

Molekylærdiagnostiske metoder innen gynekologisk kreft

Sammendrag

Bakgrunn. År med intens forskning har økt vår forståelse for det genetiske grunnlaget for gynekologisk kreft. Likevel er dette fortsatt en viktig årsak til død blant kvinner. Vi gir her en systematisk gjennomgang av viktige molekylærdiagnostiske metoder som kan benyttes for forebygge og karakterisere kreft i eggstokker, livmor og livmorhals.

Materiale og metode. Presentasjonen baserer seg på begrenset litteratursøk i databaser som PubMed, Medline, Cochrane og nettadresser for behandlingsprotokoller samt egne erfaringer.

Resultater. Årsaken til endometrie- og ovarialcancer er i hovedsak ukjent, men om lag 5 % av tilfellene skyldes nedarvede mutasjoner i BRCA1, BRCA2 og DNA-reparasjonsgener. Bærere av disse anbefales særskilt oppfølging. Humant papillomvirus (HPV) er viktigste årsak til utvikling av livmorhalskreft. Påvisning av HPV-type kan bidra til diagnostisk avklaring, men er ikke en del av dagens program for masseundersøkelse mot livmorhalskreft. En mer presis molekylær diagnose av endometrie- og ovariecancer kan danne grunnlaget for målrettet behandling og prediksjon av behandlingsrespons, og preliminare studier pågår. Vaksinasjon mot humant papillomvirus har vist lovende resultater.

Fortolkning. Påvisningen av sårbarhetsgener for sykdomsutvikling, onkogene virus og prognostiske markører er en del av etablert diagnostikk og behandling ved gynekologisk kreft. Tidlige arbeider med å karakterisere svulstene molekylært har vist lovende resultater med tanke på utvikling av ny, målrettet behandling.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Oppgitte interessekonflikter:
Se til slutt i artikkelen

Helga B. Salvesen

helga.salvesen@uib.no
Kvinneklinikken
Haukeland Universitetssjukehus
5021 Bergen
og
Universitetet i Bergen

Ole Erik Iversen

Kvinneklinikken
Haukeland Universitetssjukehus

Claes Tropé

Gynekologisk avdeling
Radiumhospitalet

Til tross for en økt innsikt i det genetiske grunnlaget for gynekologisk kreft er dette fortsatt en viktig dødsårsak blant kvinner (1). For sykdomsgruppen har imidlertid flere nyvinninger akselerert forskningen rettet mot forebygging og kurasjon. Sekvenseringen av det humane genom og utviklingen av «high-through-put»-verktøy for studier av DNA-sekvensvariasjoner, endret genkopitall og globale ekspressionsprofiler bidrar til dette (1, 2). Vi gir her en systematisk gjennomgang av viktige molekylærdiagnostiske metoder som kan benyttes for å forebygge og karakterisere kreft i eggstokker, livmor og livmorhals. Dette omfatter påvisning av sårbarhetsgener for sykdomsutvikling (3), onkogene virus (4), prognostiske markører (5) og tidlige arbeider med å karakterisere svulstene molekylært med tanke på målrettet behandling (6, 7).

Presentasjonen baserer seg på litteratur fremskaffet ved begrenset søk i databasene PubMed, Medline, Cochrane og nettadresser for behandlingsprotokoller sammen med egne erfaringer.

Ovariecancer

Gjennomsnittlig livstidsrisiko for utvikling av ovariecancer er 1 på 70. En positiv familieanamnese for eggstokk- og brystkreft er den viktigste kjente risikofaktoren, selv om det påvises en genetisk predisposisjon i bare 5 % av tilfellene. Nulliparitet er assosiert med økt risiko, i motsetning til bruk av perorale kontraseptiver, svangerskap og amming (6).

En positiv familieanamnese for bryst- eller eggstokkreft, ofte i ung alder og hos samme kvinne, kan være relatert til forekomst av en nedarvet mutasjon i ett av to gener, BRCA1 og BRCA2, som er årsaken

til 80–90 % av tilfellene av nedarvet bryst- og eggstokkreft. BRCA1 og BRCA2 er lokalisert til henholdsvis kromosom 17q og 13q, og deres funksjon er knyttet til DNA-reparasjon (tab1) (1). Da et mutert allel for BRCA1 eller BRCA2 kan nedarves fra begge foreldre, er det viktig å innhente en komplett familieanamnese for å kartlegge kvinnens risiko. Livstidsrisikoen for å utvikle eggstokkreft er rapportert til å ligge på 16–44 % for BRCA1-mutasjonsbærere og om lag 10 % for BRCA2-mutasjonsbærere.

En bedret forståelse for den genetiske risikoen gir mulighet for målrettet forebygging. Kvinner med kjent nedarvet mutasjon i BRCA1 eller BRCA2 kan redusere risikoen for sykdomsutvikling ved å få utført bilateral salpingooforektomi etter de har fått de barna de ønsker (8). Selv om profylaktisk kirurgi reduserer risikoen for ovariecancer, ser det ut til at bærere av BRCA1- og BRCA2-mutasjoner fortsatt har risiko for utvikling av primært peritonealt serøst karsinom.

For kvinner med høy risiko for eggstokkreft som ikke ønsker bilateral salpingooforektomi, tilbys hyppige kontroller med gynekologisk undersøkelse, måling av CA-125 og transvaginal ultralydundersøkelse. Imidlertid er det viktig å fremheve at tidlig ovariecancer ofte ikke kan oppdages og at nytten av masseundersøkelse mot eggstokkreft blant høyriskopasienter ennå ikke er dokumentert. Den beskyttende effekten av perorale kontraseptiver hos disse kvinnene er fortsatt usikker (3, 6).

Selv om man har sett en viss bedring i overlevelse for eggstokkreft i de senere år, har sykdommen fortsatt høy dødelighet,



Hovedbudskap

- Årsaken til endometrie- og ovariecancer er i hovedsak ukjent
- Om lag 5 % av tilfellene skyldes nedarvede mutasjoner
- Humant papillomvirus (HPV) er viktigste årsak til utvikling av livmorhalskreft
- En mer presis molekylær diagnose for endometrie- og ovariesvulster kan danne grunnlaget for målrettet behandling og prediksjon av behandlingsrespons

med en femårsoverlevelse på om lag 40 %. Dette tilskrives at den ofte oppdages ved et avansert stadium. Gevinsten av et effektivt masseundersøkelserprogram antas å være stor. I en studie med mer enn 22 000 postmenopausale kvinner med varierende risiko for utvikling av eggstokkrekft kombinerte man sekvensielle CA-125-målinger med ultralydundersøkelser som ledd i masseundersøkelse mot eggstokkrekft. Man fant en spesifisitet på 99 % og en sensitivitet på 79 % for å påvise slik kreft (9). Nyere studier av proteomikkdata fra serum for å oppdage presymptomatisk sykdom har skapt optimisme, men den kliniske nytten er foreløpig uavklart (10).

DNA-ploiditet er identifisert som en uavhengig prognostisk faktor ved tidlig eggstokkrekft i flere retrospektive studier og i en prospektiv randomisert studie, og benyttes i dag flere steder som en del av rutinediagnostikken (11).

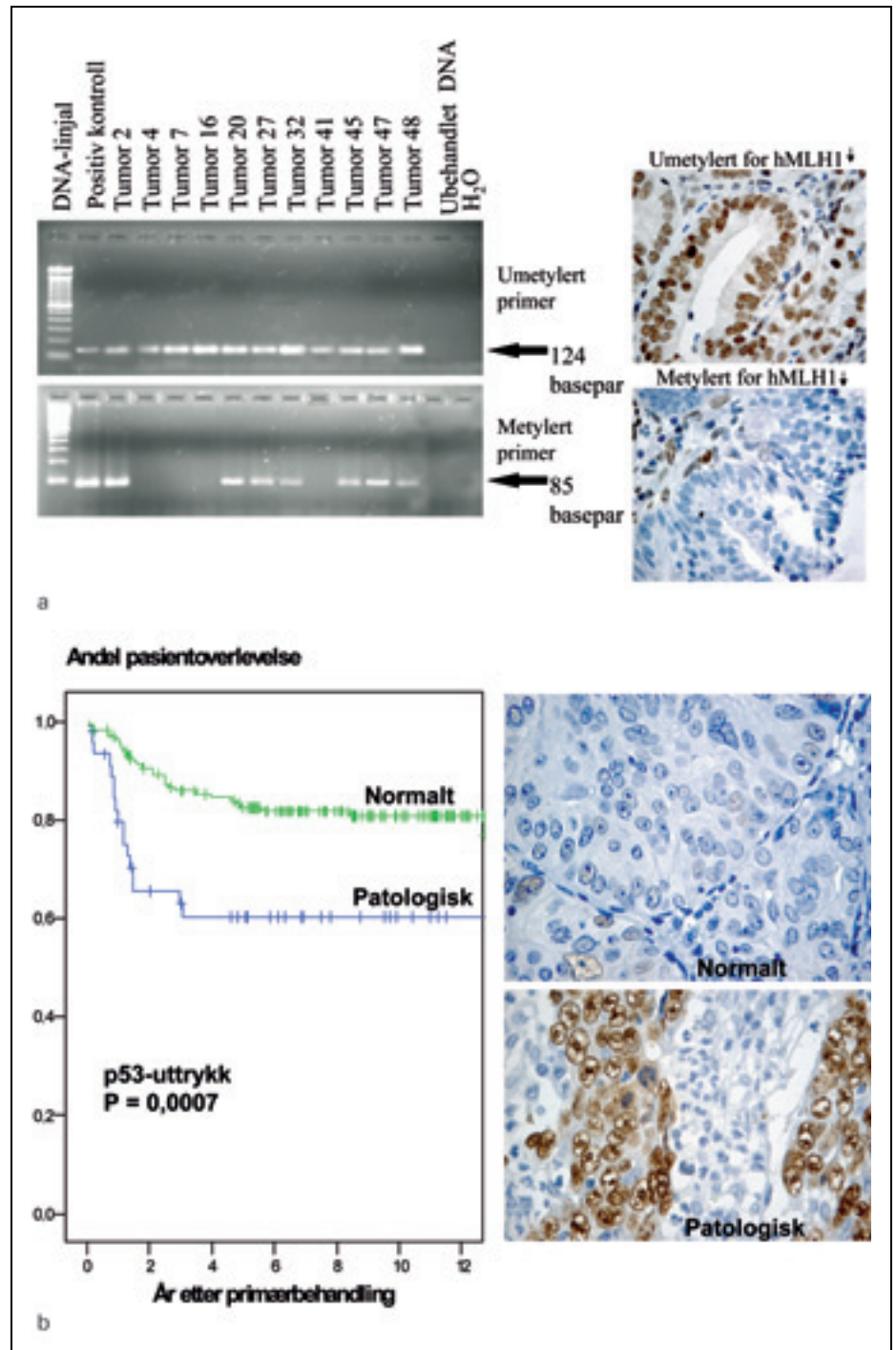
Eggstokkrekft kjennetegnes også ved ascites og pleuravæske. Abdominalt ubehag som følge av ascites finnes hos 65 % av pasientene. Studier har vist ulikt ekspressionsmønster av kreftassosierte molekyler i kreftcellene fra ascites og pleuravæske sammenliknet med tilsvarende kreftceller fra primærtumor (12). Kartlegging av ekspressionsmønsteret i ascites og pleuravæske kan således ha betydning for å finne frem til en mer målrettet behandling ved metastaserende sykdom (12).

En rekke studier har bidratt til bedret forståelse av det molekylære grunnlaget ved sporadiske tilfeller av eggstokkrekft (13, 14). Svulstene er funnet å ha multiple genetiske forandringer av betydning for signalveiene for regulering av celledøds og celledød. Endringer i epidermal vekstfaktorreseptor (EGFR), Her2, TP53, gener i PI3K-signalveien (PIK3CA, AKT2, PTEN) og gener i Ras/MAPK-signalveien (ERK) er beskrevet ved eggstokkrekft, og noen av disse forandringene er rapportert å være assosiert med et aggressivt sykdomsforløp. Videre har mikromatrisestudier av genuttrykksprofil i svulster vist lovende resultater som prognostisk verktøy og også for å predikere og bedre innsikten i utvikling av kjemoresistens (6).

Utvikling av nye medikamenter for å hemme signalveier affisert i tumor har vist lovende resultater, og kliniske studier er i gang for å vurdere nytten av ulike agenser, deriblant hemmere av VEGFR og EGFR (14). Det er håp om at en kombinasjon og en videreføring av alle disse nyvinningene skal kunne forebygge sykdomsutvikling og bedre overlevelsen hos pasientene med eggstokkrekft.

Endometrieccancer

For de fleste tilfeller av kreft i livmorslimhinnen er årsaken til utvikling av sykdom ukjent, selv om ensidig østrogenstimulering, nulliparitet, overvekt, diabetes og tamoksisfenbruk er kjente risikofaktorer (15).



Figur 1 Eksempler på tumorbiologiske prognostiske faktorer ved endometrieccancer. a) Påvisning av mikrosatellittinstabilitet (MSI) i tumor er vanlig ved endometrieccancer. Figuren viser et panel av svulster (tumor 2, 20, 27, 32, 45, 47 og 48) som er inaktivert for DNA-reparasjonsgenet hMLH1 ved promotorregionmetylering. Dette ser man da det kommer opp et bånd for metylert primer, i motsetning til ikke-metylerede svulster, der det bare kommer opp bånd for umetylert primer. Alle svulstene viser det umetylerte båndet på grunn av kontaminerende stromale celler i tumor. Immunhistokjemisk bilde øverst viser et eksempel på en mikrosatellittstabil svulst uten tegn til metylering. Denne har normal uttrykkning av hMLH1 både i tumorceller og i stroma. Under ser man en svulst som er metylert for hMLH1. Dette gir tap av hMLH1-uttrykk i tumoren, mens stromalcellene fortsatt uttrykker hMLH1. Svulsten er mikrosatellittinstabil (18, 19). b) Overlevelse for pasienter etter primærbehandling for endometrieccancer basert på om svulsten har normal (immunbildet øverst) eller patologisk (nederst) uttrykk av p53. Forskjellen i overlevelse er høysignifikant, også når det justeres for andre kjente prognostiske faktorer (5)

For en liten andel av tilfellene, trolig om lag 5 %, skyldes sykdommen en nedarvet mutasjon i et DNA-reparasjonsgen, f.eks. hMLH1, hMSH2 eller hMSH6 (3, 16, 17).

Disse tilfellene inngår i syndromet hereditære ikke-polypøse karsinomer i colon (HNPCC), som er autosomt dominant arvelig. HNPCC-svulstene kjennetegnes av

Tabell 1 Kjente gener som ved skade predisponerer for gynekologisk kreft

Gen	Syndrom	Arvemønster	Type av arvelig tumor
BRCA1	Arvelig bryst- og eggstokkreft	Dominant	Eggstokk
BRCA2	Arvelig bryst- og eggstokkreft	Dominant	Eggstokk
MLH1	HNPCC ¹	Dominant	Livmor, eggstokk
MSH2	HNPCC ¹	Dominant	Livmor, eggstokk
MSH6	HNPCC ¹	Dominant	Livmor, eggstokk
PMS2	HNPCC ¹	Dominant	Livmor, eggstokk
PTEN	Cowdens syndrom	Dominant	Livmor, eggstokk
TP53	Li-Fraumenis syndrom	Dominant	Eggstokk, livmor

¹ HNPCC: Hereditær ikke-polypøs kolorektalcancer

at de forekommer i yngre alder enn det som er vanlig i sporadiske tilfeller og inntreffer i familier med flere tilfeller av kolorektalcancer, ofte hos yngre (16).

Det har vist seg kostnadseffektivt å screene tykktarmssvulstene ved HNPCC for en instabilitet i genomet. Undersøkelsen er imidlertid lite spesifikk. Ved høy grad av mikrosatellittinstabilitet går man videre med å gentyper for mutasjoner i DNA-reparasjons-gener, der det optimale er å starte med å undersøke probander og deretter gå videre med førstegradsslektninger ved positive funn (3). For endometrie-cancer har forekomsten av mikrosatellittinstabilitet (MSI) vist seg å være høy også ved sporadiske tumorer, noe som tilskrives inaktivering av DNA-reparasjons-genet hMLH1 ved promotoregionmetylering (fig 1a) (18, 19).

Risikoen for å utvikle endometrie-cancer innen 70 års alder er 40–60% for kvinner med HNPCC, sammenliknet med om lag 2% for populasjonen for øvrig. Tilsvarende er risikoen for å utvikle ovarie-cancer ved HNPCC 10–12%, mot 1–2% ellers (3, 16). Disse kvinnene bør derfor tilbys spesiell oppfølging med tanke på å avdekke sykdomsutvikling tidlig.

Kreft i livmorslimhinnen har generelt god prognose, med en samlet sykdomsspesifikk femårsoverlevelse på rundt 75%. Dette skyldes blant annet at de fleste tilfellene blir oppdaget mens sykdommen er lokalisert i livmoren (FIGO-stadium I). For de fleste av disse pasientene vil kirurgi i form av hysterektomi med bilateral salpingooforektomi være tilstrekkelig behandling. Tumors infiltrasjonsdybde i myometriet, histologisk type og grad samt status for lymfeknuter i bekkenet og paraaortalt er med på å bestemme om pasienten skal anbefales strålebehandling i tillegg (15). For å få en bedre kartlegging av sykdomsutbredelsen har man i de senere år i økende grad tatt prøver systematisk fra lymfeknuter i bekkenet i forbindelse med primæroperasjon. Likevel vil man avstå fra dette hos mange pasienter med høy alder og ledsagende risikofaktorer, risikoen for operasjonsmorbiditet og -mortalitet må veies nøye mot den gode prognosen ved sykdommen. På bakgrunn av dette har man i en rekke studier sett på nytten av andre prognostiske markører i tumor for denne pasient-

gruppen. En rekke prognostiske markører er identifisert (fig 1b). Hormonreseptor- og DNA-ploiditetsundersøkelser i tumor inngår i dag som en del av rutinediagnostikken, da det er vist at disse har selvstendig prognostisk betydning. Immunhistokjemisk uttrykk av p53 i svulstvevet har også i flere studier vist seg å ha selvstendig prognostisk verdi (5, 15, 20).

Svulster utgående fra livmorslimhinnen kjennetegnes genetisk ved høy forekomst av mutasjoner i tumorsuppressorgenet PTEN og mikrosatellittinstabilitet. Molekylære data fra en rekke studier indikerer to ulike genetiske signalveier for de endometroide versus de aggressive serøse papillære og klarcellede svulstene. De endometroide svulstene kjennetegnes ved diploiditet, hormonreseptorpositivitet, PTEN-mutasjoner, mikrosatellittinstabilitet og mutasjoner i K-ras, i motsetning til serøse papillære og klarcellede svulster, som kjennetegnes ved aneuploiditet, hormonreseptornegativitet, p53-mutasjoner og inaktivering av p16 og E-cadherin samt amplifisering av Her2/neu (20). Dette har gitt oss bedre forståelse for det genetiske grunnlaget for sykdomsutviklingen og mulige angrepsvinkler for målrettet behandling. Flere studier for behandling av utbredt sykdom pågår, deriblant med medikamenter rettet mot hemming av PTEN-signalveier og for blokkering av Her2 (21).

Livmorhalskreft

Livmorhalskreft er den nest hyppigste årsaken til kreftrelatert død blant kvinner på verdensbasis (22). I Afrika og Sør-Amerika er sykdommen flere steder hyppigere enn brystkreft. Der kreftformen er hyppigst, er mulighetene for tidlig diagnose og effektiv behandling ofte ikke til stede. De sosiale implikasjonene er store, fordi det ofte er småbarnsmødre som rammes. Samtidig er det den kreftform der tidlig diagnose og behandling (sekundærprofylakse) har vært effektivt (23). I Finland er for eksempel forekomsten redusert med ca. 80% etter innføring av nasjonal screening.

Man oppfatter i dag cervixcancer som et resultat av en kronisk infeksjon med høyrisiko-HPV-virus. Virusset overføres hovedsakelig seksuelt, og er så utbredt at man regner

med at så godt som alle seksuelt aktive har vært eksponert for det. De fleste har en forbigående infeksjon, men hos noen blir infeksjonen kronisk og kan i løpet av år/dekader utvikle seg via celleforandringer til invasiv cancer. I 99% av cervixcancertilfellene finner man HPV-genomet i svulsten. Det er bare 1–2% av dem som blir smittet som utvikler kreft, mens om lag fem ganger så mange utvikler høygradige celleforandringer (HSIL, CIN 2/3), som behandles med konisering (24, 25). Det kan ikke forutsies hvem som er mest utsatt for malign utvikling, men risikoen er assosiert med immunologiske forhold, røyking og andre koinfeksjoner (4, 24).

Til nå har morfologisk/cytologisk diagnostikk dannet grunnlaget for masseundersøkelse, tidlig diagnose og behandling. Metoden er ressurskrevende. Ny kunnskap om etiologi og patogenese har ført til studier av andre markører. Dette inkluderer påvisning av HPV-DNA eller -RNA og markører for forstyrrelser i cellesyklus (p16, Ki67 og andre). Flere tester er kommersielt tilgjengelige. De har høy sensitivitet, mens spesifisiteten er foreløpig for lav for prediksjon av klinisk uttalte celleforandringer. Derfor er primærscreening med slike metoder ikke anbefalt i det nasjonale screeningprosjektet. Derimot anbefaler man HPV-testing som supplement til cytologisk prøve med lavgradige (LSIL) eller usikre celleforandringer (ASC-US) (25). Hos disse kvinnene kan positiv test for høyrisikovirus indikere økt risiko for progrediering, mens negativ test indikerer lavere risiko og mindre tett oppfølging. Fordi andelen med positiv test hos unge er høy (30%), må man være restriktiv med testing av kvinner under 30 år (24–26). Hvorvidt HPV-RNA-testing som uttrykk for E6- og E7-onkogenekspresjon kan ha et fortrinnsom uttrykk for aktiv, kronisk infeksjon, er ikke endelig avklart. Flere randomiserte studier av humant papillomvirus i primærscreening pågår, og resultater ventes de nærmeste årene.

p16 er involvert i cellesykluskontroll og kan påvises semikvantitativt i cytologiske og histologiske prøver. Konsentrasjonen er økt i celler som er transformert av HPV-E6- og -E7-onkogener, og assosiert med høyrisiko-HPV sammenliknet med lavrisiko-HPV. Tester for dette er kommersielt tilgjengelige. Ki67 er en immunmarkør for proliferasjon, men er heller ikke tilstrekkelig validert for bruk i programmer for masseundersøkelse. Det er mulig at screening i fremtiden kan basere seg primært på HPV-påvisning eller andre markører i automatiserte analyser, etterfulgt av cytologisk undersøkelse ved positiv test (23). Ved eventuell innføring av væskebasert cytologisk undersøkelse kan slike tilleggsanalyser gjøres direkte, uten fornyet konsultasjon og prøvetaking.

Med moderne bioteknologi har man lyktes i å produsere rent HPV-L1-kapsidprotein som grunnlag for HPV-vaksiner. Disse er fri

for virus-DNA/RNA og bestanddeler fra vaksineproduksjon som egg-/kyllingprotein. Det er publisert svært lovende resultater med henblikk på akutt og kronisk infeksjon både med HPV16- og kombinasjonen HPV16/18-vaksiner (7, 27). Selv om det er mange høyriskovirus som kan gi celleforandringer, står HPV16 og HPV18 for om lag to tredeler av tilfellene. Med tillegg av HPV31, 33 og 45 kan forekomsten av cervixcancer reduseres med 85% (22, 26). Norge er med i multinasjonale fase 3-studier, også med vaksinasjon av unge i alderen 10–15 år. Hypotesen er at vaksinen vil gi optimal beskyttelse hvis den gis før seksuell debut. Det er foreløpig ikke avklart om vaksinen kan ha effekt hos tidligere infiserte, heller ikke hvor lenge den vil være effektiv. Hvorvidt det kan være kryssresistens mellom ulike virustyper, er heller ikke avklart (22).

Konklusjon

Påvisningen av sårbarhetsgener for sykdomsutvikling, onkogene virus og prognostiske markører er i dag en del av etablert diagnostikk og behandling ved gynekologisk kreft. Tidlige arbeider med å karakterisere svulstene molekylært har vist lovende resultater med tanke på å predikere behandlingsrespons og utvikle målrettet behandling. Slike nye medikamenter rettet mot proteiner fra gener som er mutert ved kreft har skapt optimisme. Det er foreløpig usikkert hvilken plass disse har i behandlingen av gynekologisk kreft, men studier pågår.

Manuskriptet ble godkjent 13.4. 2005.

Oppgitte interessekonflikter: Ole Erik Iversen deltar i utprøving av HPV-vaksine utviklet av MSD og GlaxoSmithKline og har mottatt forelesningshonorar fra DakotCytomation. Helga Salvesen deltar i utprøving av HPV-vaksine utviklet av MSD. Claes Tropé har ingen oppgitte interessekonflikter.

Litteratur

1. Wooster R, Weber BL. Breast and ovarian cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 2339–47.
2. Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med* 2004; 10: 789–99.
3. Sifri R, Gangadharappa S, Acheson LS. Identifying and testing for hereditary susceptibility to common cancers. *CA Cancer J Clin* 2004; 54: 309–26.
4. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518–27.
5. Salvesen HB, Iversen OE, Akhlen LA. Prognostic significance of angiogenesis and Ki-67, p53, and p21 expression: a population-based endometrial carcinoma study. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1382–90.
6. Cannistra SA. Cancer of the ovary. *N Engl J Med* 2004; 351: 2519–29.
7. Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM et al. A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. *N Engl J Med* 2002; 347: 1645–51.
8. Lobb E, Meiser B. Genetic counselling and prophylactic surgery in women from families with hereditary breast or ovarian cancer. *Lancet* 2004; 363: 1841–2.
9. Jacobs IJ, Skates SJ, MacDonald N et al. Screening for ovarian cancer: a pilot randomised controlled trial. *Lancet* 1999; 353: 1207–10.
10. Alexe G, Alexe S, Liotta LA et al. Ovarian cancer detection by logical analysis of proteomic data. *Proteomics* 2004; 4: 766–83.
11. Trope C, Kaern J, Hogberg T et al. Randomized study on adjuvant chemotherapy in stage I high-risk ovarian cancer with evaluation of DNA-ploidy as prognostic instrument. *Ann Oncol* 2000; 11: 281–8.
12. Davidson B, Elstrand MB, McMaster MT et al. HLA-G expression in effusions is a possible marker of tumor susceptibility to chemotherapy in ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 2005; 96: 42–7.
13. Yuan ZQ, Sun M, Feldman RI et al. Frequent activation of AKT2 and induction of apoptosis by inhibition of phosphoinositide-3-OH kinase/Akt pathway in human ovarian cancer. *Oncogene* 2000; 19: 2324–30.
14. See HT, Kavanagh JJ. Novel agents in epithelial ovarian cancer. *Cancer Invest* 2004, 22 (suppl 2): 29–44.
15. Rose PG. Endometrial carcinoma. *N Engl J Med* 1996; 335: 640–9.
16. Wijnen JT, Vasen HF, Khan PM et al. Clinical findings with implications for genetic testing in families with clustering of colorectal cancer. *N Engl J Med* 1998; 339: 511–8.
17. Chung DC, Rustgi AK. The hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: genetics and clinical implications. *Ann Intern Med* 2003; 138: 560–70.
18. MacDonald ND, Salvesen HB, Ryan A et al. Frequency and prognostic impact of microsatellite instability in a large population-based study of endometrial carcinomas. *Cancer Res* 2000; 60: 1750–2.
19. Salvesen HB, MacDonald N, Ryan A et al. Methylation of hMLH1 in a population-based series of endometrial carcinomas. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3607–13.
20. Lax SF. Molecular genetic pathways in various types of endometrial carcinoma: from a phenotypical to a molecular-based classification. *Virchows Arch* 2004; 444: 213–23.
21. <http://www.cancer.gov/clinicaltrials> (14.1.2005).
22. Crum CP. The beginning of the end for cervical cancer? *N Engl J Med* 2002; 347: 1703–5.
23. Franco EL. Are we ready for a paradigm change in cervical cancer screening? *Lancet* 2003; 362: 1866–7.
24. Wright TC jr., Schiffman M. Adding a test for human papillomavirus DNA to cervical-cancer screening. *N Engl J Med* 2003; 348: 489–90.
25. Skjeldestad FE, Hagen B, red. Prekankrose lidelser i cervix I: Norsk Gynekologisk Forening. Gynekologiske veiledninger. Onkologi. Oslo: Norsk gynekologisk forening, 2002 (evidert 2005). <http://www.nhi.no/ngf/>
26. Peto J, Gilham C, Fletcher O et al. The cervical cancer epidemic that screening has prevented in the UK. *Lancet*. 2004; 364: 249–56.
27. Harper DM, Franco EL, Wheeler C et al. Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. *Lancet* 2004; 364: 1757–65.