

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ В ПРАКТИКЕ ПАП-ТЕСТА МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ЦИТОЛОГИИ

А.К. Аксаментов¹, Н.В. Мельникова^{1,2}, Н.А. Колышкина¹, О.Н. Кучерова³, В.П. Баклаушев¹

¹ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, Москва, Российская Федерация

² Российский научный центр рентгенодиагностики, Москва, Российская Федерация

³ Городская клиническая больница имени В.В. Виноградова Департамента здравоохранения города Москвы, филиал 1 «Родильный дом 4», Москва, Российская Федерация

Роль проонкогенных штаммов вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки не вызывает сомнений. В настоящее время в программах скрининга рака шейки матки применяется стратегия котестирования, включающая цитологическое и ВПЧ-исследования, которые могут быть осуществлены одновременно при помощи инновационного метода — жидкостной цитологии (ЖЦ). Новейшая технология позволяет проводить дополнительные диагностические генетические исследования, благодаря которым возможна более эффективная сортировка пациентов с целью оптимизации объема диагностических и лечебных мероприятий. В статье изучена эффективность диагностических тестов на основе оценки экспрессии микроРНК и мРНК, а также тестов на основе анализа метилирования ДНК по материалу ЖЦ. Внедрение в клиническую практику исследований новых молекулярно-генетических предикторов развития рака шейки матки расширяет возможности скрининговых программ, применяемых в настоящее время.

Ключевые слова: ПАП-тест; скрининг; рак шейки матки; микроРНК; мРНК; жидкостная цитология; метилирование ДНК.

Для цитирования: Аксаментов А.К., Мельникова Н.В., Колышкина Н.А., Кучерова О.Н., Баклаушев В.П. Дополнительные диагностические возможности в практике ПАП-теста методом жидкостной цитологии. *Клиническая практика*. 2021;12(1):82–89. doi: 10.17816/clinpract64982

Поступила 08.02.2021

Принята 08.03.2021

Опубликована 01.04.2021

Список сокращений

ВПЧ — вирус папилломы человека

ВПЧ-ВР — вирус папилломы человека высокого онкогенного риска

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота

ЖЦ — жидкостная цитология

мРНК — матричная рибонуклеиновая кислота

ПАП-тест — цервикальный мазок по Папаниколу

РШМ — рак шейки матки

ASCUS (atypical squamous cells undetermined significance) — атипичные клетки плоского эпителия неопределенного значения

ASC-H (atypical squamous cells cannot exclude HSIL) — атипичные клетки плоского эпителия, не исключающие HSIL

CIN (cervical intraepithelial neoplasia) — цервикальная интраэпителиальная неоплазия

HPV (human papilloma virus) — вирус папилломы человека

HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesion) — высокая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения

LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesion) — низкая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения

RT-qPCR (real-time quantitative polymerase chain reaction) — количественная полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

ОБОСНОВАНИЕ

Ежегодно инфицирование проонкогенными штаммами вируса папилломы человека (ВПЧ) становится причиной 570 000 новых случаев рака шей-

ки матки (РШМ) в мире [1]. В России в 2019 г. злокачественные новообразования шейки матки были выявлены у 73 918 женщин (22,25 на 100 000 населения), при этом РШМ в стадии *in situ* диагности-

рован только в 4964 (28,2%) случаях. Показатель заболеваемости РШМ в Российской Федерации в 2019 г. находился на пятом месте среди всех злокачественных новообразований у женщин (5,0%).

РШМ является причиной смерти женщин моложе 30 лет в 8,0% случаев, а в возрасте 30–39 лет — в 24% [2].

В настоящее время для выявления предраковых поражений и РШМ следует придерживаться стратегии котестирования (цитологический + ВПЧ-анализ) последних клинических рекомендаций [3]. Цитологическое исследование может выполняться как традиционным, так и методом жидкостной цитологии, при использовании которого уменьшается процент некачественных мазков и существенно возрастает точность диагностики [4–6].

Жидкостная цитология (ЖЦ) — метод приготовления цитологических препаратов, при котором клетки перед фиксацией на предметном стекле погружаются в консервирующую жидкость, что позволяет улучшить качество и стандартизировать методику цитологического исследования [7]. ЖЦ все чаще используется в скрининге РШМ [8]. Чувствительность выявления \geq CIN (cervical intraep-

ithelial neoplasia) III при цитологическом исследовании составляет от 46 до 50%, в то время как при ВПЧ-тестировании — 86–97%; \geq CIN II — 38–65 и 63–98% соответственно [9]. Хотя общий риск инфицирования штаммами ВПЧ высокого онкогенного риска (ВПЧ-ВР) достаточно высок, более чем в 90% случаев инфекция элиминируется в течение 24 мес [10, 11].

Ограниченная чувствительность скрининга на основе только цитологического исследования обусловила внедрение первичного ВПЧ-тестирования в Великобритании, Нидерландах, Сан-Марино, Турции и Германии [12, 13], однако результатами ряда исследований были подтверждены низкая положительная прогностическая значимость и низкая специфичность (от 30 до 60% при обнаружении \geq CIN III) ВПЧ-скрининга для выявления предраковых процессов и РШМ [14–18].

С целью дифференциальной диагностики тяжести поражения шейки матки наряду с ВПЧ-тестированием может производиться иммуноцитохимическое исследование для определения коэкспрессии онкобелков p16/Ki67 [3]. Совместное выполнение иммуноцитохимического и

ADDITIONAL DIAGNOSTIC CAPABILITIES IN THE PRACTICE OF A PAP-TEST USING LIQUID-BASED CYTOLOGY

A.K. Aksamentov¹, N.V. Melnikova^{1,2}, N.A. Kolyshkina¹, O.N. Kucherova^{1,3}, V.P. Baklaushev¹

¹ Federal Research and Clinical Center of Specialized Medical Care and Medical Technologies FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation

² Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, Moscow, Russian Federation

³ City Clinical Hospital named after V.V. Vinogradov of the Department of Health of the city of Moscow, branch 1 “Maternity hospital 4”, Moscow, Russian Federation

The role of oncogenic strains of human papillomavirus in the development of cervical cancer is currently not in doubt. In cervical cancer screening, a co-testing strategy is used, in which cytology and HPV testing are performed. When performing a cytological examination by liquid-based cytology, it is possible to conduct additional diagnostic studies that can be used to more effectively sort patients in order to optimize the volume of diagnostic and therapeutic measures. The article highlights the possibilities of diagnostic tests based on the assessment of microRNA and mRNA expression, as well as tests based on the analysis of DNA methylation from the cytological material. The introduction of new molecular genetic predictors of the cervical cancer development into clinical practice can increase the effectiveness of currently used screening programs.

Keywords: PAP-test; screening; cervical cancer; miRNA, mRNA, liquid-based cytology, DNA methylation.

For citation: Aksamentov AK, Melnikova NV, Kolyshkina NA, Kucherova ON, Baklaushev VP. Additional Diagnostic Capabilities in the Practice of a PAP-test Using Liquid-Based Cytology. *Journal of Clinical Practice*. 2021;12(1):82–89. doi: 10.17816/clinpract64982

Submitted 08.02.2021

Revised 08.03.2021

Published 01.04.2021

цитологического исследования несколько улучшает чувствительность и специфичность тестирования [19–22], но является достаточно субъективным, что накладывает ограничения на его использование [19, 23].

Таким образом, существует потребность в поиске новых, эффективных и специфичных биологических маркеров, которые точно и быстро определяют стадии развития патологического процесса шейки матки, что будет способствовать ведению пациента без излишнего медицинского вмешательства. С целью оптимизации молекулярно-генетических исследований следует рассмотреть использование остаточного материала консервирующей жидкости, применяемой при ЖЦ [24–27].

Цель — проанализировать возможности улучшения медицинской сортировки пациенток с предраковыми процессами шейки матки с помощью метода жидкостной цитологии с окраской по Папаниколау (ПАП-тест).

Анализ микроРНК

МикроРНК — короткие некодирующие РНК, состоящие в среднем из 22 нуклеотидов. Многие микроРНК тканеспецифичны и являются посттранскрипционными регуляторами экспрессии генов путем связывания оснований с целевыми РНК-носителями. МикроРНК могут быть сверхэкспрессированы или подавлены при раке и связаны с генетическими (например, делеции, амплификации и точечные мутации) и эпигенетическими (модификации гистонов и aberrантное метилирование ДНК) изменениями [28, 29].

В исследованиях, в которых для тестирования использовался остаточный материал ЖЦ, показана потенциальная эффективность применения в качестве молекулярного маркера прогрессирования плоскоклеточных интраэпителиальных поражений некоторых микроРНК (miR-34a, miR-218, miR-375, miR-424, miR-125b и let-7c) [30–32]. В частности, исследователи заявляют, что по сравнению с ПАП-тестом обнаружение как miR-424, так и miR-375 обеспечивает более высокую чувствительность (76,0 и 74,9 против 63,8%; $p < 0,05$) и сопоставимую специфичность при идентификации \geq CIN II [32].

Анализ метилирования ДНК

Другим молекулярным маркером предраковых поражений и РШМ в современной литературе обсуждается анализ метилирования ДНК у ВПЧ-ВР-по-

ложительных пациентов. Метилирование ДНК — это индуцированная ферментом химическая модификация богатых цитозин-гуанином динуклеотидных участков (CpG-островков) в промоторных и/или кодирующих областях генов, приводящая к нормальным эпигенетическим функциональным изменениям генома. Аберрантное метилирование промотора гена — один из важных механизмов транскрипционной репрессии гена в процессе канцерогенеза [33, 34]. В литературе сообщается об эффективности как анализа метилирования ДНК человека, так и ДНК ВПЧ. Наиболее полно метилирование последовательности генома ВПЧ было изучено для вируса 16-го типа. Авторы сообщают, что гиперметилирование областей L1, L2, E2 и E4 связано с повышенным риском поражения \geq CIN II при чувствительности 91% и специфичности 60% [35–37].

Сообщается, что более 100 генов человека являются возможными биомаркерами метилирования РШМ [38]. Проведено исследование оценки клинической эффективности молекулярного сортировочного теста на основе метилирования QIASure Methylation Test (Qiagen, Нидерланды) по материалу ПАП-теста ThinPrep (Hologic, США) и SurePath (Becton, Dickinson and Company, BD, США). QIASure Methylation Test — это тест-система на основе мультиплексной, специфичной к метилированию полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени для выявления гиперметилирования промоторов генов *FAM19A4* и *hsa-mir124-2*. Тест был оценен в 2384 ВПЧ-положительных образцах, полученных у женщин в возрасте 29–76 лет из четырех стран мира (Шотландия, Дания, Словения, Нидерланды). В 899 случаях результаты QIASure Methylation Test были сопоставлены с таковыми гистологического исследования: по результатам последнего, в 527 (58,6%) случаях не было выявлено предраковых поражений, в 124 подтверждена CIN II (5,2%), в 228 — CIN III (9,6%), в 20 — РШМ (0,8%). Авторы сообщают, что 19 из 20 выявленных образцов РШМ имели модификацию молекулы ДНК. Таким образом, чувствительность для группы РШМ составила 95%, для CIN II — 46,8%, для CIN III — 77,2%, для SCC — 95%, при этом общая специфичность для группы \geq CIN II составила 78,3% [39].

Проведено также сравнение двух наиболее известных, коммерчески доступных диагностических тестов на основе метилирования ДНК — GynTect® (поиск метилированных участков ДНК в промоторных/-5'-областях генов *ASTN1*, *DLX1*, *ITGA4*, *RXFP3*,

SOX17 и *ZNF671*) и QIAure Methylation Test — с ассоциированными маркерами метилирования *FAM19A4* и *hsa-mir124-2*. Так, GynTect® на примере 95 соскобов с шейки матки показал значимо более высокую специфичность по сравнению с QIAure Methylation Test: 87,6 против 67,4% ($p < 0,001$) для \geq CIN II и 84,1 против 68,2% ($p = 0,002$) для \geq CIN III. Авторы заявили также о высоких показателях метилирования *FAM19A4* и *hsa-mir124-2* в группе ВПЧ-ВР-положительных пациентов (52,4%), у которых CIN при гистологическом исследовании не получил подтверждения, при этом в другом исследовании показатель положительности теста на метилирование QIAure Methylation Test составлял 23,2% для ВПЧ-ВР-положительных случаев без CIN [40, 41].

Помимо маркеров метилирования *ASTN1*, *DLX1*, *ITGA4*, *RXFP3*, *SOX17*, *ZNF671* (GynTect®) и *FAM19A4*, *hsa-mir124-2* (QIAure Methylation Test) обсуждается также применение других детерминант. Так, маркерная панель *CADM1/MAL/hsa-mir124-2* показала сходные характеристики при использовании материала ПАП-теста ThinPrep в качестве маркера сортировки ВПЧ-ВР-положительных пациентов (чувствительность 73,8%, специфичность 81,5%) [42]. Цитологические образцы ПАП-теста ThinPrep были использованы для оценки показателей метилирования *EPB41L3* и *JAM3* и дифференцирования случаев \geq CIN II, диагностированных при гистологическом исследовании. Диагностическая точность метилирования ДНК сравнивалась со стратегиями на основе идентификации ВПЧ-ВР. Чувствительность оценки \geq CIN II составила 72,13%, специфичность 91,53%, при этом чувствительность обнаружения ВПЧ-ВР достигла 89,62%, специфичность — 25,42% [43].

В другом исследовании анализ метилирования был выполнен для шести маркеров — *ANKRD18CP*, *C13orf18*, *EPB41L3*, *JAM3*, *SOX1* и *ZSCAN1*. Биоматериал для исследования отбирался из остаточной консервирующей жидкости ThinPrep. Наиболее значимыми для обнаружения патологических изменений \geq CIN II были показатели чувствительности и специфичности панели генов *C13orf18/EPB41L3/JAM3* (80 и 66% соответственно) и панели *SOX1/ZSCAN1* (63 и 84% соответственно) [44].

В исследовании, включавшем 205 образцов остаточного материала SurePath пациентов с различными результатами ПАП-теста, был проведен анализ метилирования ДНК четырех генов — *ADCYAP1*, *PAX1*, *MAL* и *CADM1*. Клетки РСМ

показали резко повышенный уровень метилирования всех четырех проанализированных генов. *ADCYAP1* и *PAX1* также имели тенденцию к повышенным уровням метилирования в образцах HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesion). Чувствительность к метилированным *ADCYAP1*, *PAX1*, *MAL* и *CADM1* для выявления РСМ составила 79,2; 75,0; 70,8 и 52,1%, а специфичность, соответственно, 92,0; 94,0; 94,7 и 94,0% [45].

Исследование экспрессии мРНК генов человека

В литературе подчеркивается ценность детекции мРНК с помощью количественной ПЦР в жидкостной цитологии как менее субъективного исследования, нежели морфологическая оценка цитологического или гистологического препарата, и позволяющего оценить всю слизистую оболочку шейки матки в отличие от иммуногистохимического окрашивания [46–48].

Del Pino и соавт. [47] впервые показали возможность использования детекции мРНК прогностических генов хозяина в остаточной консервирующей жидкости от материала для ЖЦ. В образцах 123 пациентов с цитологически и гистологически подтвержденными патологическими изменениями эпителия шейки матки с помощью количественной ПЦР была проанализирована экспрессия мРНК 6 генов — *CDKN2A*, *BIRC5*, *MMP9*, *TOP2A*, *MCM5* и *MKI67*. Исследование показало, что определение мРНК некоторых генов в остаточной консервирующей жидкости от материала для ЖЦ может быть полезным для обнаружения HSIL. Так, почти все исследуемые биомаркеры показали чувствительность к HSIL выше 81%. Оценка уровня экспрессии *TOP2A* продемонстрировала чувствительность, аналогичную тестированию на ВПЧ-ВР и лучшую (96%), чем цитология. Оценка уровня экспрессии *CDKN2A/p16* при самой низкой чувствительности для диагностики HSIL продемонстрировала самую высокую специфичность (69%) по сравнению с другими биомаркерами. Комбинация оценки уровней экспрессии мРНК генов *TOP2A* и *CDKN2A/p16* привела к адекватному балансу между чувствительностью и специфичностью и может быть использована при идентификации HSIL.

Исследование Н.У. Wang и соавт. [49] показало, что оценка коэкспрессии вирусной мРНК *E6/E7* и мРНК *hTERT* гена человека может использоваться в качестве метода сортировки предраковых поражений шейки матки высокой и низкой степе-

ни. В работе использовалась комбинация тестов CervicGen HPV RT-qDX для обнаружения мРНК *E6/E7* в 16 типах ВПЧ-ВП и CervicGen *hTERT* RT-qDX для исследования экспрессии *hTERT* (Optipharm, Osong, Корея) в диагностике поражений шейки матки высокой степени и злокачественных опухолей, а также для оценки прогнозируемых результатов с использованием 545 образцов ПАП-теста ThinPrep, при этом гистологически подтвержден 131 случай с использованием образцов биопсии или иссечения. Чувствительность и специфичность обнаружения мРНК *E6/E7* с использованием множественной RT-qPCR в 545 образцах ПАП-теста ThinPrep составляли 91,1 и 96,7% соответственно по сравнению с цитологическими диагнозами. В образцах, которые были гистологически верифицированы как РШМ, CIN III, CIN II и CIN I, мРНК *E6/E7* экспрессировалась в 95; 88; 100 и 50% случаев соответственно. Доля образцов, положительных по экспрессии мРНК *hTERT*, составляла 88,9; 100 и 100% для цитологически идентифицированных образцов РШМ, HSIL и ASC-H соответственно. Процент образцов, положительных для анализа мРНК *hTERT*, составлял 95,5; 100; 100 и 100% для образцов с гистологически диагностированным РШМ, CIN III, CIN II и CIN I соответственно. Уровень экспрессии мРНК *hTERT* был значимо выше при ASC-H и HSIL/РШМ ($p=0,0001$) по сравнению с образцами без патологических изменений. Уровни экспрессии мРНК *hTERT* во всех нормальных ($n=288$) образцах были ниже порогового значения, и поэтому специфичность RT-qPCR мРНК *hTERT* составляла 100%. Соответственно, анализ уровней экспрессии *hTERT* может использоваться для уменьшения ложно-отрицательных результатов при цитологическом исследовании, но только в качестве дополнения к морфологическому исследованию.

Комбинация результатов оценки экспрессии мРНК *E6/E7* и *hTERT* показала 100% чувствительность в случаях HSIL и РШМ и 100% — в образцах LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesion) и ASC-US (atypical squamous cells undertermined significance — атипичные клетки плоского эпителия неопределенного значения), которые были гистологически диагностированы как предраковые поражения, при этом детекция ДНК ВПЧ была ниже (56,8%).

В одном из наших предыдущих исследований [50] мы оценили возможность проведения дифференцировки пациенток с \geq CIN II и \leq CIN I на основе экспрессии 21-генной панели мРНК методом

количественной ПЦР в материале консервирующей жидкости флакона с образцами ПАП-теста CellPrep.

Для оценки возможности дифференцировки пациенток с \geq CIN II и \leq CIN I была оценена экспрессия мРНК 21-генной панели. Уровень экспрессии мРНК 21 гена (*Ki-67*, *STK-15*, *CCNB1*, *CCND1*, *MYC*, *MYBL2*, *P16INK4A*, *PTEN*, *BIRC5*, *BCL2*, *BAG1*, *TERT*, *NDRG1*, *ESR1*, *PGR*, *HER2*, *GRB7*, *MGB1*, *MMP11*, *CTSL2*, *CD68*) определяли методом количественной ПЦР в материале консервирующей жидкости флакона после ПАП-теста CellPrep у 59 пациенток, проходивших лечение в ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России в 2015–2016 гг. Критерием достоверности были результаты сопоставления с последующим гистологическим исследованием. По данным дискриминантного анализа установлено, что сочетанная оценка уровней экспрессии мРНК генов *ESR1* и *MYBL2* позволяет провести правильную классификацию для пациенток с изменениями \geq CIN II в 88,24% случаев, а для пациенток с гистологически подтвержденной \leq CIN I — в 84,0%. Сочетанная оценка уровней экспрессии мРНК 17 генов (*ESR1*, *MYBL2*, *CD68*, *PTEN*, *CCND1*, *BCL2*, *HER2*, *MMP11*, *TERT*, *STK15*, *P16INK4A*, *BAG1*, *CTSL2*, *KI67*, *CCNB1*, *GRB7*, *NDRG1*) позволяет с точностью 98,3% дифференцировать группы \geq CIN II и \leq CIN I. Совпадение классификации с данными гистологического исследования для группы \geq CIN II составило 100,0% случаев, для группы с гистологически подтвержденной \leq CIN I — 96,0%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время в Российской Федерации рекомендовано котестирование с использованием цитологического метода в качестве первичной сортировки с последующим ВПЧ-ВП-исследованием, которое характеризуется большей чувствительностью, определяющим необходимость направления пациента на кольпоскопию. Исследование новых молекулярно-генетических предикторов, получившее развитие в последнее десятилетие, поможет улучшить возможности сортировки пациентов, что будет способствовать оптимизации объема диагностических и лечебных мероприятий. Внедрение методов такой количественной оценки в качестве дополнения к существующей морфологической оценке позволит более эффективно решать проблему выявления предраковых поражений шейки матки.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов. А.К. Аксаментов — анализ литературы, написание рукописи; В.П. Баклаушев, Н.В. Мельникова — идея и концепция обзора, анализ литературы, редактирование рукописи; Н.А. Колышкина, О.Н. Кучерова — анализ литературы с точки зрения клинической релевантности, редактирование рукописи. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. A.K. Aksamentov — literature analysis, manuscript writing; V.P. Baklaushev, N.V. Melnikova — concept of the review, literature analysis, manuscript editing; N.A. Kolyshkina, O.N. Kucherova — literature analysis from the viewpoint of clinical relevance, manuscript editing. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования

Поисково-аналитическая работа проведена на личные средства авторского коллектива.

Funding source. The study had no sponsorship.

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

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wild CP, Weiderpass E, Stewart BW. World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2020. Available from: <https://www.iarc.who.int/featured-news/new-world-cancer-report/>
2. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. 252 с. [Malignant neoplasms in Russia in 2019 (morbidity and mortality). Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow: P.A. Herzen Moscow State Medical Research Institute-branch of the Federal State Budgetary Institution «NMIC of Radiology» of the Ministry of Health of Russia; 2020. 252 p. (In Russ.)]
3. Клинические рекомендации. Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки. Общероссийская общественная организация «Российское общество специалистов по профилактике и лечению опухолей репродуктивной системы», Российское общество акушеров-гине-

кологов, 2020. [Clinical recommendations. Cervical intraepithelial neoplasia, erosion and ectropion of the cervix. All-Russian public organization «Russian Society of Specialists in the Prevention and Treatment of Tumors of the Reproductive System», Russian Society of Obstetricians and Gynecologists; 2020. (In Russ.)] Режим доступа: <https://sudact.ru/law/klinicheskie-rekomendatsii-tservikalnaia-intraepitelialnaia-neoplaziiia-eroziia-i/klinicheskie-rekomendatsii/>. Дата обращения: 12.02.2021.

4. Rozemeijer K, Penning C, Siebers AG, et al. Comparing SurePath, ThinPrep, and conventional cytology as primary test method: SurePath is associated with increased CIN II + detection rates. *Cancer Causes Control*. 2016;27(1):15–25. doi: 10.1007/s10552-015-0678-1
5. De Oliveira AC, Domingues MF, Neufeld PM, et al. Comparison between Conventional Cytology and Liquid-Based Cytology in the Tertiary Brazilian Navy Hospital in Rio de Janeiro. *Acta Cytol*. 2020;64(6):539–546. doi: 10.1159/000508018
6. Taylor S, Kuhn L, Dupree W, et al. Direct comparison of liquid-based and conventional cytology in a South African screening trial. *Int J Cancer*. 2006;118(4):957–962. doi: 10.1002/ijc.21434
7. Comprehensive Cytopathology. 3th Edition. Bibbo M.D., Wilbur, Elsevier; 2008.
8. Hoda RS, VandenBussche C, Hoda SA. Liquid-Based Specimen Collection, Preparation, and Morphology. In: Hoda RS, VandenBussche C, Hoda SA, ed. Diagnostic Liquid-Based Cytology. Berlin, Heidelberg: Springer; 2017. P. 1–12.
9. Whitlock EP, Vesco KK, Eder M, et al. Liquid-based cytology and human papillomavirus testing to screen for cervical cancer: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2011;155(10):687–697. doi: 10.7326/0003-4819-155-10-201111150-00376
10. Ho GY, et al. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med*. 1998;338(7):423–428. doi: 10.1056/NEJM199802123380703
11. Koliopoulos G, et al. Diagnostic accuracy of human papillomavirus testing in primary cervical screening: a systematic review and meta-analysis of non-randomized studies. *Gynecol Oncol*. 2007;104(1):232–246. doi: 10.1016/j.ygyno.2006.08.053
12. Mayrand MH, et al. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med*. 2007;357(16):1579–1588. doi: 10.1056/NEJMoa071430
13. Altobelli E, et al. HPV-vaccination and cancer cervical screening in 53 WHO European Countries: An update on prevention programs according to income level. *Cancer Med*. 2019;8(5):2524–2534. doi: 10.1002/cam4.2048
14. Leeman A, et al. Reliable identification of women with CIN3+ using hrHPV genotyping and methylation markers in a cytology-screened referral population. *Int J Cancer*. 2019;144(1):160–168. doi: 10.1002/ijc.31787
15. Schmitz M, et al. Performance of a methylation specific real-time PCR assay as a triage test for HPV-positive women. *Clin Epigenetics*. 2017;9. doi: 10.1186/s13148-017-0419-2
16. Arbyn M, et al. Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer. *Vaccine*. 2012;30(Suppl 5):F88–99. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.06.095
17. Bergeron C, et al. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results. *Cancer Cytopathol*. 2015;123(6):373–381. doi: 10.1002/cncy.21542
18. Lannér L, Lindström AK. Incidence of HPV and HPV related dysplasia in elderly women in Sweden. *PLoS One*. 2020;15(3):e0229758. doi: 10.1371/journal.pone.0229758
19. Luttmer R, et al. p16/Ki-67 dual-stained cytology for detecting cervical (pre)cancer in a HPV-positive gynecologic outpatient population. *Mod Pathol Off. J. U. S. Can Acad Pathol Inc*. 2016;29(8):870–878. doi: 10.1038/modpathol.2016.80
20. Wentzensen N, et al. p16/Ki-67 Dual Stain Cytology for Detection of Cervical Precancer in HPV-Positive Women. *JNCI J. Natl. Cancer Inst*. 2015;107(12). doi: 10.1093/jnci/djv257

21. Wentzensen N, et al. Clinical Evaluation of Human Papillomavirus Screening With p16/Ki-67 Dual Stain Triage in a Large Organized Cervical Cancer Screening Program. *JAMA Intern Med.* 2019;179(7):881–888. doi: 10.1001/jamainternmed.2019.0306
22. Carozzi F, et al. Use of p16-INK4A overexpression to increase the specificity of human papillomavirus testing: a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2008;9(10):937–945. doi: 10.1016/S1470-2045(08)70208-0
23. Ovestad IT, et al. Clinical value of fully automated p16/Ki-67 dual staining in the triage of HPV-positive women in the Norwegian Cervical Cancer Screening Program. *Cancer Cytopathol.* 2017;125(4):283–291. doi: 10.1002/cncy.21807
24. Colloço LM, Zardo L. CHAPTER 3 – Cytologic Screening Programs. *Comprehensive Cytopathology (Third Edition)*. Ed. Bibbo M., Wilbur D. Edinburgh: W.B. Saunders; 2008. P. 47–57.
25. Jamison J, Wilson RT, Carson J. The evaluation of human papillomavirus genotyping in cervical liquid-based cytology specimens; using the Roche Linear Array HPV genotyping assay. *Cytopathol Off J Br Soc Clin Cytol.* 2009;20(4):242–248. doi: 10.1111/j.1365-2303.2009.00643.x
26. Sahebali S, et al. Immunocytochemistry in liquid-based cervical cytology: analysis of clinical use following a cross-sectional study. *Int J Cancer.* 2006;118(5):1254–1260. doi: 10.1002/ijc.21489
27. Bubendorf L. Multiprobe fluorescence in situ hybridization (UroVysion) for the detection of urothelial carcinoma – FISHing for the right catch. *Acta Cytol.* 2011;55(2):113–119. doi: 10.1159/000323652
28. Macfarlane LA, Murphy PR. MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer. *Curr Genomics.* 2010;11(7):537–561. doi: 10.2174/138920210793175895
29. Iorio MV, Croce CM. Causes and consequences of microRNA dysregulation. *Cancer J Sudbury Mass.* 2012;18(3):215–222. doi: 10.1097/PPO.0b013e318250c001
30. Ribeiro J, et al. miR-34a and miR-125b Expression in HPV Infection and Cervical Cancer Development. *BioMed Res. Int.* 2015;(2015):304584. doi: 10.1155/2015/304584
31. Malta M, et al. Let-7c is a Candidate Biomarker for Cervical Intraepithelial Lesions: A Pilot Study. *Mol Diagn Ther.* 2015;19(3):191–196. doi: 10.1007/s40291-015-0145-4
32. Tian Q, et al. MicroRNA detection in cervical exfoliated cells as a triage for human papillomavirus-positive women. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106:9. doi: 10.1093/jnci/dju241
33. Lu J, et al. Regulation of Canonical Oncogenic Signaling Pathways in Cancer via DNA Methylation. *Cancers.* 2020;12:11. doi: 10.3390/cancers12113199
34. Tirado-Magallanes R, et al. Whole genome DNA methylation: beyond genes silencing. *Oncotarget.* 2016;8(3):5629–5637. doi: 10.18632/oncotarget.13562
35. Mirabello L, et al. Elevated methylation of HPV16 DNA is associated with the development of high grade cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer.* 2013;132(6):1412–1422. doi: 10.1002/ijc.27750
36. Piyathilake CJ, et al. A higher degree of methylation of the HPV 16 E6 gene is associated with a lower likelihood of being diagnosed with cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer.* 2011;117(5):957–963. doi: 10.1002/cncr.25511
37. Kottaridi C, et al. Quantitative Measurement of L1 Human Papillomavirus Type 16 Methylation for the Prediction of Preinvasive and Invasive Cervical Disease. *J Infect Dis.* 2017;215(5):764–771. doi: 10.1093/infdis/jiw645
38. Lorincz AT. Virtues and Weaknesses of DNA Methylation as a Test for Cervical Cancer Prevention. *Acta Cytol.* 2016;60(6):501–512. doi: 10.1159/000450595
39. Bonde J, et al. Methylation markers FAM19A4 and MIR124-2 as triage strategy for primary human papillomavirus screen positive women: A large European multicenter study. *Int J Cancer.* 2021;148(2):396–405. doi: 10.1002/ijc.33320
40. Leeman A, et al. Expression of p16 and HPV E4 on biopsy samples and methylation of FAM19A4 and miR124-2 on cervical cytology samples in the classification of cervical squamous intraepithelial lesions. *Cancer Med.* 2020;9(7):2454–2461. doi: 10.1002/cam4.2855
41. Dippmann C, et al. Triage of hrHPV-positive women: comparison of two commercial methylation-specific PCR assays. *Clin Epigenetics.* 2020;12. doi: 10.1186/s13148-020-00963-w
42. De Vuyst H, et al. Methylation Levels of CADM1, MAL, and MIR124-2 in Cervical Scrapes for Triage of HIV-Infected, High-Risk HPV-Positive Women in Kenya. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2015;70(3):311–318. doi: 10.1097/QAI.0000000000000744
43. Kong L, et al. DNA methylation for cervical cancer screening: a training set in China. *Clin Epigenetics.* 2020;12. doi: 10.1186/s13148-020-00885-7
44. van Leeuwen RW, et al. DNA methylation markers as a triage test for identification of cervical lesions in a high risk human papillomavirus positive screening cohort. *Int J Cancer.* 2019;144(4):746–754. doi: 10.1002/ijc.31897
45. Kim MK, et al. DNA methylation in human papillomavirus-infected cervical cells is elevated in high-grade squamous intraepithelial lesions and cancer. *J Gynecol Oncol.* 2016;27:2. doi: 10.3802/jgo.2016.27.e14
46. Tsoumpou I, et al. p16(INK4a) immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev.* 2009;35(3):210–220. doi: 10.1016/j.ctrv.2008.10.005
47. Del Pino M, et al. mRNA biomarker detection in liquid-based cytology: a new approach in the prevention of cervical cancer. *Mod Pathol Off J. U. S. Can Acad Pathol Inc.* 2015;28(2):312–320. doi: 10.1038/modpathol.2014.106
48. 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. [Melnikova NV, Antonova IB, Babaeva NA, et al. Results of detection, typing and quantification of human papillomavirus by PCR in the practice of liquid cytology in postmenopausal women. *Bulletin of the Russian Scientific Center of Roentgenradiology.* 2020;20(4): 134–151. (In Russ).]
49. Wang HY, et al. Use of hTERT and HPV E6/E7 mRNA RT-qPCR TaqMan assays in combination for diagnosing high-grade cervical lesions and malignant tumors. *Am J Clin Pathol.* 2015;143(3):344–351. doi: 10.1309/AJCPF2XGZ2XIQYQX
50. Мельникова Н.В., Боженко В.К., Антонова И.Б., и др. Цервикальные интраэпителиальные неоплазии: анализ профиля МРНК в практике жидкостной цитологии // *Акушерство и гинекология.* 2017. № 4. 95–100. [Melnikova NV, Bozhenko VK, Antonova IB, et al. Cervical intraepithelial neoplasia: analysis of mrna profile in the practice of liquid-based cytology. *Obstetrics and gynecology.* 2017;(4). 95–100. (In Russ).] doi: 10.18565/AIG.2017.4.95-100

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Аксаментов Артём Константинович;

адрес: Российская Федерация, 115682, Москва, Ореховый бульвар, д. 28; e-mail: temaaxe@rambler.ru; eLibrary SPIN: 7861-6556; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7980-2537>

AUTHORS INFO

Artem K. Aksamentov, MD;

address: 28 Orekhovy boulevard, Moscow, 115682, Russia; e-mail: temaaxe@rambler.ru; eLibrary SPIN: 7861-6556; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7980-2537>

Соавторы:

Мельникова Надежда Васильевна, к.м.н.;
e-mail: n_melnikova@list.ru; eLibrary SPIN: 5050-8605;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1193-352X>

Кольшикина Надежда Александровна,
e-mail: baklab_83@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4486-5412>

Кучерова Ольга Николаевна, к.м.н.;
e-mail: ola-kucherova@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3773-9629>

Баклаушев Владимир Павлович, д.м.н.;
e-mail: baklaushev.vp@fnkc-fmba.ru;
eLibrary SPIN: 3968-2971;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1039-4245>

Nadezhda V. Melnikova, Cand. Sci. (Med.);
e-mail: n_melnikova@list.ru; eLibrary SPIN: 5050-8605;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1193-352X>

Nadezhda A. Kolyshkina, MD;
e-mail: baklab_83@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4486-5412>

Olga N. Kucherova, Cand. Sci. (Med);
e-mail: ola-kucherova@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3773-9629>

Vladimir P. Baklaushev, Dr. Sci. (Med.);
e-mail: baklaushev.vp@fnkc-fmba.ru;
eLibrary SPIN: 3968-2971;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1039-4245>