

# генферон®

*Применение препаратов  
интерферона при лечении  
плоскоклеточных  
интраэпителиальных поражений  
шейки матки низкой степени*

**ФГУ «Научный центр акушерства,  
гинекологии и перинатологии  
им. академика В.И. Кулакова  
Росмедтехнологий»**

**Г.Т. Сухих, директор, академик РАМН,  
профессор**

**В.Н. Прилепская, д.м.н., профессор**

**С.И. Роговская, д.м.н.**

**Т.Н. Бебнева, к.м.н.**

**Е.А. Межевитинова, д.м.н.**

**Д.Д. Петрунин, старший медицинский  
эксперт, ЗАО «Биокад»**



Опубликовано:  
«АГ-инфо» № 3, 2008 г.

Дополнительную информацию о препарате  
Вы можете получить по тел.: (495) 992-66-28

[www.genferon.ru](http://www.genferon.ru)

 **Биокад**  
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ КОМПАНИЯ



В последние десятилетия во всем мире и России отмечается заметный рост папилломавирусной инфекции (ПВИ) [5,6]. Имеются данные, что почти 8% здорового населения выделяют с мочой вирус папилломы человека 16 типа, а среди женщин, пациенток гинекологических клиник, этот показатель достигает 49% [4].

Вирусы папилломы человека относятся к семейству паповавирусов (Papovaviridae), группе Papillomavirus (HPV).

Это мелкие (диаметр вирусных частиц ~55 нм) ДНК-содержащие вирусы, не имеющие внешней оболочки и отличающиеся строгой эпителиотропностью, обладающие способностью поражать клетки эпителия эктодермального происхождения (кожа, слизистые половых органов, ротовой полости). Характерная особенность вируса заключается в способности вызывать пролиферацию эпителия кожи и слизистых оболочек [13].

Геном вирусов папиллом представляет собой кольцевую (эписомальную) ДНК, содержащую до 8000 пар нуклеотидов, и состоит из восьми рамок считывания, кодирующих ранние «early» E6, E7, E1, E2, E4, E5 и поздние «late» – L1- и L2-функции. Поздние гены L1 и L2 кодируют структурные белки вириона. Три ранних гена E1, E2, E4 контролируют функции, необходимые для репродукции вируса, причем E2 обладает функциями регулятора транскрипции вирусной ДНК, которая начинается в регуляторной области URR (Upstream regulatory region). Гены E5, E6 и E7 обладают активностью, стимулирующей пролиферацию и трансформацию клеток.

Согласно действующей классификации среди ВПЧ, наиболее часто вызывающих поражения аногенитальной области, выделяют типы с низкой онкогенностью (6,11,42,43,44), средней онкогенностью (31,33,35,51,52,58) и высокой онкогенностью (16,18,45,56) [12].

На сегодняшний день роль вирусов папилломы человека в возникновении рака шейки матки (РШМ) общепризнанна, а данная нозология относится к заболеваниям, передаваемым половым путем, что отражено в пресс-релизе Всемирной организации здравоохранения в 1996 г. [51].

Онкогенный потенциал ВПЧ детерминирован следующими механизмами. В ходе опухолевой прогрессии кольцевой вирусный геном часто интегрирует в геном клетки путем разрыва ДНК и утраты генов E2, E4, E5 и частично L2. В клеточный геном встраиваются регуляторная область URR и гены E6 и E7, которые постоянно экспрессируются в опухолевой ткани. Таким образом, в опухолевых клетках отсутствует продукция вирусных частиц и для поддержания трансформированного фенотипа достаточно активности генов E6 и E7. Интеграция ДНК

ВПЧ неспецифична, происходит в различные участки генома, часто в участки повышенной хрупкости хромосом. Длительное время интеграция вирусной ДНК рассматривалась как необходимое условие прогрессии цервикальных дисплазий в рак шейки матки. Однако эписомальная вирусная ДНК выявляется в значительном проценте случаев рака шейки матки (до 40%) [7]. Возможно смешанное присутствие в опухоли молчащей интегрированной вирусной ДНК и активно транскрибируемой эписомальной вирусной ДНК. В настоящее время механизм интеграции и ее значение активно изучаются.

Трансформирующие свойства папилломавирусов обеспечиваются функционированием генов E5, E6 и E7 [8, 53]. Продукт гена E5 важен на ранних стадиях инфекции, так как транскрибируется только с эписомальной ДНК. Белок E5 стимулирует клеточный рост, формируя комплексы с рецепторами эпидермального фактора роста и колониестимулирующего фактора CSF-1. Показано, что E5 может предотвращать апоптоз, вызванный повреждением ДНК ультрафиолетом [53]. Белки E6 и E7 многофункциональны, и их трансформирующий потенциал обеспечивается путем белок-белкового взаимодействия. Белок E6 взаимодействует с белками p53 и BAK, вызывая их деградацию по убиквитинзависимому пути. Это приводит к предотвращению апоптоза и нарушению защитных регуляторных механизмов, обеспечивающих репарацию ДНК, что способствует дестабилизации генома. Кроме того, белок E6 подавляет выработку интерферона, активирует теломеразу и предотвращает деградацию тирозинкиназ семейства SRC, таким образом усиливая пролиферацию [53]. Основным свойством белка E7 является взаимодействие с продуктом гена Rb, с убиквитинизацией последнего и высвобождением из комплекса pRb-E2F транскрипционного фактора E2F, регулирующего клеточную пролиферацию [8]. Высокая активность фактора E2F может привести к апоптозу в клетках, экспрессирующих E7, так как при этом активируется синтез ингибитора циклинзависимых киназ p16INK4A. В пролиферирующих HPV-инфицированных клетках существует механизм защиты от малигнизации путем подавления функций вирусных онкобелков за счет ингибиторов циклинзависимых киназ, в первую очередь p16INK4A. Однако, несмотря на высокий уровень p16INK4A, этот белок остается функционально неактивным, так как E7 также активирует циклины A и E, стимулирующие вход в S-фазу клеточного цикла. Кроме того, E7 блокирует функции ингибиторов циклинзависимых киназ p21WAF1/CIP1 и p27KIP1. E7 также способствует дестабилизации хромосом и усиливает мутагенное действие химических канцерогенов. Как недавно показано, E7 индуцирует анеуплоидию, вызывая амплификацию центриолей на ранних стадиях канцерогенеза.

Каждый из генов E6 и E7 способен иммортализовать культуры клеток. Иммортализация клеток *in vitro*, т.е. способность неограниченно долго пассироваться в культуре ткани, скорее всего, соответствует клинической стадии легкой дисплазии. Однако именно совместная экспрессия этих генов значительно усиливает прогрессию благодаря уникальному кооперативному эффекту трансформации двумя генами, E6 и E7. В ВПЧ-инфицированных клетках p16INK4A синтезируется, но не оказывает влияния на клеточный цикл, так как, хотя p16INK4A нейтрализует E6, белок E7 минует это подавление, прямо активируя циклины A и E. E6 в свою очередь предотвращает E7-индуцированный апоптоз, деградируя белки p53 и BAK. Поскольку накопление p16INK4A в клетках свидетельствует о трансформации вирусами папиллом, предложено выявлять такие клетки на гистологических срезах или в цитологических мазках по окраске специфическими антителами к p16INK4A [26].

Функционирование вирусных онкобелков и интеграция ВПЧ вызывают дестабилизацию хромосом, что может быть причиной инактивации генов-супрессоров опухолевого роста. Гены-супрессоры инактивируются при нарушениях структуры обоих аллелей гена, что обычно происходит при сочетании делеции одного аллеля и мутации в другом. Поиск потенциальных генов-супрессоров заключается в обнаружении хромосомных локусов с высокой частотой аллельных делеций в опухолевой ДНК по сравнению с нормальной [9]. В дисплазиях наиболее ранние нарушения отмечены на хромосомах 3p, 6p, 11q, тогда как генетические изменения на 6q, 11p, 13, 18 ассоциированы с прогрессией инвазивного РШМ и образованием метастазов [7, 8, 29]. Более чем в 50% опухолей имеются аллельные делеции в районе 6p21.3, в котором располагаются гены HLA I класса [53]. Еще в 20% РШМ мутации в этой области сопровождаются нарушением экспрессии HLA-A/B антигенов I класса [26]. До сих пор открыто немного генов, участвующих в канцерогенезе шейки матки, среди них FHIT, RASSF1A, локализованные на 3p. Предпринимаются попытки выявления специфических генетических нарушений в цервикальных мазках в клетках шейки матки у ВПЧ-носителей до появления признаков морфологической атипичности, что может иметь практическое значение на ранних стадиях заболевания, особенно в спорных случаях.

В последнее время большое значение придается эпигенетическим изменениям в опухолях различной локализации, которые не затрагивают структуру гена, но вызывают нарушения экспрессии ряда клеточных генов. Такие изменения могут быть вызваны локальным гиперметилированием специфических последовательностей (богатых динуклеотидом CpG) в промоторах, регулирующих транскрипцию ряда генов,

которые в нормальных клетках не метилированы [9]. Показано метилирование некоторых генов (например, FHIT, RARb2, RASSF1A) и при РШМ [7, 53].

Вероятно, одной из важнейших причин устойчивости вируса папилломы к терапии и высокого показателя рецидивирования является способность ВПЧ модулировать местный и системный иммунный ответ, защищая вирус от элиминации эффекторами иммунной системы. Среди механизмов иммуносупрессивного действия ВПЧ можно выделить следующие:

- Вирус не разрушает кератиноциты, в которых происходит его размножение, то есть не обладает цитопатическими свойствами, ограничивая тем самым выход вирус-специфических белков и контакт с АПК.
- В развитии вирусной инфекции отсутствует фаза виремии, то есть генерализации инфекции, при которой происходит выброс вирионов в кровь, что способствовало бы распознаванию вирусной инфекции иммунной системой хозяина.
- За счет особенностей генетического кода вируса синтез капсидных белков, обладающих хорошей иммуногенностью, протекает очень медленно и в малых количествах, тормозя, таким образом, развитие противовирусного иммунитета. Тогда как ранние белки E6 и E7 синтезируются активно и индуцируют процессы малигнизации инфицированных клеток.
- Белок E7 ВПЧ нейтрализует противовирусную и противоопухолевую активность интерферона- $\alpha 2$  за счет его способности избирательно блокировать большинство генов, индуцируемых интерфероном.
- Белок E7 инактивирует фактор регуляции активности интерферона IRF, который является фактором транскрипции генов, активируемых при действии на клетки интерферонов - $\alpha$  и - $\gamma$ . Посредством этого механизма вирус блокирует противовирусную активность эндогенных интерферонов при их физиологической концентрации.
- Белок E7 ингибирует экспрессию генов основного комплекса гистосовместимости, затрудняя распознавание опухолевых клеток иммунной системой хозяина.
- Белок E7 обладает выраженными иммуносупрессивными функциями, тормозя созревание антиген-презентирующих клеток.
- Белок E6 нейтрализует действие лимфокина IL-18, который играет важную роль в формировании иммунного ответа с участием CD8-лимфоцитов.
- Белок E5 вызывает закисление pH в эндосомах, препятствуя процессингу и эффективной презентации антигена дендритными клетками [12].

Изучение уровня эндогенных ИФН- $\alpha$  и - $\gamma$ , показало, что у больных с ПВИ отмечается угнетение

их выработки до 40 и 50%, (соответственно). А выявленные нарушения процессов ранней активации Т- и В-лимфоцитов (определялось по низкому уровню фосфатидилинозитидов на мембранах иммунокомпетентных клеток) были сопоставимы с показателями при опухолях челюстно-лицевой области [8, 53].

Вопросы необходимости деструктивного лечения плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки низкой степени (LSIL-low grade squamous intraepithelial lesions), ассоциированных с вирусом папилломы человека, дискутируются [14]. Тактика в отношении LSIL, которые включают в себя субклинические формы папилломавирусной инфекции и CIN I, окончательно не определена. Это связано с тем, что после деструктивного лечения отмечается высокий процент рецидивов ввиду персистенции ВПЧ в тканях. Кроме того, в 30-50% случаев инфицирования наблюдается самопроизвольная регрессия [19].

В контексте сказанного оправданным представляется применение препаратов интерферона, об эффективности которых есть ряд указаний в современной литературе [3, 6, 16, 25, 27, 28, 41, 47].

Интерферон-альфа обладает выраженным противовирусным, противомикробным и иммуномодулирующим действием. Последнее проявляется в активации CD-8+ цитотоксических Т-лимфоцитов, NK-клеток, усилении дифференцировки В-лимфоцитов и продукции ими антител со сменой их изотипа и повышением аффинности, активацией моноцитарно-макрофагальной системы и фагоцитоза, а также усилении экспрессии молекул МНС-I, что способствует, в первую очередь, амплификации клеточно-опосредованных реакций иммунной системы, которые играют основную роль в противовирусной и противоопухолевой защите организма.

Среди новых препаратов интерферона интерес представляет отечественный препарат Генферон® в виде суппозиторий, который успешно используется в лечении урогенитальных заболеваний вирусной и бактериальной этиологии. Его основными компонентами являются интерферон человеческий рекомбинантный альфа-2, таурин и анестезин [1].

Принимая во внимание широкий спектр терапевтических эффектов данного препарата (иммуномодулирующее, противомикробное, противовирусное, репаративное, противовоспалительное, мембрано- и гепатопротекторное, антиоксидантное, нормализующее метаболические процессы действие), он представляется перспективным для лечения LSIL, ассоциированных с высокоонкогенными типами ВПЧ [1,2].

Для оценки эффективности данного препарата при лечении указанной нозологии в 2007 году было проведено двойное слепое рандомизированное плацебо-

контролируемое исследование. Исследование было выполнено на базе Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии Росмедтехнологий.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение терапевтической эффективности и безопасности препарата Генферон® для лечения плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки низкой степени, ассоциированных с вирусами папилломы человека (ВПЧ) высокоонкогенного риска по данным цитологического исследования цервикальных мазков и кольпоскопии, а также оценка возможности элиминации ВПЧ по данным Digene-теста.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовали 40 женщин, инфицированных ВПЧ высокоонкогенного риска по данным Digene-теста, результаты цитологического исследования у которых свидетельствовали о наличии LSIL (в соответствии с классификационной системой Бетесда).

Для лабораторной диагностики ВПЧ-инфекции применялся Digene-тест - единственный метод, одобренный FDA для цервикального скрининга и лицензированный Федеральной службой РФ по надзору в сфере здравоохранения и социального развития. Диагностика осуществлялась в иммунологической лаборатории Центра (руководитель - академик РАМН, проф. Сухих Г.Т.).

Для проведения ПЦР-диагностики использовались сертифицированные тест-системы. Забор материала для проведения исследований производился в одно и то же время суток (утром).

Пап-тест – микроскопическое исследование шеечного мазка на атипичные клетки, взятого с помощью специальных щеток – эндобрашей и шпателей, проводился в лаборатории патоморфологии Центра (руководитель – проф. Кондриков Н.И.).

Кольпоскопия проводилась при помощи кольпоскопа фирмы Leisegang, Германия, с использованием традиционных сосудистых тестов и увеличением  $\times 7,5$ ,  $\times 15$ ,  $\times 30$ .

Критериями включения в исследование были возраст 18-50 лет; наличие интраэпителиального поражения шейки матки низкой степени (LSIL) по данным цитологического исследования цервикального мазка; наличие ВПЧ высокоонкогенного риска по данным Digene-теста; способность выполнять требования протокола; предоставление письменного информированного согласия. Критериями исключения были беременность; тяжелые нарушения функции сердца, легких, печени и почек в стадии декомпенсации; гиперчувствительность к интерферону или другим компонентам препарата, которая устанавли-



валась по данным анамнеза или в момент первого введения препарата; прием противовирусных или иммуномодулирующих препаратов в течение 3 предшествующих месяцев; наличие более тяжелой патологии шейки матки; подтвержденная ВИЧ-инфекция; наличие психоневрологических заболеваний. До начала исследования были получены одобрения Федеральной службы РФ по надзору в сфере здравоохранения и социального развития, Национального и Локального этических комитетов.

Проводилось скрининговое обследование амбулаторно наблюдаемых женщин, включающее Пап-тест. В случае выявления признаков LSIL (выявление койлоцитоза, многоядерности клеток, дискератоцитоза, дискариоза и т.п.), женщину знакомили с условиями проведения исследования (скрининг-визит). При ее согласии участвовать в исследовании и выполнять его условия подписывалась форма информированного согласия, одобренного регуляторными органами, и проводилось взятие материала для выявления вируса папилломы человека (ВПЧ) методом Digene. В случае выявления ВПЧ высокого онкогенного риска по данным Digene-теста и соответствия другим критериям включения, пациентка включалась в исследование. У всех пациенток, включенных в исследование, проводились кольпоскопия, бактериоскопический анализ содержимого влагалища, ПЦР-диагностика вируса простого герпеса I и II типов (ВПГ1+2), цитомегаловируса (ЦМВ) и Chlamydia trachomatis в соскобе эпителия цервикального канала и шейки матки (визит 1).

По результатам проводимой рандомизации (выбор одной из двух серий суппозиториев методом случайных чисел), включенным в исследование пациенткам назначались исследуемый препарат или плацебо. Введение суппозиториев Генферон<sup>®</sup>, содержащих 500 000 МЕ интерферона- $\alpha 2$ , или внешне неотличимых от них суппозиториев плацебо, не содержащих ИФН- $\alpha 2$  и таурин, осуществлялось интравагинально 2 раза в сутки в течение 10 дней с последующим назначением 1 раз в сутки через день в течение 3 месяцев.

На протяжении всего исследования женщины использовали барьерные методы контрацепции и вели дневник, в котором отмечались побочные эффекты терапии, их выраженность и продолжительность.

Через 3 месяца (визит 2) после первого введения суппозиториев проводились Пап-тест, кольпоскопия, Digene-тест на ВПЧ высокого онкогенного риска, бактериоскопический анализ содержимого влагалища, осуществлялась ПЦР-диагностика на другие инфекции в соскобе эпителия цервикального канала.

Через 6 месяцев (3 визит) женщинам, включенным в исследование, проводились Пап-тест, Digene-тест и кольпоскопия, проверялись дневники, где были запи-

саны все препараты, которые пациентки принимали на протяжении исследования с момента подписания информированного согласия до заключительного визита. Оценивались локальные и системные эффекты, которые могли бы быть связаны с использованием препарата. Переносимость и безопасность препарата оценивались по частоте и выраженности нежелательных явлений.

Возможность досрочного выбывания из исследования была предусмотрена на любом этапе клинических испытаний - как по инициативе пациентки, так и по инициативе исследователя. Причины выбывания указывались в истории болезни и индивидуальной регистрационной карте (ИРК). В случае проведения хирургического лечения плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки, а также применения противовирусных препаратов в процессе исследования, пациентка исключалась из исследования.

ИРК пациенток заполнялась на основании опроса и осмотра, данных клинического обследования и лабораторных исследований.

По завершении исследования формировались два массива данных, которые подвергались анализу.

**Критериями эффективности применения препарата являлись:**

- регресс ВПЧ-ассоциированных изменений шейки матки по данным Пап-теста и кольпоскопии;
- достижение отрицательного результата Digene-теста на ВПЧ высокого онкогенного риска.

Полученные у обследованных пациенток показатели обрабатывали методами вариационной статистики, использовались описательная статистика и непараметрический анализ данных (Mann-Whitney U Test, Kolmogorov-Smirnov Test). Для статистического анализа частотных показателей использовался метод углового преобразования Фишера (вычисление ФИ\* критерия) [48] Различие между сравниваемыми величинами признавалось достоверным при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование были включены и случайным образом разделены на две группы 40 женщин с LSIL: 1-я (23 женщины) получала Генферон<sup>®</sup>, 2-я (17 женщин) – плацебо.

Из 40 женщин завершили исследование 36, из них 21, получавшая Генферон<sup>®</sup>, и 15, получавших плацебо. 3 пациентки выбыли из исследования по собственной инициативе (не пришли на заключительный визит), у 1 пациентки дисплазия эпителия шейки матки прогрессировала, что потребовало применения непредусмотренного Протоколом терапевтического воздействия.

Статистически значимых различий по основным характеристикам пациенток, рандомизированных на две группы, найдено не было. Возраст пациен-

ток первой группы колебался от 18 до 49 лет и составил  $28,7 \pm 8,2$  лет, второй группы – от 21 до 46 лет и составил  $30,4 \pm 9,0$  лет (в виде среднее  $\pm$  стандартное отклонение). Непараметрический анализ данных (Mann-Whitney U-Test, Kolmogorov-Smirnov Test) не обнаружил различий в возрасте пациенток 1 и 2 групп ( $P > 0,05$ ).

У пациенток исследуемых групп выявлена следующая сопутствующая патология: нарушения менструального цикла, дисменорея, наличие в анамнезе урогенитальных инфекций (хламидиоз, бактериальный вагиноз, уреа- и микоплазмоз, неспецифический вагинит, кандидоз, генитальный герпес), папилломавирусная инфекция (остроконечные кондиломы и т.д.), хронические воспалительные процессы (сальпингоофорит, эндометрит, вагинит), хронические соматические заболевания, миома шейки матки, бесплодие, невынашивание беременности, лечение патологии шейки матки в анамнезе или папилломавирусная инфекция шейки матки. Более 3 половых партнеров в анамнезе было у 6 пациенток опытной и у 5 контрольной группы. Различий по вышеуказанным критериям между исследуемыми группами не обнаружено ( $P > 0,05$ ).

У 9 из 40 испытуемых (у 5 женщин группы 1 и у 4 женщин группы 2) в анамнезе зарегистрирована патология шейки матки (ШМ), по поводу которой они получали лечение. Предшествующая терапия шейки матки пациенток с LSIL включала: Ваготил у 1 женщины, мазевые аппликации – у 2, криотерапия - у 3, лазеротерапия – у 1, диатермоэлектрокоагуляция - у 1, другие методы - у 1 пациентки.

Кольпоскопическая картина поражений шейки матки при LSIL характеризовалась наличием патологической зоны трансформации у 29 женщин из 40. Норма выявлена у 4 из 23 женщин группы 1 и у 7 из 17 женщин группы 2.

В динамике в сравниваемых группах наблюдалась следующая кольпоскопическая картина. При скрининге норма была зафиксирована у 4 (17,4%) пациенток опытной и у 7 (41,2%) пациенток контрольной группы ( $P < 0,05$ ), через 3 месяца норма наблюдалась у 7 (30,4%) пациенток опытной и у 9 (52,9%) пациенток контрольной группы ( $P > 0,05$ ), а через 6 месяцев - у 10 (47,6%) и у 11 (73,3%) пациенток, соответственно ( $P > 0,05$ ). Улучшение в процессе лечения было отмечено у 6 (28,6%) пациенток опытной и у 4 (26,7%) пациенток контрольной группы ( $P > 0,05$ ).

Обращала на себя внимание высокая специфичность признака ацетобелый эпителий (АБЭ) вне и в пределах зоны трансформации шейки матки (ЗТ ШМ) (отмечен у 24 из 40 женщин - 60%). Обнаруживались также йоднегативная и йодпозитивная мозаика, пунктация, гиперкератоз, йоднегативные участки. В двух

случаях наряду с плоскими поражениями кольпоскопически были выявлены небольшие остроконечные кондиломы. Атипические зоны трансформации были наиболее выражены у 7 из 23 и у 6 из 17 пациенток групп 1 и 2, соответственно. У остальных пациенток кольпоскопическая картина носила характер низкой атипии или нормы, т. е. процесс, по-видимому, был локализован внутри цервикального канала. Таким образом, кольпоскопическая картина пришла в норму через 3 месяца наблюдения у 3 и 2 женщин первой и второй групп и у 6 и 4 женщин через 6 месяцев ( $P > 0,05$ ). Таким образом, статистически значимых различий между группами выявлено не было.

*Цитологическое исследование* ШМ проводили всем женщинам обеих групп ( $n=40$ ) трижды с перерывом 3 месяца. Материал был представлен соскобом клеток с экзоцервикса и эндоцервикса, взятых с помощью шпателя и щетки-эндобраша, который наносили на предметное стекло. Выявлялись койлоциты (34 (85%) пациентки), дискератоциты (21 (52,5%) пациентка), дискарициты (12 (30%) пациенток), дистрофически измененные клетки, в т.ч. псевдодискариоз (12 (30%) пациенток), нейтрофильные лейкоциты (15 (37,5%) пациенток), лимфоциты (9 (22,5%) пациенток), плазматические клетки (9 (22,5%) пациенток), базальные/парабазальные клетки (7 (17,5%) пациенток), двух- и многоядерные клетки (11 (27,5%) пациенток), цитолиз (6 (15%) пациенток).

Основным цитологическим признаком LSIL считается наличие клеток с койлоцитозом, которые были обнаружены в мазках с ШМ у 34 из 40 женщин. Клетки с дискератоцитозом обнаружены у 21 из 40 женщин, с дискариозом - у 12 из 40, многоядерные клетки - у 6 из 40.

В зависимости от локализации материала мазка и наличия эктопии с ЗТ, в мазки также попадали неизмененные клетки многослойного плоского эпителия, метапластические клетки, базальные/парабазальные клетки и клетки цилиндрического эпителия, клетки, свидетельствующие о хроническом воспалении.

Полученные результаты представлены в виде 4 основных групп согласно классификации Бетесда: LSIL, HSIL, ASCUS, норма (см. Таблицу).

Digene-тест на выявление 13 онкогенных типов ВПЧ в клинически значимой концентрации был положительным у всех 40 женщин в начале исследования.

Данные цитологического, кольпоскопического исследования и Digene-теста на ВПЧ у женщин с LSIL шейки матки в динамике наблюдения ( $n=40$ ) представлены в Таблице.

**Таблица.**

**Результаты цитологического, кольпоскопического исследования и Digene-теста на ВПЧ в динамике наблюдения у пациенток двух групп.**

Тест \ Группа		1 группа (Генферон)			2 группа (плацебо)		
		Исходные данные (n=23)	Через 3 мес. (n=23)	Через 6 мес. (n=22)	Исходные данные (n=17)	Через 3 мес. (n=17)	Через 6 мес. (n=15)
		Абс. число (%)	Абс. число (%)	Абс. число (%)	Абс. число (%)	Абс. число (%)	Абс. число (%)
Digene-тест на ВПЧ отрицательный		0 (0)	9 (39,1)*	15 (68,2)**	0 (0)	2 (11,8)*	4 (26,7)**
Цитологическое исследование	норма	0 (0)	7 (30,4)	13 (59,1)*	0 (0)	4 (23,5)	5 (33,3)*
	ASCUS	0 (0)	6 (26,1)	6 (27,3)*	0 (0)	2 (11,8)	1 (6,7)*
	LSIL	23 (100)	10 (43,5)	2 (9,1)***	17 (100)	11 (64,7)	9 (60,0)***
	HSIL	0 (0)	0 (0)	1 (4,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Нормальная кольпоскопическая картина		4 (17,4)	3 (13,0)	6 (27,3)	7 (41,2)	2 (11,8)	5 (33,3)

Статистическая значимость результатов опытной и контрольной группы:

\* P<0.05 \*\* P<0.01 \*\*\* P<0.001

Через 3 месяца после начала терапии у 9 (39,1%) из 23 пациенток, получавших Генферон®, был достигнут отрицательный результат Digene-теста (менее 0,8 ЕД), через 6 месяцев отрицательный результат Digene-теста был достигнут у 15 (68,2%) пациенток из 22. В группе пациенток, получавших плацебо, отрицательный результат Digene-теста через 3 месяца был достигнут у 2 (11,8%) из 17 пациенток, через 6 месяцев - у 4 (26,7%) пациенток из 15. У 4 из 17 наблюдалось увеличение содержания ВПЧ по данным количественного теста.

Проведение Пап-теста через 3 месяца после начала лечения выявило регресс ВПЧ-ассоциированных изменений шейки матки у 13 из 23 пациенток, получавших Генферон®, (56,5%), через 6 месяцев - у 18 пациенток из 22 (81,8%). При этом регресс ВПЧ-ассоциированных изменений шейки матки у пациенток, получавших плацебо, через 3 месяца наблюдался только у 6 пациенток из 17 (35,3%), через 6 месяцев - у 6 из 15 (40%). У одной женщины группы 1 через 6 месяцев наблюдения было выявлено прогрессирование процесса в более высокую стадию (HSIL), по поводу чего ей была проведена эксцизия и диагноз CIN II был подтвержден гистологически.

Как видно из Таблицы, в результате проведения кольпоскопии у 3 пациенток из 23 (13,0%), получавших Генферон®, выявлен регресс патологических изменений эпителия шейки матки через 3 месяца и у 6 из 21 (28,6%) – через 6 месяцев. У пациенток, получавших плацебо, через 3 месяца регресс патологических изменений отмечен у 2 пациенток из 17 (11,8%), через 6 месяцев - у 4 из 15 (26,5%).

У 3 из 23 (13,0%) пациенток, получавших Генферон®, проведенная в начале исследования бактериоскопия содержимого влагалища выявила 2-3 степень чистоты влагалища. У всех пациенток бактериоскопическая картина нормализовалась к 3 месяцу исследования без дополнительной терапии. У 1 пациентки данной группы было выявлено присутствие грибов *Candida albicans* без клинических проявлений, которые через 3 месяца приема препарата отсутствовали. У 1 пациентки при нормальной картине бактериоскопии вагинального мазка в начале исследования было обнаружено повышенное содержание лейкоцитов через 3 месяца наблюдения. Достоверной разницы с группой плацебо по данным показателям не отмечено.

ПЦР-диагностика выявила наличие у 1 пациентки первой группы вирусов простого герпеса (ВПГ) 1 и 2 типов в начале исследования и их отсутствие через 3 месяца. У 1 пациентки с отрицательным тестом на ВПГ в начале исследования через 3 месяца обнаружен ВПГ 1 типа. Проведение ПЦР в начале исследования выявило наличие ВПГ 1 типа и цитомегаловируса (ЦМВ) у 1 из 17 пациенток, получавших плацебо, через 3 месяца у этой пациентки был выявлен только ВПГ 1 типа. Кроме того, у одной пациентки группы 2 через 3 месяца был выявлен ВПГ 1 типа, не обнаруженный в начале исследования. Таким образом, достоверной разницы между группами по указанным параметрам обнаружено не было.

Нежелательные явления наблюдались как у пациенток, получавших Генферон®, так и у пациенток, получавших плацебо. Эти нежелательные явления



классифицировались как легкие, носили проходящий характер, не требовали медикаментозной коррекции и не привели к выбыванию пациенток из исследования. Серьезных побочных эффектов не было отмечено ни в одной из групп. У одной женщины первой группы были гриппоподобные симптомы, по одной пациентке из первой и второй групп жаловались на кратковременный зуд вульвы.

Таким образом, вагинальное применение препарата Генферон® в дозе 500 000 МЕ по указанной выше схеме безопасно. Эффективность лечения по двум основным критериям (регресс ВПЧ-ассоциированных изменений шейки матки и отрицательный результат Digene-теста) была достоверно выше у пациенток, использовавших Генферон®, в сравнении с группой пациенток, получавших плацебо.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

К сожалению, специфических лекарственных средств, полностью элиминирующих ВПЧ, на сегодняшний день не создано. Однако при изучении состояния иммунной системы у женщин, страдающих ПВИ и другими урогенитальными инфекциями, были выявлены нарушения различных ее звеньев на локальном и системном уровне. В частности, было показано присутствие ингибиторов синтеза интерферона альфа и гамма типов. Это свидетельствует о целесообразности поиска средств иммунокоррекции, способствующих нормализации нарушенных при ПВИ звеньев иммунной системы [4]. Так, в литературе широко представлен опыт применения при ПВИ цидофовира, имиквимода, индол-3-карбинола, а также препаратов интерферона для местного и системного применения [42].

Клинические исследования доказали, что препараты интерферона не только дают интерферозамещающий эффект, но и стимулируют синтез эндогенного интерферона альфа- и гамма- типов [33]. Именно поэтому они все интенсивнее внедряются в практику здравоохранения не только в нашей стране, но и за рубежом. Клиническая эффективность препаратов интерферона показана при ВПЧ-ассоциированной патологии конъюнктивы глаза, респираторном папилломатозе, экзофитных кондиломах, плоскоклеточных интраэпителиальных поражениях шейки матки и т.п. [4]. Однако данные об эффективности системного применения препаратов интерферона остаются противоречивыми [33]. Кроме того, системное применение препаратов интерферона ограничивается их высокой стоимостью и значительными побочными эффектами [38]. Принимая во внимание тот факт, что ВПЧ является эпителиотропным вирусом, предпринимаются попытки использования лекарственных форм интерферонов для местного применения [3, 50].

Препараты для местного применения (мази, суппозитории, капли и т.д.) при ряде форм ПВИ представляются более эффективными, т.к. они способны обеспечить более высокие концентрации действующего вещества непосредственно в очаге поражения при отсутствии побочных эффектов, свойственных парентеральному введению [33]. Особый интерес представляют суппозиторные формы интерферона, показавшие эффективность для лечения целого ряда урогенитальных инфекций [33].

В нашем исследовании мы изучили терапевтическую эффективность и безопасность суппозиторий Генферон® для лечения LSIL, ассоциированных с ВПЧ высокоонкогенного риска.

Основными компонентами препарата Генферон® являются интерферон человеческий рекомбинантный альфа-2 типа, таурин и анестезин, комбинация которых обеспечивает усиление и расширение спектра действия препарата [2]. Таурин широко применяется при целом ряде заболеваний и способствует нормализации метаболических процессов, обладает регенерирующими, репаративными, антиоксидантными, мембрано- и гепатопротекторными свойствами [1]. Анестезин – местноанестезирующее вещество, наличие которого существенно повышает качество жизни пациентов, поскольку ПВИ нередко сопровождается локальным дискомфортом.

Несмотря на то, что для местного применения препаратов интерферона не характерно наличие побочных эффектов, в отличие от системного применения [31], в данном исследовании важно было определить переносимость Генферона®, поскольку по рекомендуемой нами схеме он должен применяться длительно на протяжении 3 месяцев. Показано, что нежелательные явления в данном исследовании были минимальными, при этом они наблюдались как у пациенток, получавших Генферон®, так и у пациенток, получавших плацебо. Они классифицировались как легкие, носили проходящий характер, не требовали медикаментозной коррекции и не привели к выбыванию пациенток из исследования. Серьезных побочных эффектов не было отмечено ни в одной из групп. У одной женщины первой группы были гриппоподобные симптомы, по одной пациентке из первой и второй групп жаловались на кратковременный зуд вульвы. Выявленная нами чрезвычайно низкая частота побочных эффектов Генферона® согласуется с данными других авторов [2] и объясняется, по-видимому, низкими концентрациями действующих веществ в системном кровотоке.

Основными критериями оценки эффективности исследуемого препарата были данные Пап-теста и Digene-теста на ВПЧ. Данные кольпоскопии, учитывая недостаточную специфичность этого метода

(40-60%), учитывались, но не использовались в качестве основного критерия эффективности терапии.

Мы показали, что интравагинальное использование суппозиториев Генферон® привело к регрессии LSIL по результатам Пап-теста до нормы в 59.1% случаев в группе лечения по сравнению с 33.3% в группе плацебо ( $P < 0.05$ ), а элиминация ВПЧ произошла в 71.4% и 26.7% случаев, соответственно ( $P < 0.05$ ). Через 6 месяцев наблюдения у одной из пациенток, получавших Генферон®, было отмечено ухудшение цитологической картины при наличии высокоатипичного эпителия в начале исследования. Кольпоскопическая картина при этом не ухудшилась в процессе наблюдения. Это позволяет предположить, что в данном случае атипичные клетки не попали в мазок при скрининге пациентки (как известно, чувствительность цитологического метода не составляет 100%).

Сопоставимый с нашими данными результат был получен в исследовании [22] при внутрикандиломном введении ИФН-бета в экзофитные кондиломы - через 3 месяца наблюдения эффективность составила 73% в группе лечения и 33% - в группе плацебо). В исследовании эффективности внутриэпителиального введения ИФН при CIN, клинический ответ был получен у 64% пациентов [40]. Введение ИФН-α в виде геля приводило к излечению кондилом влагалища у 73% пациентов против 10% в группе плацебо [46], а интрацервикальное введение ИФН-гамма при CIN I-II приводило к полной регрессии патологических изменений в 53% случаев, к частичной - у 23.5% больных [36]. Аналогичные данные представлены в работе [32], где наряду с интравагинальным введением ИФН применялось Алоэ вера. Авторы отметили регресс ВПЧ-инфекции гениталий через 3 месяца у 71% пациенток, через 6 месяцев - у 100%. Имеется и ряд других работ, с которыми согласуются полученные нами в данной работе результаты.

Вместе с тем, в недавно опубликованной экспериментальной работе [30] авторы продемонстрировали, что воздействие ИФН-β на инфицированные ВПЧ 16 типа цервикальные кератиноциты ускоряет переход ВПЧ из эписомальной формы в интегрированную, что можно считать признаком прогрессирования процесса. Однако результаты эксперимента на культуре клеток сложно экстраполировать на клиническую ситуацию.

Мета-анализ результатов клинических исследований, посвященных лечению субклинических форм ПВИ, не позволяет утверждать о целесообразности того или иного терапевтического воздействия в данной группе пациентов, поскольку многие из анализируемых клинических испытаний не отвечают требованиям доказательной медицины (ослепление, плацебо-контроль) [53].

Важность нашего исследования заключается в том, что на сегодняшний день тактика в отношении плоскоэпителиальных поражений низкой степени (LSIL), которые включают в себя субклинические формы папилломавирусной инфекции и CIN I, окончательно не определена. В большинстве опубликованных в последние годы национальных руководств женщинам с LSIL не рекомендуется проводить деструктивное лечение, особенно в случае молодых и планирующих роды женщин [52]. Именно поэтому особое значение имеет потенциал экзогенных интерферонов, которые нормализуют показатели локального иммунитета, снижают интенсивность размножения вируса и избавляют женщину от ненужного деструктивного лечения и лишних тревог.

Недостатком нашего исследования представляется невысокая статистическая мощность ввиду небольшой выборки, однако в целом дизайн и способ выполнения работы соответствует всем основным требованиям доказательной медицины. Это позволило получить новые достоверные данные, доказывающие целесообразность использования консервативной терапии при LSIL.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование показало, что препарат Генферон® достаточно безопасен и хорошо переносится пациентками при лечении по схеме: 500 000 МЕ интравагинально 2 раза в сутки в течение 10 дней с последующим назначением 1 раз в сутки через день в течение 3 месяцев. Частота побочных реакций низка, купируются они, как правило, самостоятельно, без применения дополнительного лечения.

Обнаружено, что по данным цитологического исследования, применение препарата Генферон® способствует регрессу плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки низкой степени до нормы через 6 месяцев наблюдения в 59,1% случаев по сравнению с 33,3% в группе плацебо. Более того, Генферон® способствует элиминации высокоонкогенных типов ВПЧ при LSIL в 68,2% случаев по сравнению с 26,7% в группе плацебо. Таким образом, Генферон® эффективен для лечения плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки низкой степени, ассоциированных с вирусами папилломы человека (ВПЧ) высокоонкогенного риска.

*Генферон® может быть рекомендован в клиническую практику, как средство, позволяющее снизить частоту деструктивного лечения шейки матки при LSIL, что особенно актуально для молодых женщин, стремящихся сохранить репродуктивную функцию.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Абрамченко В.В. «Антиоксиданты и гипоксанты в акушерстве». С-П, 2001 г
2. Аковбян В. А., Анкирская А. С., Богатырева И. И. и соавт. Лечение и профилактика проявлений папилломавирусной инфекции урогенитального тракта // ЗППП. - 1996. - № 1. - С. 73-75.
3. Аполихина И.А. Папиллома-вирусная инфекция гениталий у женщин // - М. - 2002. - 109 с.
4. Воробьев А.А. ПШР и ее применение для диагностики в дерматовенерологии // - М. - 2004. - 71 с.
5. Доброхотова Ю.Э., Ясин С.В., Кареева Н.В. Применение суппозиторий Генферон® у женщин с хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза. АГ-инфо. Информ. Журнал по акушерству и гинекологии, 3, 2006
6. Дубенский В.В., Кузнецов В.П., Беляев Д.Л., Слюсарь Н.Н. Эффективность иммунокоррекции цитокинами при лечении папилломавирусной инфекции //ЖМЭИ.-2001.-N 5.-с. 54-58
7. Киселев Ф.Л., Мазуренко Н.Н., Киселева Н.П. и др. Вестн. РАМН, 2002; 1: 8-4.
8. Киселев Ф.Л. Сб. Канцерогенез, Научный Мир, 2000; 181-8
9. Лихтенштейн А.В., Киселева Н.П. Биохимия, 2001; 66 (3): 657-69.
10. Мазуренко Н.Н., Актуальные вопросы клинической онкологии, т.5 №1 2003
- 11 (4). Манухин И.Б., Минкина Г.Н., Левченко Г.М., Гурин В.Е. Патогенетическое обоснование комплексного лечения папилломавирусной инфекции шейки матки // Журн. акуш. и женских болезней.- Спец. выпуск. -1998. -с. 53.
12. Молочков В.А. и соавт., Папилломавирусная инфекция – клиника, диагностика, лечение (пособие для врачей), Москва 2004
13. Поздеев О. К., Медицинская микробиология», «Гэотар медицина», Москва, 1999
14. Профилактика рака шейки матки. Руководство. изд Медпресс, Москва, 2006
15. Роговская С.И., Жданов А.В., Логинова Л.С., Файзуллин Л.З., Прилепская В.Н., Сухих Г.Т. Состояние системы интерферонов у женщин с папилломавирусной инфекцией гениталий при использовании иммуномодулирующей терапии Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2002.- т.131., N 11с.538-542.
16. Роговская С.И. «Папилломавирусная инфекция гениталий: роль интерферонов в патогенезе и лечении» (обзор литературы) Consilium medicum - Том 05/N 5/2003;
17. Сидоренко Елена «Методы математической обработки в психологии», 2000, стр.158
18. Сухих Г.Т., Матвеева Н.К., Аполихина И.А. и др. Показатели иммунитета у больных с папилломавирусной инфекцией гениталий // Акуш. и гинекол.- 2002.-N 2-с. 20-25
19. Чистова А.В. и др. «Применение Виферона в комплексном лечении хронических вирусных гепатитов у детей». Сб. Реаферон, 1993 г., с. 51-53
20. Щеловитова О.Н., Максанина Е.В. и др. «Особенности интерферонового статуса при генитальных инфекциях». Вопросы вирусологии. 2001 г., с. 2, 36-40
21. Behbahani H, Walther-Jallow L, Klareskog E, Baum L, French AL, Patterson BK, Garcia P, Spetz AL, Landay A, Andersson J. Proinflammatory and type 1 cytokine expression in cervical mucosa during HIV-1 and human papillomavirus infection. J Acquir Immune Defic Syndr. 2007 May 1;45(1):9-19.
22. Bornstein Jacob MD, et al. Recombinant human interferon-β for condylomata acuminata: a randomized, double-blind, placebo-controlled study of intralesional therapy. International Journal of STD & AIDS 1997; 8: 614 – 621
23. Chakalova G, Ganchev G. Local administration of interferon-alpha in cases of cervical intraepithelial neoplasia associated with human papillomavirus infection. J BUON. 2004 Oct-Dec;9(4):399-402.
24. Cortés JR, Arratia J, Martínez R, Gómez L. Extensive condyloma acuminata of the penis successfully treated with 5% imiquimod cream. Actas Urol Esp. 2007 Mar;31(3):276-8. Spanish.
25. Corwin Vance J., Davis D. Interferon-a injections used as of recalcitrant anogenital condyloma acuminata. J. Invest. Dermatol. 1990; 1990 (6 suppl): 146-148S;
26. Frega A, Stentella P, De Ioris A, Piazze JJ, Fambri M, Marchionni M, Cosmi EV. Young women, cervical intraepithelial neoplasia and human papillomavirus: risk factors for persistence and recurrence. Cancer Lett. 2003 Jul 10;196(2):127-34.
27. Grio R, Porgiglia M, Piacentino R, Marchino GL. Intramuscular beta-interferon in the treatment of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) associated with human papilloma virus (HPV) infection. Minerva Ginecol. 1994 Oct;46(10):579-82. Italian.
28. Gross G., Ikenberg H., Roussaki A., Drees N., Schopf E. Systemic treatment of condyloma acuminata with recombinant interferon-a 2a: low dose superior to high dose regime. Chemotherapy. 1986; 32: 537-541
29. Guo Z, Wu F, Asplund A, Mazurenko N et al. Mod Pathol 2001; 14: 54-61.
30. Herdman MT, Pett MR, Roberts I, Alazawi WO, Teschendorff AE, Zhang XY, Stanley MA, Coleman N. Interferon-beta treatment of cervical keratinocytes naturally infected with human papillomavirus 16 episomes promotes rapid reduction in episome numbers and emergence of latent integrants. Carcinogenesis. 2006 Nov;27(11):2341-53.
31. HPV treatment guidelines. www.cdc.gov/std/treatment/6-2002
32. Iljazović E, Ljuca D, Sahimpasić A, Avdić S. Efficacy in treatment of cervical HRHPV infection by combination of beta interferon, and herbal therapy in woman with different cervical lesions. Bosn J Basic Med Sci. 2006 Nov;6(4):79-84.
33. Kanodia S, Da Silva DM, Kast WM. Recent advances in strategies for immunotherapy of human papillomavirus-induced lesions. Int J Cancer. 2008 Jan 15;122(2):247-59.
34. Klaes R., Friedrich T, Spitkovsky D et al. Int J Cancer 2001; 92: 276-8412
35. Koopman LA, Corver WE, van der Slik AR et al. J Exp Med 2000; 191: 961-75.
36. Lorincz et al., «Human Papillomavirus Infection of the Cervix: Relative Risk associations of 15 Common Anogenital Types», 1992 Obstetrics & Gynecology, Vol.79, No.3, p.328-37
37. Melnikow J/Natural history of cervical squamous.intraepithelial lesions: A meta-analysis. Obstet Gynecol 1998.-92:727-35
38. Mojana G, Carinelli S, Borrioni R, Buonaguidi A, Luzzo A, Milesi M. The diagnosis and therapy of HPV-associated genital lesions: the role of systemic beta-interferon treatment Minerva Ginecol. 1995 Jan-Feb;47(1-2):31-7. Italian.
39. Russomano F, Reis A, Camargo M et al. Efficacy in treatment of subclinical cervical HPV infections without CIN. Systemic review. San Paulo Mtd J // Rev Paul Med.-2000.-Vol.118., N 4.-p.109-115.
40. Seresini S, Origoni M, Lillo F, Caputo L, Paganoni AM, Vantini S, Longhi R, Taccagni G, Ferrari A, Doglioni C, Secchi P, Protti MP. IFN-gamma produced by human papilloma virus-18 E6-specific CD4+ T cells predicts the clinical outcome after surgery in patients with high-grade cervical lesions. J Immunol. 2007 Nov 15;179(10):7176-83.
41. Sikorski M, Zrubek H. Long-term follow-up of patients treated with recombinant human interferon gamma for cervical intraepithelial neoplasia. Int J Gynaecol Obstet. 2003 Aug;82(2):179-85.
42. Snoeck R Papillomavirus and treatment. Antivir rec 2006;71(2-3):181
- Wright Jr TC, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. Consensus guidelines for management of women with CIN and AIS. Am J Obstet Gynec 2007;197(4):340-5
43. Spitzer M. Screening and management of women and girls with human papillomavirus infection/ Gynecologic oncology/ Vol107,N2,suppl1, nov2007, p.s14-19
44. Stanley M. Chapter 17: Genital human papillomavirus infections--current and prospective therapies. J Natl Cancer Inst Monogr. 2003;(31):117-24.
45. Steben M, Duarte-Franco E. Human papillomavirus infection: epidemiology and pathophysiology. Gynecol Oncol. 2007 Nov;107(2 Suppl):S2-S5. Review.
46. Tanweer A Syed (MD PhD) and Oliver Abbas Ahmadpour (MD). Human leukocyte derived interferon-a in a hydrophilic gel for the treatment of intravaginal warts in women: a placebo-controlled, double-blind study. International Journal of STD & AIDS 1998; 9: 769-772
47. Toma S, Ragni N, Raffo P, et al., Efficacy of the association of 13-cis-retinoic acid (13cRA) and alpha-interferon 2a (alpha-IFN 2a) in moderate-severe cervical intraepithelial neoplasia (CIN II-III): a pilot study. Anticancer Res. 1996 Mar-Apr;16(2):931-6.
48. Verguts J, Bronselaer B, Donders G, Arbyn M, Van Eldere J, Drijkoningen M, Poppe W. Prediction of recurrence after treatment for high-grade cervical intraepithelial neoplasia: the role of human papillomavirus testing and age at conisation. BJOG. 2006 Nov;113(11):1303-7.
49. Visser J, Nijman HW, Hoogenboom BN, Jager P, van Baarle D, Schuurin E, Abdulahad W, Miedema F, van der Zee AG, Daemen T. Frequencies and role of regulatory T cells in patients with (pre)malignant cervical neoplasia. Clin Exp Immunol. 2007 Nov;150(2):199-209.
50. World Health Organization (WHO). Comprehensive Cervical Cancer Control. A guide to essential practice. Geneva: WHO 2006.
51. World Health Organization Press Release; WHO, 1996; 47.
52. Wright TC Jr, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D; 2006 American Society for Colposcopy and Cervical Pathology-sponsored Consensus Conference. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. Am J Obstet Gynecol. 2007 Oct;197(4):346-55.
53. Zur Hausen H. Nat Cancer Rev, 2002; 2: 342-50

