

УДК 618.146-022-018.1-07

Х.В. Зарічанська

## Чутливість і специфічність діагностичного комплексу в жінок з інтраепітеліальним ураженням шийки матки

Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, м. Київ

Ukrainian Journal Health of Woman. 2024. 4(173): 21-25; doi: 10.15574/HW.2024. 4(173).2125

**For citation:** Zarichanska KhV. (2024). Diagnostic sensitivity and specificity complex in women with intraepithelial lesions of the cervix utery. Ukrainian Journal Health of Woman. 4(173): 21-25; doi: 10.15574/HW.2024. 4(173).2125

**Мета** — вивчити молекулярно-біологічні особливості плоскоклітинного інтраепітеліального ураження шийки матки (SIL) з використанням імуноцитохімічного (ІЦХ) методу визначення онкобілка p16ink4 $\alpha$  і маркера проліферації Ki67 для розроблення в подальшому високоефективного методу ранньої діагностики доброякісної патології шийки матки.

**Матеріали та методи.** Обстежено 150 жінок із гістологічно верифікованим діагнозом SIL: 1-ша група — 74 жінки із SIL низького ступеня (LSIL); 2-га група — 76 жінок із SIL високого ступеня (HSIL). Контрольна група — 70 здорових жінок (NILM). В усіх пацієнток взято рідинну цитологію, проведено ІЦХ-дослідження з визначенням експресії онкобілка p16ink4 $\alpha$  і маркера проліферації Ki67 та комплексне генотипування вірусу папіломи людини (ВПЛ). Статистичну обробку результатів досліджень проведено з використанням стандартних програм «Microsoft Excel 5.0» і «Statistica 6.0».

**Результати.** Експресія онкобілка p16ink4 $\alpha$  у пацієнток 1-ї групи (LSIL) становила 27,2% атипичних клітин плоского епітелію в мазку, маркера проліферації Ki67 — 11,6%. У жінок 2-ї групи (HSIL) експресія онкобілка p16ink4 $\alpha$  дорівнювала 58,9%, маркер проліферації Ki67 — 30,7%. У пацієнток контрольної групи (NILM) окремі p16ink4 $\alpha$  — позитивні клітини виявили 0,72%, водночас у них не відзначили експресії маркера проліферації Ki67, що дало змогу віднести їх до категорії «старіючих» клітин. Для p16ink4 $\alpha$  діагностична чутливість становила 97,4%, діагностична специфічність — 76,8%. Для маркера проліферації Ki67 діагностична чутливість дорівнювала 100%, діагностична специфічність — 92,8%.

**Висновки.** Найінформативнішим методом для виявлення є коекспресія p16ink4 $\alpha$ /Ki67: діагностична чутливість — 98,5%, специфічність — 100% порівняно з рідинною цитологією і ВПЛ-тестом.

Дослідження виконано відповідно до принципів Гельсінської декларації. Протокол дослідження ухвалено Локальним етичним комітетом зазначеної в роботі установи. На проведення дослідження отримано інформовану згоду жінок.

Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.

**Ключові слова:** інтраепітеліальні ураження шийки матки, діагностика, рідинна цитологія, імуноцитохімічний метод, онкобілок p16ink4 $\alpha$ , маркер проліферації Ki67.

### Diagnostic sensitivity and specificity complex in women with intraepithelial lesions of the cervix utery

Kh. V. Zarichanska

Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv

**Aim** — study the molecular and biological features of cervical intraepithelial lesions (SIL) using the immunocytochemical method of determining the oncoprotein p16ink4 $\alpha$  and the proliferation marker Ki67 in order to further develop a highly effective method for the early diagnosis cervical cancer.

**Materials and methods.** Examined 150 women with a histologically verified diagnosis of SIL, of which the group 1 — 74 women with low-grade squamous intraepithelial lesion of the uterine cervix (LSIL) and the group 2 — 76 women with high-grade squamous intraepithelial lesion of the uterine cervix (HSIL). The control group included 70 women without morphological changes negative for cervical intraepithelial lesion (NILM). The average age of the patients is 32.7 $\pm$ 0.5 years. Liquid cytology was taken from all patients and an immunocytochemical method (ICH) was performed to determine the expression of the oncoprotein p16ink4 $\alpha$  and the proliferation marker Ki67 and complex genotyping of HPV DNA of 28 types. Statistical processing of research results was carried out using standard Microsoft Excel 5.0 and Statistical 6.0 programs.

**Results.** The expression of the oncoprotein p16ink4 $\alpha$  in patients of the group 1 (LSIL) was 27.2% of atypical squamous cells in the smear, the proliferation marker Ki67 was 11.6%. In women of the group 2 (HSIL), expression of oncoprotein p16ink4 $\alpha$  — 58.9%, proliferation marker Ki67 — 30.7%. In patients of the control group (NILM), individual p16ink4 $\alpha$  — positive cells were found in 0.72%, while they lacked the expression of the proliferation marker Ki67, which allowed to classify them as «senescent» cells. For p16ink4 $\alpha$ , diagnostic sensitivity was 97.4%, diagnostic specificity was 76.8%. For the proliferation marker Ki67, diagnostic sensitivity was 100%, diagnostic specificity was 92.8%.

**Conclusions.** The most informative method for detecting SIL is p16ink4 $\alpha$ /Ki67 coexpression: diagnostic sensitivity — 98.5%, specificity — 100% compared to liquid cytology and HPV test.

The research was conducted according to principles of Declaration of Helsinki. Protocol of research was proved by local ethical committee, mentioned in institution's work. A informed sonsennt was collected in order to carry out the research.

The author is stating no conflict of interests is declared.

**Keywords:** intraepithelial lesions of the cervix, diagnosis, liquid cytology, immunocytochemical method, oncoprotein p16ink4 $\alpha$ , proliferation marker Ki67.

Значне зростання онкологічної захворюваності шийки матки і тенденція до омолодження захворювання є дуже тривожним фактом, оскільки цей контингент жінок становить репродуктивну частину населення, а також активну частину соціального суспільства [14].

Враховуючи високий рівень поширеності раку шийки матки, раннє встановлення діагнозу плоскоклітинного інтраепітеліального ураження (SIL) на сьогодні є важливою та актуальною проблемою [6,7,17,20]. Діагностування захворювань шийки матки, асоційованих із вірусом папіломи людини (ВПЛ), є складним і ґрунтується на використанні безлічі методів досліджень, зокрема, різних тест-систем для виявлення ДНК ВПЛ, цитологічного дослідження (традиційним Pap-тест (test Papanicolaou) або рідинним методом); визначення онкобілків E6 та E7; оцінювання експресії p16ink4α/Ki67 імуноцитохімічним (ІЦХ), імуногістохімічним (ІГГ) методами; розширеної кольпоскопії; гістологічного дослідження біоптату шийки матки за показаннями. Раціональність застосування вищезазначених методів не однозначна у зв'язку з їхньою різною діагностичною чутливістю і специфікою [5,11,16]. У багатьох країнах для виявлення ВПЛ застосовується система «Digene-test», яка визначає наявність і концентрацію ВПЛ, допомагаючи клініцистові спрогнозувати і виробити тактику ведення пацієнта. Іншим міжнародним референтним тестом є тест-система «Cobas», яка забезпечує якісну детекцію 14 високоонкогенних генотипів ВПЛ (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68-го) та окремо 16 і 18-го генотипів [1,2,21]. Порівняльний аналіз двох тест-систем «Cobas» і «Digene» для визначення ВПЛ у жінок із гістологічно підтвердженим діагнозом цервікальної інтраепітеліальної неоплазії (CIN) різного ступеня тяжкості показує достовірну кореляцію між ступенем тяжкості цервікальних уражень і наявністю ВПЛ високоонкогенного ризику. Діагностична чутливість тест-системи «Cobas» становить 90,6%, Digene-тесту — 86,1%, специфічність — відповідно 92,9% і 91,8% [6].

Поряд із традиційною цитологією, Pap-тест, останніми роками активно впроваджується найбільш високоспецифічний метод — рідинна цитологія (РЦ). Однією з переваг цього методу є можливе використання зразка матеріалу не лише для діагностування SIL, але і для детекції ВПЛ та онкобілків p16ink4α/Ki67 [8,12,19].

Результати традиційного цитологічного методу дослідження корелюють із гістологічними результатами не більше ніж у 60% випадків, у разі застосування методу РЦ — близько 99% випадків [9].

Останніми роками перспективним напрямом у діагностуванні ураження шийки матки, асоційованого із ВПЛ, є визначення зміни експресії онкобілка p16ink4α і маркера проліферації Ki67, що дає змогу визначити наявність онковірусних білків і встановити ступінь порушень клітинної регуляції [15].

Білок p16ink4α ідентифікується як пухлинний супресор зростання, синтез якого кодується геном CDKN2A, інгібує активність циклін-залежних кіназ 4 і 6 (cdk4/6), впливаючи на регуляцію клітинного циклу (перехід клітини з G1-фази до S-фази). Відомо, що в здорових клітинах експресія білка p16ink4α строго обмежена. В інфікованих ВПЛ клітинах онкобілок E7 зв'язується з білком ретинобластоми (RB), що є супресором пухлин, інгібуючи його функцію шляхом протеасомної деградації, результатом якого є надмірна експресія p16ink4α [18].

Встановлення в клітині одночасної експресії онкобілка p16ink4α і маркера проліферації Ki67 вказує на індуковане порушення клітинного циклу, цим сприяє точнішому діагностуванню цервікальних уражень високого ступеня.

Перші дослідження з вивчення експресії p16ink4α і Ki67 у пацієнок із раком шийки матки показують високу специфічність методу [8]. Метод подвійного фарбування цитологічних препаратів має найбільшу чутливість (86%) порівняно з фарбуванням гематоксилін-еозинном (68,5%) ( $p < 0,001$ ); при цьому специфічність методу еквівалентна і становить відповідно 95,2% і 95,4% ( $p = 0,15$ ) [19].

За даними авторів, чутливість цитологічного методу, дослідження на онкобілки E6/E7, p16ink4α і маркер проліферації Ki67 для виявлення ВПЛ позитивних жінок становить відповідно 77,6%, 80,8% і 87,6% [8,12,19]. Для виявлення CIN 2–3 шийки матки чутливість/специфічність ВПЛ тесту становить 89,3% і 14,9%, для p16ink4α/Ki67 — 96,4% і 60,9%, відповідно [12]. Діагностична чутливість коекспресії онкомаркерів p16ink4α/Ki67 ІЦХ методом виявлення LSIL дорівнює 94,2%, специфічність — 68% [16].

Отже, визначення експресії p16ink4α і Ki67 ІЦХ-методом дає змогу з вищою достовірністю прогнозувати ризик трансформації SIL у рак

шийки матки і, як наслідок, дає змогу визначити подальшу тактику ведення пацієнтів [12,20]. На думку зарубіжних авторів, внесення p16ink4α і Ki67 до рутинного скринінгу дасть змогу удосконалити моніторинг жінок, які перенесли органозберігаючі операції з приводу CIN 3+ і цервікального раку [18].

Незважаючи на прорив, що стався останніми роками в діагностуванні ВПЛ-асоційованої патології шийки матки, сьогодні залишається актуальним пошук універсального, вискоєфективного методу раннього діагностування [3,4,10,20].

**Мета** дослідження — вивчити молекулярно-біологічні особливості SIL з використанням ПЦХ-методу визначення онкобілка p16ink4α і маркера проліферації Ki67 для розроблення в подальшому вискоєфективного методу ранньої діагностики доброякісної патології шийки матки.

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено на базі КНП «Київський міський пологовий будинок № 1» на клінічній базі кафедри акушерства, гінекології та перинатології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика за період 2015–2021 рр. Основна група дослідження — 150 жінок із гістологічно верифікованим діагнозом SIL, із них низького (LSIL) (n=74) і високого ступенів (HSIL) (n=76) — 1-ша і 2-га групи, відповідно. До контрольної групи залучено жінок без морфологічних змін інтраепітеліального ураження шийки матки (NILM) (n=70). Середній вік пацієнток становив 32,7±0,5 року.

Усім пацієнткам проведено РЦ, ПЦХ-дослідження з визначенням експресії онкобілка p16ink4α і маркера проліферації Ki67 та комплексне генотипування ДНК ВПЛ 28 типів. Остаточний діагноз верифіковано гістологічним методом.

Імуноцитохімічне дослідження експресії молекулярного онкомаркера p16ink4α і маркера проліферації Ki67 визначено зі зразків тканин, одержаних методом РЦ із використанням діагностичного набору «CINtec®». Оцінено спільну ядерну та цитоплазматичну реакцію. Позитивною визнано реакцію в тих випадках, коли навіть в одній атиповій клітині був позитивний білок. Залежно від інтенсивності фарбування виділено такі типи ядерної реакції — негативну, слабку осередкову, помірну та виражену експресію онкобілка. Відсутність експресії онкомаркерів при РЦ віднесено до норми.

Гістологічне дослідження біоптатів шийки матки проведено всім пацієнткам з аномальною кольпоскопічною картиною, яким взято прицільну біопсію шийки матки під контролем кольпоскопа із застосуванням радіохірургії (апарат Сургітрон).

Статистичний аналіз отриманих результатів проведено з використанням програми «Statistica 6.1 for Windows» з урахуванням обчислювальних методів, рекомендованих для біології та медицини. Достовірність відмінностей середніх розраховано за допомогою t-критерію Стьюдента, а за множинних порівнянь — критерію Ньюмена Кейлса і критерію Даннета. Для непараметричних методів використано обчислення U-критерію Манна–Вітні. Достовірними прийнято відмінності за  $p \leq 0,05$  [13].

Дослідження виконано згідно з принципами Гельсінської декларації, а також із дотриманням відповідних законодавчих норм і вимог щодо клінічних/біомедичних досліджень. Протокол дослідження ухвалено Локальним етичним комітетом установи, де воно проводилося. На проведення досліджень отримано інформовану згоду жінок.

### Результати дослідження та їх обговорення

За допомогою ПЦХ-методу визначали експресію онкопротеїну p16ink4α і маркера проліферації Ki67 як у вільно лежачих атипових клітинах, так і в комплексах атипових клітин плоского епітелію в жінок із SIL.

У пацієнтів 1-ї групи (LSIL) експресія онкопротеїну p16ink4α становила 27,0% атипових клітини плоского епітелію в мазку, маркера проліферації Ki67 — 12,2%. У жінок 2-ї групи (HSIL) експресія ракового білка p16ink4α дорівнювала 57,8% атипових клітини плоского епітелію в мазку, маркер проліферації Ki67 — 30,2%. В обстежуваних контрольної групи (NILM) експресія онкобілка p16ink4α становила 0,54% атипових клітин плоского епітелію в мазку за відсутності експресії маркера проліферації Ki67. Наявність атрофічних і дистрофічних змін дала змогу віднести їх до категорії «старіючих» клітин. Експресія маркера проліферації Ki67 дорівнювала 8,2% за відсутності експресії онкопротеїну p16ink4α.

Порівняльний аналіз позитивної реакції p16ink4α і Ki67 серед пацієнтів досліджуваних груп показав, що позитивна реакція на p16ink4α була достовірно вищою в пацієнтів 1-ї групи (LSIL) ( $p=3,02 \times 10^8$ ) і 2-ї групи (HSIL)

Таблиця 1

## Частота виявлення онкобілка p16ink4α у жінок з інтраепітеліальними ураженнями шийки матки

Онкомаркер	Група	Кількість	p <sub>1</sub>	p <sub>2</sub>	p <sub>3</sub>
p16ink4α	LSIL	74	<0,001	–	<0,001
	HSIL	76	<0,001	<0,001	–

Примітка: p<sub>1</sub> — достовірність щодо норми; p<sub>2</sub> — достовірність щодо LSIL; p<sub>3</sub> — достовірність щодо HSIL.

Таблиця 2

## Частота виявлення білків Ki67 у жінок з інтраепітеліальним ураженням шийки матки

Онкомаркер	Група	Кількість	p <sub>1</sub>	p <sub>2</sub>	p <sub>3</sub>
Ki67	1-ша (LSIL)	74	<0,05	–	<0,001
	2-га (HSIL)	76	<0,001	<0,001	–

Примітка: p<sub>1</sub> — достовірність щодо норми; p<sub>2</sub> — достовірність щодо LSIL; p<sub>3</sub> — достовірність щодо HSIL.

Таблиця 3

## Чутливість і специфічність імуноцитохімічного дослідження

Метод	Чутливість, %	Специфічність, %	Площа під ROC-кривою
p16ink4α	97,4	76,8	0,918
Ki67	100,0	92,8	0,912

Таблиця 4

## Чутливість і специфічність рідинної цитології, подвійного фарбування p16ink4α/Ki67, ВПЛ-тесту при інтраепітеліальному ураженні шийки матки

Метод	Чутливість, %	Специфічність, %
Рідинна цитологія	83,4	96,4
ІЦХ p16ink4α /Ki67	98,5	100
ВПЛ-генотипування	94,2	78,1

( $p=1,06 \times 10^{10}$ ) порівняно з пацієнтами контрольної групи (NILM). Результати проведених досліджень у жінок обстежуваних груп наведено в таблиці 1.

За даними порівняльного аналізу експресії маркера проліферації Ki67 достовірне підвищення було у хворих 2-ї групи (HSIL) ( $p=2,7 \times 10^6$ ) порівняно з пацієнтами контрольної групи (NILM). Однак не виявлено достовірних відмінностей в експресії Ki67 серед пацієнтів 1-ї групи (LSIL) та контрольної групи (NILM) ( $p>0,05$ ).

Порівняльний аналіз експресії Ki67 у жінок SIL різного ступеня вираженості показав істотні відмінності серед пацієнтів 1 і 2-ї груп (LSIL і HSIL) ( $p=6,79 \times 10^9$ ) ( $p<0,001$ ). Отримані результати підтверджують більш високу експресію онкопротеїнів p16ink4α і Ki67 у пацієнтів 2-ї групи (HSIL) порівняно з пацієнтами 1-ї групи (LSIL) ( $p<0,001$ ) (табл. 2).

Проведений ROC-аналіз дав змогу визначити діагностичну чутливість і специфічність p16ink4α і Ki67 для виявлення передраку та раку шийки матки. Для p16ink4α діагностична чутливість становила 97,4%, діагностична специфічність — 76,8%. Для маркера проліферації Ki67 діагностична чутливість дорівнювала 100%, діагностична специфічність — 92,8% (табл. 3).

Визначали чутливість і специфічність РЦ, подвійного імунофарбування p16ink4α/Ki67

і ВПЛ-тестування. Критерієм достовірності був гістологічний висновок. Діагностична чутливість цитологічного дослідження методом РЦ для виявлення SIL становила 83,4%, діагностична специфічність — 96,4%.

Діагностична чутливість коекспресії p16ink4α/Ki67 дорівнювала 98,5%, діагностична специфічність — 100%. Для тестування на ВПЛ діагностична чутливість методу становила 94,2%, діагностична специфічність — 78,1% (табл. 4).

Найефективнішим методом для виявлення SIL різного ступеня тяжкості є подвійне імунофарбування p16ink4α/Ki67, оскільки цей метод має найвищу діагностичну чутливість і специфічність порівняно з РЦ і ВПЛ-тестом.

Незважаючи на те, що метод подвійного фарбування не потребує підрахунку позитивних клітин, згідно з інструкцією виробника, у наведеній нами роботі виявлено прямий взаємозв'язок числа позитивних клітин p16ink4α/Ki67 зі ступенем ураження шийки матки. Так, у пацієнтів із LSIL вміст позитивних клітин p16ink4α/Ki67 в атипових клітинах плоского епітелію шийки матки становив близько 30%, з HSIL — 60% ( $p<0,005$ ). Метод подвійного фарбування володіє вищою специфічністю і чутливістю порівняно з ВПЛ-тестом, оскільки дає змогу визначити наявність вірусу та зміни в клітинах епітелію шийки матки під його впливом.

## Висновки

Виявлення онкомаркера P16ink4 $\alpha$  і маркера проліферації Ki67 має вищу діагностичну чутливість і специфічність для діагностування SIL порівняно з тестуванням на ВПЛ і РЦ. Спільна експресія p16ink4 $\alpha$ /Ki67 в епітелії шийки матки свідчить про поча-

ток канцерогенезу, що дає змогу використовувати цей критерій як прогностичний маркер. Застосування РЦ, подвійного фарбування p16ink4 $\alpha$ /Ki67 і тестування на ВПЛ значно підвищує ефективність ранньої діагностики захворювань шийки матки.

*Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.*

## References/Література

- Avian A, Clemente N, Mauro E, Isidoro E, Di Napoli M, Dudine S et al. (2022, May 17). Clinical validation of full HR-HPV genotyping HPV Selfy assay according to the international guidelines for HPV test requirements for cervical cancer screening on clinician-collected and self-collected samples. *J Transl Med.* 20(1): 231. doi: 10.1186/s12967-022-03383-x. Erratum in: *J Transl Med.* 2023 Jan 26;21(1):49. doi: 10.1186/s12967-023-03882-5. PMID: 35581584; PMCID: PMC9115952.
- Bhatla N, Singhal S. (2020, May). Primary HPV screening for cervical cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 65: 98–108. Epub 2020 Mar 2. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2020.02.008. PMID: 32291178.
- Chiou PZ. (2023). HPV Primary and Co-testing: An Ethical Analysis Exploring the Role of Cytology in Cervical Cancer Screening and Management. *J Allied Health.* 52(4): 301–304. PMID: 38036477.
- Dovnik A, Repše Fokter A. (2023, Oct 19). The Role of p16/Ki67 Dual Staining in Cervical Cancer Screening. *Curr Issues Mol Biol.* 45(10): 8476–8491. doi: 10.3390/cimb45100534. PMID: 37886977; PMCID: PMC10605736.
- Elfström KM, Eklund C, Lamin H, Öhman D, Hortlund M, Elfgrén K et al. (2021, Aug 23). Organized primary human papillomavirus-based cervical screening: A randomized healthcare policy trial. *PLoS Med.* 18(8): e1003748. doi: 10.1371/journal.pmed.1003748. PMID: 34424907; PMCID: PMC8423359.
- Fontham ETH, Wolf AMD, Church TR, Etzioni R, Flowers CR, Herzig A et al. (2020, Sep). Cervical cancer screening for individuals at average risk: 2020 guideline update from the American Cancer Society. *CA Cancer J Clin.* 70(5): 321–346. Epub 2020 Jul 30. doi: 10.3322/caac.21628. PMID: 32729638.
- Gavinski K, Di Nardo D. (2023, Mar). Cervical Cancer Screening. *Med Clin North Am.* 107(2): 259–269. Epub 2022 Dec 26. doi: 10.1016/j.mcna.2022.10.006. PMID: 36759096.
- Giorgi Rossi P, Carozzi F, Ronco G, Allia E, Bisanzio S, Gillio-Tos A et al. (2021, Mar 1). p16/Ki67 and E6/E7 mRNA Accuracy and Prognostic Value in Triaging HPV DNA-Positive Women. *J Natl Cancer Inst.* 113(3): 292–300. doi: 10.1093/jnci/djaa105. Erratum in: *J Natl Cancer Inst.* 2022 Feb 7; 114(2): 324. doi: 10.1093/jnci/djab107. PMID: 32745170; PMCID: PMC7936054.
- Hammer A, Gravitt P. (2021, Mar). Clinical implications of transitioning from cytology to human papillomavirus-based cervical cancer screening. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 100(3): 371–372. doi: 10.1111/aogs.14107. PMID: 33739440.
- Jeromel S, Repše Fokter A, Dovnik A. (2024, Apr 23). P16/Ki67 Dual Staining in Glandular Cell Abnormalities of the Uterine Cervix. *Cancers (Basel).* 16(9): 1621. doi: 10.3390/cancers16091621. PMID: 38730573; PMCID: PMC11083027.
- Liu J, Su S, Liu Y. (2022, May 9). The value of Ki67 for the diagnosis of LSIL and the problems of p16 in the diagnosis of HSIL. *Sci Rep.* 12(1): 7613. doi: 10.1038/s41598-022-11584-z. PMID: 35534530; PMCID: PMC9085733.
- Mazurec K, Trzeszcz M, Mazurec M, Streb J, Halon A, Jach R. (2023, Oct 21). Triage Strategies for Non-16/Non-18 HPV-Positive Women in Primary HPV-Based Cervical Cancer Screening: p16/Ki67 Dual Stain vs. Cytology. *Cancers (Basel).* 15(20): 5095. doi: 10.3390/cancers15205095. PMID: 37894462; PMCID: PMC10605570.
- Mintser AP. (2018). Statisticheskie metodyi issledovaniya v klinicheskoy meditsine. *Prakticheskaya meditsina.* 3: 41–45.
- Moiseienko RO, Zhylyka Nla, Hoida NH, Dudina OO, Holubchikov MV, Oktysiuks ZhS. (2023). Stan reproduktyvnoho zdorovia zhinok Ukrainy. *Ukraina. Zdorovia natsii.* (1): 51–59. [Моїсеєнко РО, Жилка НЯ, Гойда НГ, Дудина ОО, Голубчиков МВ, Октысюк ЖС. (2023). Стан репродуктивного здоров'я жінок України. Україна. Здоров'я нації. (1): 51–59].
- Patarapadungkit N, Khonhan P, Pisuttimarn P, Pientong C, Ekalaksananan T, Koonmee S. (2020, Jul 1). Human Papillomavirus Detection and Abnormal Anal Cytology in HIV-infected Patients Using p16/Ki-67 Dual-Staining. *Asian Pac J Cancer Prev.* 21(7): 2013–2019. doi: 10.31557/APJCP.2020.21.7.2013. PMID: 32711427; PMCID: PMC7573428.
- Pimple SA, Mishra GA, Deodhar KK. (2020, Apr). Evidence based appropriate triage strategies for implementing high risk HPV as primary technology in cervical cancer screening. *Minerva Ginecol.* 72(2): 96–105. doi: 10.23736/S0026-4784.20.04511-6. PMID: 32403908.
- Rajaram S, Gupta B. (2021, Aug). Screening for cervical cancer: Choices & dilemmas. *Indian J Med Res.* 154(2): 210–220. doi: 10.4103/ijmr.IJMR\_857\_20. PMID: 34854432; PMCID: PMC9131755.
- Staats PN, Davey DD, Witt BL, Ghofrani M, Zhao C, Dodd LG et al. (2022, Mar-Apr). Performance of specific morphologic features in distinguishing low-grade squamous intraepithelial lesions from high-grade squamous intraepithelial lesions in borderline cases: a College of American Pathologists Cytopathology Committee multiobserver study. *J Am Soc Cytopathol.* 11(2): 102–113. Epub 2021 Nov 10. doi: 10.1016/j.jasc.2021.11.001. PMID: 34903496.
- Tantitamit T, Khemapech N, Havanond P, Termrungranglert W. (2020, Jan-Dec). Cost-Effectiveness of Primary HPV Screening Strategies and Triage with Cytology or Dual Stain for Cervical Cancer. *Cancer Control.* 27(1): 1073274820922540. doi: 10.1177/1073274820922540. PMID: 32372659; PMCID: PMC7218320.
- Wentzensen N, Clarke MA. (2021, Mar). Cervical Cancer Screening—Past, Present, and Future. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 30(3): 432–434. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-20-1628. PMID: 33857013.
- Xiao T, Wang C, Yang M, Yang J, Xu X, Shen L et al. (2023, Aug 1). Use of Virus Genotypes in Machine Learning Diagnostic Prediction Models for Cervical Cancer in Women With High-Risk Human Papillomavirus Infection. *JAMA Netw Open.* 6(8): e2326890. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2023.26890. PMID: 37531108; PMCID: PMC10398410.

### Відомості про авторів:

**Зарічанська Христина Володимирівна** — к.мед.н., доц. каф. акушерства, гінекології та перинатології НУОЗ України ім. П.Л. Шупика.

Адреса: м. Київ, вул. Дорогожицька, 9. <https://orcid.org/0000-0003-0357-3261>.

Стаття надійшла до редакції 20.07.2024 р.; прийнята до друку 15.09.2024 р.