вместе с шейкой) экстирпацией матки забор производится из купола культи влагалища, а также из видимых патологических очагов на его стенках.

Метод окрашивания по Папаниколау представляет собой многоступенчатую цитологическую методику, включающую дифференцированное окрашивание клеточных структур. Технология предполагает последовательное применение трех основных красителей: гематоксилина (или краски Папаниколау-1) для визуализации ядерных структур, а также двух контрастных цитоплазматических красителей - оранжевого G (Папаниколау-2, OG) и эозинового комплекса (Папаниколау-3, EA). Краситель OG представляет собой комбинацию оранжевого G с фосфорновольфрамовой или уксусной кислотой в спиртовом растворе.

Процесс окрашивания включает четыре ключевых этапа:

1. Первичную влажную фиксацию клеточного материала;
2. Ядерное окрашивание гематоксилином;

3. Контрастное дифференцированное окрашивание цитоплазматических компонентов последовательным применением OG и EA;

4. Заключительные этапы просветления и монтирования препарата под покровное стекло.

Данная методика обеспечивает четкую дифференциацию клеточных структур за счет избирательного окрашивания ядерных и цитоплазматических компонентов, что имеет принципиальное значение для точной цитологической диагностики.

Методика окрашивания по Папаниколау включает не только основные, но и дополнительные технологические этапы, такие как гидратация и дегидратация образцов, дифференцировка красителя, отсинивание ядер, а также многократные промывки и ополаскивания препаратов. Существуют различные модификации этого метода, которые могут несколько изменять цветовую гамму и интенсивность окрашивания клеточных структур – ядер и цитоплазмы. Выбор конкретной модификации в основном определяется сложившейся практикой и предпочтениями специалистов конкретного лечебного учреждения.

Особого внимания заслуживает краска EA, конечный эффект которой зависит от состава, предлагаемого разными производителями. Она может придавать цитоплазме как зеленоватый оттенок, так и сине-зеленый, приближающийся к чистому синему цвету. С диагностической точки зрения, оптимальным считается зеленое окрашивание цитоплазмы, поскольку оно создает наилучший контраст для визуализации структуры хроматина в ядрах клеток, что существенно облегчает микроскопическую оценку препаратов. Эти нюансы окрашивания имеют важное значение для точности цитологической диагностики.

В прогрессивной окраске по Папаниколау можно выделить следующие стадии:

1. Влажная фиксация. Препараты фиксируют немедленно после нанесения материала на стекло, используя этанол, изопропанол или спреи на

основе этанола и полиэтиленгликоля. Это позволяет сохранить исходную морфологию тканей независимо от взаимного расположения клеток, наличия слизи, частичного высыхания препарата.

2.Подготовка к окрашиванию. Производится гидратация препаратов (насыщение водой), для спрей-фиксированных образцов производится удаление полиэтиленгликолевой пленки. При промывке водопроводной водой рекомендуется заключительное ополаскивание в подкисленном дистиллированной воде (~0,5% раствор уксусной кислоты) для поддержания работоспособности гематоксилина и предотвращения его перехода в нерастворимое состояние в щелочной среде.

3.Ядерное окрашивание. Используют прогрессивный гематоксилин (например, по Гиллу 1, 2). Время окрашивания: ~2 минуты (зависит от конкретного красителя).

Интерпретация результатов: ядра окрашиваются в темно-красный цвет, цитоплазма окрашивается слабо.

4.Отсинивание. Проводят в водопроводной воде ($\text{pH} \geq 5$), специальных растворах ($\text{pH} > 7$). Время обработки: ~2 минуты. Интерпретация результатов: ядра приобретают темно-синий цвет. Окраска становится нерастворимой в нейтральной среде.

5.Цитоплазматическое окрашивание OG.

Особенности красителя состоят том, что он имеет маленький размер молекул и быстро проникает даже в многослойные скопления клеток. Важно избегать передержки, так как интенсивность окрашивания OG влияет на последующее окрашивание EA.

6. Цитоплазматическое окрашивание EA. Производится быстрое окрашивание эозином (розовый цвет) всех клеток, кроме кератинизированных. А далее постепенное замещение эозина на зеленый краситель (кроме зрелых клеток плоского эпителия). Интерпретация результатов: кератинизированные клетки – оранжевые, зрелые клетки плоского эпителия – розовые, незрелые/базальные клетки - сине-зеленые.

Дифференцировка клеток обеспечивается фосфорновольфрамовой кислотой, возможен осадок красителя (зеленоватый фон). Кратковременная промывка (5-10 сек) улучшает прозрачность препарата (метод PAP-DIFF).

7. Заключительная обработка препарата. Далее проводят окончательную дегидратацию и просветление используя ксилол или его современные заменители. После производят монтирование под покровное стекло. При этом применяют специальную заключающую среду, которая образует постоянную связь между стеклами, должна быть химически совместима с просветляющим агентом. Рекомендуется низковязкая формула для минимизации образования воздушных пузырей.

Технические нюансы:

1. Тщательно удаляют излишки монтирующей среды;
2. Обязательно устраняют образовавшиеся воздушные пузыри;
3. Исключают контакт дозатора с образцом для предотвращения перекрестного загрязнения;
4. Поддерживают постоянную влажность клеточного материала для избежания появления артефактов и образования характерных коричневых включений ("кукурузоподобных" дефектов).

Ключевые требования. Процесс заключения требует особой аккуратности и соблюдения всех технологических этапов для обеспечения долговечности препарата, оптимальной прозрачности, сохранности клеточных структур, минимизации артефактов. Поэтапное формирование цвета при окрашивании мазков по Папаниколау представлен на рисунке 2.

Результат окраски: Хроматин – тёмно-синего цвета с хорошо выявляемой структурой, кариоплазма может быть окрашена цитоплазматическими красителями. Цитоплазма зрелых клеток плоского эпителия – розового цвета. Цитоплазма кератинизированных клеток – оранжевого цвета. Цитоплазма остальных клеток – светло-зелёного цвета. Слишком интенсивная окраска может мешать выявлению деталей структуры ядер и цитоплазмы.

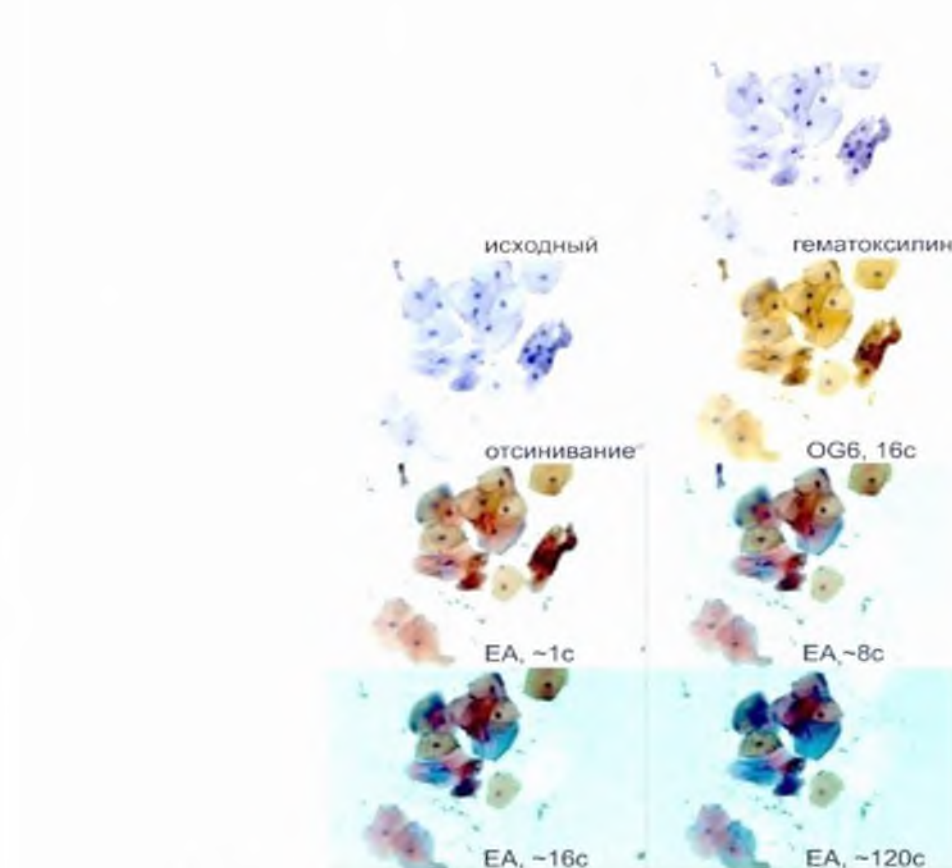


Рисунок 3. Формирование цвета клеток при окрашивании мазов по Папаниколау

Протокол стандартизованного цитологического заключения был основан на классификации Bethesda (2014) и состоял из следующих разделов:

1. Оценка качества препарата:
 - Адекватный (удовлетворяет диагностическим требованиям)
 - Неадекватный (непригоден для достоверной оценки)
2. Интерпретация цитограммы (категории патологических изменений эпителия):
 - а) NILM (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy). Отсутствие признаков интраэпителиальной патологии или злокачественности
 - б) ASC (Atypical Squamous Cells). Наличие атипичных плоских клеток неясного значения.

Таблица 1 – Интерпретация результатов The Bethesda System

№	Классификации по системе Bethesda	Значение
1	NILM (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy)	Норма, воспаление или доброкачественные изменения
2	ASC-US (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance)	Атипичные клетки неясного значения
3	ASC-H (Atypical Squamous Cells, cannot exclude HSIL)	Атипичные клетки, не исключают HSIL
4	LSIL (Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion)	Низкая степень дисплазии (CIN I). Часто связано с ВПЧ
5	HSIL (High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion)	Высокая степень дисплазии (CIN II–III)
6	AGC (Atypical Glandular Cells)	Атипия железистых клеток (подозрение на аденокарциному)
7	SCC (Squamous Cell Carcinoma)	Плоскоклеточный рак

Основным признаком ВПЧ – инфекции при цитологическом исследовании является наличие койлоцитов. При электронной микроскопии в койлоцитах выявляются вирусные частицы, вызывающие растворение цитоплазмы. К цитопатическим эффектам также относятся дискератоз, появление клеток с атипичными ядрами, двуйдерных клеток, деструкции ядра и вакуолизации цитоплазмы. Данные цитологического теста при ВПЧ, как правило, вариабельны и зависят от методики забора материала, техники приготовления мазков, квалификации цитолога [3].

2.2.2. Метод жидкостной цитологии

Методика жидкостной цитологии приобрела особую значимость в гинекологической цитологии. Она демонстрирует исключительную диагностическую эффективность: 98,1% выявляемости при HSIL, 98% при LSIL и 100% точность при раке шейки матки [20, 21].

Процедура забора материала выполняется с использованием инновационной цитощетки Cervex Brush, оснащенной съемным наконечником. После взятия пробы наконечник с щетки аккуратно

отделяется и переносится в специальный контейнер (вials), содержащий консервирующий раствор CellPrep Plus, что обеспечивает оптимальную сохранность клеточного материала для последующего исследования (рис.4).

Ключевые преимущества метода:

- Максимальная чувствительность диагностики.
- Высокая точность результатов.
- Улучшенное качество клеточного материала.
- Стандартизированный процесс подготовки проб.



Рисунок 4. Вials CellPrep и цитощетка Cervex Brush

Благодаря такой технологии клеточный материал со щетки также используется, что увеличивает количество полученных цервикальных клеток в 2–3 раза (в традиционной цитологии часть материала, оставшееся на цитощетке после забора, утилизируется). Консервант CellPrep универсален и может использоваться для цитологического исследования эксфолиативного, пункционного и аспирационного цитологического материала.

Этапы проведения жидкостной цитологии.

1. Забор соскобов шейки матки в жидкий консервант CellPrep Plus
2. Приготовление цитологических препаратов;
3. Аналитический этап, визуализация.

Метод жидкостной цитологии представляет собой стандартизированный процесс приготовления цитологических препаратов,

включающий последовательные этапы обработки биоматериала. Первоначально пробирка с материалом подвергается встряхиванию на шейкере для равномерного распределения клеток в консервирующей среде. Далее на аппарате осуществляется автоматическое нанесение тонкослойного препарата диаметром 13 мм с оптимальной клеточной плотностью (50 000-70 000 клеток на мазок) и последующее окрашивание по Папаниколау. Данная технология обеспечивает создание стандартизированных препаратов с равномерным распределением клеток и высококачественным контрастным окрашиванием, что выгодно отличает ее от традиционных методов, где результат во многом зависит от человеческого фактора. Ключевым преимуществом жидкостной цитологии является возможность многократного использования первоначально собранного материала для проведения дополнительных исследований, что значительно расширяет диагностические возможности метода.

2.2.3. Биохимические методы диагностики

Биохимические методы – важный инструмент в мониторинге рака шейки матки, но не первичного выявления, они не заменяют гистологическую диагностику и скрининговые методы, ВПЧ-тестирование.

Биохимические методы включают лабораторные исследования, направленные на выявление специфических маркеров и изменений, связанных с опухолевым процессом.

Выявление SCC (Squamous Cell Carcinoma Antigen) и количественное определение антигена СА 125 в сыворотке (плазме) крови проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью коммерческих тест систем [39].

СА 125 – основной опухолевый маркер, используемый для мониторинга и контроля за эффективностью терапии при серозной карциноме яичника. При критическом уровне 65 МЕ/мл СА 125 имеет

предельную чувствительность 87 %; этот показатель зависит от стадии и гистологического типа опухоли.

Повышение уровня СА 125 отмечается при различных доброкачественных опухолях яичников и матки, а также при воспалительных процессах в органах репродуктивной системы женщин. Незначительное увеличение концентрации СА 125 возможно при аутоиммунных заболеваниях, гепатите, хроническом панкреатите и циррозе печени.

Определение уровня СА 125 полезно для контроля эффективности лечения и слежения за течением аденокарцином яичников; вместе с тем, результаты измерения СА 125 всегда следует интерпретировать в комплексе с результатами других методов исследования и клиническими данными.

Принцип определения. Методика определения онкомаркера СА 125 основана на технологии твердофазного иммуноферментного анализа по принципу "сэндвич". В ходе исследования используются лунки планшета, внутренняя поверхность которых покрыта мышиными моноклональными антителами, специфичными к антигену СА 125. При внесении исследуемого образца в лунки происходит специфическое связывание СА 125 из образца с иммобилизованными антителами в процессе инкубации. Для детекции образовавшегося комплекса применяют конъюгированные с пероксидазой мышиные моноклональные антитела к СА 125, что приводит к формированию иммунологического "сэндвича" на поверхности планшета, содержащего пероксидазный маркер. Последующая инкубация с субстратом тетраметилбензидином (ТМБ) инициирует ферментативную реакцию с развитием окрашивания раствора в лунках. Интенсивность образовавшейся окраски находится в прямой зависимости от концентрации СА 125 в анализируемом образце. Для количественного определения уровня онкомаркера измеряют оптическую плотность и сопоставляют полученные значения с калибровочной кривой, построенной по стандартным образцам с известной концентрацией антигена.

Схема проведения анализа. Формат проведения анализа-одностадийный показан на рисунке №6.

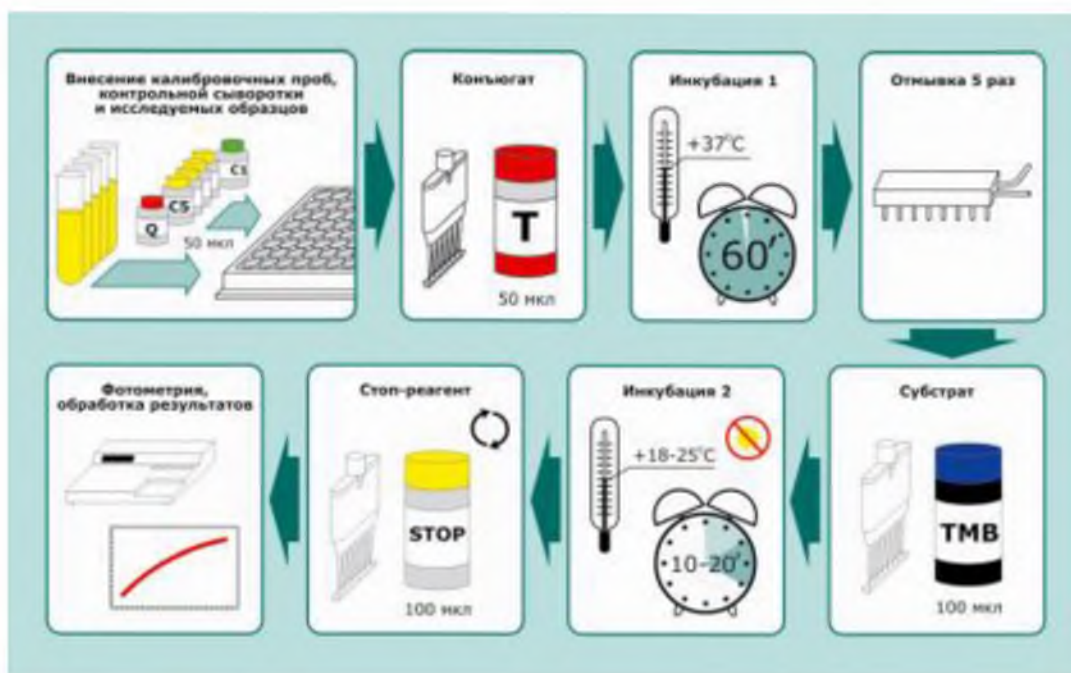


Рисунок 6. Схема проведения анализа на определение уровня СА 125

Антиген плоскоклеточной карциномы (SCC) представляет собой важный опухолевый маркер при плоскоклеточном раке шейки матки, демонстрирующий четкую корреляцию с основными клиническими параметрами: стадией заболевания, глубиной опухолевой инвазии, вовлечением лимфатических узлов и продолжительностью без рецидивного периода. Однако его применение ограничено диагностикой уже развившегося рака, так как для скрининговых целей или раннего выявления он не подходит. Хотя иммуногистохимические исследования (ИЦХ/ИГХ) выявляют повышенную экспрессию SCC при внутриэпителиальной неоплазии, уровень циркулирующего антигена в сыворотке крови у 90% таких пациенток остается в пределах нормы. Диагностическая значимость маркера возрастает по мере прогрессирования заболевания: при стадиях IB-IIA повышенные уровни наблюдаются в 24-53% случаев, а на стадиях IIB и выше – уже в 75-90% наблюдений. Референсные значения SCC у здоровых

женщин составляют в среднем 1.9 мкг/л, при этом большинство исследований используют диагностический порог 2.0-2.5 мкг/л. Следует учитывать, что SCC не является органоспецифичным маркером - он экспрессируется в нормальном плоском эпителии различных локализаций, включая слюнные железы. Повышение его концентрации отмечается при плоскоклеточных карциномах различной локализации (голова и шея, пищевод, легкие, вульва), достигая максимальных значений (превышающих 18 мкг/л) при опухолях головы и шеи, а также при некоторых неопухолевых состояниях (почечная недостаточность, саркоидоз).

С биохимической точки зрения, SCC относится к семейству серпинов (ингибиторов сериновых протеаз). Молекулярные исследования показали, что рекомбинантный SCC Ag-1 обладает способностью ингибировать как сериновые (химотрипсин), так и цистеиновые протеазы (папаин, катепсин L), тогда как SCC Ag-2 преимущественно подавляет активность катепсина G и химазы тучных клеток. Гены, кодирующие эти белки (SCC Ag-1 и SCC Ag-2), расположены в локусе 18q21.3, вблизи генов других представителей семейства сериновых протеаз. В физиологических условиях SCC как ингибиторный серпин участвует в регуляции дифференцировки плоского эпителия и выполняет защитную функцию, образуя барьер против цистеиновых протеаз бактериального и вирусного происхождения. В патологических условиях, особенно при опухолевом процессе, SCC играет важную роль в механизмах инвазии и метастазирования, участвуя в деградации компонентов внеклеточного матрикса через регуляцию активности протеаз. Кроме того, способность SCC модулировать активность протеаз, участвующих в апоптозе, может способствовать подавлению запрограммированной клеточной смерти в опухолевых клетках, тем самым стимулируя их пролиферацию и рост.

2.2.4. Иммуноцитохимический метод

Иммуноцитохимический метод – это метод молекулярной иммунологической диагностики, позволяющий идентифицировать клеточные и тканевые молекулы-антигены в результате их связывания с антителами и формирования комплекса «антиген-антитело». Данный метод позволяет проводить иммунологический анализ цитологического материала в условиях сохранения морфологии клеток.

Для определения используется материал шейки матки, подходит материал для жидкостной цитологии. Для качественного определения белков p16ink и Ki-67 в цервикальных препаратах иммуноцитохимическим методом используются коммерческий набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для диагностики *in vitro* к иммуноштейнерам автоматическим серии BenchMark.

Одним из методов, который мог бы повысить точность цитологических диагнозов, является иммуноцитохимическое исследование, которое хорошо зарекомендовало себя при цитологической диагностике заболеваний разных локализаций, в том числе – опухолей легких, гепатобилиарного тракта, яичников и др. В классификационной системе патологии шейки матки Bethesda (2014) иммуноцитохимическое окрашивание было рекомендовано в качестве вспомогательного теста для цитологической диагностики, а тест CINtec p16/Ki-67 является лидирующим вспомогательным тестом для скрининга рака шейки матки [4, 5].

В работе мы рассмотрели возможности данного теста на основании широко применяемых маркеров p16ink и Ki-67, которые могут обладать как диагностическим, так и прогностическим потенциалом.

Двойная экспрессия p16/Ki67 и ее применение. Ингибитор циклин зависимой протеин киназы, p16INK4a, негативно регулирует циклинDCDK4/6 - pRb-E2F путь клеточного цикла, который в свою очередь контролирует переход клеточного цикла из G1 в S фазу, при необходимости

приостанавливает клеточный цикл или выступает в качестве опухолевого супрессора [6]. Понижение экспрессии p16 отмечено во многих карциномах и связано с мутацией и делецией гена или гиперметилованием его промотора [7–9]. Хотя цервикальные плоскоклеточные интраэпителиальные поражения высокой степени и карциномы возникают вследствие персистенции папилломавирусной инфекции с высоким онкологическим потенциалом, способствующей неопластической прогрессии посредством активации вирусных онкопротеинов E6 и E7, суперэкспрессия p16 обусловлена инактивацией протеина ретинобластомы (pRb) протеином ВПЧ E7, утрата функционирования pRb ликвидирует обратный негативный транскрипционный контроль гена p16 [10, 11].

Таким образом, p16 считают потенциальным биомаркером, применяемым в скрининге рака шейки матки [13, 38]. Вместе с тем, использование лишь p16 лимитирует обследование шейки матки, поскольку иммунореактивность p16 также может наблюдаться в неизмененных клетках шейки матки. Ki67 представляет ядерный антиген, экспрессирующийся во всех фазах клеточного цикла, за исключением G0, и является маркером пролиферации [14].

Функциональная инактивация pRb может привести к генетической нестабильности в нормальных клетках, а также к злокачественной трансформации компетентных клеток при репликации ДНК.

Поскольку в неизмененных клетках суперэкспрессия гена опухолевого супрессора p16 и иммунореактивность маркера пролиферации Ki67 взаимоисключающие события, их одновременное определение в клетках шеечного эпителия позволяет выявить нарушение регуляции клеточного цикла и установить подлинные поражения, независимо от итогов морфологического исследования [13, 34].

Применение двойной экспрессии p16/Ki67. Следует отметить, что в мировой практике и в России показания к исследованию экспрессии p16/ Ki-67 очень разнятся. Если за рубежом данный метод исследования является, в

основном, способом структуризации пациенток, которым показана кольпоскопия, в России набор CINtec часто используют уже после проведения кольпоскопии, как метод определения пациенток, которым показано гистологическое исследование. Возможно, с введением программы общенационального скрининга, определение двойной метки займет свое постоянное место в алгоритме обследования пациенток. Учитывая ведущее значение цитологического исследования в планировании такой программы, исследование двойной метки, скорее всего, должно выполняться на начальных этапах выявления предраковых и злокачественных поражений шейки матки, однако, для этого необходимо снижение стоимости данного анализа, поскольку в настоящий момент оно не входит в обязательное медицинское страхование.

Наиболее изученные биомаркеры p16 и Ki-67. Первый маркер абберрантного клеточного цикла, обусловленного онкогенным эффектом ВПЧ, а Ki-67 - маркер клеточной пролиферации. p16 окрашивает и ядро, и цитоплазму, Ki-67 - только ядро (рис.7, а, b).

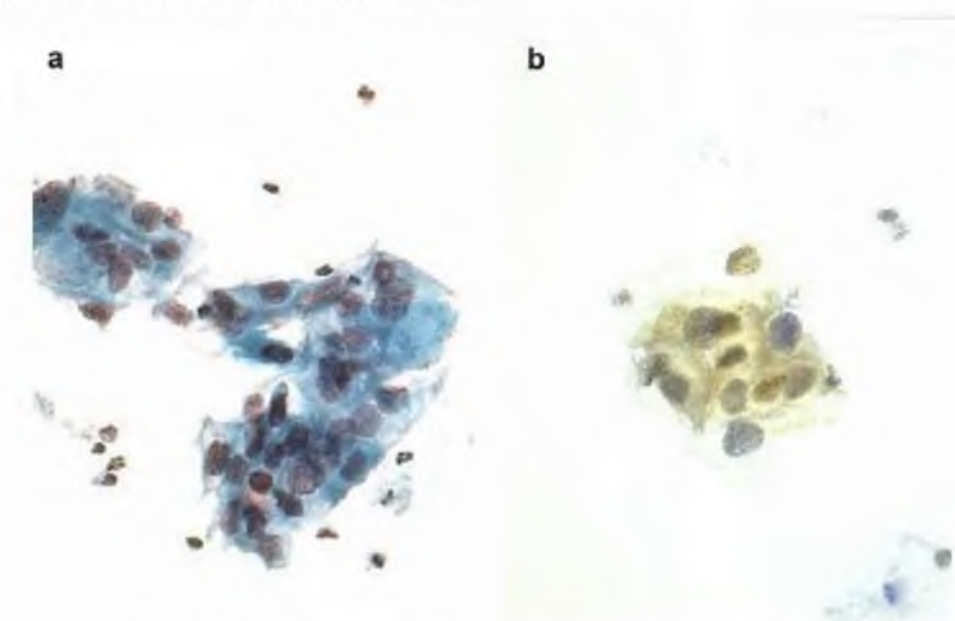


Рисунок 7. HSIL: (а) мазок по Папаниколау жидкостным методом; (b) иммуноцитохимическое окрашивание ядер и цитоплазмы на p16. p16-позитивные клетки указывают на риск предраковых изменений и должны учитываться при выборе клинической тактики

Установлена эффективность окрашивания на p16 для уточнения тактики в случае цитологического выявления ASC-US или LSIL [13]. Метод может также применяться для клеточных блоков,готавливаемых из оставшегося материала для жидкостной цитологии, т. к. достаточно чувствителен в выявлении HSIL по сравнению с биопсией [2].

Двойное окрашивание на p16 и Ki-67 столь же чувствительно в выявлении HSIL, как ВПЧвр-тест и окрашивание на p16 по отдельности (рис.8) [13, 34, 38].

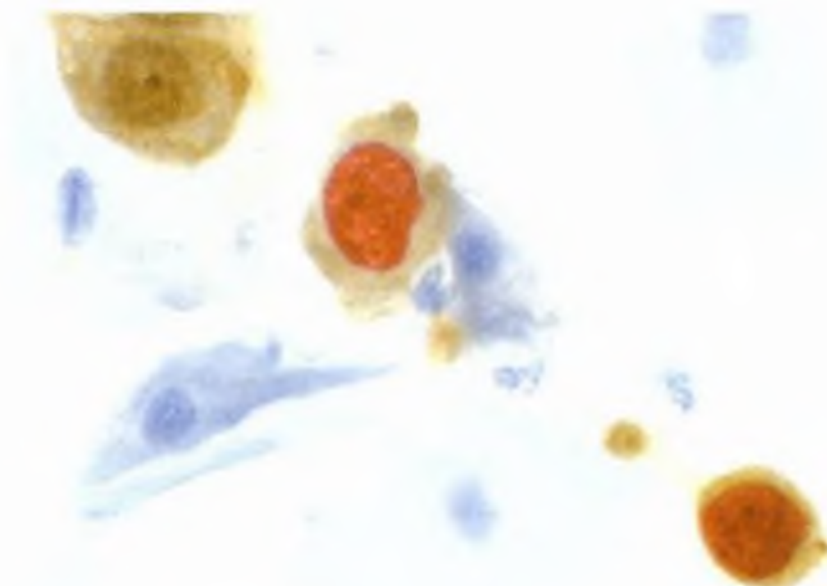


Рисунок 8. Иммуноцитохимическое окрашивание на p16 и Ki-67 на одном стекле: цитоплазмы и ядра (коричневое) и окрашивание на Ki-67 ядра (красное на высокую вероятность HSIL (ЖМ))

Окрашивание на p16/Ki-67 более чувствительно без снижения специфичности в выявлении HSIL по сравнению с цитологическим исследованием, когда применяется для скрининга. Цитологический скрининг с двойным окрашиванием может применяться у молодых женщин, у которых применение ВПЧвр-теста ограничено.

2.2.5. Метод ПЦР-диагностики ВПЧ

Анализ ВПЧ ВКР проводился с помощью коммерческих тест систем на программируемом амплификаторе с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» Rotor-Gene Q.

Принцип тестирования основывается на экстракции ДНК из образцов исследуемого материала и одновременной амплификации участков ДНК выявляемых генотипов ВПЧ ВКР и ДНК β -глобинового гена человека с гибридационно-флуоресцентной детекцией. ДНК β -глобинового гена используется в качестве эндогенного внутреннего контроля (ВКО Glob) и позволяет не только контролировать все этапы ПЦР-исследования для каждого образца, но и оценивать адекватность взятия материала и его хранения. ВКО Glob, являясь участком генома человека, должен всегда присутствовать в исследуемом образце в достаточном количестве, эквивалентном количеству клеток человека в образце (500-105 клеток/реакцию). С полученными на этапе экстракции пробами ДНК проводится реакция амплификации участка ДНК ВПЧ ВКР при помощи специфичных к этому участку праймеров и фермента Taq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотиды, которые гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой ДНК-мишени, в результате чего происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени».

Количественное определение ДНК ВПЧ ВКР методом ПЦР в режиме «реального времени» основывается на существовании линейной зависимости между исходной концентрацией ДНК-мишени в исследуемом образце и циклом начала экспоненциального увеличения флуоресцентного сигнала (пороговый цикл, Cycle threshold, Ct). Для проведения количественного теста

амплификацию ДНК из исследуемых образцов проводят одновременно с ДНК-калибраторами – образцами с известной концентрацией ДНК-мишени.

По результатам амплификации ДНК-калибраторов строится калибровочная линия, по которой происходит определение концентрации ДНК-мишени в исследуемых образцах. Концентрация ДНК ВПЧ рассчитывается как соотношение количества копий ВПЧ на количество клеток эпителия слизистых оболочек человека. Определение генотипа ВПЧ ВКР для одного образца проводится в четырех пробирках, в каждой пробирке дифференцируются 4 генотипа ВПЧ ВКР или 3 генотипа ВПЧ ВКР и ВКО Glob. Результаты амплификации ДНК ВПЧ ВКР разных генотипов, а также ДНК ВКО Glob для каждой реакционной смеси регистрируются по 4 различным каналам флуоресцентной детекции:

Канал для флуорофора	FAM	JOE	ROX	Cy5
Наименование ПЦР-смеси-FL	Выявляемая ДНК-мишень			
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 1	ДНК ВПЧ ВКР генотип 16	ДНК ВПЧ ВКР генотип 31	ДНК ВПЧ ВКР генотип 18	ДНК участка β-глобинового гена (ВКО Glob)
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 2	ДНК ВПЧ ВКР генотип 39	ДНК ВПЧ ВКР генотип 45	ДНК ВПЧ ВКР генотип 59	ДНК участка β-глобинового гена (ВКО Glob)
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 3	ДНК ВПЧ ВКР генотип 33	ДНК ВПЧ ВКР генотип 35	ДНК ВПЧ ВКР генотип 68	ДНК ВПЧ ВКР генотип 56
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 4	ДНК ВПЧ ВКР генотип 58	ДНК ВПЧ ВКР генотип 52	ДНК ВПЧ ВКР генотип 66	ДНК ВПЧ ВКР генотип 51
Наименование ПЦР-смеси-FL	Область амплификации			
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 1	E6 gene	E6 gene	E7 gene	β-глобиновый ген
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 2	E7 gene	E6 gene	E6 gene	β-глобиновый ген
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 3	E6 gene	E6/E7 gene	E6 gene	E1 gene
ПЦР-смесь-FL ВПЧ 4	E6 gene	E7 gene	E6 gene	E7 gene

Рисунок 9. Интерпретация ВПЧ ВКР

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Результаты цитологических методов (традиционная, жидкостная цитология)

За период март 2023 года по май 2025 года в ГБУЗ «ОБСМЭ» в цитологической лаборатории было исследовано 14 653 женщин в возрасте от 18 до 84 лет, для проведения планового осмотра и цитологического скрининга патологии шейки матки.

Всем женщинам проведено цитологическое исследование одним из двух методов: методом традиционной цитологии (n= 6 130) и методом жидкостной цитологии (n=8 523).

Результаты цитологического скрининга традиционным и жидкостным методами показали норму у 14 246 женщин (97%), патологические изменения 407 случаев (3%). Общая выявляемость заболеваний шейки матки по цитологическим заключениям показана на рисунке 10.

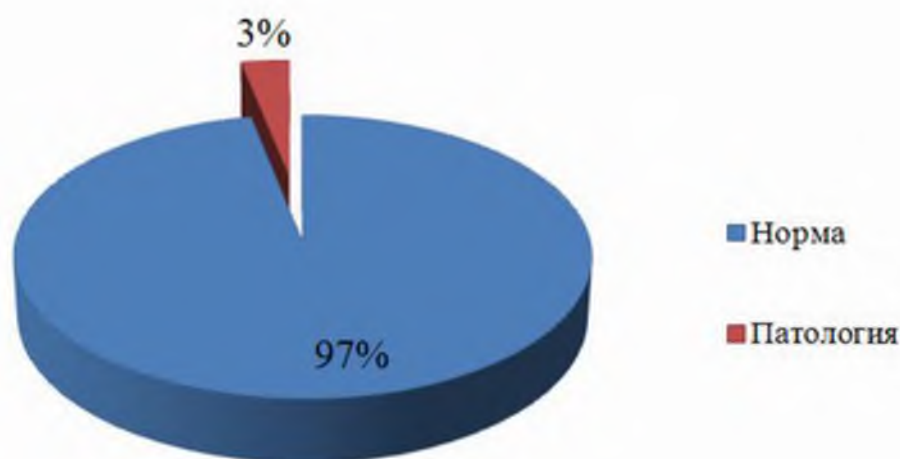


Рисунок 10. Выявляемость заболеваний шейки матки, %

В ходе исследования был проведен анализ 8 523 стеклопрепаратов приготовленных жидкостным методом.

Из исследуемых образцов большая часть – 8 308 (97,4 %) были с нормальной цитологической картиной (рис. 11).

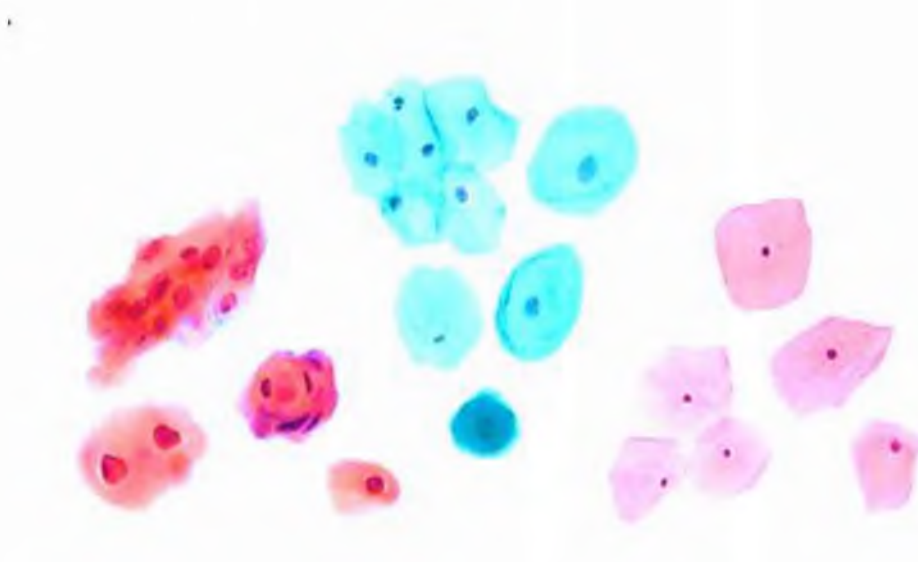


Рисунок 11. Нормальная цитологическая картина. Окраска по Папаникалау, х 40

Из патологичных результатов были отобраны 215 образцов, с патологиями разной степени.

Из всех исследованных образцов на 19 были выявлены изменение морфологии клеток, обусловленное воспалительным процессом во влагалище или шейке матки (ASC-US).

В препарате имеются отдельные клетки плоского эпителия с незначительной ядерной атипией: увеличенные ядра, лёгкая гиперхромия, незначительная нерегулярность контуров. Признаки, характерные для LSIL/HSIL, не выражены. Изменения могут быть связаны с воспалением или регенерацией (рис.12).

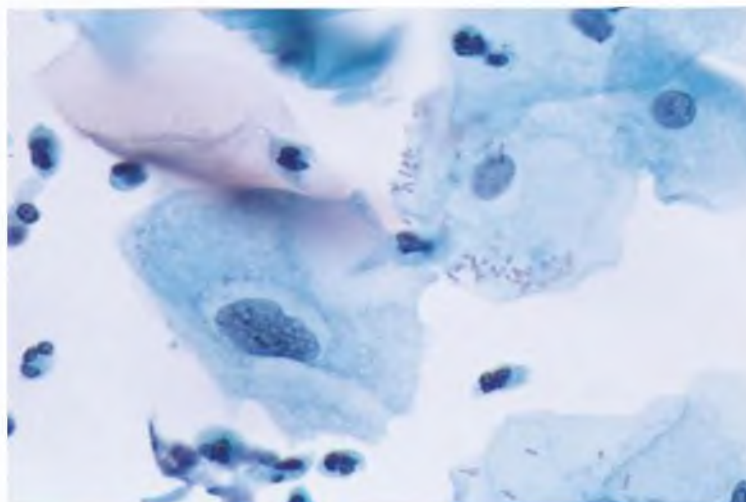


*Рисунок 12. ASC-US. Рутинный скрининг от 32-летней женщины.
Окраска по Папаникалау, x40*

Единичные атипичные плоские клетки с нечетки цитоплазматическим ореолом на фоне воспаления. В соседней плоской клетке видны прикрепленные лактобациллы. В этом образце тестирование на ВПЧ не проводилось.

На 8 исследуемых образцах содержат единичные клетки с аномалией ядер и цитоплазмы в которых можно заподозрить злокачественное новообразование (ASC-H).

Обнаружены клетки плоского эпителия с выраженной ядерной атипией: гиперхромия, нерегулярные ядерные контуры, повышенное ядерно-цитоплазматическое соотношение. Количество и степень выраженности изменений недостаточны для уверенной диагностики HSIL, но возможность наличия тяжелой дисплазии исключить нельзя (рис. 13)

Группа атипичных незрелых метапластических клеток с увеличенными ядрами, высоким ядерно-цитоплазматическим отношением, грубым хроматином и неправильным контуром ядра. Цитологические особенности вызывают беспокойство, но их недостаточно для интерпретации HSIL. Последующая биопсия выявила HSIL.

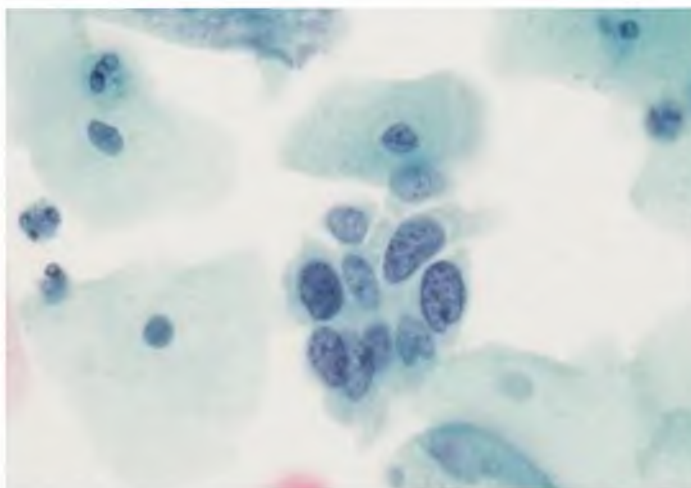


Рисунок 13. ASC-H. Окраска по Папаникалау, x40

На 103 образцах выявлены отдельные клетки с явными признаками озлокачествления (LSIL), изменения наблюдаются в нижней трети многослойного пласта, деление на пласты сохранено. В нижней трети многослойного плоского эпителия встречаются зрелые клетки неправильной формы с увеличенным ядром, при этом хорошо дифференцируется цитоплазма, ядра слабогиперхромные с зернистой структурой хроматина, ядрышко отсутствует (рис. 14). Данную картину можно интерпретировать как низкую степень дисплазии, которая часто ассоциирована с ВПЧ.

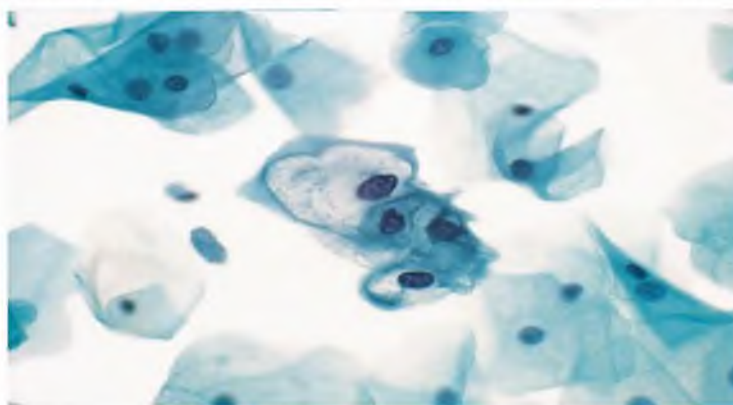


Рисунок 14. LSIL. Окраска по Папаникалау, x40

Клетки с диагностическими койлоцитарными признаками LSIL имеют четко очерченную перинуклеарную полость, конденсацию цитоплазмы по периферии и аномальные ядерные особенности, включая увеличение и неравномерность ядерной мембраны.

На 67 стеклопрепаратах обнаружены многочисленные клетки с выраженной ядерной атипией: гиперхромные, увеличенные ядра, неправильной формы, резкое повышение ядерно-цитоплазматического соотношения, псевдостратификация. Признаки, характерные для тяжёлой дисплазии. Картина соответствует HSIL представлена на рисунке 15.

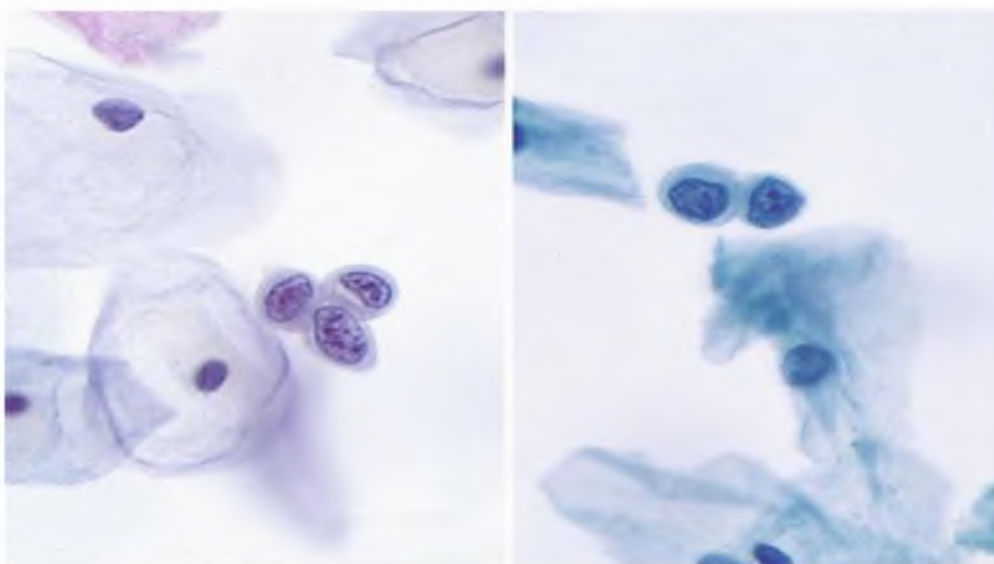


Рисунок 15. HSIL. 29-летняя женщина из группы высокого риска.

Окраска по Папаникалау, x40

4 образца (AGC-NOS) – выявлена умеренная степень дисплазии. Обнаружены железистые клетки с увеличенными гиперхромными ядрами, умеренной ядерной атипией, невыраженными митозами. Морфологические изменения не соответствуют норме, но недостаточны для постановки диагноза неоплазии (рис. 16).

6 образцов – с более выраженными чертами дисплазии (AGC-FN). Группы железистых клеток с выраженной атипией: крупные гиперхромные ядра, неровные контуры, митозы, палисадность. Изменения характерны для неопластического процесса. Требуется исключение аденокарциномы (Рис. 17).

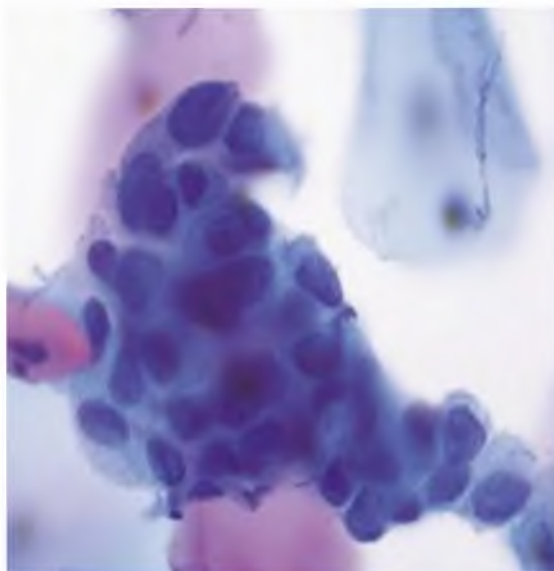


Рисунок 16. Картина AGC-NOS. Окраска по Папаникалау, х40

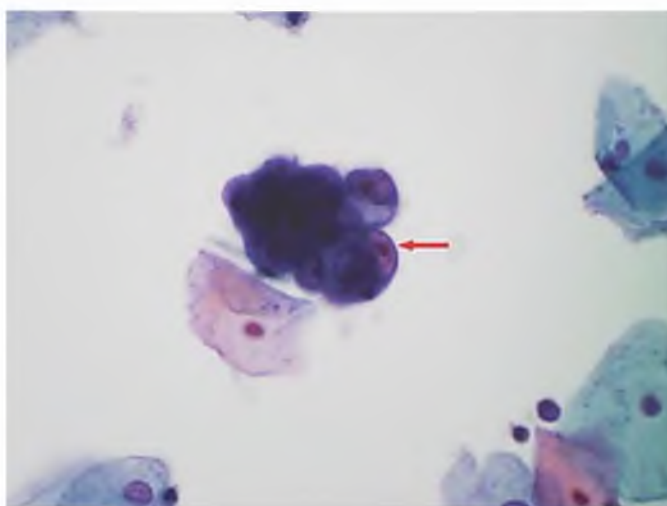


Рисунок 17. Картина AGC-FN. Окраска по Папаникалау, х40

На 1 стеклопрепарате было выявлено большое число типично раковых клеток, что соответствует диагнозу плоскоклеточный рак (SCC).

При этом характерна следующая цитологическая картина: клетки резко полиморфны, разного размера и формы, с крупным гипер- или гипохромными ядрами, ядерно-цитоплазматическое соотношение не всегда велико, хроматин сетчатый или же мелкозернистый. Встречаются ороговевающие и недифференцированные клетки. Размер ороговевающих

клеток варьируется, от очень мелких до крупных, иногда с несколькими ядрами. Форма клеток разнообразна и может быть причудливой (рис. 18).

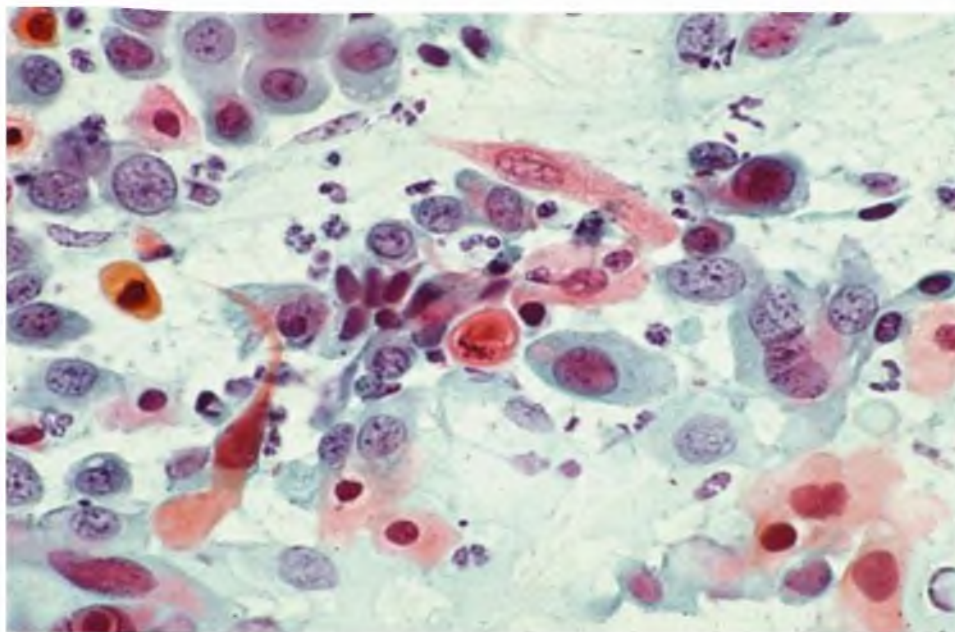


Рисунок 18. Ороговевающий плоскоклеточный рак. Окраска по Папаникалау, х40

На 1 стеклопрепарате были выявлены железистые клетки с выраженной атипией, псевдостратификацией, вытянутыми гиперхромными ядрами, палисадообразным расположением, высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением. Часто встречаются митозы. Рыхлые структуры из клеток с овальными ядрами. Полярность расположения клеток нарушена (клетки ориентированы в разных направлениях). Хроматин распределен неравномерно. Выражен опухолевый диатез. Изменения характерны для высококодифференцированной аденокарциномы *in situ* (AIS), представлен на рисунке 19.

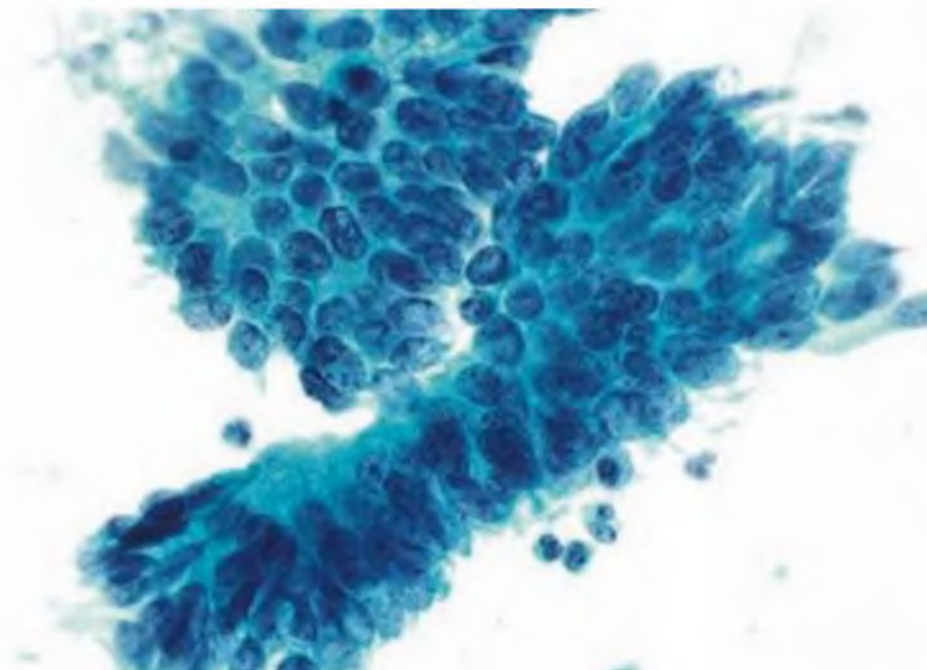


Рисунок 19. Высокодифференцированная аденокарцинома. Окраска по Папаникалау, х40

Методом жидкостной цитологии было исследовано 8 523 образца из них 8 308 образцов были с нормальной картиной по цитологии.

Патологические процессы были выявлены в 215 случаях. Из них 19 образцов содержали изменения соответствующие ASC – US по Бетсаду, что может быть связано с различными причинами, такими как воспалительный процесс; в 8 образцах выявлены клетки плоского эпителия с выраженной ядерной атипией (ASC– H); 103 образца содержали признаки присутствия продуктивной инфекции ВПЧ, что соответствует картине LSIL, так же довольно больше количество препаратов – 67, содержали признаки характерные для тяжёлой дисплазии что соответствует HSIL, 4 образца с AGS–NOS, морфологические изменения не соответствуют норме, но недостаточны для постановки диагноза неоплазии, больше образцов – 12 с типичными изменениями характерными для неопластического процесса. 1 препарат по всем характеристикам соответствовал плоскоклеточному раку (SCC) с участками некроза и 1 образец был с характерными чертами неинвазивной аденокарциномы (AIS).

Процентное соотношение выявленных патологий шейки матки можно рассмотреть на представленной диаграмме (рис.20).

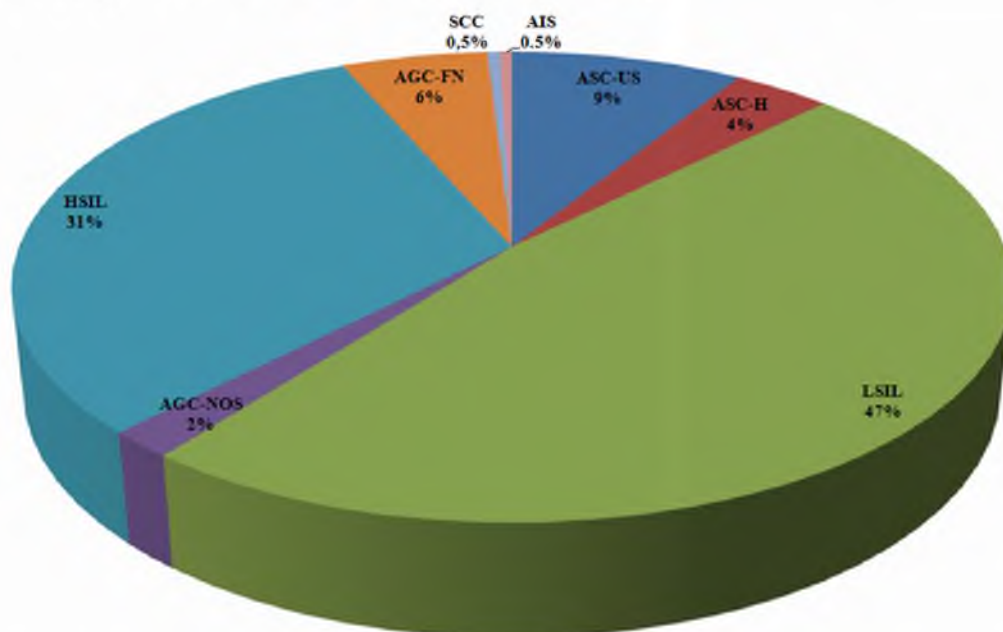


Рисунок 20. Распределение патологий шейки матки по результатам жидкостной цитологии, %

Методом традиционной цитологии было исследовано 6 130 образцов из них 5938 образцов были с нормальной картиной по цитологии. Патологические процессы были выявлены в 192 случаях.

Распределение патологий шейки матки по результатам традиционной цитологии выглядит следующим образом: наибольший вид выявленных патологий приходится на LSIL – 56 случаев (29 %); чуть меньше – 48 случаев (25 %) от всех образцов содержали признаки доброкачественных процессов (воспаление и др.) , что соответствует ASC – US; довольно большое количество образцов 36 случаев (18,5 %) соответствуют варианту тяжелой дисплазии (HSIL); 28 случаев (15%) выявленных патологий приходится на неопределенную категорию, при которой нельзя исключить HSIL (ASC– H); 15 случаев (8 %) – составляет патология железистого эпителия легкой степени (AGS–NOS); изменения в железистом эпителии тяжелой формы были выявлены у 6 женщин (3 %); плоскоклеточный рак

двух типов (ороговевающий 1 случай и неороговевающий 1 случай) составил 1 % среди всех исследованных образцов (SCC); менее распространена аденокарцинома 1 случай (0,5 %). Процентное соотношение выявленных патологий шейки матки можно рассмотреть на представленной диаграмме (рис.21).

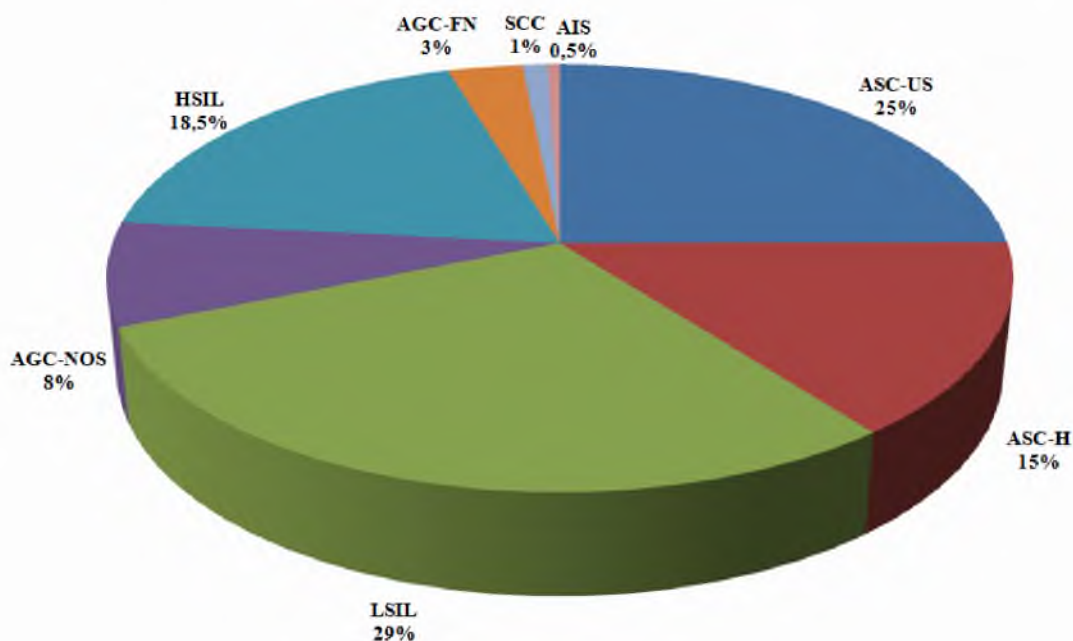


Рисунок 21. Распределение патологий шейки матки по результатам традиционной цитологии, %

Цитологическая картина образца характерна для неороговевающего плоскоклеточного рака традиционным методом. Встречаются разрозненные «голые» ядра разрушенных клеток. Форма ядер округлая, бобовидная, треугольная. Контуры четкие, относительно ровные. Хроматин мелкозернистый или грубозернистый. Часто встречаются ядрышки, от одного до трех мелких или крупные, полиморфные. Цитоплазма светлая, иногда обильная. При этой форме рака часто отмечается опухолевый диатез (рис 22).

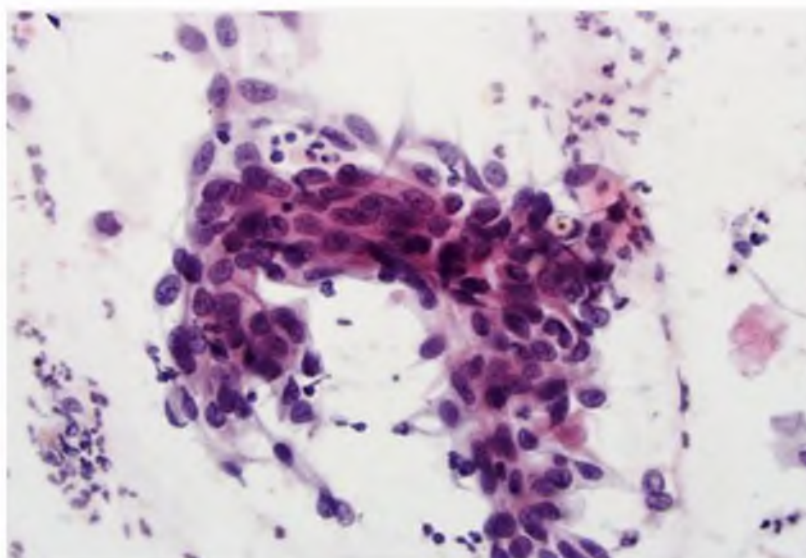


Рисунок 22. Неороговевающий плоскоклеточный рак. Окраска по Папаникалау, x140

Эти диспластические клетки демонстрируют ядерные особенности HSIL. Плеоморфные формы клеток должны вызывать опасения по поводу инвазии, хотя в этой области отсутствуют заметные ядрышки и опухолевый диатез. Последующая биопсия шейки матки выявила инвазивный плоскоклеточный рак.

Можно сказать, что метод традиционной цитологии, является распространенным диагностическим методом. Но из-за своей зависимости от опыта и квалификации специалиста, а также по некоторым причинам, таким как: высушивание биоматериала, отсутствие фильтрации, потеря части биоматериала, расположение клеток в несколько слоёв. не может быть единственным в диагностике рака шейки матки.

Проанализировав полученные результаты, нами было установлено, что метод жидкостной цитологии обладает большей чувствительностью в выявлении патологии при скрининге рака шейки матки, при этом снижается количество «неопределенных» цитологических диагнозов и увеличивается количество случаев выявления патологии на ранних стадиях, тем самым, позволяя начать необходимое лечение и предотвратить прогрессирование заболевания.

3.2. Результаты биохимических и иммуноцитохимических методов исследования

Были проанализированы данные биохимического исследования 12 пациенток у которых ранее проводились цитологические исследования тканей шейки матки и были выявлены разные степени дисплазии и установлено наличие патологических изменений, соответствующих диагнозу плоскоклеточный рак и аденокарцинома. Так же были проанализированы данные о ПЦР тестировании на наличие ВПЧ.

Нами были получены и проанализированы результаты исследований на онкомаркеры (SCC, CA 125 и p16INK4a).

Анализ SCC белка с ассоциированным плоскоклеточным раком (шейки матки, легких, головы и шеи, пищевода, ануса) был проведен у 10 пациенток, и показал положительное значение (более >10 нг/л) в 2 случаях, что соответствует цитологической картине выявленной по результатам цитологии.

В 1-ом случае повышение SCC белка было больше референсных значений, но более 10 нг/л.

В остальных случаях концентрация SCC белка у пациенток была в пределах референсных значений (1,5–2 нг/мл)

Анализ на гликопротеин CA-125 должен дать пояснения о степени поражений яичников при патологии тканей шейки матки. У 1 пациента анализ показал результаты выше референсных (<35 Ед/мл (в менопаузе может быть до 20 Ед/мл)), при этом цитологическая картина не имела тяжелых патологий и соответствовала картине ASC-US, что может быть обусловлено наличием других патологий репродуктивной системы (эндометриоз, рак яичников и др.).

Анализ p16 INK4a белка-супрессора опухолей, маркера ВПЧ-ассоциированного рака. Данный вид исследования не так часто распространен и выполняется в случае подозрения на тяжелую дисплазию и с

целью для дифференцировки тяжелой дисплазии. Потому нами были проанализированы 8 полученных результатов, которые подтвердили наличие ВПЧ ассоциированных поражений шейки матки различной степени по Bethesda.

3.3. Сравнительный анализ эффективности цитологических и биохимических методов исследования патологий шейки матки

На последнем этапе нашей работы стояла задача сравнить эффективность разных методик выявления патологий шейки матки.

Для этого мы провели сравнение методик у 12 пациенток по различным результатам анализов (таблица 2).

Таблица 2 – Анализ результатов цитологических и биохимических методов исследования патологий шейки матки

№ пациента	Цитологические методы		Биохимические и иммуноцитохимические методы			ПЦР диагностика
	Традиционный метод, Bethesda	Жидкостный метод, Bethesda	SCC, нг/мл	p16, +/-	CA-125, Ед/мл	ДНК ВПЧ 16типа / 18 типа
1	LSIL	NILM			9,3	
2	HSIL	ASC-H	1,6	-	32,98	-
3	NILM	HSIL	1,44	+	14,60	ВПЧ 16, 18 типа
4	NILM	ASC-US			141,36	
5	HSIL	HSIL	2,3	+	12,13	ВПЧ 16, 18 типа
6	ASC-US	LSIL	0,80			ВПЧ 16типа
7	LSIL	NILM	1,31		5,8	
8	ASC-H	HSIL	11,2	+	21,61	ВПЧ 16, 18 типа
9	LSIL	LSIL	0,85		30,76	ВПЧ 16
10	AIS	AGC-FN	1,47	+	16,11	ВПЧ 18 типа
11	HSIL	ОПР	10,6	+	13,8	ВПЧ 16, 18 типа
12	HSIL	HSIL	6,7	+	20,43	ВПЧ 16

У женщин с выявленными цитологическими изменениями многослойного плоского эпителия с помощью двух основных методов (Пап-тест и жидкостная цитология), довольно часто (67 %) по результатам

иммуногистохимического анализа выявляется наличие p16 INK4a белка ассоциированного с ВПЧ, при том, что анализ на наличие SCC белка может быть в пределах нормы. Наличие SCC белка подтверждается анализами при тяжелых дисплазиях и подтверждает вывод цитологического метода о наличии раковых клеток. CA 125, не подтверждается у женщин с патологиями шейки матки и может служить индикатором, только при серьезной патологии репродуктивной системы или же при обширном метастазировании в яичники и матку или повышаться в случае аденокарцином.

Можно сказать, что биохимические методы хорошо дополняют цитологические методы, особенно определение p16 INK4a может значительно повысить выявляемость патологий шейки матки, но стоит отметить его дороговизну и сложность проведения.

Анализ на SCC белок может быть индикатором серьезной патологии (от CIN III до AGC/AIS) и может использоваться в качестве индикатора рецидивов.

Далее все методы мы анализировали по нескольким критериям: инвазивность, чувствительность, уровень достоверности доказательств, возможность использования для ранней диагностики, так же отмечались преимущества и недостатки методов (таблица 3). Инвазивность метода можно оценить, как степень вмешательства и нарушение целостности тканей организма. Большинство использованных методов диагностики рака шейки матки являются неинвазивными (ПАП-тест, ЖЦ, ИЦХ) или малоинвазивными (SCC, CA 125). Чувствительность метода – это способность правильно идентифицировать патологические процессы в организме человека (т.е. вероятность того, что метод даст положительный результат при наличии болезни). Чувствительность методов оценивалась по данным ВОЗ.

Таблица 3 – Сравнение методов диагностики патологий шейки матки

	Цитологические методы		Биохимические и иммуноцитохимические методы		
	Пап-тест,	ЖЦ	SCC	p16	CA-125
Инвазивность	Неинвазивный	Неинвазивный	Минимально инвазивный	Неинвазивный	Минимально инвазивный
Чувствительность	50–70%	75–85%	50–85% (на поздних стадиях)	80–90% (для CIN II–III)	30–50% (для аденокарциномы)
Уровень достоверности доказательств	Высокий (А)	Высокий (А)	Умеренный (В)	Высокий (А)	Низкий (С)
Возможность использования для ранней диагностики	+	+	-	+	-
Преимущества	- Высокая специфичность - Дешевизна -Выявляет предрак	- Высокая специфичность -Выявляет предрак	- Подходит для мониторинга рецидивов - минимально инвазивен	- Помогает отличить дисплазию от реактивных изменений -Высокая точность	- необходим для дифференциации аденокарцином
Недостатки	- Субъективность оценки, зависит опыт цитолога - возможность некачественного забора	- Дороже, чем Пап-тест - Необходимо специальное оборудование	- Низкая чувствительность на ранних стадиях - при воспалениях, болезнях легких может давать ложноотрицательный результат	- Требуется хорошо оборудованная лаборатория - дороговизна метода	- не специфичен (повышается при раке яичников, эндометриозе)

Наибольшей чувствительностью среди анализируемых методов обладает метод жидкостной цитологии (75-85 %), для белка p16 чувствительность составляет более 90 %, но только при выявленных цитологических и гистологических патологиях (CIN II–III), при менее выраженных патологиях чувствительность меньше (около 80 %), возможны ложноположительные результаты при воспалении. Чувствительность анализа белка SCC зависит от стадии развития патологии и может варьироваться от 50 % до 85 %. Чувствительность анализа на СА-125 довольно низкая (30-50 %) и может быть принята во внимание, только при аденокарциноме на поздней стадии и может является следствием метастазирования опухоли в яичники или ткани матки.

Уровень достоверности доказательств методик мы оценивали по клиническим рекомендациям (МКБ10). Три метода обладают Высоким (А) уровнем доказательств: ПАП-тест, ЖЦ и анализ белка p16. Умеренным (В) уровнем доказательства обладает анализ на SCC. Низкий (С) уровень доказательств у анализа на СА 125.

Мы проанализировали все методы на возможность их применения на ранних этапах диагностики (скрининге). На данный момент золотым стандартом скрининга является сочетание методов цитологии, ПЦР диагностика на наличие ВПЧ. Биохимические методы на ранних стадиях заболевания не так обладают достаточной чувствительностью, а вот анализ белка p16 мог бы стать дополнением к скрининговым исследованиям.

Для Пап-теста можно отметить ряд преимуществ, которые заключаются в том, что он обладает высокой специфичностью, дешев и широко распространен (доступен в большинстве лабораторий), опытный специалист легко выявит незначительные изменения в клетках, т.е. подходит для диагностики предраковых состояний. Но данный метод обладает и недостатками, в связи с тем, что данный тест очень чувствителен к качеству забора материала и в большой степени зависит от мастерства врача

выполняющего забор и от специалиста-биолога, который данный материал окрашивает и рассматривает.

Преимущества жидкостной цитологии так же связаны с тем, что есть возможность диагностики предраковых состояний, он более чувствителен, чем Пап-тест. Но тест более дорог по стоимости и не во всех лабораториях имеется соответствующее оборудование.

Иммуноцитохимический метод с выявлением белка p16 обладает своими преимуществами по сравнению с цитологическими методами, т.к. он помогает отличить дисплазию от реактивных изменений тканей шейки матки и обладает довольно высокой точностью. Но также отмечаются недостатки – чувствительность растет на поздних стадиях, на ранних не так информативен. Анализ требует дорогостоящего оборудования, потому распространен не широко.

Биохимические методы в целом менее инвазивны, не требуют высокой квалификации специалиста по забору образцов. Анализ на SCC чувствителен при рецидивах злокачественных заболеваний, доступен в большом количестве лабораторий. Но стоимость анализа высока, а чувствительность возрастает на поздних стадиях

Анализ крови на СА 125 может быть показан для дифференцировки аденокарциномы, широко распространен, но может показывать ложноположительные результаты при раке яичников, эндометриозе.

В настоящее время активно ведутся исследования, направленные на оптимизацию алгоритмов скрининга рака шейки матки и поиск наиболее эффективных биомаркеров.

Актуальные методы скрининга

К ключевым методам ранней диагностики относятся:

- Цитологическое исследование
- Тестирование на ДНК вируса папилломы человека (ВПЧ)
- Иммуноцитохимическое окрашивание p16/Ki67

- Кольпоскопия

Ограничения существующих подходов

Традиционные цитологические исследования обладают рядом недостатков:

- Зависимость от качества забора материала
- Субъективность интерпретации результатов
- Возможность получения неоднозначных данных

Каждый из методов имеет свои преимущества и недостатки, поэтому выбор оптимальной стратегии скрининга должен учитывать региональные особенности для:

- Минимизации ложноотрицательных и ложноположительных результатов
- Снижения количества необоснованных инвазивных процедур

Эволюция скрининговых стратегий.

Долгое время основным методом скрининга оставалась цитология, однако:

- Появление ВПЧ-тестирования значительно повысило чувствительность выявления предраковых изменений
- Одновременно возрос риск гипердиагностики, учитывая:
 1. Высокую распространенность ВПЧ-инфекции (до 90% в течение жизни)
 2. Частую спонтанную элиминацию вируса (80% случаев в течение 2 лет)

Перспективные направления

Для совершенствования скрининга необходимо:

1. Повысить чувствительность методов для раннего выявления предраковых состояний
2. Увеличить специфичность диагностики для снижения числа ошибочных диагнозов

3. Сократить количество необоснованных инвазивных вмешательств

Приоритетными направлениями исследований должны стать:

- Разработка новых молекулярных маркеров
- Изучение механизмов взаимодействия ВПЧ с эпителиальными клетками
- Совершенствование биохимических методов диагностики

ВЫВОДЫ

1.Рак шейки матки – злокачественная эпителиальная опухоль, поражающая влагалищную часть шейки матки или шейечный канал в виде эндофитного образования. Российская Федерация занимает 36-е место по показателю заболеваемости и 40-е место по показателю смертности из 51 страны Европейского региона (ВОЗ). По данным GLOBOCAN, заболеваемость злокачественными новообразованиями шейки матки в 2020 г. в Российской Федерации стала 14,1 % на 100 тыс. населения, а смертность 6,1 %. В Пензенской области по данным ГБУЗ «Областное бюро судебно-медицинской экспертизы» с начала 2025 года установлено увеличение случаев тяжелых дисплазий в два раза.

В настоящее время общепринятой цитологической классификацией заболеваний шейки матки является классификация Бетесда (Terminology Bethesda System, TBS).

2.Основным причинным фактором рака шейки матки являются вирусы папилломы человека (ВПЧ) высокого риска, которые также ассоциированы с другими аногенитальными видами рака. Более 99% случаев рака шейки матки у человека связаны с ВПЧ, передаваемыми половым путем. ВПЧ характеризуются способностью вызывать пролиферацию эпителия кожи и слизистых оболочек и отличаются высокой специфичностью в отношении типа ткани. Заражение ВПЧ долгие годы может протекать бессимптомно. Большую роль в установлении диагноза играют предраковые заболевания. К таким заболеваниям относят: гиперпластические процессы шейки матки, лейкоплакии, эрозии, дискератозы шейки матки. Самая эффективная мера в профилактике – вакцинация.

3.Исследования проводились в течение 2 лет (2023-2025 гг.) на базе в клинко-диагностической лаборатории ГБУЗ «Областное бюро судебно-медицинской экспертизы». Всего было обработано 14 653 образца, из них

6 130 методом традиционной цитологии, 8 523 – методом жидкостной цитологии. В 407 образцах были выявлены патологии шейки матки разной степени. Метод традиционной цитологии или Пап-тест, является самым распространенным диагностическим методом, методом первого порядка. Но из-за своей зависимости от опыта и квалификации специалиста, не может быть единственным в диагностике рака шейки матки. Но стоит отметить высокую выявляемость патологий: из 6 130 образцов выявлено 192 образца с патологиями.

4. Из всех исследуемых образцов были проанализированы данные биохимических исследования 12 пациенток, у которых ранее проводились цитологические исследования тканей шейки матки и были выявлены разные степени дисплазии и установлено наличие патологических изменений, соответствующих диагнозу плоскоклеточный рак и аденокарцинома. Анализ SCC белка был проведен у 10 пациенток, и показал положительное значение в 2 случаях, что соответствует цитологической картине (Пап-тест /ЖЦ). Анализ на гликопротеин СА 125 должен давать пояснения о степени поражений яичников при патологии тканей шейки матки. У 1 пациента анализ показал результаты выше референсных. Анализ p16 INK4a белка-супрессора опухолей, маркера ВПЧ-ассоциированного рака. Были проанализированы 8 результатов, которые соответствуют выводам цитологических методов.

5. Большинство использованных методов диагностики рака шейки матки являются неинвазивными (ПАП-тест, ЖЦ) или малоинвазивными (SCC, СА-125). Наибольшей чувствительностью среди анализируемых методов обладает метод жидкостной цитологии (75-85 %), для белка p16 чувствительность составляет более 90 %, но только при выявленных цитологических и гистологических патологиях (CIN II–III). Три метода обладают высоким (А) уровнем доказательств: ПАП-тест, ЖЦ и анализ белка p16. На данный момент золотым стандартом скрининга является сочетание методов цитологии, ПЦР диагностика на наличие ВПЧ. Биохимические

методы на ранних стадиях заболевания не так обладают достаточной чувствительностью, а вот анализ белка p16 мог бы стать дополнением к скрининговым исследованиям. Биохимические методы в целом менее инвазивны, не требуют высокой квалификации специалиста по забору образцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бебнева Т.Н., Дикке Г.Б. Прогностическое значение экспрессии белков Ki-67 и p16 у беременных женщин, инфицированных ВПЧ, в оценке течения интраэпителиальных поражений шейки матки. Практическая медицина. 2020. Т. 18, № 6, С. 24-29
2. Брико Н.И., Лопухов П.Д. Необходимость контроля ВПЧ-ассоциированных заболеваний. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2017; № 16 (2 (93)). С. 10-15.
3. Ванденбуш К.Дж., Али С.З., Розенталь Д.Л., Ванг Р. Цитологическое исследование цервикальных мазков: Атлас. М.: Гэотар-Медиа, 2018. 208 с.
4. Волгарева, Г. М. Гиперэкспрессия клеточного белка p16INK4A в эпителиальных злокачественных опухолях, индуцированных вирусами папиллом человека / Г. М. Волгарева, Л. Э. Завалишина, Ю. Ю. Андреева и др. // Архив патологии. 2008. Т. 70, № 5. С. 57-61.
5. Волгарева, Г. М. Экспрессия белкового маркера p16 INK4a в раке шейки матки / Г. М. Волгарева, Л. Э. Завалишина, Г. А. Франк и др. // Архив патологии. 2002. Т. 64, № 1. С. 22–24.
6. Давыдов, А. И. Патогенетическое обоснование комплексного подхода к лечению цервикальной интраэпителиальной неоплазии, ассоциированной с вирусом папилломы человека / А. И. Давыдов, М. Н. Шахламова, В. А. Лебедев // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2020. Т. 19, № 6. С. 111-111
7. Данилова Н.В., Андреева Ю.Ю., Мальков П.Г. Дифференциальная диагностика предопухолевых и регенераторных изменений эпителия шейки матки с использованием

иммуногистохимического метода // Архив патологии. 2011. Т. 73. № 2. С. 10-11.

8. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П. А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2019. 250 с.

9. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2024. 252 с.

10. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадовой А.О. Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. 239 с.

11. Клинические рекомендации. Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки. 2020. 48 с.

12. Козаченко В.П., Прилепская В.Н. Диагностика и лечение эпителиальных дисплазий и преинвазивной карциномы шейки матки. (Клин.лекции). 4-е изд. М. МЕД пресс, 2005. 138с.

13. Кузнецова, М. Е. Экспрессия Ki-67 как показатель эффективности лучевой терапии и исхода плоскоклеточного местнораспространенного рака шейки матки (иммуногистохимическое исследование) / М. Е. Кузнецова, К. М. Пожарисский, В. Л. Винокуров и др. // Вопросы онкологии. 2007. Т. 53, № 2. С. 175-180.

14. Мельникова Н.В., Антонова И.Б., Бабаева Н.А., и др. Результаты выявления, типирования и количественного определения вируса папилломы человека методом ПЦР в практике жидкостной цитологии у женщин в постменопаузе // Вестник Российского научного центра рентгенрадиологии. 2020. Т. 20, № 4. С. 134–151.

15. Новик В. И. Скрининг рака шейки матки//Практическая онкология, т. 11, № 2, 2010, 66-73.
16. Новик В.И. Дискуссионные вопросы цитологического скрининга рака шейки матки (обзор литературы) // Опухоли женской репродуктивной системы. 2020. Т. 16. № 2. С. 63-71.
17. Приказ МЗ СССР № 1253 от 30 декабря 1976 г. «О мерах по улучшению цитологической диагностики злокачественных новообразований», г. Москва.
18. Приказ МЗ СССР № 1253 от 30 декабря 1976 г. «О мерах по улучшению цитологической диагностики злокачественных новообразований», г. Москва.
19. Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. 236 с.
20. Сравнение результатов цитологического скрининга патологии шейки матки традиционным и жидкостным методами // Unīversum: медицина и фармакология: электрон. научн. журн. / Борзенкова А.В. [и др.]. 2020. № 4-5 (67).
21. Сравнительный анализ традиционной и жидкостной цитологии мазков из шейки матки / Н.Н. Волченко [и др.] // Исследования и практика в медицине. 2019. Т. 6, № 1. С. 83-90.
22. Татарина Т. А., Косаговская И. И. Состояние и тенденции диагностики рака шейки матки в Российской Федерации. Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2021. № 29(6). С. 1547-1555
23. Хода Р.С., Ванденбуш К., Хода С.А. Руководство по жидкостной цитологии, перевод с английского под общей редакцией Полонской Н.Ю. – Москва: Практическая медицина, 2020. 356 с.

24. Цитология жидкостная и традиционная при заболеваниях шейки матки. Цитологический атлас / Под ред. И.П. Шабалова, К.Т. Касоян. М.: Триада, 2016. 320 с.

25. Шмакова Н.А. Особенности генотипирования папилломавирусной инфекции у пациенток с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями / Н.А. Шмакова, Г.Н. Чистякова, И.Н. Кононова, И.И. Ремизова // Ульяновский медикобиологический вестник. 2020. № 3. С. 104-111.

26. Daron Ferris, Rudiwilai Samakoses, Stan L. Block, Eduardo Lazcano-Ponce, Jaime Alberto Restrepo, Keith S. Reisinger, Jesper Mehlsen, Archana Chatterjee, OleErikIversen, Heather L. Sings, Qiong Shou, Timothy A. Sausser, Alfred Saah Long-term Study of a Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine// Pediatrics Sep 2014, 134 с.

27. Deng T. Low initial human papillomavirus viral load may indicate worse prognosis in patients with cervical carcinoma treated with surgery // J Gynecol Oncol. Vol. 26 № 2. С. 111–117.

28. Dawood M.Y., Khan-Dawood F.S. Plasma insulin-like growth factor-I, CA-125, estrogen, and progesterone in women with leiomyomas. Fertil Steril. 1994; № 61 (4). С. 617–621.

29. Draper E, Bissett SL, Howell-Jones R, et al. A Randomized, Observer-Blinded Immunogenicity Trial of Cervarix® and Gardasil® Human Papillomavirus Vaccines in 12-15 Year Old Girls. Ellis RD, ed. PLoS ONE. 2013. № 8(5). 54 с.

30. EUCAN International Agency for Research on Cancer [Электронный ресурс]. URL: <http://eco.iarc.fr/eucan> (дата обращения 11.04.2025)..

31. Ferlay J., Ervik M., Lam F., Colombet M., Mery L., Piñeros M., Znaor A., Soerjomataram I., Bray F. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon,

France: International Agency for Research on Cancer. 2020. Режим доступа: <http://gco.iarc.fr/today/home> (дата обращения 24.04.2025).

32. Global strategy to accelerate the elimination of cervical cancer as a public health problem. Режим доступа: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240014107> (дата обращения 24.04.2025).

33. Harper DM., DeMars LR. HPV vaccines – A review of the first decade// Gynecol. Oncol. -2017. 146. P.196-204.

34. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, Griesser H Screening for cervical cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: results of the PALMS study. J Natl Cancer Inst., 2013, № 105(20) P. 1550-7.

35. Lorincz A.T. Virtues and Weaknesses of DNA Methylation as a Test for Cervical Cancer Prevention// Acta Cytologica. – 2016. -Vol.60. -P. 501-512.].
А также метилирование гена Death-Associated Protein Kinase 1 (DAPK1) может использоваться как маркер цервикального рака [Agodi A., Barchitta M., Quattrocchi A., Maugeri A., Vinciguerra M. DAPK1 Promoter Methylation and Cervical Cancer Risk: A Systematic Review and a Meta-Analysis// PLOS. 2015. 121 p.

36. Molijn A. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections / Molijn A., Kleter B., Quint W., van Dorn L. // J Clin Virol. 2005. Vol. 32 S. P. 43-51.

37. Nayar R., Wilbur D.C. The Pap test and Bethesda 2014. Cancer cytopathol 2015. №123 (5). P. 271–81.

38. The presence of high-risk HPV combined with specific p53 and p16INK4A expression patterns points to high-risk HPV as the main causative agent for adenocarcinoma in situ and adenocarcinoma of the cervix / Zielinski G. D., Snijders P. J., Rozendaal L. [et al.] // J Pathol. 2003. Vol. 201. P. 535-543.

39. Wang Y.Y., Wang W.C., Su C.W., Hsu C.W., Yuan S.S., Chen Y.K. Overexpression of sprouty 1 protein in human oral squamous cell carcinogenesis // J. Dent. Sci. 2021. Vol. 16(1). P. 21-28.
40. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Female Genital Tumours: WHO Classification of Tumours, 5th ed.; IACR: Lyon, France, 2020; Vol. 4. 114-119 p.
41. Zhou XL., Wang M. Expression levels of survivin, Bcl-2, and KAI1 proteins in cervical cancer and their correlation with metastasis. Genet Mol Res. - 2015; № 14(4). P. 17059-67.