

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Шамаракова М.В., 2014

УДК 618.146-007.17-097+616-006.52-002.7]-08

**ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ P16^{INK4A}, KI-67, VEGF И E-КАДГЕРИНА
ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ПОРАЖЕНИЯХ
ШЕЙКИ МАТКИ**

М.В. ШАМАРАКОВА

ФГУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии
им. В.И. Кулакова, г. Москва

**EVALUATION OF EXPRESSION OF P16^{INK4A}, KI-67, VEGF, E-CADHERIN
IN SQUAMOUS INTRAEPITHELIAL LESIONS OF THE CERVIX**

M.V. SHAMARAKOVA

FSI Scientific center of obstetrics, gynecology and perinatology S.I. Kulakova, Moscow

В статье представлены результаты изучения функционального состояния плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки, с использованием современных методов молекулярной биологии, выделение биомаркеров, способствующих диагностике пролиферативных изменений эпителия и определению течения предраковых состояний шейки матки. Исследование показало, что поражения со структурными особенностями CIN2 имеют разный злокачественный потенциал и соответственно морфологические критерии данного патологического процесса не отражает сущности биологического процесса.

Ключевые слова: плоскоклеточные интраэпителиальные поражения, шейка матки, иммуногистохимические маркеры.

The article presents the results of a study of the functional state of squamous intraepithelial lesions of the cervix, using modern molecular biology techniques, the selection of biomarkers to facilitate the diagnosis of epithelial proliferative changes, and determine the flow of precancerous cervical conditions. The study showed that lesions with structural features of CIN2 have different malignant potential and therefore the morphological criteria of a pathological process does not reflect the nature of the biological process.

Keywords: squamous intraepithelial lesions, cervix, immunohistochemical markers.

Введение

Морфологические особенности плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки (англ. Squamous intraepithelial lesion – SIL) или цервикальной интраэпителиальной неоплазии (англ. cervical intraepithelial neoplasia – CIN) принято считать золотым стандартом диагностики предраковых поражений. Однако дифференциальная диагностика последних все еще остается предметом дискуссии. Так, при оценке воспроизводимости диагнозов CIN среди патологов нередко отмечаются расхождения [11]. Наблюдается гипердиагностика CIN/SIL и, вследствие этого, неоправданное лечение женщин [4]. Кроме того, в некоторых случаях возможна самопроизвольная регрессия SIL [2, 17]. В настоящее время как для повышения качества диагностической работы и определения индивидуального прогноза течения поражения шейки матки, так и проведения обосновано необходимых лечебных мероприятий большое внимание уделяется

иммуногистохимическому исследованию экспрессии биомаркеров в тканях пораженной шейки матки. Наибольшее распространение получило использование биомаркера ингибитора циклин-зависимой киназы p16^{INK4a}, экспрессия которого усиливается при инактивации протеина, регулирующего клеточный цикл Rb онкопротеином E7 вируса папилломы человека (ВПЧ), и показателя пролиферации Ki-67 [5, 6]. Вместе с тем, воспроизводимость диагнозов SIL ограничена из-за отсутствия стандартов оценки иммуногистохимического окрашивания p16^{INK4a} [18]. Определение экспрессии Ki-67 хотя и способствует более полноценному определению степени тяжести поражения, она не является специфической для цервикальной неоплазии или инфицирования ВПЧ [12]. Хотя, сочетанное использование биомаркеров p16^{INK4a} и Ki-67 при определении степени тяжести поражения позволяет компенсировать недостатки, возникающие при их изолированном применении, для

определения прогноза SIL/CIN этого недостаточно. Имеются сообщения о стимулирующем влиянии онкопротеина E6 ВПЧ на экспрессию VEGF [16], а также о нарушении экспрессии Е-кадгерина при инактивации Rb онкопротеином E7 [6,9]. Учитывая вышесказанное, не вызывает сомнения необходимость уточнения морфологических критериев SIL и выявления биомаркеров, определяющих их прогноз.

Цель исследования

Изучение функционального состояния плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки, с использованием современных методов молекулярной биологии, выделение биомаркеров, способствующих диагностике пролиферативных изменений эпителия и определению течения предраковых состояний шейки матки.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили биоптаты шейки матки 73 женщин: 25 наблюдений с SIL низкой степени тяжести (плоская кондилома, CIN1) (средний возраст $23 \pm 2,3$ лет), 28 – высокой степени (CIN2, CIN3) (средний возраст $28,5 \pm 4,7$ лет) и 20 – составили группы контроля, в том числе 11 – неороговевающей плоскоклеточной карциномы (средний возраст $32,9 \pm 4,1$ лет), и 9 – ткани неизменной шейки матки (средний возраст $27,7 \pm 5,6$ лет). Критериями отбора служили репродуктивный

возраст, отсутствие воспалительных и реактивных изменений в биоптированной ткани шейки матки, наличие проведенного ВПЧ Digene теста. Что касается тканей неизменной шейки матки, то поводом для взятия биопсии послужило клиническое подозрение на наличие CIN/SIL, не подтвержденное при гистологическом исследовании.

Иммуногистохимическое исследование проводили на депарафинированных срезах толщиной 4 мкм с использованием моноклональных мышинных антител к ядерному антигену делящихся клеток Ki-67 (1:500, клон MIB-1, «Dako», Дания), поликлональному антителу против рекомбинантного человеческого VEGF (1:500 «Dako», Дания) и диагностического набора p16^{INK4a}-kit (1:400, «Dako», Дания), моноклональных мышинных антител Е-кадгерина (1:700, «Dako», Дания),. В качестве демаскирующего приема применяли нагревание предметных стекол со срезами в Tris буфере в водяной бане ($t=98^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин). Эндогенная пероксидаза была блокирована с помощью инкубации срезов с 3% перекисью водорода (15 мин.). Специфическое связывание выявляли с помощью вторичных кроличьих антител фирмы Labvision. Специфическое окрашивание проводили диаминобензидином (DAB, «Dako», Дания). Срезы докрашивали гематоксилином. В каждом случае применяли позитивный и негативный контроль исследования.

Анализ изображения и фотодокументацию проводили с использованием программного обеспечения фирмы Karl Zeiss (Германия). Специфическое иммуногистохимическое окрашивание идентифицировали на основании коричневого окрашивания ядер, цитоплазмы и оболочек клеток.

Пролиферативную активность эпителия шейки матки определяли на основании наличия ядер эпителия с экспрессией Ki-67. Низкий уровень экспрессии соответствовал окрашенным клеткам, расположенным в базальном и парабазальном слое эпителия, промежуточный – в нижней и средней трети эпителия, высокий – иммунореактивность Ki-67 определялась в клетках занимающих более 2/3 эпителия.

Оценку экспрессии E-кадгерина проводили с использованием 2-х категорий: неизмененного и патологического распределения. Под неизмененным распределением экспрессии E-кадгерина подразумевали наличие окрашивания клеточных оболочек. При патологическом распределении экспрессии E-кадгерина отмечалось окрашивание цитоплазмы и ядер клеток.

При оценке экспрессии p16^{INK4a} учитывали окрашивание ядра и цитоплазмы клеток. Негативными считали образцы, в которых экспрессия p16^{INK4a} отсутствовала, очаговую экспрессию p16^{INK4a} характеризовали очаги положительно окрашенных клеток в базальном слое или вариабель-

ное число положительно окрашенных клеток в парабазальном и промежуточном слое, диффузной – иммунореактивные клетки располагались во всей толще эпителия.

Оценку экспрессии VEGF проводили полуколичественным методом с выделением 3х категорий: негативная – отсутствие экспрессии VEGF; очаговая – окрашенные клетки располагаются в 1/3-2/3 эпителиального пласта; диффузная – иммунореактивные клетки занимают более 2/3 эпителия.

Статистическая обработка полученных в ходе исследования данных проводилась на персональном компьютере с использованием статистического пакета Microsoft Excel XP (Microsoft Corp., США). Значимость различий между средними величинами и относительными показателями в группах сравнивали с помощью U теста по методу Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение

При морфологическом исследовании было выявлено, что SIL низкой степени тяжести (плоская кондилома, CIN1) свойственно расположение незрелых клеток базального типа в нижней трети эпителия, в промежуточном слое определялся койлоцитоз. При SIL высокой степени тяжести (CIN2, CIN2-3, CIN3) атипические клетки занимали более 1/3 эпителия, при этом отмечалась повышенная плотность клеток, последние располага-

лись хаотично. Митотическая активность соответствовала тяжести поражения: в CIN1 митозы определялись редко, лишь в нижней трети эпителия, CIN2 – в 2/3 эпителия, в CIN3 – во всей толщине эпителия.

При иммуногистохимическом исследовании в неизменной ткани шейки матки экспрессия Ki-67 определялась лишь в парабазальном слое эпителия. В 13 образцах SIL низкой степени тяжести экспрессия Ki-67 отмечалась в нижней трети эпителия, в 12 – более чем в половине эпителиального пласта. При SIL высокой степени экспрессия ki-67 отличалась вариабельностью и наблюдалась у 8 женщин в биоптированной ткани шейки матки в пределах половины эпителиального пласта, у остальных 20 – и в поверхностном отделе эпителия. Диффузная экспрессия Ki-67 была характерна для раковых поражений шейки матки. Достоверное различие в отношении биомаркера пролиферации обнаружено между показателями неизменного многослойного плоского эпителия шейки матки и SIL высокой степени тяжести, а также плоскоклеточной карциномы ($p < 0,05$).

Экспрессия E-кадгерина, которая определялась во всех случаях, изменялась по мере увеличения тяжести патологического процесса с достоверной разницей между SIL низкой степени тяжести и плоскоклеточной карциномой ($p < 0,001$). В неизменном

эпителии экспрессия E-кадгерина выражалась в окрашивании клеточных оболочек. При SIL низкой степени тяжести у 4 женщин наблюдалось ослабление окрашивания клеточных оболочек и появление слабого окрашивания цитоплазмы клеток, расположенных в нижней трети эпителия, у 8 – в средней трети. У остальных пациенток с SIL низкой степени тяжести экспрессия E-кадгерина мало отличалась от таковой в неизменном многослойном плоском эпителии.

В SIL высокой степени тяжести отмечалось выраженное изменение экспрессии E-кадгерина. У 3 из 28 пациенток в биоптированной ткани шейки матки хотя и сохранялось окрашивание клеточных оболочек, однако его интенсивность была снижена. В 25 случаях отмечалось окрашивание цитоплазмы и ядер клеток, которые занимали более 2/3 эпителия, притом у 4 из них имелось умеренное окрашивание оболочек клеток в верхних слоях поражения.

В 9 образцах плоскоклеточной карциномы отмечалось резкое снижение экспрессии E-кадгерина, клеткам всего эпителиального пласта было свойственно окрашивание цитоплазмы, в 2 образцах имелись мелкие участки, в которых сохранялось слабое окрашивание оболочек клеток.

Экспрессия p16^{INK4a} в эпителии неизменной шейки матки отсутствовала. В биоптатах шейки матки с

SIL низкой степени тяжести экспрессия p16^{INK4a} была вариабельной. У 8 женщин экспрессия данного ингибитора циклин-зависимой киназы в ткани шейки матки отсутствовала. В биоптированной ткани шейки матки 9 пациенток отмечалась очаговая экспрессия p16^{INK4a}, при этом у 5 женщин положительно окрашенные клетки определялись в парабазальном слое эпителия, в базальном отделе экспрессия биомаркера была негативной, у 4 – в нижней трети эпителиального пласта. Следует также отметить, что диффузная экспрессия p16^{INK4a} характеризовалась интенсивным окрашива-

нием и ядер, и цитоплазмы клеток, в то время как очаговая – слабым окрашиванием ядер.

В биоптированной ткани шейки матки с SIL высокой степени тяжести у 15 женщин экспрессия p16^{INK4a} была диффузной и отмечалась на всем протяжении эпителиального пласта, у 13 наблюдалась очаговая, местами интенсивная экспрессия p16^{INK4a} в более 1/3 эпителия.

В препаратах неороговевающей плоскоклеточной карциномы шейки матки преобладала диффузная экспрессия p16^{INK4a}, лишь в опухолевой ткани одной женщины она отсутствовала.

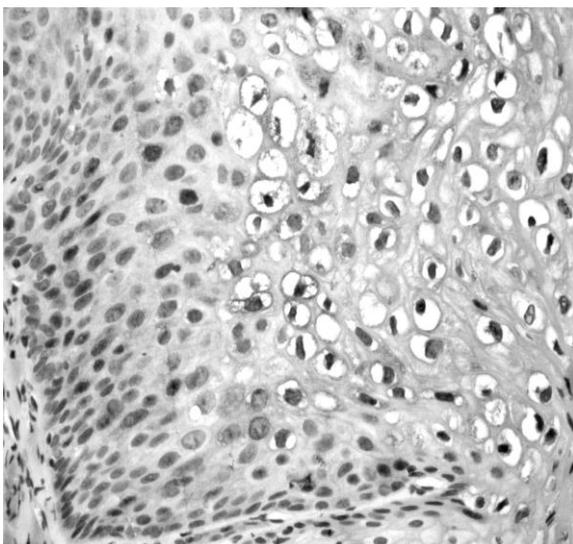


Рис. 1. Экспрессия p16^{INK4a} при SIL низкой степени тяжести. Иммунореактивность p16INK4a определяется в клетках пабазального и промежуточного слоя многослойного плоского эпителия

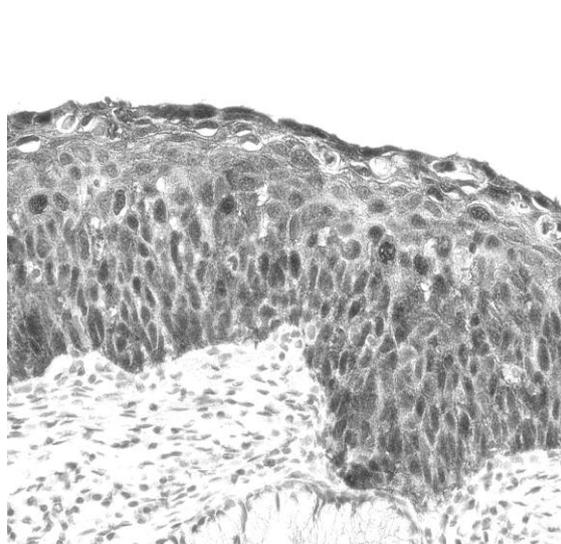


Рис. 2. Экспрессия p16^{INK4a} при SIL высокой степени тяжести. Иммунореактивность p16INK4a диффузная, в том числе в клетках базального слоя многослойного плоского эпителия

В ткани неизменной шейки матки и 12 образцах SIL низкой степени экспрессия VEGF отсутствовала. В 12 образцах SIL низкой степени тяжести определялась очаговая экспрессия VEGF в нижней трети эпителиального пласта, в 1 – она была интенсивной и занимала 2/3 эпителиального пласта.

При SIL высокой степени тяжести экспрессия VEGF достоверно усиливалась по сравнению с поражениями

низкой степени ($p < 0.001$). В 21 биоптате шейки матки определялась диффузная экспрессия VEGF, представленная цитоплазматическим окрашиванием, в 5 – очаговая, в 2 – негативная.

В ткани плоскоклеточной карциномы наблюдалась очаговая (у 5) и диффузная экспрессия VEGF (у 5). У одной женщины в опухолевой ткани экспрессия VEGF отсутствовала.

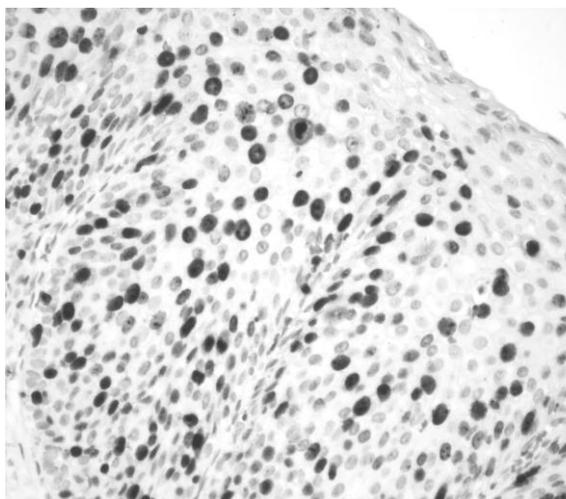


Рис. 3. Экспрессия Ki-67 при SIL высокой степени занимает более 2/3 эпителия

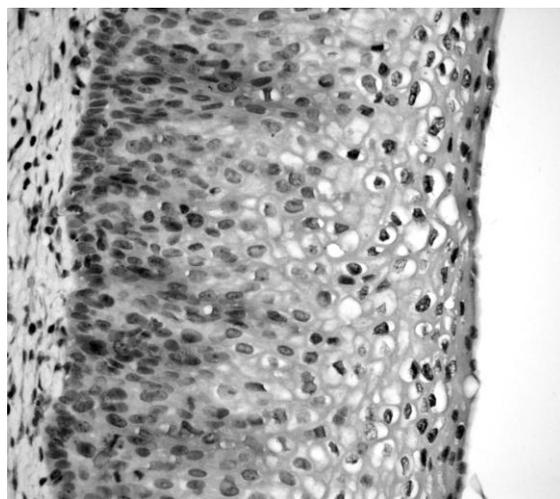


Рис. 4. Экспрессия VEGF при SIL низкой степени тяжести в виде цитоплазматического окрашивания атипичических клеток нижней трети эпителия

Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что по мере прогрессирования патологического процесса экспрессия Ki-67 в эпителии шейки матки повышается. Вместе с тем следует отметить, что при SIL высокой

степени (CIN2, CIN2-3, CIN3) отмечалась вариабельность экспрессии Ki-67. Подобная вариабельность экспрессии этого биомаркера указывает на субъективную оценку CIN2 и CIN3 при морфологическом исследовании биоптиро-

ванной ткани шейки матки, и возможно более целесообразным представляется их объединение и выделение SIL двух степеней тяжести.

Особенности распределения окрашивания p16^{INK4a} отражают инфицирование низкоонкогенными и/или высокоонкогенными типами ВПЧ. SIL низкой степени тяжести, обусловленные ВПЧ находящимся в эписомальной форме, свойственно окрашивание клеток парабазального и промежуточного слоя, поскольку при данном варианте инфицирования экспрессия вирусных онкогенов строго регулируется и ее высокие уровни наблюдаются только в клетках парабазального и промежуточного слоя. При интеграции ВПЧ в пролиферирующие клетки эпителия экспрессия вирусных онкогенов наблюдается на всем протяжении эпителиального пласта, что определяет окрашивание клеток базального слоя при SIL низкой степени тяжести и диффузную экспрессию p16^{INK4a} при SIL высокой степени тяжести [10].

Отсутствие экспрессии p16^{INK4a} в ткани плоскоклеточной карциномы возможно указывает на иной механизм развития последней, не ассоциированный с ВПЧ [1, 13].

Учитывая сведения о нарушении регуляции VEGF, обусловленной онкопротеином E6 высокоонкогенных типов ВПЧ [14, 16], и снижения экспрессии E-кадгерина при интактивации pRb онкопротеином E7 [9] мы со-

поставили результаты экспрессии VEGF, p16^{INK4a}, E-кадгерина и ВПЧ Digene теста у этих пациенток и выяснили, что экспрессия VEGF и патологическое распределение E-кадгерина наблюдалась только у женщин с морфологической картиной CIN1/SIL низкой степени тяжести, инфицированных высокоонкогенными типами ВПЧ. При этом, экспрессия p16^{INK4a} имела диффузный и очаговый характер, в том числе она наблюдалась в клетках базального слоя, что свидетельствовало об интеграции ВПЧ в геном клеток эпителия. У остальных 13 пациенток со структурными особенностями SIL низкой степени тяжести экспрессия VEGF и патологическое распределение E-кадгерина отсутствовали, при этом у 5 из них наблюдалась очаговая экспрессия p16^{INK4a}, все они были инфицированы низкоонкогенными типами вируса. Возможно, вариации экспрессии VEGF и p16^{INK4a} объясняются тем, что онкопротеин E6 ВПЧ имеет относительно слабую самостоятельную и краткосрочную активность по сравнению с онкопротеином E7 [15]. M. Branca и соавт указывают, что стимуляция экспрессии VEGF посредством воздействия онкопротеина E6 ВПЧ является одним из вариантов нарушения ее регуляции [7]. Что касается, онкопротеина E7, вероятно, он оказывает слабое влияние на снижение иммунореактивности E-кадгерина, кото-

рое в основном связано с неопластической трансформацией клеток. У 2 женщин, инфицированных высокоонкогенными типами ВПЧ, отсутствие экспрессии VEGF и неизменное распределение E-кадгерина сочеталось с очаговой экспрессией p16^{INK4a}. По-видимому, у этих женщин поражение представляет собой продуктивную вирусную инфекцию. О такой возможности свидетельствуют данные литературы [8].

При проведении анализа экспрессии изученных маркеров было обнаружено, что у 8 из 25 женщин с SIL низкой степени тяжести отсутствие экспрессии p16^{INK4a} и VEGF сочеталось с расположением Ki-67 позитивных клеток в нижней трети эпителия, экспрессией E-кадгерина в клеточных оболочках. По результатам ВПЧ Digene теста эти женщины были инфицированы низкоонкогенными типами. Исходя из этого, у них можно предполагать регрессию патологического процесса в будущем и рекомендовать наблюдение с цитологическим контролем.

У других 5 женщин данной группы обнаружены аналогичные изменения изученных маркеров, за исключением p16^{INK4a}, экспрессия которого была очаговой и располагалась в клетках парабазального слоя. Согласно ВПЧ Digene тесту, 2 из них были инфицированы низкоонкогенными типами, и 3 – высокоонкогенными. Тем не менее, особенности экспрес-

сии p16^{INK4a} указывают на инфицирование ВПЧ, находящимся в эпизодической форме, т.е. не интегрированном в ДНК пролиферирующих клеток, уровни экспрессии остальных маркеров были близкими к таковым в ткани неизменной шейки матки и у этих женщин также можно ожидать регресс заболевания.

Особого внимания заслуживают 8 женщин с SIL низкой степени тяжести, инфицированных высокоонкогенными типами ВПЧ, у 4 из которых экспрессия p16^{INK4a} была диффузной, а у 4 – очаговой, притом в клетках базального слоя, что свидетельствует об интеграции ВПЧ в геном клеток эпителия. У женщин с очаговой экспрессией p16^{INK4a} экспрессия Ki-67 была относительно низкой, наблюдалась очаговая экспрессия VEGF, цитоплазматическая локализация E-кадгерина в нижней трети эпителия, остальные показатели мало отличались от ткани неизменной шейки матки. У женщин с диффузной экспрессией p16^{INK4a}, промежуточным уровнем экспрессии Ki-67 и очаговой экспрессией VEGF, отмечалось патологическое распределение E-кадгерина в средней трети эпителия. У этих 8 женщин нельзя исключить прогрессирования патологического процесса.

Еще у 4 женщин обнаружены диффузная экспрессия p16^{INK4a}, высокий уровень экспрессии Ki-67, очаговая (у 3) и диффузная экспрессия VEGF (у 1), патологическое распределение E-

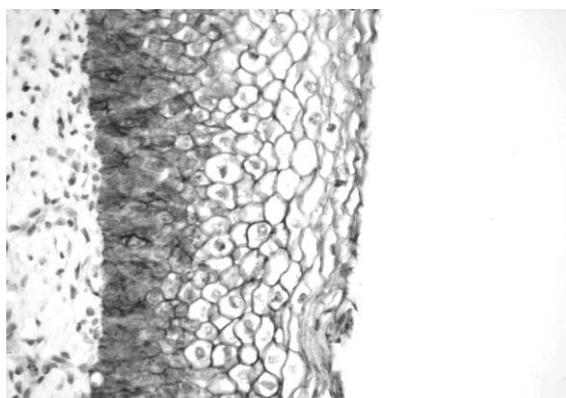


Рис. 5. Экспрессия Е-кадгерина при SIL низкой степени тяжести. В нижней трети эпителия определяется патологическое распределение экспрессии Е-кадгерина в виде цитоплазматического окрашивания атипических клеток, в то время как в верхней половине сохраняется окрашивание оболочек клеток

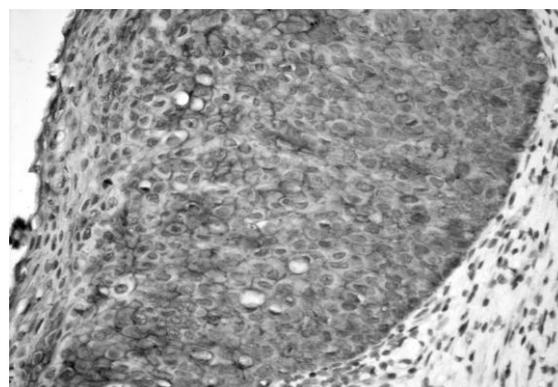


Рис. 6. Патологическая экспрессия Е-кадгерина наблюдается в 2/3 эпителия

кадгерина в клетках средней трети эпителия. Другими словами, результаты иммуногистохимического исследования биоптированной ткани шейки матки у этих женщин свидетельствуют о существенной тяжести патологического процесса в эпителии. В связи с этим в отношении этих женщин целесообразно применять лечебные мероприятия схожие при SIL высокой степени тяжести.

Все 28 женщин с SIL высокой степени тяжести были инфицированы высокоонкогенными типами ВПЧ. В биоптированной ткани шейки матки у 21 женщины показатели экспрессии всех изученных нами биомаркеров приближались к таковым при плоскоклеточной карциноме, что свидетельствует о необходимости проведения хирургического

лечения. У остальных 7 женщин в патологически измененной ткани шейки матки Ki-67 позитивные клетки занимали 1/3 – 2/3 эпителия, у 3 из них отмечалось мало измененное распределение Е-кадгерина, у 4 – патологическое распределение последних определялось лишь в нижней трети эпителия. Кроме того, экспрессия VEGF у них была очаговой (у 5) или отсутствовала (у 2). При морфологическом исследованием ткани шейки матки у этих женщин диагностирован CIN2. Учитывая результаты иммуногистохимического исследования патологически измененной шейки матки данные женщины могут быть подвергнуты более щадящим методам терапии.

Сопоставив результаты экспрессии изученных биомаркеров, мы при-

шли к выводу, что диагностика предраковых состояний шейки матки, должна быть основана не только на морфологических критериях, но и результатах иммуногистохимического исследования. Они позволяют эпителиальные изменения со структурными особенностями CIN1/SIL низкой степени тяжести у части пациенток рассматривать в качестве продуктивной вирусной инфекции, которая может самопроизвольно подвергнуться регрессии, тогда как у других можно предполагать развитие неопластического процесса [19].

Выводы

Проведенное нами исследование показало, что поражения со структурными особенностями CIN2 имеют разный злокачественный потенциал и соответственно морфологические критерии данного патологического процесса не отражает сущности биологического процесса. По-видимому, более целесообразным представляется объединение CIN2 и CIN3, и выделение SIL двух степеней тяжести [3, 11]. Следует отметить, что иммуногистохимическое исследование способствует не только определению сущности плоскоклеточного интраэпителиального поражения, но и, что особенно важно, индивидуального прогноза.

Литература

1. Волгарева Г.М. Экспрессия белка p16 в клетках некоторых распространенных форм рака / Г.М. Волгарева [и др.] // Архив патологии. –

2004. – №5. – С. 3-5.

2. Киселев В.И. Этиологическая роль вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки: генетические и патогенетические механизмы / В.И. Киселев, О.И. Киселев // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2, №4. – С. 31-38.

3. Кондриков Н.И. Современные классификации заболеваний шейки матки / Н.И. Кондриков // В кн.: Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы. – М.: Медпресс, 1999. – С. 21-24.

4. Кравинская Т.А. Результаты лечения доброкачественных заболеваний шейки матки в условиях высокой нагрузки ВПЧ / Т.А. Кравинская // Современные технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний. – М.: Пантори, 2009. – С. 106.

5. Минкина Г.Н. Предраковые заболевания шейки матки: диагностика и лечение / Г.Н. Минкина // Качество жизни. Медицина. – 2004. – №3(6). – С. 32-34.

6. Мнихович М.В. Межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия в опухолях: современное состояние проблемы / М.В. Мнихович // Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. – 2013. – №3. – С. 161-171.

7. Combined p53 and retinoblastoma protein detection identify persistent and regressive cervical high-grade squamous intraepithelial lesions // Am J Surg Pathol. – 2005. – Vol. 29. – P. 1062-1066.

8. p16INK4A expression is related to grade of CIN and high-risk human papillomavirus but does not predict

virus clearance after conization or disease outcome // *Int J Gynecol Pathol.* – 2004. – Vol. 23. – P. 354-365.

9. Aberrant expression of VEGF-C is related to grade of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and high risk HPV, but does not predict virus clearance after treatment of CIN or prognosis of cervical cancer // *J Clin Pathol.* – 2006. – Vol. 59. – P. 40-47.

10. Silencing of E7 oncogene restores functional E-cadherin expression in human papillomavirus 16-transformed keratinocytes // *Carcinogenesis.* – 2008. – Vol. 29. – P. 1441-1447.

11. Atlas of gynecologic surgical pathology. – Elsevier, 2008.

12. How should we grade CIN? // *Histopathology.* – 2002. – Vol. 40. – P. 377-390.

13. Ki-67, cyclin E, and p16INK4 are complimentary surrogate biomarkers for human papilloma virus-related cervical neoplasia // *Am J Surg Pathol.* – 2001. – Vol. 25. – P. 884-891.

14. Increased ki-67 proliferative index and absence of p16INK4a in CIN-HPV related pathogenic pathways different from cervical squamous intraepi-

thelial lesion // *British J Ophthalmol.* – 2006. – Vol. 90. – P. 894-899.

15. Oncogenes and tumor angiogenesis: the HPV-16 E6 oncoprotein activates the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene promoter in a p53 independent manner // *Oncogene.* – 2000. – Vol. 19. – P. 4611-4620.

16. Regulation of the Src family tyrosine kinase Blk through E6AP-mediated ubiquitination // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1999. – Vol. 96. – P. 9557-9562.

17. Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1 α // *Genes Dev.* – 2000. – Vol. 14. – P. 34-44.

18. Spontaneous regression of high-grade cervical dysplasia: effects of human papillomavirus type and HLA phenotype // *Clin Cancer Res.* – 2005. – Vol. 11. – P. 4717-4723.

19. P16^{INK4a} immunostainig in cytological and histological specimens from the uterine cervix: A systematic review and meta-analysis // *Cancer Treatment Rev.* – 2009. – Vol. 35. – P. 210-220.

20. Precancerous lesions of the cervix. In Blaustein's pathology of the female genital tract. – 5th ed. – New York; Berlin; Heidelberg, 2002. – P. 253-322.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Шамаракова М.В. – мл. науч. сотрудник патологоанатомического отделения Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова, г. Москва.

E-mail: shamarakovamar@yandex.ru.
