

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Селякова Мария Сергеевна

**ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ
ЦЕРВИКАЛЬНОЙ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИИ И
МИКРОИНВАЗИВНОЙ КАРЦИНОМЫ У HPV-ИНФИЦИРОВАННЫХ
ПАЦИЕНТОК В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ**

14.03.02 – патологическая анатомия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Татьяна Августовна Агеева

Новосибирск – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.	14
1.1 Возрастные морфо-функциональные особенности эпителия шейки матки.	14
1.2 Классификация и морфологическая характеристика диспластических изменений в многослойном плоском эпителии шейки матки.	16
1.3 Этиологические факторы развития диспластических изменений и рака шейки матки.	19
1.4 Роль вируса папилломы человека в развитии дисплазии и рака шейки матки.	21
1.5 Возрастные аспекты и роль половых гормонов в развитии онкопатологии шейки матки.	25
1.6 Роль местного и общего иммунитета в развитии и прогрессировании дисплазии и рака шейки матки.	28
1.7 Роль эпителиально-мезенхимального перехода в развитии опухолей.	31
1.8 Факторы опухолевой прогрессии и роль белков-регуляторов клеточного цикла, маркеров пролиферации и апоптоза в эпителии шейки матки при диспластических изменениях.	34
1.8.1 Роль матриксных металлопротеиназ в индуцировании эпителиально-мезенхимального перехода и опухолевой прогрессии.	36
1.8.2 Иммуногистохимическое исследование белка-регулятора клеточного цикла, маркеров пролиферации и апоптоза в эпителии шейки матки при диспластических изменениях.	40
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.	44
2.1 Клинический материал исследования.	44
2.2 Методы исследования.	46
2.2.1 Морфологические методы, используемые в работе.	46
2.3 Препараты и реактивы.	46

2.4 Оборудование, использованное в работе.	48
2.5 Статистический анализ.	48
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.	50
3.1 Оценка распределения частоты разных степеней интраэпителиальной дисплазии и микроинвазивного рака у женщин разных возрастных групп. . .	50
3.2 Морфометрическое исследование эпителия шейки матки с диспластическими изменениями разной степени выраженности и микроинвазивной карциномой у женщин разных возрастных групп.	56
3.3 Морфометрический анализ воспалительного клеточного инфильтрата в шейке матки женщин двух возрастных групп с CIN разной степени выраженности и микроинвазивной карциномой.	63
3.4 Оценка экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону в многослойном плоском эпителии и строме шейки матки женщин двух возрастных групп с CIN разной степени выраженности и микроинвазивной карциномой.	70
3.5 Сравнительная оценка экспрессии внутриклеточных белков: p16, Ki-67, p53 в эпителии шейки матки у женщин 2 возрастных групп при диспластических изменениях и микроинвазивной карциноме.	77
3.6 Экспрессия матриксных металлопротеиназ, их универсального тканевого ингибитора TIMP-1 и VEGF в строме шейки матки у женщин 2 возрастных групп при диспластических изменениях и микроинвазивной карциноме.	86
3.7 Обсуждение результатов проведенного исследования.	96
ВЫВОДЫ.	107
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.	109
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.	110
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	111
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.	145

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы

Среди злокачественных новообразований женских половых органов заболеваемость раком шейки матки (РШМ) в мире занимает второе место, в России – третье место, но у молодых женщин в возрасте от 15 до 39 лет данный патологический процесс встречается чаще и занимает 1 место [43, 44, 56, 311, 245]. По данным Франка Г. А. и Андреевой Ю. Ю. [117] заболеваемость РШМ в России среди популяции женщин детородного возраста составляет 11,2 случая на 100 000 населения и занимает 2-е место после рака молочной железы [3, 44]. По данным RUSSCO ежегодно в России регистрируется около 12 000 новых случаев РШМ, а абсолютное число женщин заболевших РШМ в России с 2012 по 2016 годы составило более 80 000 человек.

По данным годового отчета ГБУЗ НСО «Новосибирского областного клинического онкологического диспансера» г. Новосибирска – (зав. онкогинекологическим отделением д. м. н., профессор Красильников С. Э.) в 2018 году число женщин, проходивших лечение по поводу инвазивного РШМ составило 177 человек и примерно 12 % от всех пациенток онкогинекологического отделения, и данный показатель расположился на третьем месте после рака яичников и рака тела матки. Но, среди предопухолевых и доброкачественных гинекологических заболеваний в 2018 году дисплазии ШМ встречались чаще всего, составив более чем 36 % случаев.

В качестве предракового состояния в шейке матки (ШМ) рассматривают диспластические изменения многослойного плоского эпителия (МПЭ) и доказано, что одним из главных условий развития дисплазии и РШМ является персистенция вируса папилломы человека (ВПЧ) [246, 275]. По результатам исследований, проведенных в России, отмечено, что признаки папилломавирусной инфекции (ПВИ) выявляются у 15–34,4 % женщин в общей популяции [23]. При этом установлено, что наибольшая частота распространения ПВИ у них наблюдается в возрасте от 18 до 24 лет, и данный показатель у женщин моложе 24 лет в 2 раза

выше, чем у женщин старше 35 лет [114, 175].

Установлено, что ПВИ является фоном для развития РШМ – по данным большого количества исследователей в более чем 90 % случаев карцином ШМ присутствуют онкогенные типы ВПЧ [23, 114, 175].

Известно, что наряду с этим, важное влияние на развитие диспластических процессов в эпителии ШМ оказывает состояние местного иммунитета, как регулятора процессов регенерации [8], а также гормонального статуса, поскольку в многослойном плоском эпителии ШМ клеточный рост и дифференцировка регулируются стероидными гормонами [190]. Поскольку плоский эпителий ШМ – гормонально зависимая ткань, то ее реакция на повреждающие факторы может различаться в разных возрастных группах женщин [29, 122].

В настоящее время на основании большого количества исследований получено много сведений, которые указывают на то, что гормональный статус оказывает влияние на развитие патологических процессов в ШМ и поэтому они должны рассматриваться, в том числе с учетом возрастных анатомических и физиологических особенностей [61, 100, 251].

По мнению многих исследователей, частота эпителиальных дисплазий увеличивается с возрастом [34]. В последние годы, на фоне стабильно высоких показателей заболеваемости РШМ, в популяции отмечен некоторый рост данного показателя у женщин моложе 45 лет и параллельно – некоторое его снижение у женщин более старшего возраста [50, 89, 251], что соответственно представляет большой интерес для изучения возрастных аспектов развития предопухолевых изменений и РШМ.

Анализируя возрастные особенности ПВИ, исследователи указывают на то, что наибольший патогенный эффект ВПЧ проявляется у женщин молодого возраста, реализуясь в развитии у них цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) тяжелой степени [44, 246].

Приведенные данные определяют целесообразность рассмотрения особенностей диспластических изменений в ШМ в разных возрастных группах женщин для наиболее лучшего понимания закономерностей канцерогенеза,

адекватной оценки степени и прогностического значения предопухолевых изменений вне зависимости от наличия или отсутствия ВПЧ. Хотя проблеме диагностики и лечения заболеваний ШМ посвящено большое количество работ, однако необходимо более сосредоточенно отнестись к данным аспектам у женщин разных возрастов с учетом особенностей их гормонального репродуктивного статуса [61].

Биологические (тканевые, клеточные, молекулярные) маркеры сегодня активно используются для характеристики особенностей и предсказания поведения опухоли и с каждым годом, в процессе изучения опухолевой прогрессии, выделяют все большее количество биомаркеров, которые могут являться потенциально специфичными для разных опухолей. В настоящее время уделяют большое внимание регуляторам клеточного цикла, маркерам межклеточных контактов, ангиогенеза и другим [66], которые могут предсказывать метастазирование, инвазию, безудержную пролиферацию, неоангиогенез и др. [37]. При этом, если для рака молочной железы, гемопоэтических опухолей, рака легкого, меланомы и ряда других злокачественных опухолей уже выделены значимые молекулярно-биологические маркеры, то для РШМ они отсутствуют.

Исходя из этого, является актуальным поиск косвенных суррогатных маркеров, которые бы отражали сущность неблагоприятных генетических нарушений и могли бы использоваться в ежедневной морфологической практике.

Одним из способов решения этой задачи является использование иммуногистохимического метода (ИГХ), позволяющего выявлять конкретно в ткани белки-продукты экспрессии генов. По изменению количества белка и его локализации можно косвенно судить об имеющихся молекулярных нарушениях в клетке.

В ранней диагностике предопухолевой патологии ШМ с целью оценки риска развития РШМ у HPV (human papillomavirus) – инфицированных пациенток изучают ряд молекулярных показателей, в том числе уровень экспрессии белков p16 и Ki-67 в эпителии ШМ, регулирующих пролиферативную активность [143,

294] и уровень экспрессии маркера апоптоза – белка p53, при этом отсутствуют данные об особенностях распределения этих показателей в различных возрастных группах женщин. В литературе приведены неоднозначные данные о влиянии стероидных гормонов на развитие патологических состояний в эпителии ШМ, как регуляторов процессов регенерации [34, 226], что дает предпосылки для рассмотрения возрастных особенностей морфологических и молекулярных проявлений разной степени дисплазии в ШМ.

Степень разработанности темы диссертации

Анализ материалов научных исследований в литературе указывает на очевидную недостаточность данных для понимания фундаментальных механизмов канцерогенеза в шейке матки в условиях HPV-инфекции у пациенток разных возрастных групп, на необходимость выработки дополнительных критериев алгоритма оценки диспластических изменений, их прогноза и для уточнения подходов к лечению, что определило цель и задачи настоящего исследования.

Цель исследования

Изучить морфологические проявления и молекулярные характеристики цервикальной интраэпителиальной неоплазии и микроинвазивной карциномы шейки матки в возрастном аспекте у пациенток, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска.

Задачи исследования

1. Провести сравнительное патоморфологическое исследование биоптатов шейки матки с диспластическими изменениями многослойного плоского эпителия разной степени выраженности и микроинвазивной карциномой у пациенток двух возрастных групп, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска.

2. Изучить экспрессию металлопротеиназ, их ингибитора TIMP1,

ангиогенного фактора VEGF в строме шейки матки с диспластическими изменениями многослойного плоского эпителия разной степени выраженности и микроинвазивной карциномой у пациенток двух возрастных групп, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска.

3. Исследовать уровень экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона в эпителии и строме шейки матки с диспластическими изменениями многослойного плоского эпителия разной степени выраженности и микроинвазивной карциномой у пациенток двух возрастных групп, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска.

4. Изучить уровень экспрессии белка p16, а также состояния процессов пролиферации и апоптоза по белкам Ki-67 и p53 в эпителии шейки матки с диспластическими изменениями многослойного плоского эпителия разной степени выраженности и микроинвазивной карциномой у пациенток двух возрастных групп, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска в возрастном аспекте.

Научная новизна

На основании оценки патоморфологических изменений в эпителии шейки матки у пациенток, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска, установлено, что диспластические изменения более тяжелой степени (CINII и III) встречаются чаще в репродуктивном возрасте на фоне более выраженного и активного воспаления в строме шейки матки. Также показано, что более активное и выраженное воспаление в строме шейки матки у женщин репродуктивного возраста сопровождается более высоким уровнем экспрессии металлопротеиназ и сосудистого эндотелиального ростового фактора, способствуя проинвазивному эффекту.

Впервые показано, что у женщин менопаузального возраста, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска, напротив, в строме шейки матки преобладают фибротические процессы, имеет место более активная экспрессия тканевого ингибитора матриксных

металлопротеиназ – TIMP-1, которая снижает выработку металлопротеиназ у них.

Впервые в возрастном аспекте дана сравнительная характеристика экспрессии белков p16, p53 и Ki-67 в многослойном плоском эпителии шейки матки у пациенток, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска, которая указывает на то, что у женщин репродуктивного возраста, в сравнении с показателями у женщин менопаузального возраста, в условиях CIN I и CIN II при более активном пролиферативном процессе имеет место более высокий уровень экспрессии белка p16. Более значимые нарушения клеточного цикла при CIN III и при микроинвазивной карциноме не сопровождаются достоверными различиями в экспрессии данных белков у пациенток сравниваемых возрастных групп.

Впервые показано, что у женщин менопаузального возраста экспрессия белка-регулятора апоптоза p53 нарастает с прогрессированием степени дисплазии до микроинвазивной карциномы, тогда как у женщин репродуктивного возраста данный показатель значительно снизился при прогрессировании дисплазии многослойного плоского эпителия.

Таким образом, впервые получены новые знания в понимании фундаментальных закономерностей канцерогенеза рака шейки матки у пациенток репродуктивного и менопаузального возраста, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты проведенного исследования дополняют современные представления о патогенезе, особенностях канцерогенеза, адаптивных механизмах, факторах прогрессии диспластических изменений шейки матки и микроинвазивной карциномы у пациенток репродуктивного и менопаузального возраста, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска.

Установленные особенности патоморфологических проявлений разных степеней дисплазии многослойного плоского эпителия шейки матки и

микроинвазивной карциномы у женщин разного возраста, в условиях инфицирования вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска, необходимо учитывать при оценке тяжести интраэпителиальной неоплазии в диагностической практике.

У пациенток разных возрастных групп выявленные особенности экспрессии молекулярных маркеров, имеющих значение в трансформации интраэпителиальной неоплазии в микроинвазивную карциному, могут быть использованы как дополнительные критерии для объективизации оценки ее степени и прогнозирования темпов прогрессирования, что может быть учтено при определении тактики ведения и лечения пациенток разного возраста с данной патологией.

Методология и методы диссертационного исследования

В основу методологии диссертационной работы положены современные практические и теоретические представления о роли экспрессии онкобелков, о роли воспаления и факторов инвазии в прогрессировании интраэпителиальных неоплазий и развитии рака шейки матки у женщин разного возраста, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска. Исследование выполнялось в несколько этапов. Проводился отбор парафиновых блоков операционного материала с последующей морфометрической оценкой микропрепаратов, окрашенных гематоксилином и эозином. В каждом случае интраэпителиальной неоплазии оценивали степень ее тяжести, а при микроинвазивной карциноме оценивали глубину инвазии опухоли. Во всех случаях оценивали выраженность и клеточный состав воспалительной клеточной инфильтрации в строме шейки матки. Следующий этап включал иммуногистохимическое исследование материала, где определялся уровень экспрессии рецепторов к половым гормонам; внутриклеточных белков: p16, Ki-67, p53 в эпителии шейки матки; матриксных металлопротеиназ, TIMP-1 и VEGF в строме шейки матки. Полученные результаты были проанализированы и обработаны корректными статистическими методами.

Положения, выносимые на защиту

1. У пациенток репродуктивного и менопаузального возраста, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска, морфологические изменения многослойного плоского эпителия и стромы шейки матки, а также распределение экспрессии рецепторов половых гормонов при дисплазии разной степени выраженности и при микроинвазивной карциноме имеют различия, ассоциированные с возрастными особенностями гормонального статуса в вышеуказанных группах.

2. Экспрессия маркеров, характеризующих нарушение клеточного цикла, и факторов, способствующих стромальной инвазии, в многослойном плоском эпителии и строме шейки матки пациенток репродуктивного и менопаузального возраста, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска, ассоциирована с морфологическими изменениями в соответствующих группах и свидетельствует о большем проинвазивном потенциале у пациенток более молодого возраста, а также об отсутствии значимых различий при CINIII и микроинвазивной карциноме в обеих возрастных группах.

Степень достоверности

Все использованные методические приемы и способы статистической обработки соответствуют поставленным цели и задачам, позволяют получить достоверные и доступные анализу результаты. Диссертация выполнена на достаточном экспериментальном материале с использованием сертифицированного оборудования, современных высокоинформативных методов морфологического исследования (световая микроскопия, морфометрия, иммуногистохимическое исследование) и анализа результатов.

Апробация работы

Основные положения работы доложены и обсуждены на: 4-й Российской (итоговой) научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Авиценна-2013» (Новосибирск, 2013); Всероссийской научно-практической

конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологической анатомии» (Новосибирск, 2015); 1-й Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых «Морфологические науки – фундаментальная основа практической медицины» (Новосибирск, 2016); 2-й международной морфологической научно-практической конференции студентов и молодых ученых (Новосибирск, 2017); 3-й Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции «Морфологические науки фундаментальная основа медицины» (Новосибирск, 2018); 9-й Российской (итоговой) научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Авиценна-2018» (Новосибирск, 2018); 4-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные подходы к морфологической диагностике новообразований человека» (Челябинск, 2019).

Диссертационная работа апробирована на заседании проблемной комиссии «Морфологические основы компенсаторно-приспособительных реакций» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2019).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России по теме: «Изучение закономерностей развития нормальных и патологических процессов в организме при воздействии факторов экзо- и эндогенной природы: межклеточные и межсистемные взаимодействия при остром и хроническом воспалении, репаративной регенерации, онкогенезе, фиброзировании, дисплазии соединительной ткани; возможности диагностики, профилактики, лечения», номер государственной регистрации АААА-А15-115120910172-8.

Внедрение результатов исследования

Выявленные морфологические и молекулярно-биологические особенности диспластических изменений и микрокарциномы шейки матки у женщин разных возрастных групп на основе гистологического и иммуногистохимического

исследований могут использоваться как дополнительные критерии более точной оценки степени тяжести интраэпителиальной неоплазии и прогноза прогрессирования диспластических изменений. Результаты исследования внедрены для практического применения в патогистологической лаборатории ГБУЗ НСО ГKB №1 г. Новосибирска; также результаты исследования используются для проведения учебного процесса на кафедре патологической анатомии, кафедре акушерства и гинекологии и кафедре онкологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 3 статьи в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 3 статьи в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 149 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 317 источниками, из которых 185 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 6 таблиц и 45 рисунков.

Личный вклад автора

Все исследования, статистическая обработка полученных данных выполнены лично автором.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Возрастные морфо-функциональные особенности эпителия шейки матки

Шейка матки открывается во влагалище и подразделяется на три отдела: эндоцервикс, экзоцервикс и область соединения многослойного плоского и цилиндрического эпителия, которая называется зоной трансформации (переходной зоной) и представлена метапластическим плоским эпителием [30, 131]. В переходной зоне над базальной мембраной определяется слой мелких резервных клеток, которые могут дифференцироваться в МПЭ и цервикальный эпителий [214]; над ними располагаются или цилиндрические клетки, или клетки незрелого метапластического эпителия.

Влагалищная часть шейки матки (экзоцервикс) покрыта многослойным плоским неороговевающим эпителием. В экзоцервиксе выделяют 4 слоя: *базальный слой* – базальные клетки имеют рецепторы к гормонам на мембранах, обеспечивают рост и регенерацию МПЭ; *парабазальный слой* состоит из 2–3 рядов крупных клеток, которые также обеспечивают рост и регенерацию эпителия; *промежуточный слой* образован созревающими умереннодифференцированными клетками (6–7 рядов), которые содержат гликоген; *поверхностный слой* – высокодифференцированные клетки с большим содержанием кератина [17, 105, 131].

Гормональный фон оказывает большое влияние на созревание МПЭ ШМ, так под воздействием эстрогенов наблюдается усиление процессов пролиферации, ускоряется созревание клеток с накоплением в них гликогена и кератина [52], а снижение эстрогенной насыщенности сопровождается развитием атрофических процессов, нарушением пролиферации в МПЭ шейки матки и изменением чувствительности рецепторного аппарата [35].

Область перехода МПЭ в цервикальный эпителий играет важную роль в возникновении патологических процессов ШМ и также имеет свои возрастные

особенности.

Смещение высокого цилиндрического эпителия на влагалищную порцию ШМ называют эктопией. Изменение расположения переходной зоны на экзоцервикс во внутриутробном периоде считается нормой, у новорожденных девочек ШМ на 50 % покрыта цилиндрическим эпителием, так как соединение эндоцервикального и МПЭ наблюдается не на уровне наружного зева, а на экзоцервиксе и может сохраняться до препубертатного возраста [131, 249].

У большинства девочек по мере роста и развития организма происходит уменьшение зоны эктопии и к периоду полового созревания граница между многослойным плоским и высоким цилиндрическим эпителием устанавливается на уровне наружного зева.

В репродуктивном возрасте около четверти молодых женщин имеют смещение границы между эпителиями на экзоцервикс, что связывают, в частности, с высоким уровнем эстрогенов в тканях, и в этом возрасте подавляющее большинство случаев РШМ развивается в экзоцервиксе, как проявление рецидивирующей плоскоклеточной метаплазии.

По определению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) перименопаузальный период включает в себя возрастной период от 45 лет и до 5 лет после наступления менопаузы. В этом возрасте снижается иммунная защита, а все физиологические процессы в организме протекают на фоне снижения гормональной функции яичников и на фоне снижения репродуктивного потенциала клеток [122].

Для женщин, находящихся в постменопаузе, на фоне инволютивных процессов в органах половой системы специфичны дегенеративно-дистрофические процессы экзоцервикса и характерна локализация рака в цервикальном канале [15]. Эктопия цервикального эпителия, как таковая, в пери- и постменопаузальном периоде встречается крайне редко [34, 90].

Возрастные особенности строения и изменений эпителия ШМ могут predispose как к различной локализации патологических процессов в разные возрастные периоды, так и к разным этиологическим факторам и

механизмам развития предопухолевых процессов и РШМ, которые достаточно не изучены с учетом возрастных особенностей [6, 16].

В связи с этим является актуальной разработка морфологических критериев наиболее точной оценки диспластических изменений с учетом возрастных особенностей.

1.2 Классификация и морфологическая характеристика диспластических изменений в многослойном плоском эпителии шейки матки

Цервикальная интраэпителиальная неоплазия шейки матки является основным и самым частым предраковым состоянием и рассматривается как патологический процесс, характеризующийся нарушением процесса дифференцировки МПЭ. Морфологически данные изменения выражаются в появлении клеточной атипии, повышенной пролиферации базальных и парабазальных клеток.

Одна из первых классификаций предопухолевых изменений, предложенная J. W. Reagan и соавторами в 1956 г. [256], включает термин «дисплазия» – нарушение дифференцировки клеток. Выделяют три степени дисплазии: слабую, умеренную и тяжелую [256], которая прогрессирует в «карциному in situ».

В дальнейшем R. M. Richart [260] предложил для данного патологического процесса термин «цервикальная интраэпителиальная неоплазия» (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN). Классификация включает три степени цервикальной интраэпителиальной неоплазии: CIN I (легкая дисплазия), CIN II (умеренная дисплазия), CIN III (объединяет тяжелую дисплазию и карциному in situ) [314].

Считается, что дисплазия легкой степени (CIN I) может морфологически соответствовать продуктивной папилломавирусной инфекции и чаще всего является обратимой [161, 314] – около 60 % дисплазий I степени спонтанно регрессируют, а примерно 10–15 % случаев склонны к прогрессии, вплоть до развития РШМ [271].

В категорию – «дисплазия легкой степени» входят изменения МПЭ с

гиперплазией базального и парабазального слоя (некоторое нарушение ядерно-цитоплазматического соотношения, гиперхромные ядра в нижнем отделе покровного эпителия, повышение митотической активности), а также изменения, связанные с койлоцитозом – увеличение ядер, пикноз, гиперхромазия, перинуклеарное гало, образование дву- и многоядерных клеток (признак вирусного патоморфоза эпителиоцитов) и плоская кондилома [261, 283, 298].

По мере прогрессирования диспластических изменений происходит нарушение стратификации слоев МПЭ. При умеренной дисплазии (CINII) патологические изменения затрагивают две трети пласта МПЭ [65], выражена небольшая атипия клеток, увеличено количество митозов.

При дисплазии тяжелой степени (CINIII) вышеуказанные морфологические изменения занимают почти или всю толщу эпителиального пласта и являются более выраженными [65, 237].

Как сказано выше, в категорию CINIII также включают карциному *in situ*, так как эти патологические процессы зачастую очень трудно различимы морфологически, не имея абсолютно объективных морфологических критериев различий.

Данная классификация с разделением диспластических изменений по степеням CIN оказалась очень удобной для использования морфологам и онкогинекологам.

Позже, в связи с появлением новых данных о молекулярных механизмах канцерогенеза, для гистопатологического исследования было предложено использовать термины цитологической классификации Bethesda System [278, 281]. Данная система предусматривает выделение категорий плоскоклеточных интраэпителиальных поражений низкой степени (Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion, LGSIL) и плоскоклеточных интраэпителиальных поражений высокой степени (High Grade Squamous Intraepithelial Lesion, HGSIL) [138, 314].

Таким образом, LGSIL соответствует CINI, что чаще всего является морфологическим проявлением персистенции ВПЧ в МПЭ, а HGSIL – CINII и CINIII [134, 283, 286, 297].

Считается, что данная двухуровневая система градации интраэпителиальных поражений ШМ более точно отражает биологическую сущность процесса и повышает точность микроскопической оценки изменений, что очень важно для преодоления трудностей клинической интерпретации и определения тактики лечения [79, 290].

Морфологическая идентификация степени дисплазии крайне важна не только с позиций фундаментального канцерогенеза для прогноза (прогресса/регресса) патологического процесса, но и для практической работы онкогинекологов, поскольку этот морфологический диагноз является основой лечебной тактики (рисунок 1).

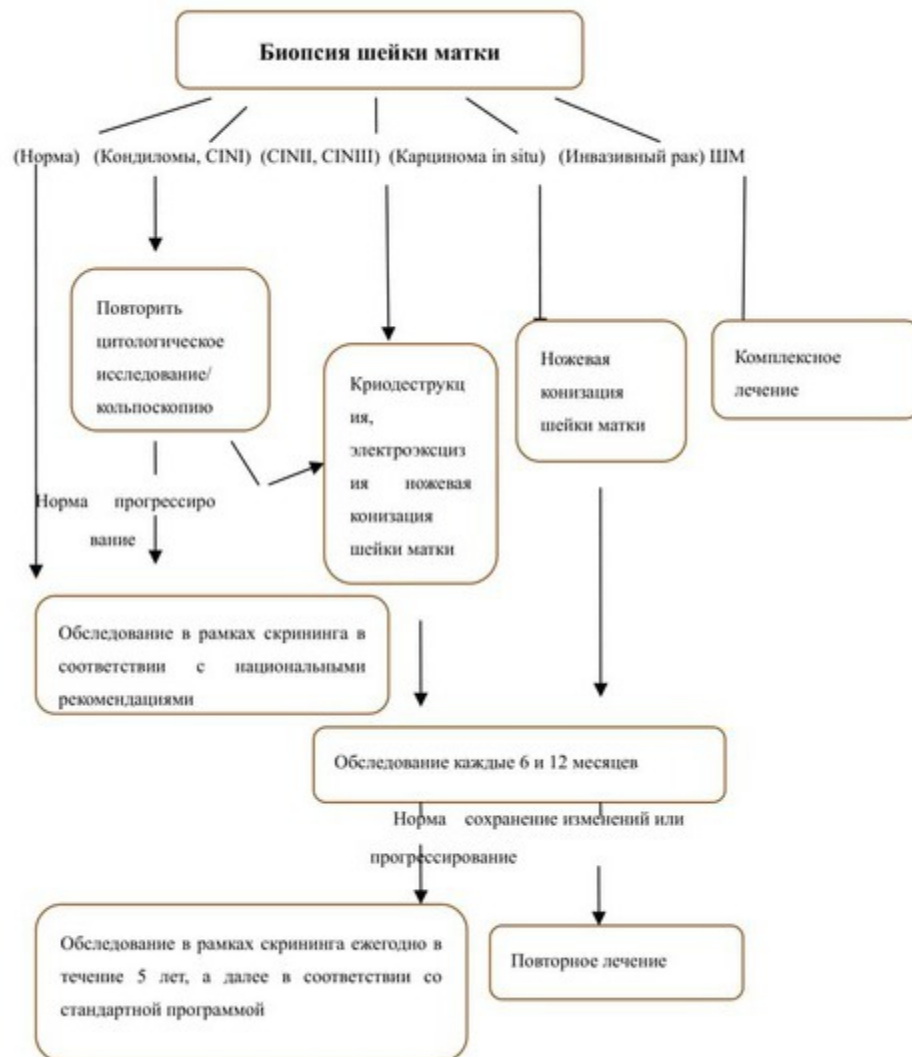


Рисунок 1 – Схема-алгоритм действия онкологов при обследовании пациенток с патологией шейки матки

При этом необходимо отметить, что морфологическая оценка степени дисплазии опирается на набор морфологических критериев, которые имеют разное сочетание и степень выраженности в каждом конкретном случае, что определяет трудности разграничения морфологически «близких» категорий. Наиболее важным является четко разделить CIN I с CIN II и CIN II с CIN III (см. рисунок 1), что зачастую определяется квалификацией и опытом врача-патоморфолога, поскольку не имеет абсолютных критериев-признаков.

Из вышесказанного следует, что поиск дополнительных критериев, позволяющих объективизировать оценку выраженности нарушений степени интраэпителиальных неоплазий – актуальная научно-практическая задача.

1.3 Этиологические факторы развития диспластических изменений и рака шейки матки

Этиология развития дисплазии и РШМ – один из главных вопросов онкогинекологии.

Показано, что диспластические изменения ШМ часто развиваются на фоне изменений микробиологических показателей во влагалище, на фоне нарушения гормонального гомеостаза, а также при инфицировании ВПЧ, приводя к развитию карциномы шейки матки [19, 46, 60, 92].

Важным фактором является раннее начало половой жизни, так как возраст начала половой жизни является принципиальным в развитии риска инфицирования инфекциями, передаваемыми половым путем. Так, максимальная частота ВПЧ-инфекции выявлена у девочек – подростков, начавших половую жизнь в возрасте 14–15 лет, по сравнению с женщинами, начавшими половую жизнь в возрасте 20 лет [44, 60, 176, 247].

Также имеются данные, что частота ВПЧ-инфицирования прямо пропорциональна количеству половых партнеров на протяжении жизни и возрастает приблизительно на 4 % с каждым новым половым партнером [239].

Некоторые исследователи считают, что для развития CIN в МПЭ ШМ

одного ВПЧ недостаточно и выявлено, что наиболее неблагоприятной является ассоциация ВПЧ с вирусом простого герпеса (ВПГ) [60, 64, 69, 247].

Также показано, что хламидийная инфекция, кандидоз, цитомегаловирус – играют негативную роль в патогенезе диспластических изменений в МПЭ ШМ [5, 76].

При половых инфекциях ускоряются процессы пролиферации и подавляется дифференцировка клеток: при вирусной и хламидийной инфекции за счет проникновения агентов в базальные клетки, при трихомониазе и кандидозе – за счет повреждения поверхностных слоев эпителия [10, 76].

Выявлено, что курение вдвое повышает риск развития у женщин дисплазии и рака шейки матки [198, 247]. Исследованиями установлено, что канцерогены, содержащиеся в табачном дыме, обнаруживаются в цервикальной слизи у 100 % больных женщин [241], при этом у курящих женщин отмечено снижение количества клеток Лангерганса до 7 раз в эпителии влажной порции шейки матки [14], что делает его более уязвимым, а наличие ВПЧ у курящих женщин может ускорять развитие РШМ [42, 151].

Среди этиологических факторов развития патологий ШМ рассматривается роль оральных контрацептивов. Так в одном из исследований показано, что у пациенток, принимавших оральные контрацептивы, РШМ встречается в пять раз чаще, чем у женщин, не использовавших данные препараты [247]. Исследования Оксфордской Ассоциации по планированию семьи установили, что частота возникновения цервикальной неоплазии возрастает с увеличением длительности приема комбинированных оральных контрацептивов [111, 296].

В тоже время в 1992 г. эксперты ВОЗ пришли к выводу, что длительное применение оральных контрацептивов (в течение 5 лет и более) может приводить лишь к незначительному увеличению относительного риска РШМ.

В ряде исследований не исключается, что сочетание эстрогенного компонента оральных контрацептивов с влиянием табачного дыма повышает риск развития РШМ [11, 247, 287].

К патогенетическим факторам развития дисплазии шейки матки также

относят наличие воспалительных процессов в органах половой системы, нарушение баланса половых гормонов и перенесенные травмы шейки матки, однако главным фактором патогенеза дисплазии ШМ признано инфицирование ВПЧ.

1.4 Роль вируса папилломы человека в развитии дисплазии и рака шейки матки

В настоящее время главным иницирующим фактором развития РШМ называют персистенцию папилломавирусной инфекции [117, 134], поэтому очень часто ВПЧ-ассоциированный цервицит рассматривают как маркер предракового состояния [4, 277]. Известно, что при РШМ и дисплазии тяжелой степени инфицированность ВПЧ выявляют более чем в 90 % случаев [99], а отсутствие ВПЧ является более благоприятным в плане регресса диспластических изменений.

Папилломавирусная инфекция является одной из самых распространенных в мире, ею страдает до 80 % женщин в возрасте 20 лет, а в возрасте 50 лет обнаруживается только в 5 % случаев [156, 189].

По оценкам центра по изучению заболеваний, вызванных ВПЧ, в 2008 году во всем мире зарегистрировано 30 млн инфицированных ВПЧ, а по данным Centers for Disease Control and Prevention в США ВПЧ инфицируются до 5,5 млн человек в год [282].

По данным российских ученых папилломавирусная инфекция гениталий встречается у 44,3 % женщин, обращающихся в гинекологические клиники [98, 292].

Первый вирус папилломы был выделен в 1933 году американским вирусологом Ричардом Шоупом [267], а в настоящее время известно около 180 типов ВПЧ, более 30 из которых поражают половой тракт [6, 99, 134].

По итогам большого количества исследований ВПЧ подразделяются на следующие группы онкологического риска: высокого (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 46,

51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82 типы) и низкого (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 типы) [99, 120, 135, 234].

Из этого следует, что развитие злокачественной трансформации поражений генитального тракта зависит от типа вируса [45], и обнаружение ДНК HPV высокого онкогенного риска явно предшествует развитию цервикального рака.

Вирус папилломы человека типов 16 и 18 превалируют над другими типами папилломавирусов при РШМ: 16 тип вируса выявляется в 50–70 % случаев, 18 тип – в 10–20 % случаев, остальные типы ВПЧ высокого риска выявляются значительно реже [202]. Данный факт, вероятно, связан с тем, что интеграция вирусов 16, 18 и 45 типов в клеточный геном происходит более часто, чем например 31-го или 33-го типов [45, 201, 206, 215, 264, 286, 299].

Вирусы папилломы человека относятся к семейству паповавирусов (Papovaviridae) – высокоспецифичны в отношении эпителия человека и представляют собой группу вирусов, геном которых включается в состав клеточных хромосом [67, 292].

Для прохождения своего жизненного цикла ВПЧ должен проникнуть в активные и делящиеся клетки базального слоя плоского эпителия, в которые вирус попадает через микроповреждения [113], но репликация вирусной ДНК происходит в наиболее дифференцированных верхних слоях плоского эпителия [130].

У взрослого населения самыми частыми путями передачи ВПЧ являются половой и контактно-бытовой [76]. При передаче ВПЧ половым путем вероятность заражения составляет более 50 %, также известно, что примерно 40 из всех известных типов ВПЧ поражают половые органы [40, 113].

Известно, что инфекция может протекать в двух вариантах: после заражения вирус некоторое время персистирует в клетках базального слоя МПЭ примерно в 80 % случаев [196], в дальнейшем инфекция может спонтанно регрессировать без репликации вируса, элиминируясь вместе со слущенным МПЭ [161]. Либо, наоборот, прогрессировать, в 20 % случаев, когда ДНК вируса встраивается в геном инфицированных клеток, запускает процессы репликации,

способствует нарушениям клеточного цикла, индуцирует нестабильность клеточного генома и формирование мутаций, тем самым ведет к опухолевому перерождению клетки с развитием карциномы [113, 247, 313].

Однако в настоящее время не существует точного метода прогнозирования времени и тяжести развития диспластичных изменений, а также вероятности их регрессии либо трансформации в рак [49, 97], что побуждает продолжать научные исследования в этом направлении.

Геном ВПЧ представлен циркулярной двуспиральной ДНК, которая содержит до 8 000 пар оснований с молекулярной массой 5 МД.

В процессе репликативного цикла геном ВПЧ экспрессирует от 8 до 10 белковых продуктов. Наиболее важными с точки зрения онкогенеза являются онкобелки E5, E6 и E7.

За канцерогенный эффект у штаммов ВПЧ высокого риска ответственны ранние белки E6 и E7, устойчивая экспрессия которых приводит к неконтролируемому клеточному делению [242] и сохраняется в опухолевых клетках при РШМ [4, 169].

Белок E6 способен связываться с опухолевым супрессором p53, формируя комплекс – E6-AP-p53 и приводит к деградации белка p53 по убиквитинзависимому пути, блокируя естественный апоптоз [157, 203, 289]. Формирование данного комплекса является исключительной способностью высокоонкогенных штаммов ВПЧ [289]. Также существуют научные данные о том, что онкопротеин E6 ВПЧ стимулирует экспрессию сосудистого эндотелиального фактора роста – VEGF [257].

Белок E7 у таких штаммов влияет на работу целого ряда белков, среди которых регуляторные белки клеточного цикла и опухолевые супрессоры, в частности подавляет клеточный сигнальный каскад с участием белка ретинобластомы (pRb), связывая его [159]. При связывании pRb происходит его деградация и освобождение транскрипционного фактора E2F, что приводит к неконтролируемой клеточной пролиферации [46].

В настоящее время считается доказанным, что онкобелок E7 ВПЧ, является

специфическим маркером предопухолевых и опухолевых изменений в ШМ [39, 81, 106], однако в практике обнаружение онкобелков E6 и E7 крайне затруднительно, поскольку их уровень в клетке очень низок, поэтому судят о наличии данного онкобелка посредством выявления гиперэкспрессии белка p16, что является косвенным маркером экспрессии вирусных онкогенов [218, 300, 301].

Таким образом, одним из важных свойств онкобелков E6 и E7 является их способность вызывать в инфицированных клетках генетическую нестабильность, которая реализуется в возникновении мутаций. Снижение защитных механизмов способствует активации противовоспалительных факторов, таких, как фактор некроза опухоли альфа (TNF α) и интерлейкин-1 (IL-1). В результате происходит стимуляция экспрессии тканевых металлопротеиназ (MMPs) и активация циклооксигеназы-2 (COX-2) – стимулятора синтеза простагландинов [172]. Простагландины, в свою очередь вместе с TNF α и IL-1, стимулируют транскрипцию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и его рецепторов, активация которого отмечается при всех пролиферативных процессах [305].

Известно, что при интеграции ДНК ВПЧ в клеточный геном при онкогенной трансформации эпителиальных клеток ген, кодирующий онкобелок E5, обычно делетирован в клетках опухоли. Установлено, что активность онкобелка E5 в стимуляции пролиферации кератиноцитов важна только как пусковой механизм на стадии предраковых заболеваний шейки матки [204, 248].

Папилломавирусы 6 и 11 типов вызывают незначительные изменения клеточных ядер и являются причиной экзофитных поражений (остроконечных и плоских кондилом), часто идентифицируются при дисплазиях легкой и средней степеней тяжести и редко связаны со злокачественными опухолями шейки матки [164].

В настоящее время для выявления персистенции ВПЧ используются различные методы, а в первую очередь метод ПЦР, который позволяет в короткие сроки выявить наличие и тип вируса, определить вирусную нагрузку [76]. Считается, что вирусная нагрузка выше 3Ig может свидетельствовать о высоком

риске развития рака [180].

Таким образом, сегодня общепризнанна этиологическая роль ВПЧ в развитии предопухолевых изменений и РШМ и в алгоритмах скрининга РШМ обоснована необходимость его выявления.

1.5 Возрастные аспекты и роль половых гормонов в развитии онкопатологии шейки матки

В многочисленных исследованиях последних лет убедительно доказана роль ВПЧ в развитии и прогрессии дисплазии и РШМ [51, 202], однако данные, приводимые в литературе, свидетельствуют о полиэтиологичности онкопроцессов в шейке матки [115].

Для стойкого развития опухолевой трансформации клеток необходимы дополнительные провоцирующие факторы и условия, основное место среди которых отводится гормональным нарушениям [13, 247].

Влияние гормонального фактора на процессы канцерогенеза было обнаружено впервые в 1896 г., когда британский хирург Г. Т. Битсон, удалив яичники у больных раком молочной железы, добился регресса опухолей и тем самым доказал зависимость роста опухоли от веществ, продуцируемых этими половыми железами. В дальнейшем онкоморфолог М. Ф. Глазунов [26] указал на дисгормональную природу эктопии ШМ. В 50-х годах XX века Н. Burrows и Е. Horing [200] высказали предположение, что влияние эстрогенов в различных концентрациях на опухолевый рост связано с усиленным митогенезом. Так, рецепторный статус злокачественных опухолей, а в частности рака шейки матки, может считаться одним из критериев прогноза прогрессии опухоли и эффективности ее лечения [192]. Однако в научных работах крайне мало данных о связи экспрессии рецепторов стероидных гормонов с возрастом пациенток, имеющих дисплазию и рак шейки матки.

При этом общепризнано, что половые гормоны играют значительную роль в развитии предопухолевых и опухолевых заболеваний шейки матки, поскольку она

является гормонально зависимым органом и в литературе широко обсуждается роль различных гормональных нарушений в генезе данных заболеваний. Так, Коханевич Е. В. с соавторами (1997) указывают, что нарушения овариально-менструального цикла в разных вариациях встречаются у 72–80 % женщин с предопухолевыми и опухолевыми заболеваниями шейки матки [12].

Эстрогены вырабатываются фолликулами яичников, плацентой (во время беременности) и частично корой надпочечников. Синтез и секреция эстрогенов регулируются лютеинизирующим и фолликулостимулирующим гормонами гипофиза [110].

Эстрогены оказывают множественное влияние на женский организм, в частности регулируя созревание и дифференцировку МПЭ ШМ. Свое отрицательное влияние эстрогены проявляют в стимуляции канцерогенеза в гормон-зависимых органах и тканях [73, 228].

Эстрогены, а в частности эстрадиол, являются ключевыми индукторами внутриклеточных пролиферативных сигналов: так в гормон-зависимых тканях женской половой системы циклично происходят колебания митотической клеточной активности, регулируемые изменениями уровня половых гормонов. Эстрадиол обладает высоким сродством к эстрогеновым рецепторам и, взаимодействуя с ними, оказывает существенное влияние на метаболическую и пролиферативную активность клеток, повышает чувствительность клеток к факторам роста, в том числе эпидермальному фактору роста, фактору роста эндотелия сосудов и другим. Таким образом, при определенных условиях, эстрогены могут стимулировать рост опухолей в эндометрии, шейке матки и молочной железе, что рассматривается как один из ведущих этиологических факторов их возникновения [192, 225, 230].

В ряде публикаций эстрогены рассматриваются исключительно в качестве второстепенных факторов, усиливающих клеточное деление [48]. При этом развитие РШМ связывают с нарушением цикличности выделения гормонов, с изменениями соотношения половых гормонов в организме, с нарушением гормональной регуляции биохимических процессов в клетках и тканях шейки

матки. В ряде работ отмечено, что у женщин с нарушениями менструального цикла диспластические изменения встречаются гораздо чаще (примерно в 5 раз), чем у здоровых женщин, поскольку гиперэстрогения может способствовать активной пролиферации МПЭ, развитию склеротических изменений и развитию ороговения [83, 232, 285]. В исследовании И. И. Фроловой и И. И. Бабиченко (2004) [118] было выявлено сочетание клинических проявлений гиперэстрогении с морфологическими изменениями эктоцервикса при дискератозе и CIN [32, 139].

Отмечено, что если гиперэстрогения содействует развитию РШМ, то прогестины противоположно блокируют фазу инициации опухоли. Так прогестерон способен ингибировать рост и пролиферацию гормон-зависимых клеток, а также обладает способностью снижать количество рецепторов эстрогенов, то есть он обладает антиэстрогенным эффектом [83, 232, 285].

Считается, что действие онкогенных вирусов и других факторов может влиять на процесс канцерогенеза, одновременно влияя на клеточную пролиферацию и целостность генетического аппарата [149]. Собственно гиперэстрогения способствует внедрению папилломавирусной инфекции в эпителий ШМ и развитию дисплазии [141] посредством стимуляции экспрессии Е6-онкогена ВПЧ 16 типа, который в свою очередь блокирует ген-супрессор опухолевого роста p53 [203, 293]. Именно с этим связывают значительно более высокую инфицированность ВПЧ в молодом возрасте.

Наряду с этим еще одним негативным воздействием эстрогенов на развитие диспластических изменений в МПЭ ШМ является то, что помимо стимуляции экспрессии вирусных генов Е6 и Е7, вызывающих онкогенную активность, они также ингибируют нормальный иммунный процесс при внедрении ВПЧ в эпителиоциты слизистой оболочки ШМ путем снижения экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости [202, 242].

На основании многочисленных данных сделан общий вывод о том, что инфицирование эпителиальных клеток ВПЧ является необходимым, но недостаточным фактором для малигнизации. Для развития заболевания предположительно необходимо несколько иницирующих факторов. Учитывая

доказанную роль гормонов на пролиферацию и дифференцировку эпителия, а также репликацию ВПЧ, изучение возрастных особенностей патоморфологической картины диспластических изменений в ШМ является важным для разработки диагностических критериев их стадирования и прогностических критериев прогрессирования в РШМ.

1.6 Роль местного и общего иммунитета в развитии и прогрессировании дисплазии и рака шейки матки

Шейка матки является одним из органов, располагающихся на границе внутренней среды организма женщины с внешней средой и обеспечивает защиту, обладая собственной иммунной системой и являясь местом наибольшей гуморальной активности [28, 54, 104, 108, 126, 188]. Таким образом, развитие патологических процессов в ней зависит как от состояния иммунной системы организма в целом, так и от местной защиты репродуктивного тракта [60, 263, 282].

Слизистые оболочки половых путей женщины постоянно сталкиваются с воздействием разнообразных антигенов, к которым относятся инфекционные агенты, химические и физические факторы [54, 107, 117], и хроническое воспаление может способствовать развитию дисплазии и РШМ [54, 57, 103].

По данным ряда исследований, множество женщин, имеющих диспластические изменения в эпителии ШМ и страдающих РШМ, в анамнезе имели хронический воспалительный процесс, возрастные изменения эпителия, микротравмы, которые лежат в основе нарушений физиологической регенерации и проявляются комбинацией воспалительных изменений, процессов гиперплазии, атрофии и дегенеративных изменений [15, 54]. У множества женщин с фоновыми заболеваниями и дисплазией эпителия ШМ показатели иммунного статуса находятся в норме, однако с нарастанием тяжести процесса отмечается снижение показателей клеточного и гуморального иммунитета [20, 34, 53, 68, 90, 125].

Несмотря на то, что изменения в МПЭ ШМ, вызванные ВПЧ, очень часто

приводят к неопластической трансформации, инфицированность данным агентом не всегда приводит к развитию патологического процесса [96], что, в частности, связывают с адекватной иммунной защитой тканей в ряде случаев [60].

Автономная иммунная система шейки матки представлена лимфоидными структурами, макрофагами стромальных тканей и гуморальными факторами, что проявляется в локальных клеточных и гуморальных реакциях эпителия и стромы шейки матки [107].

К гуморальным факторам защиты в тканях ШМ относятся иммуноглобулины классов – А, М, G, которые проникают из крови и секреторный иммуноглобулин (sIgA), который продуцируется местно плазматическими клетками и является типичным иммуноглобулином слизистых оболочек. Наличие иммуноглобулинов в вагинальном секрете предотвращает адгезию микроорганизмов к эпителиоцитам слизистой оболочки и способствует уничтожению микроорганизмов с помощью усиления фагоцитоза [20, 34, 53, 68, 125].

Известно, что состав иммуноглобулинов значительно изменяется в различных условиях, в том числе при наличии инфекционных процессов и в зависимости от фазы менструального цикла [18, 119, 148, 178]. Так, в фазе овуляции снижается количество IgA, IgG и sIgA, лизоцима и лактоферина. Во второй фазе менструального цикла увеличивается местный синтез IgM [58, 74], что связано с изменением концентрации гормонов, в частности эстрогенов [110]. В настоящее время доказано, что адекватный иммунный ответ обеспечивается определенным гормональным гомеостазом, любые изменения которого приводят к нарушению нормальной иммунной реактивности [208]. Соответственно логично предположить, что изменение гормонального статуса в разных возрастных группах отражается на состоянии иммунных реакций, что подтверждается большим количеством исследований разных аспектов иммунного ответа [60].

Д. П. Талвар (1983) [109], I Akira с соавторами (1995) [199] полагают, что эстрогены стимулируют иммунные реакции в отличие от прогестерона, который в

большинстве наблюдений ослабляет иммунный ответ. Эстрогены увеличивают толщину влагалищного эпителия, способствуют секреции муцинов и других компонентов защитной системы, стимулируют антигенспецифический иммунный ответ, влияют на цитокины, угнетают клеточный иммунитет и замедляют продукцию лимфоцитов [110]. Вследствие гипоестрогении может развиваться дисбиоз во влагалище, угнетается фагоцитарная активность макрофагов.

По данным П. С. Русакевич, прогестерон способен усиливать секрецию иммуноглобулинов, в частности IgG, и тем самым способствовать второй, отсроченной линии иммунной защиты [104].

Клеточное звено иммунитета является важнейшим компонентом противоопухолевой защиты организма, а именно цитотоксические Т-лимфоциты, NK-клетки, макрофаги, дендритные клетки способны уничтожать опухолевые клетки [54, 153, 207].

В основном Т-лимфоциты идентифицируются как клетки с противоопухолевыми цитотоксическими свойствами [258]. Большая часть зрелых Т-лимфоцитов обладает хелперными функциями [31] и синтезирует провоспалительные цитокины, интерлейкины, факторы противовирусной и противоопухолевой защиты [162, 166], тем самым стимулирует гуморальный иммунитет [235].

Наряду с обеспечением иммунологического ответа местный иммунитет ИМ также играет важную роль в процессах физиологической и репаративной регенерации, а также считается, что при опухолевом росте, именно клеточное звено местного иммунитета участвует в «сохранении структурной целостности организма» [7].

Исследования доказывают, что при длительной персистенции ВПЧ, зачастую развиваются иммунодефицитные состояния. Они считаются проявлением вторичного иммунодефицита с нарушениями в различных звеньях иммунной системы, в том числе снижение способности лейкоцитов продуцировать интерфероны [6, 75, 99, 205], что в дальнейшем приводит к деструктивным изменениям в эпителиоцитах, нарушению межклеточных

контактов. И с прогрессированием патологических изменений в эпителии наблюдаются наиболее глубокие изменения клеточного и гуморального иммунитета [54, 73, 95].

Таким образом, хронический воспалительный процесс, сопровождаясь «цитокиновым дисбалансом», играет важную роль в активации клеточной пролиферации, ангиогенезе и метастазировании опухоли через изменение микроокружения, через формирование различных мутаций и через активацию ферментных систем. По сути, по мере прогрессирования диспластических изменений вплоть до развития рака, клетки воспаления, находящиеся в микроокружении, становятся проонкогенами.

Так, например, в ряде исследований показано, что фибробласты могут становиться одним из источников синтеза сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) [187, 219], индуцируя опухолевый неоангиогенез. Также известно, что макрофаги способствуют эпителиально-мезенхимальной трансформации клеток патологического очага, делая их подвижными и способными к инвазии [86, 137, 223, 288].

С другой стороны, любой предопухолевый процесс и любая опухоль сами стимулируют инфильтрацию собственной стромы иммунокомпетентными клетками, которые синтезируют биологически активные вещества, способствуя ее жизнедеятельности, распространению опухоли и метастазированию [2]. Таким образом, степень выраженности воспаления и клеточный состав воспалительного инфильтрата могут отражать статус предопухолевого процесса и опухоли, а также это может использоваться как прогностический фактор дальнейшего развития онкопроцесса.

1.7 Роль эпителиально-мезенхимального перехода в развитии опухолей

В процессе прогрессирования диспластических изменений эпителиальные клетки приобретают ряд важных проонкогенных свойств, в частности – прометастатический потенциал [129, 295]. Опухоль проходит этапы, через

которые формируется инвазия первичной опухоли с последующим формированием метастатических фокусов [38, 191], и в этом процессе важную роль играет эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) [128, 233].

Эпителиально-мезенхимальный переход – это сложный процесс изменения клетками эпителиального фенотипа на мезенхимальный и это может происходить в процессе эмбрионального развития [194], в условиях регенерации, а также в ряде патологических процессов [224]. Главным событием, индуцирующим ЭМП, является ослабление межклеточных адгезионных контактов за счет подавления синтеза мембранных молекул [212], приобретение свойств характерных мезенхимальным клеткам (веретеновидная форма, подвижность компонентов внеклеточного матрикса). Также при ЭМП в клетке изменяется нормальное функционирование белков, формируются мембранные выросты, которые обеспечивают инвазию клеток [170, 316]. С этой точки зрения является важным поиск критериев риска ближайшей прогрессии диспластичных изменений в рак.

В работе Uwe H. Frixen и соавторов (1991) было показано, что клетки опухолей с эпителиальным фенотипом не обладают инвазивными свойствами, а клетки с фибробластоидным фенотипом, напротив, способны к метастазированию, также у этих клеток нарушена способность избирательно связываться между собой [174]. В дальнейшем ученые предположили, что эпителиальные клетки могут активировать гены, отвечающие за мезенхимальный фенотип, что делает их способными к взаимодействию с внеклеточным матриксом и эти свойства проявляются посредством ЭМП [193].

Существует ряд факторов, которые могут индуцировать ЭМП, например, такие как транскрипционные факторы, цитокины и ростовые факторы, в том числе VEGF [172, 305, 308], которые активируют различные внутриклеточные сигнальные пути. Также механизмы ЭМП, повышающие инвазивный потенциал, могут быть связаны со способностью к деградации внеклеточного матрикса клетками, прошедшими ЭМП с помощью повышенной продукции генов, кодирующих матриксные металлопротеиназы (MMPs), которые участвуют в деградации внеклеточного матрикса и базальной мембраны, а также сами MMPs

способны стимулировать ЭМП в эпителиальных клетках некоторых видов рака [270].

В ряде экспериментов показано, что признаки ЭМП более выражены в периферических отделах опухоли, чем в центре, а также в зоне контактов клеток различных линий [158], что позволяет предположить влияние стромы и окружения опухоли на ЭМП [254].

Для определения биологического поведения опухоли существуют перспективные маркеры, такие как факторы роста и их рецепторы, именно с них начинается запуск сигналов в клетке [37].

Растущая опухоль и ее микроокружение способны продуцировать факторы, такие как фактор роста эндотелия сосудов и простагландины, запускающие различные механизмы ускользания ее от противоопухолевого надзора организма хозяина и которые оказывают иммуносупрессивное действие и способствуют выживанию, инвазии и метастазированию [77, 121, 140, 160, 262, 276].

Для регуляции ангиогенеза существуют активирующие и ингибирующие ангиогенные факторы [101, 155, 185].

Сосудистый эндотелиальный ростовой фактор – это наиболее хорошо изученный фактор ангиогенеза [25, 279], который впервые был выделен Наполеоном Феррара в 1989 году [184].

В нормальных условиях VEGF стимулирует пролиферацию клеток эндотелия сосудов с образованием незрелых кровеносных сосудов, а затем приводит к «созреванию» капилляров, тем самым принимает участие во внутриутробном развитии плода, росте костной системы, участвует в менструальном цикле женского организма, будучи регулируемым стероидными гормонами [124, 186, 222, 304].

Сосудистый эндотелиальный ростовой фактор повышает проницаемость сосудов, ведет к дезорганизации сосудистой стенки и тем самым способствует распространению опухолевых клеток и образованию метастазов [144, 152, 307]. Считается, что с помощью привлечения гемопоэтических клеток из костного мозга VEGF стимулирует васкулогенез [291, 303].

Есть мнение, что стимуляция ангиогенеза начинается на самых ранних стадиях развития опухолевого процесса, это может свидетельствовать о том, что ангиогенез очень важен и возможно является необходимым условием для развития опухоли [306, 307].

Опухоль и ее микроокружение, которое представлено лимфоцитами, макрофагами, фибробластами, вырабатывают интерлейкины и другие факторы, которые снижают цитотоксическое действие приходящих в опухолевый очаг лимфоцитов [124, 221, 272, 280].

При раке различных локализаций, таких, как рак ротовой полости, желудка, яичника, легких, гортани, в том числе при раке шейки матки опухолевый ангиогенез имеет важное значение в качестве способа к быстрой прогрессии и метастазированию опухоли [43, 61, 136, 140, 145, 311].

В ряде работ было высказано мнение о том, что онкобелок ВПЧ Е6 в плоском эпителии стимулирует экспрессию VEGF [257, 269].

1.8 Факторы опухолевой прогрессии и роль белков-регуляторов клеточного цикла, маркеров пролиферации и апоптоза в эпителии шейки матки при диспластических изменениях

В настоящее время изучение развития предопухолевых процессов и опухолей основано на исследовании генов, и основной функцией этих генов является способность подавлять рост опухоли. За последнее время приобретено много знаний в области клеточной молекулярной биологии и практически полностью изучены функциональные способности клеток, механизмы взаимодействия клеток между собой.

Каждая клетка организма содержит одинаковый набор генов, а разнообразие клеточных фенотипов зависит от различной комбинации генов. Известно, что во время развития клетки постоянно происходит экспрессия некоторых генов, а часть генов могут полностью выключаться из работы, а активность самих генов может изменяться под действием специальных регуляторов – белков. Активность

регуляторных белков контролируется рецепторным аппаратом клетки, через который подается молекулярный сигнал в клетку [47].

В биологии доказано, что клетка размножается путем деления и в жизни клеток существует два периода: фаза митоза, которая завершается разделением клетки на две дочерних и интерфаза – подготовка клетки к митозу [216]. В процессе нормального клеточного цикла происходит множество сигналов и процессов, которые подготавливают клетку к делению, в частности это специфические молекулы, предотвращающие неограниченное деление клетки.

Все клетки организма постоянно находятся в какой-нибудь фазе клеточного цикла. Так, например, нейроны и кардиомиоциты находятся в G0 фазе, а клетки костного мозга и эпителия делятся непрерывно, а в условиях патологии возникают аномальные молекулярные процессы, которые заставляют клетки делиться в большем объеме.

В клетках существуют вещества – факторы стимулирующие митоз, одни из таких факторов белки – циклины. Активность циклинов ингибируется множеством специфических белков, один из них белок p16, который нарушает связывание с циклинами и тем самым служит медиатором задержки клеточной пролиферации.

В нормальном процессе клеточного деления также выделяют белки-супрессоры опухолей, такие как p53 и pRb, которые кодируются одноименными генами – генами-супрессорами опухолевого роста. Инактивация любого из этих генов и их белков может привести к неконтролируемой пролиферации клеток и развитию опухоли.

Проведено большое количество исследований, посвященных проблеме развития дисплазии и РШМ, однако они остаются спорными, поскольку поведение, морфологические и клинические критерии, прогноз данных патологических процессов остается непредсказуемым у разных групп женщин с одинаковыми стадиями процесса, отсюда следует необходимым поиск новых надежных критериев прогноза заболевания [142, 182, 243, 227]. В частности у разных патологов встречаются случаи расхождения в диагнозе при

диспластических процессах в эпителии ШМ и случае рака, имеет место гипер-, либо гиподиагностика по степени тяжести процесса [59, 195].

Определение любых биологических маркеров имеет важное значение в практике, в первую очередь выделение групп риска больных по раннему рецидивированию онкологического процесса или метастазированию, а также определение чувствительности опухоли к терапии, в том числе таргетной [25, 87].

Молекулярно-биологические маркеры определяются непосредственно в измененной ткани, с их помощью возможно определить биологический потенциал опухоли, охарактеризовать ее биологические особенности и установить степень агрессивности [88, 177]. Некоторые из них являются диагностическими, другие прогностически значимыми и имеют значение при выборе схем лечения предопухолевых и опухолевых процессов [72].

Активацию онкогенов или мутированных генов-супрессоров, которые приводят к злокачественной трансформации, можно определить с помощью идентификации соответствующих белков иммуногистохимическим методом исследования [55], который является более удобным в повседневной практике в сравнении с ПЦР и секвенированием. Однако достоверный результат при данном методе исследования зависит от многих факторов, в частности таких, как качество фиксации материала, длительность хранения, специфичность и чувствительность антитела, а также от правильности оценки результата [136].

1.8.1 Роль матриксных металлопротеиназ в индуцировании эпителиально-мезенхимального перехода и опухолевой прогрессии

Одним из ключевых механизмов инвазии и метастазирования опухолей является разрушение базальной мембраны и внеклеточного матрикса протеазами. Одним из важнейших семейств таких протеаз являются матриксные металлопротеиназы – MMPs. MMPs способны гидролизовать – удалять белки внеклеточного матрикса, а в частности коллаген [24, 165, 268], а также они участвуют в регуляции опухолевого ангиогенеза – контролируют действие

сосудистого эндотелиального фактора роста.

Металлопротеиназы относятся к семейству цинк- и кальций- зависимых эндопептидаз, которые участвуют в ремоделировании соединительной ткани, в частности они способны гидролизовать основные белки межклеточного матрикса [238]. Как известно, деградация внеклеточного матрикса необходима в условиях нормального протекания физиологических процессов, таких как эмбриогенез, ангиогенез, инволюция тканей и прочие, а также в развитии патологии: артритов, заболеваний сердечно-сосудистой системы, злокачественных опухолей [146, 211]. Так установлено, что экспрессия MMP-9 и MMP-2 играет важнейшую роль в способности к метастазированию при плоскоклеточном раке легкого и шейки матки, раке молочной железы и других злокачественных опухолей [24, 302].

Существует более 20 известных MMPs, которые классифицированы в 3 подсемейства: I – классические, секреторного типа, к ним относятся коллагеназы (MMP1, MMP8, MMP13), желатиназы (MMP2, MMP9, MMP14), стромелизины (MMP3, MMP10, MMP15), матрилизины (MMP7); II – связанные с клеточными мембранами (MMP14, 15, 16, 17); III – не классифицированные (MMP7, 12, 19, 20).

Все MMPs обладают субстратной специфичностью, некоторые из них ответственны за деградацию коллагена разного типа [165], часть из них могут инактивировать факторы свертывания и интерлейкины [197], другие контролируют действие VEGF [229, 252, 310].

Поскольку MMPs являются «индуцируемыми» ферментами, то их синтез подчиняется целому ряду факторов, таким как различные гормоны, факторы роста, цитокины. Важным фактором в регуляции экспрессии MMPs являются их тканевые ингибиторы (TIMP) [168, 309].

С точки зрения развития опухолевого процесса наибольшее значение имеют некоторые MMPs. Так MMP-2 (желатиназа) экспрессируется преимущественно в фибробластах и в процессе развития и регенерации тканей, нейтрофилы и макрофаги также способны к ее воспроизведению. MMP-2 способна ингибировать процесс ангиогенеза в опухолях и в ряде исследований показано повышение ее

экспрессии в эндотелии сосудов и в моче у пациентов с некоторыми опухолями [24]. MMP-2 способна разрушать коллаген различных типов, а в сочетании с MMP-9 они разрушают главный компонент базальных мембран коллаген IV типа. Также MMP-2 способна снижать активность воспаления и способствовать вазоконстрикции [231].

MMP-3 (стромелизин-1) также способствует деградации многих компонентов соединительной ткани. Ее активность ингибируется TIMP и полагают, что нарушение взаимодействия между MMP-3 и TIMP является определяющим фактором в разрушении внеклеточного матрикса [210].

MMP-7 – одна из самых маленьких MMPs, доказана ее экспрессия различными опухолевыми клетками, например при раке молочной железы, толстой кишки, простаты, кожи и других. Она способна активировать другие протеазы, в том числе MMP-1, -2, -9, а также усиливает апоптоз эпителиальных клеток [211].

MMP-9 (желатиназа B) – ее структура сходна с другими эндопептидазами, а в частности с MMP-2. Активность MMP-9 регулируется различными цитокинами и факторами роста и основной ее функцией является расщепление внеклеточного матрикса. Так отмечена ее высокая экспрессия в раке желудка, молочной железы, меланоме и других опухолях. Разрушая компоненты базальной мембраны, MMP-9 способствует легкому прохождению через нее опухолевых клеток, способствует высвобождению VEGF, что способствует усиленному ангиогенезу в опухолях [155, 183, 302].

Экспрессия и активность MMPs может снижаться за счет повышенного содержания эстрогенов и прогестерона и в ряде исследований показано, что прогестерон в большей степени снижает экспрессию MMP и увеличивает экспрессию генов, кодирующих TIMP [236, 266]. Также экспрессия MMPs активно увеличивается при воздействии воспалительных цитокинов – в частности ФНО- α , ИЛ-1 [231]. Любой из белков семейства TIMP поддерживает разные MMPs в неактивном состоянии [93] и считается, что нарушение баланса между ферментом и его ингибитором может приводить к активности MMPs [62], тем

самым усиливает инвазивную способность опухоли и ее метастатический потенциал. TIMP-1 является универсальным ингибитором MMPs [315]. Например, известно, что TIMP-1 впервые был описан, как возможный маркер опухолей поджелудочной железы и при раке поджелудочной железы была отмечена его гиперэкспрессия [211]. Так, например, при колоректальном раке экспрессия TIMP-1 является хорошим прогностическим маркером исхода данного заболевания вне зависимости от стадии [168].

Известно, клетки некоторых опухолей сами способны синтезировать MMPs, что способствует облегчению инвазии опухоли, ее метастазированию и стимуляции ангиогенеза.

Производство MMPs осуществляется нормальными или трансформированными клетками: эндотелиальными, эпителиальными клетками, гладкомышечными клетками, нейтрофилами, макрофагами, фибробластами, моноцитами и другими клетками.

Таким образом, вышеуказанные данные свидетельствуют о бесспорном участии MMPs в развитии многих патологических процессов, а определение их наличия и активности может быть полезным маркером в определении дальнейшего поведения диспластического процесса в шейке матки, предсказания скорого развития инвазивной карциномы и склонности ее к метастазированию, что определяет необходимость оценки их роли в условиях сочетания предопухолевых (диспластических) изменений и воспалительно-клеточной реакции, а также их баланс/дисбаланс с TIMP. Влияние на экспрессию MMPs половых гормонов является актуальным в рассмотрении особенностей продукции MMPs и TIMP в разных возрастных группах женщин, имеющих CIN и микрокарциному ШМ, поскольку научных исследований, посвященных данному аспекту, не встречено.

1.8.2 Иммуногистохимическое исследование белка-регулятора клеточного цикла, маркеров пролиферации и апоптоза в эпителии шейки матки при диспластических изменениях

В случае HPV-ассоциированных диспластических изменений наибольшую диагностическую ценность представляет оценка белка – регулятора клеточного цикла – p16, а также оценка маркера пролиферативной активности – Ki-67 [70, 159, 173]. Для детализации и объективизации диспластических изменений в эпителии ШМ сегодня является общепризнанным выполнение иммуногистохимического исследования с определением экспрессии данных белков – так называемый «CIN-тест» [273].

Также для прогнозирования течения предопухолевых и опухолевых процессов имеет большое значение определение баланса пролиферативной активности и апоптоза [70, 201, 227].

В литературе отражено много данных и отмечена прямая зависимость между экспрессией p53, Ki-67, p16 и тяжестью патологических изменений в МПЭ ШМ [71].

Как известно, дисплазия и РШМ зачастую обусловлены персистенцией ВПЧ высокого онкогенного риска [284].

В исследованиях последних лет приводятся данные о механизме взаимодействия ВПЧ и белков p53 и pRB [244]. Показано, что при ВПЧ инфекции ген pRB влияет на экспрессию гена p53, вследствие чего активируются гены mdm2 и p21, продукты которых дестабилизируют p53 или RB и ингибируют циклин-зависимые протеинкиназы [253, 255].

Многослойный плоский эпителий шейки матки способен к постоянному клеточному обновлению, особенно в репродуктивном периоде жизни женщины, то есть его клетки постоянно находятся в активной фазе клеточного цикла.

Фермент, обеспечивающий переход клетки из G1 в S фазу клеточного цикла – это E2F, который кодируется одноименным геном, относится к семейству факторов транскрипции. В норме этот фермент связан с белком-супрессором Rb,

который является продуктом гена ретинобластомы и потому неактивен.

Известно, что контроль разобщения комплекса E2F-Rb осуществляется белком p16, который не допускает активной клеточной пролиферации [82, 220]. В норме синтез белка p16 крайне низок и при ИГХ исследовании его экспрессия крайне мала [63, 317].

Белок E7 ВПЧ-высокого канцерогенного риска, взаимодействуя с pRb и блокируя его разобщает комплекс E2F-Rb [78] и, таким образом, становясь постоянно активным, E2F стимулирует безудержную пролиферацию клетки [91]. По механизму обратной связи, для совершения попытки сдержать пролиферацию клетки, белок p16 начинает бесконтрольно синтезироваться и его концентрация в клетке значительно возрастает и проявляется выраженной позитивной иммуногистохимической реакцией [147, 317]. Таким образом, это является диагностическим маркером инициации канцерогенеза в диспластичном эпителии ШМ [127, 209, 265].

Поскольку известно, что женщины репродуктивного возраста являются наиболее уязвимыми в плане инфицированности ВПЧ, то ИГХ исследование экспрессии белка p16 у большинства пациенток пожилого возраста (пострепродуктивного возраста) с дисплазией эпителия ШМ предоставляет возможность врачам гинекологам и онкологам обоснованно избрать выжидательную тактику, отказавшись от агрессивного лечения и биопсий, а также увеличить интервалы между диспансерными осмотрами, поскольку данная патология у них зачастую не связана с персистенцией ВПЧ. А женщин молодого возраста со сходной морфологической картиной и зачастую с позитивной ПЦР на ВПЧ необходимо направлять на дополнительное обследование, проводить лечение и постоянное наблюдение.

Для поддержания стабильности нормального клеточного цикла основным механизмом является правильная работа гена-супрессора опухолевого роста p53 [229], а примерно в 50 % злокачественных опухолей человека определяются его мутации и делеции [213].

В нормальных условиях этот ген является негативным регулятором

клеточной пролиферации, что связано с «арестом» клеточного цикла в поврежденных клетках, а в состоянии мутации этот ген, наоборот, активирует деление клеток и способствует тем самым опухолевой прогрессии [244].

С помощью ИГХ-метода или методом гибридизации *in situ* возможно выявить мутантный белок p53 [171]. Однако некоторые исследователи считают, что при повреждении МПЭ экспрессия p53 не является специфичной [132, 259], а другие исследователи указывают на противоположные результаты, указывающие на то, что экспрессия мутантного белка p53 увеличивается при CINIII и РШМ [112].

Трансформирующее действие ВПЧ высокого онкогенного риска с развитием дисплазии и РШМ сопровождается нарушением механизма апоптоза [102, 116].

Онкопротеин Е6 ВПЧ высокого онкогенного риска супрессирует функцию p53 посредством образования устойчивого комплекса с развитием деградации p53. Считается, что повышение экспрессии белка p53 коррелирует с прогрессированием патологического процесса и связана с патогенезом развития РШМ [171]. Однако значительной разницы в выживаемости больных РШМ при повышении экспрессии белка p53 не выявлено [154].

Пролиферативная активность является ведущим фактором, как в механизме злокачественной трансформации клеток, так и в биологическом поведении уже возникшей опухоли и является одним из наиболее изученных показателей агрессивности опухоли [70, 88].

Маркером пролиферативной активности является антиген Ki-67, определение его экспрессии применяется для идентификации делящихся клеток и это может являться показателем степени тяжести поражения эпителия [167, 181]. Однако этот маркер не является специфичным для поражений МПЭ ШМ или определения наличия инфицирования ВПЧ [217].

Можно предположить, что пролиферативная активность клеток МПЭ ШМ у женщин разных возрастных групп при диспластических изменениях сходной степени тяжести может отличаться, на основании различий их гормонального и

иммунного статуса, регулирующих процесс деления и дифференцировки эпителиальных клеток.

В исследованиях последних лет доказана прогностическая роль пролиферативной активности клеток при раке молочной железы, мочевого пузыря, прямой кишки и других.

В ряде научных исследований показано, что имеется связь между уровнем экспрессии Ki-67 и экспрессией p53 у больных РШМ, таким образом, чем ниже эти показатели, тем лучше прогноз заболевания.

Заключение: Совокупное исследование экспрессии белков-регуляторов клеточного цикла, маркеров пролиферации и апоптоза в плоском эпителии шейки матки, а также клеточного состава воспалительного инфильтрата и компонентов межклеточного матрикса при диспластических изменениях разной степени выраженности и РШМ может дать важные прогностические критерии для более адекватной морфологической оценки неопластического процесса. Знание биологических характеристик неопластического процесса может помочь в усовершенствовании тактики ведения и лечения пациенток и дать новые фундаментальные знания в области канцерогенеза, в частности у женщин разных возрастных групп. Иммуногистохимическое исследование данных показателей является очень важным для индивидуального прогноза, даже при сходной гистологической и клинической картине.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

2.1 Клинический материал исследования

В работе использовался операционный материал – конизированные фрагменты шейки матки (экзоцервикс) женщин, обратившихся по поводу патологии шейки матки. Материал был выбран из архива от пациенток ГБУЗ НСО ГKB № 1 (Новосибирск, Россия), после одобрения этическим комитетом ГБУЗ НСО ГKB № 1 (Новосибирск, Россия). Письменное информированное согласие было предоставлено всеми участниками.

В группу исследования простым слепым методом были отобраны гистологические блоки шейки матки (экзоцервикс) с наличием дисплазии многослойного плоского эпителия легкой, средней, тяжелой степени и микроинвазивной карциномой, подтвержденные патоморфологическим исследованием. Для формирования групп контроля были отобраны гистологические блоки шейки матки (экзоцервикс) женщин без патологических изменений в эпителии шейки матки. В исследование вошли 180 биоптатов женщин, которые выбирали слепым методом, далее были сформированы 2 основные группы исследования и 2 контрольные группы.

Основные группы разделены по возрасту и на подгруппы по степени тяжести дисплазии и с микрокарциномой по соответствующим морфологическим критериям. Первую группу составили женщины репродуктивного возраста от 20 до 35 лет ($n = 89$) (средний возраст пациенток $(28,5 \pm 0,58)$ лет): CIN I ($n = 24$), CIN II ($n = 20$), CIN III ($n = 25$) и микроинвазивной карциномой ($n = 20$). Во 2 группу вошли женщины менопаузального возраста от 49 до 65 лет ($n = 71$), (средний возраст $(53,7 \pm 0,86)$ лет): CIN I ($n = 30$), CIN II ($n = 10$), CIN III ($n = 17$) и микроинвазивной карциномой ($n = 14$).

В настоящее время Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) предложена новая классификация, которая подразумевает деление диспластических изменений на LSIL (интраэпителиальное поражение низкой

степени риска – включает в себя CIN I) и HSIL (интраэпителиальное поражение высокой степени) – включает в себя CIN II, CIN III и карциному *in situ* [312]. При этом следует отметить, что оба термина (CIN и SIL) для отражения диспластических изменений в эпителии ШМ сохраняются и употребимы в формулировании диагноза. Для более детальной оценки этапов прогрессирования интраэпителиальной неоплазии в нашем исследовании использована 3-х ступенчатая система градации диспластических изменений (CIN I; CIN II; CIN III) [244].

Также сформированы 2 контрольные группы, в которые вошли женщины близкого возраста к женщинам 1 и 2 основных групп. Они были разделены по возрасту: 1 группа контроля – женщины репродуктивного возраста без дисплазии и микрокарциномы ($n = 10$) (средний возраст $(25,9 \pm 1,5)$ лет), 2 группа контроля ($n = 10$) женщины менопаузального возраста без дисплазии и микрокарциномы (средний возраст пациенток $(52,1 \pm 2,2)$ года).

Критерии включения в основные группы исследования:

- в группы включены женщины с впервые установленным диагнозом «дисплазия шейки матки», «микроинвазивная карцинома (глубина инвазии не более 3 мм)»;
- у всех женщин доказано на клиническом этапе обследования наличие HPV высокого онкогенного риска, которое было зафиксировано в направлении на гистологическое исследование.

Критерии включения в контрольные группы:

- в группы включены женщины близкого возраста с диагнозом «цервикальная эктопия», отсутствием HPV-инфекции.

Критерии исключения в основные и контрольные группы исследования:

- наличие дисплазии или рака шейки матки в анамнезе или лечение по этому поводу;
- наличие ВИЧ-инфекции, сифилиса, герпетической инфекции;
- наличие заболеваний эндокринных органов;
- бесплодие.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Морфологические методы, используемые в работе

Гистологическое исследование

Для проведения гистологического исследования архивный материал шейки матки (экзоцервикс), отобранный для исследования, перезаливали в парафин Leica, пропитывали в парафине в течение 1 часа при 56 °С, формировали новые блоки, из которых на ротационном микротоме изготавливали срезы толщиной до 5 мкм, окрашивали их гематоксилином и эозином по стандартной методике [21]. Дополнительно на предметные стекла, покрытые адгезивом, помещали срезы для дальнейшего иммуногистохимического исследования.

Иммуноморфологическое исследование

Процедуру иммуногистохимического исследования, адаптированную для данной лаборатории, выполняли в соответствии с рекомендациями, изложенными в руководствах по иммуногистохимическим исследованиям [85, 150, 163], рекомендациями фирм-производителей. Перед проведением иммуногистохимического исследования приготовленные срезы депарафинировали и производили демаскировку антигенов тканей в PT Link модуле (Dako, Дания) в цитратном буфере (Dewax and HIER Buffer H, pH 9.0) при температуре 95 °С в течение 60 минут. Затем блокировали эндогенную пероксидазу при помощи UV Hydrogen Peroxide Block (ThermoScientific, США), проводили протеиновый блок сывороткой UltraVision Protein Block (ThermoScientific, США).

2.3 Препараты и реактивы

Для проведения гистологического и иммуногистохимического исследований использовали: 10 % раствор нейтрального формалина, эозин, гематоксилин (BioVitrum, Russia). Использовались антитела к p16(INK4a); p53

(клон DO-7, mouse monoclonal antibody, «DAKO» Дания); Ki-67 – маркер пролиферативной активности (клон MIB1, mouse monoclonal antibody, «DAKO» Дания); Estrogen Receptor (клон SP1, rabbit monoclonal antibody, «Thermo scientific» USA); Progesterone Receptor (клон PgR 636, mouse monoclonal antibody, «DAKO» Дания). VEGF (клон N/A, rabbit polyclonal antibody, «SPRING Bioscience», USA). Моноклональные мышинные антитела к TIMP-1 (TIMP-1 Ab-2. Клон: 102D1 Thermo Fisher Scientific, USA); моноклональные мышинные антитела к Матриксной Металлопротеиназе MMP-2 (MMP-2 (72kDa Collagenase IV) Ab-2. Клон: VB3 Thermo Fisher Scientific, USA); моноклональные мышинные антитела к Матриксной Металлопротеиназе MMP-3 (MMP-3 (Stromelysin-1) Ab-1. Клон: SL-1 ID3 Thermo Fisher Scientific, USA); моноклональные мышинные антитела к Матриксной Металлопротеиназе MMP-7 (MMP-7 (Matrilysin) Ab-1. Клон: ID2 Thermo Fisher Scientific, USA); моноклональные мышинные антитела к Матриксной Металлопротеиназе MMP-9 (MMP-9 (92kDa Collagenase IV) Ab-4. Клон: IA5 Thermo Fisher Scientific, USA).

Все антитела использовали в концентрациях согласно указаниям фирмы-производителя. Для иммунного окрашивания использовали полимерную систему детекции с пероксидазной меткой (ЭнВижн™ ФЛЕКС, ПХ, Dako). Последним этапом докрашивали ядра клеток гематоксилином.

Оценку результатов иммуногистохимического исследования проводили полуколичественным методом. При исследовании препаратов окрашенных антителами, рассчитывали индекс мечения (ИМ) – отношение числа позитивно окрашенных клеточных структур на 100 клеток. Для белков p16, p53, Ki-67, Estrogen Receptor, Progesterone Receptor – ИМ рассчитывали по позитивно-окрашенным ядрам. Для VEGF; MMPs (2; 3; 7; 9); TIMP1 – оценивали позитивное цитоплазматическое окрашивание.

Морфометрическое исследование проводили, используя основные принципы стереологии и морфометрии [1]. На световом уровне необходимые стереометрические параметры тканей считали при увеличении микроскопа 100, 400 раз с использованием закрытой тестовой системы из 100 точек, сетку

накладывали случайным образом и подсчитывали по 60–100 полей зрения.

2.4 Оборудование, использованное в работе

В работе для приготовления гистологических препаратов использовали аппарат для проводки TP 1020 («Leica», Германия), заливочную станцию EG 1160 («Leica», Германия), ротационный микротом RM 2235 («Leica», Германия), аппарат окрашивания микропрепаратов Auto Stainer XL («Leica», Германия). Для иммуногистохимического окрашивания использовали PT Link модуль (Dako, Дания), Autostainer Link 48 (Dako, Дания). Изучали гистологические срезы в световом микроскопе Axiostar plus («Zeiss», Германия) и Leica DM 2500, оснащенного камерой («Leica» DFC 295, Германия).

2.5 Статистический анализ

Полученные цифровые данные были подвергнуты статистическому анализу с использованием прикладных программ Microsoft Office Excel 2010 и SPSS 13.0. Результаты представлены в виде средних значений и их ошибок для количественных величин или как значения и проценты для качественных [9, 27]. Показатели исследования были проверены на нормальность распределения с использованием критерия Колмогорова – Смирнова. В случае нормального распределения значений применяли t-критерий Стьюдента. Результаты представлены в виде $M \pm m_M$, где M – средняя арифметическая величина, m_M – средняя ошибка средней величины [9, 27]. Достоверным считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем достоверной вероятности 95 % ($p \leq 0,05$).

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$$

где p –уровень значимости нулевой гипотезы (значение, обратное степени вероятности 0,05), соответственно:

при $t > 2$ это различие можно считать значимым с вероятностью $p < 0,05$;

при $t > 2,6$ – значимым с вероятностью $p < 0,01$;

при $t > 3,3$ – с вероятностью более $p < 0,001$.

Достоверность различий между выборками с отсутствием нормального распределения оценивали с помощью критерия Манна – Уитни. Различия считались достоверными при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

Критерий U Манна – Уитни допускается к использованию для сравнения как количественных, так и бальных показателей в группах с отсутствием нормального распределения признака.

$$U = (n_1 \cdot n_2) + \frac{n_x \cdot (n_x + 1)}{2} - T_x$$

где n_1 и n_2 – количество наблюдений в группах;

n_x – количество наблюдений в группе с большей суммой рангов;

T_x – большая из двух сумм рангов.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Оценка распределения частоты разных степеней интраэпителиальной дисплазии и микроинвазивного рака у женщин разных возрастных групп

Согласно классификации WHO (2003 года) цервикальная интраэпителиальная неоплазия в шейке матки градируется по 3 степеням тяжести: CIN I, II, III. При этом в настоящее время согласно современной лечебной тактике предложено использовать Bethesda System [281], предусматривающую выделение плоскоклеточных интраэпителиальных поражений низкой степени (Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion, LGSIL) и высокой степени риска трансформации в рак (High Grade Squamous Intraepithelial Lesion, HGSIL) [138, 314].

Целью первого этапа исследования был анализ частоты CIN разной степени выраженности и микроинвазивной карциномы в двух основных группах – у пациенток репродуктивного возраста и старшей возрастной группы.

Диагноз «интраэпителиальной неоплазии» складывался из сочетания следующих морфологических феноменов, выраженных в разной степени: утолщение пласта МПЭ, неравномерная его толщина, появление акантотических тяжей (рисунки 2 и 3). Нарушение стратификации слоев, расширение базального слоя, паракератоз либо истинное ороговение (лейкоплакия) (рисунок 6). Оценивали изменения ядер: увеличение размеров и гиперхромия, полиморфизм, наличие митозов выше базального слоя, койлоцитоз (рисунки 3, 4 и 5).

Диагноз микроинвазивная карцинома основывался на визуализируемом нарушении целостности базальной мембраны и наличии инвазивных комплексов в строме ШМ, глубиной до 3,0 мм [312] (рисунок 7).

Структура диагноза по группам сложилась следующим образом (рисунок 8): при оценке степени тяжести диспластических изменений обращает внимание, что у женщин 1 группы распространенность проявлений CIN I, II, III и микрокарцинома встречалась примерно с равной частотой, составив около 27 %,

22 %, 28 %, 22 % соответственно, при этом суммарно доля более тяжелых изменений (CINII, III и микрокарцинома) составила более 72 %. У женщин старшей возрастной группы, среди аналогичных показателей преобладали диспластические изменения легкой степени – CINI, составившие более 42 % случаев. Таким образом, выявлено, что наличие более значительной степени дисплазии эпителия ШМ, а также микрокарцинома чаще встречается у пациенток репродуктивного возраста.

Та же закономерность установлена при оценке по двуступенчатой градации диспластических изменений (рисунок 9). Так у пациенток 1 группы диспластические изменения, соответствующие LSIL, имели 27 % женщин (24 человека), а HSIL и микрокарциноме – 50 % женщин (44 человека) и 23 % женщин (21 человек), соответственно. У пациенток 2 группы, напротив, преобладали изменения, соответствующие LSIL, – у 42 % женщин (30 человек), а HSIL встречалась реже – у 38 % женщин (26 человек). Диагноз – микроинвазивная карцинома был выставлен в 19 % случаев (15 человек) (см. рисунок 9).

Вероятно, это связано с тем, что наибольший патогенный эффект ВПЧ (более высокая вирусная нагрузка) проявляется у женщин молодого возраста, реализуясь в развитии у них цервикальной интраэпителиальной неоплазии более тяжелой степени.

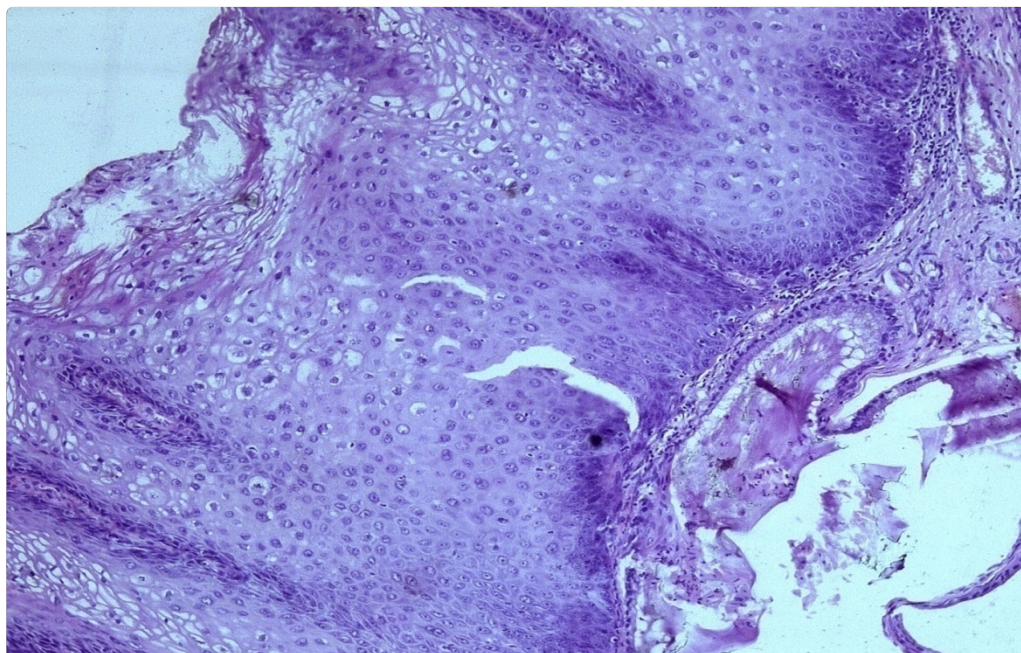


Рисунок 2 – Акантоз, паракератоз и койлоцитоз многослойного плоского эпителия (CINI) – женщина 1 группы. Окраска гематоксилином и эозином.

Увеличение $\times 200$

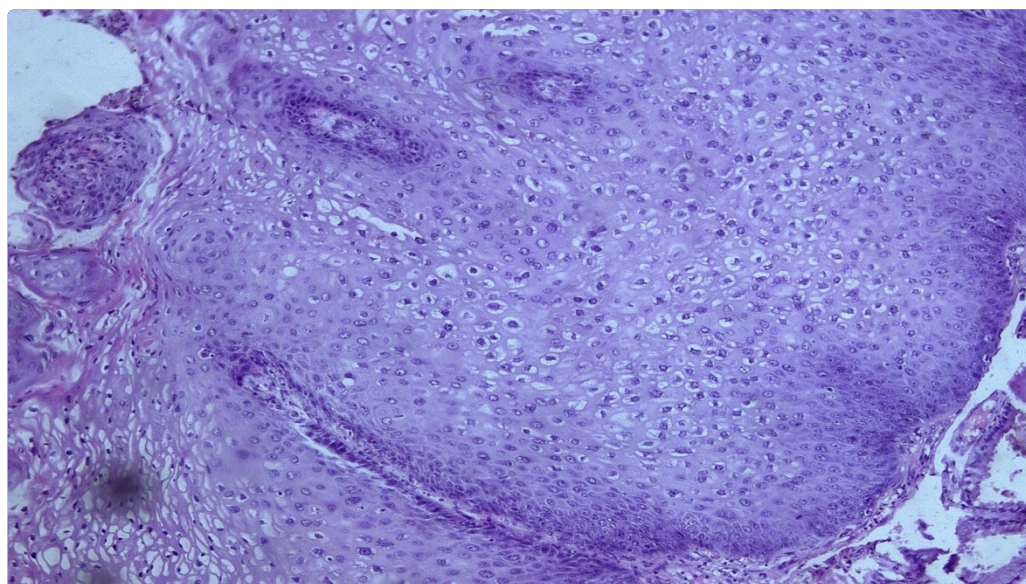


Рисунок 3 – Плоская кондилома шейки матки, выраженный койлоцитоз (CINI) – женщина 1 группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 400$

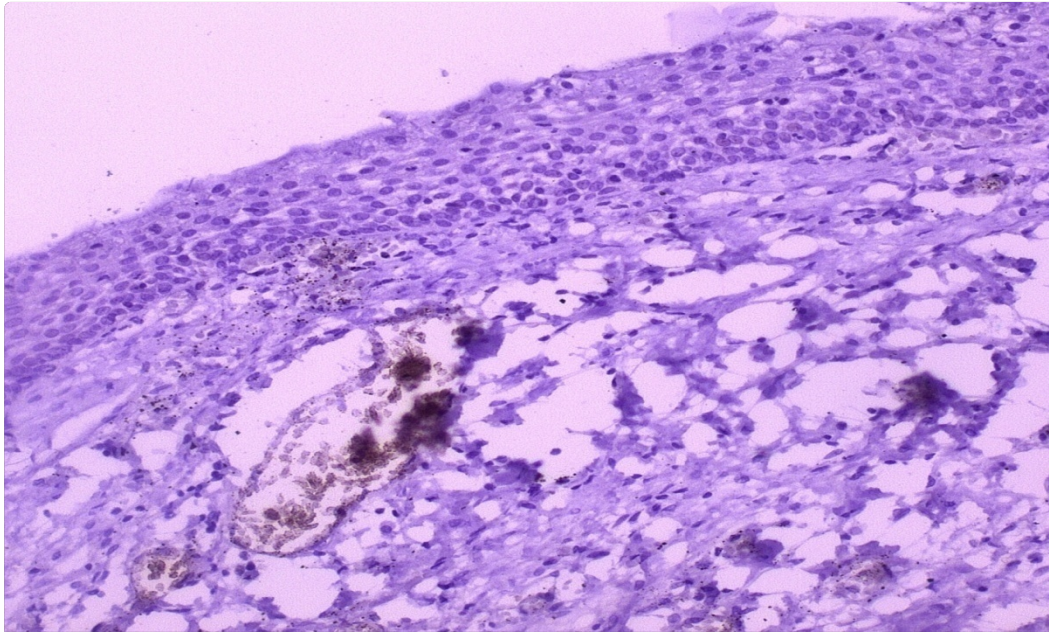


Рисунок 4 – Интраэпителиальная неоплазия легкой степени (CINI) у женщины 2 группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$

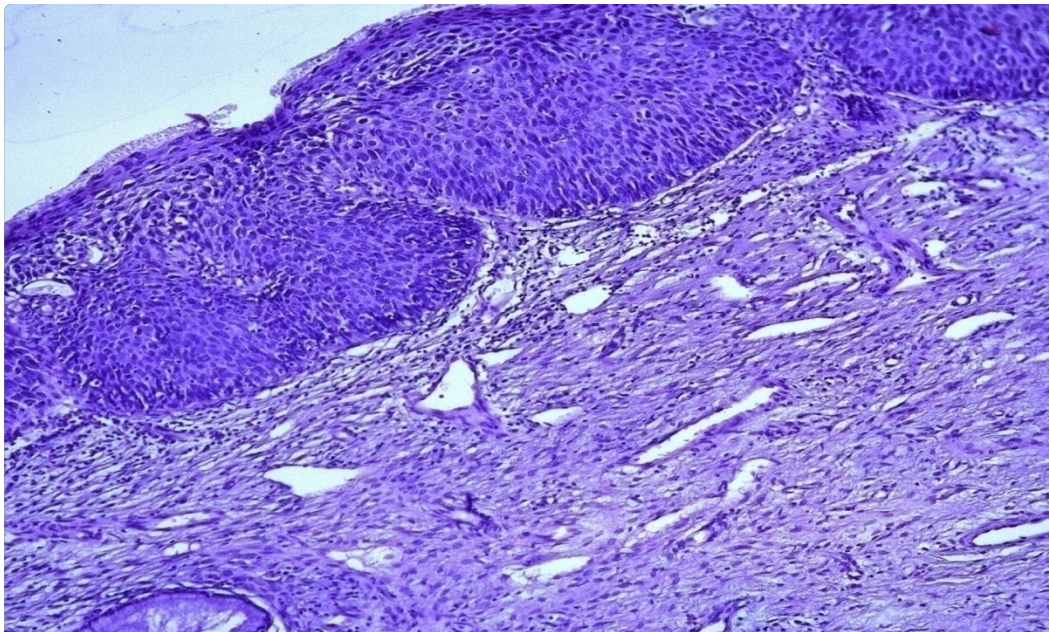


Рисунок 5 – Интраэпителиальная неоплазия тяжелой степени у женщины 2 группы (CINIII). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$

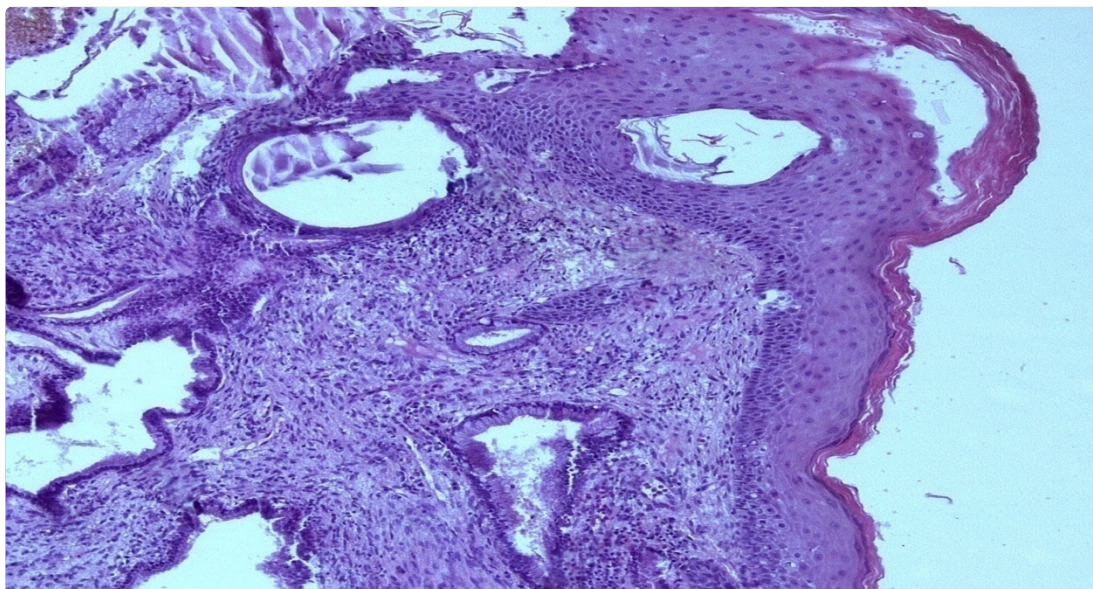


Рисунок 6 – Лейкоплакия (гиперкератоз) многослойного плоского эпителия (CINI)
– женщина 2 группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$

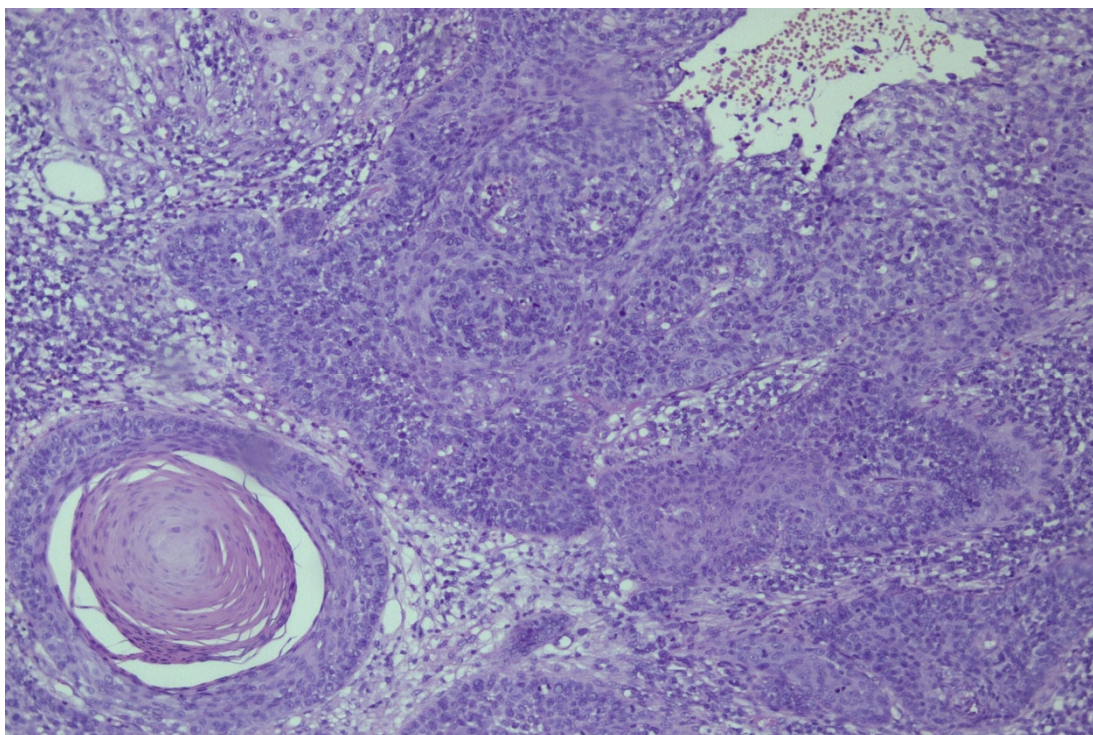


Рисунок 7 – Микроинвазивная карцинома с очагами ороговения у женщины
1 группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

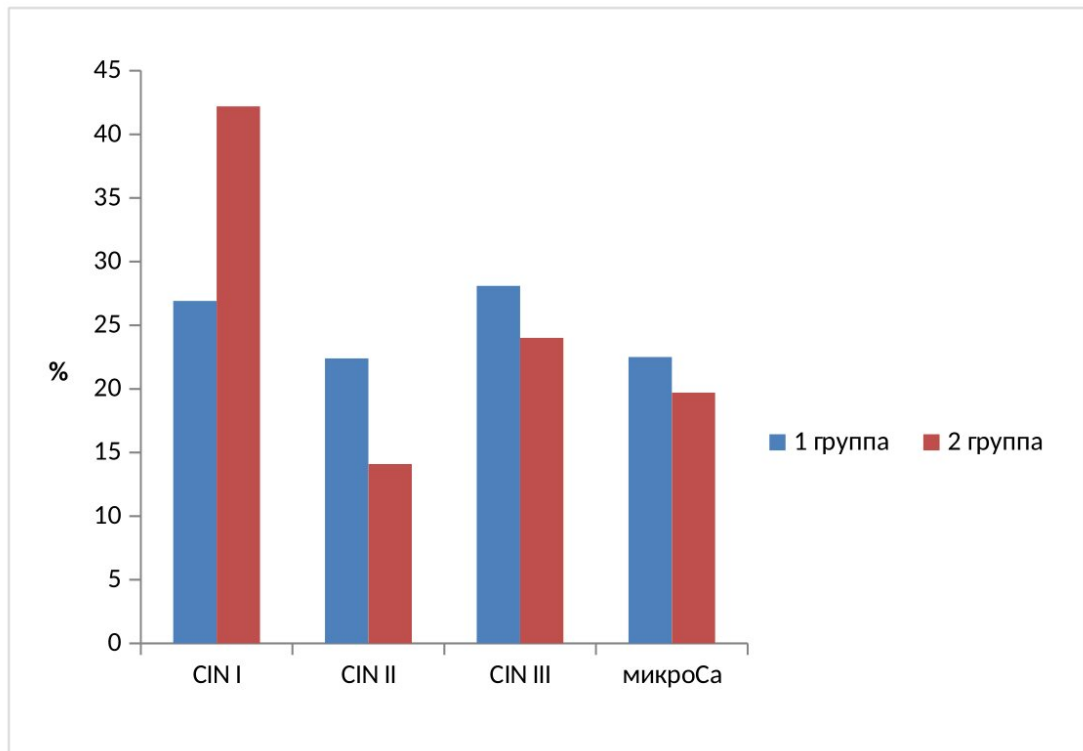


Рисунок 8 – Структура диагноза CIN по группам

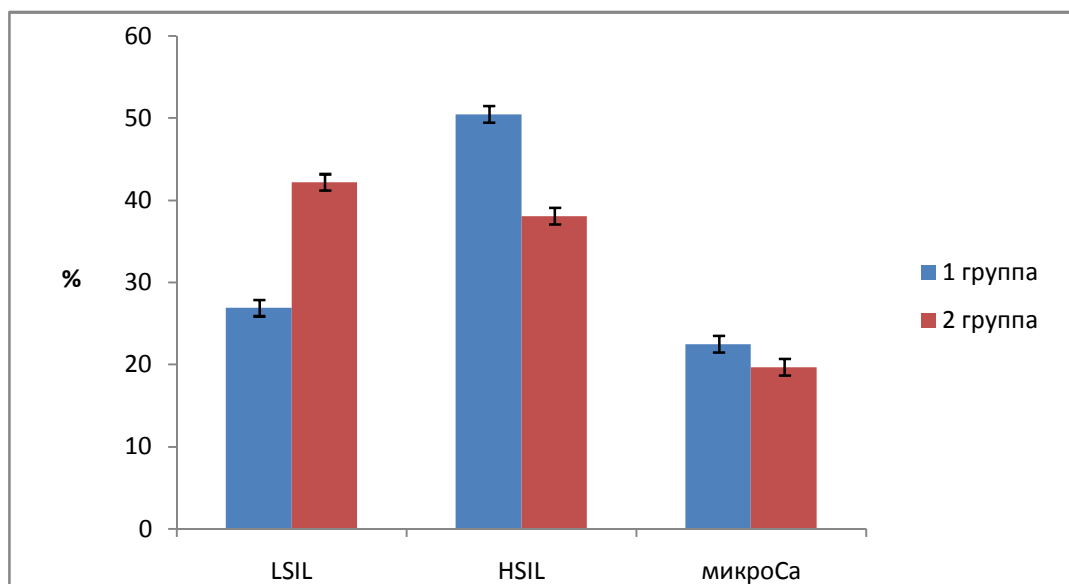


Рисунок 9 – Структура диагноза SIL по группам

3.2 Морфометрическое исследование эпителия шейки матки с диспластическими изменениями разной степени выраженности и микроинвазивной карциномой у женщин разных возрастных групп

Морфометрическое исследование установило, что толщина МПЭ шейки матки при наличии дисплазии была достоверно выше у женщин основных групп, чем у женщин обеих контрольных групп (таблица 1, рисунок 10). Так даже при дисплазии легкой степени толщина МПЭ была достоверно выше, в сравнении с показателями в контрольных группах: в 1,9 раза у женщин 1 возрастной группы, составив в среднем 54 мкм, и в 1,8 раза у женщин старшего возраста, составив 46 мкм.

Внутри основных групп, при разной степени CIN и микрокарциноме, толщина эпителия значительно не изменялась в обеих группах. Однако, у женщин 2 группы показатели толщины МПЭ в целом были ниже, в сравнении с женщинами 1 возрастной группы: в 1,1 раза при CIN I, в 1,5 раза при CIN II, в 1,2 раза при CIN III и в 1,1 раза при микрокарциноме, что вероятно связано с процессами атрофии, развивающимися на фоне возрастного снижения эстрогенной насыщенности тканей, снижения пролиферативной активности и замедления созревания клеток, а у женщин 1 группы морфометрические показатели в эпителии шейки матки отражают более активные процессы пролиферации в сравнении с женщинами старшей возрастной группы (см. таблицу 1, рисунок 10).

В сравнении с группами контроля у пациенток обеих групп выявлено значительное расширение базального слоя, с увеличением значений от CIN I к микрокарциноме (рисунок 11). Так у пациенток 1 группы данный показатель увеличился практически в 2 раза с 8,9 мкм при CIN I и до 17,4 мкм при микрокарциноме, достигнув максимального значения, и увеличившись в сравнении с группой контроля в 4 раза. У женщин второй возрастной группы максимальная толщина базального слоя также установлена при микрокарциноме, увеличившись в сравнении с группой контроля в 7 раз.

Проводя сравнение между основными группами, у женщин молодого возраста также установлено более интенсивное расширение зоны базального слоя, достоверно отличающееся от показателей во второй группе: при CIN I и микрокарциноме, в 1,3 и 1,2 раза соответственно (см. таблицу 1, рисунок 11).

С нарастанием степени CIN и до микроинвазивной карциномы в сравнении с показателями в контрольных группах, у женщин - как в первой, так и во второй группе отмечено увеличение диаметра ядер клеток базального слоя и других слоев МПЭ, что связано с появлением клеточной атипии и ядерного полиморфизма, и эти показатели достоверно не различались между группами (см. таблицу 1, рисунки 12 и 13).

У молодых женщин с микрокарциномой этот показатель увеличился в 2 раза в сравнении с группой контроля, а у женщин 2 группы – в 1,8 раза, соответственно.

Таблица 1 – Морфометрическое исследование многослойного плоского эпителия шейки матки женщин 1 возрастной группы

	1 группа (женщины моложе 35 лет) (n = 89)				2 группа (женщины старше 49 лет) (n = 71)				1 группа контроля (n = 10)	2 группа контроля (n = 10)
Оцениваемые параметры	CINI (n = 24)	CINII (n = 20)	CINIII (n = 25)	микрокар- цинома (n = 20)	CINI (n = 30)	CINII (n = 10)	CINIII (n = 17)	микрокар- цинома (n = 14)		
Толщина пласта МПЭ	$54,9 \pm 2^*$	$50,3 \pm 3^*$	$50,6 \pm 2,2^*$	$54,2 \pm 1,2^*$	$46,1 \pm 1,3^*$	$32,7 \pm 2,6^*$	$43,4 \pm 2,2^*$	$47,2 \pm 1,4^*$	$29,3 \pm 2$	$24,6 \pm 2,3$
Толщина базального слоя	$8,9 \pm 0,4$	$9,1 \pm 0,4$	$11,5 \pm 0,4$	$17,4 \pm 0,9^*$	$6,6 \pm 0,3$	$8,5 \pm 0,6$	$11,3 \pm 0,5$	$13,9 \pm 0,5^*$	$4,2 \pm 0,2$	$1,9 \pm 0,1$
Диаметр ядер базального слоя	$1,4 \pm 0,01$	$1,7 \pm 0,04^*$	$2,02 \pm 0,05^*$	$2,2 \pm 0,03^*$	$1,4 \pm 0,01$	$1,4 \pm 0,02^*$	$1,8 \pm 0,03^*$	$2 \pm 0,02^*$	$1,01 \pm 0,02$	$1,08 \pm 0,02$
Диаметр ядер других слоев	$1,3 \pm 0,01$	$1,5 \pm 0,2$	$1,9 \pm 0,02$	$2,1 \pm 0,01$	$1,3 \pm 0,01$	$1,4 \pm 0,02$	$1,9 \pm 0,03$	$2 \pm 0,02$	$0,8 \pm 0,02$	$0,8 \pm 0,01$

Примечания: * достоверные отличия средних величин рассматриваемых параметров между сравниваемыми соответствующими значениями 1 и 2 группы. Различия между группами признавались достоверными при p < 0,05.

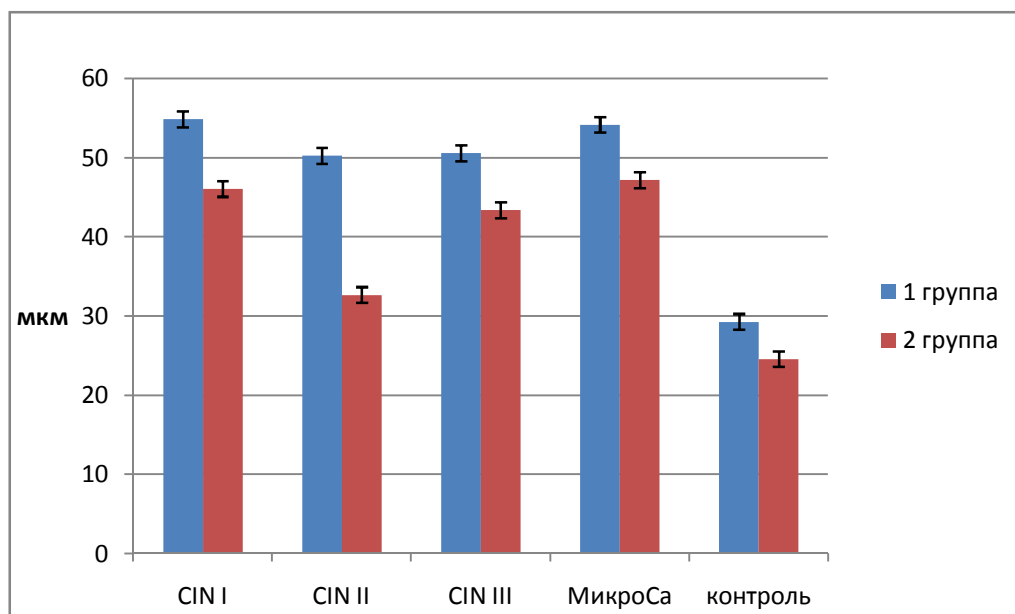


Рисунок 10 – Толщина многослойного плоского эпителия (мкм)

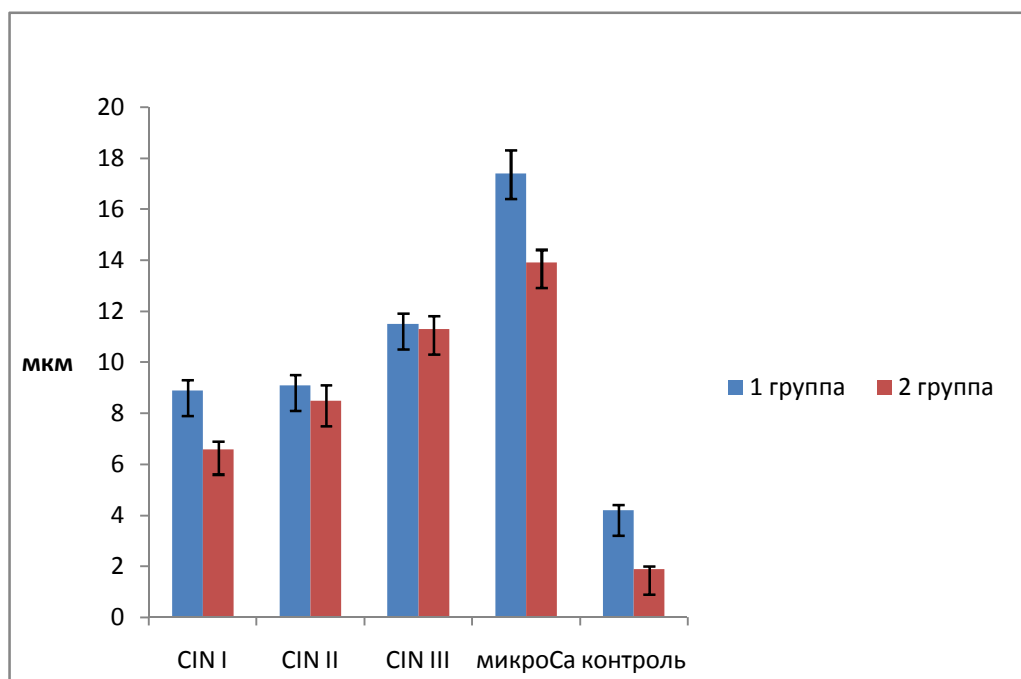


Рисунок 11 – Толщина базального слоя многослойного плоского эпителия (мкм)

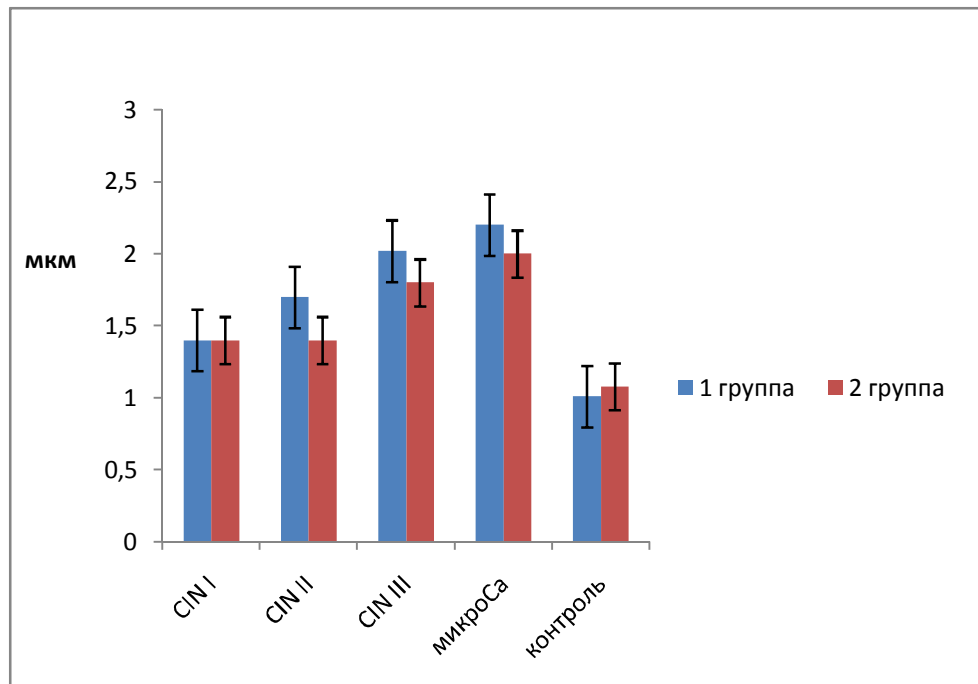


Рисунок 12 – Диаметр ядер базального слоя многослойного плоского эпителия (мкм)

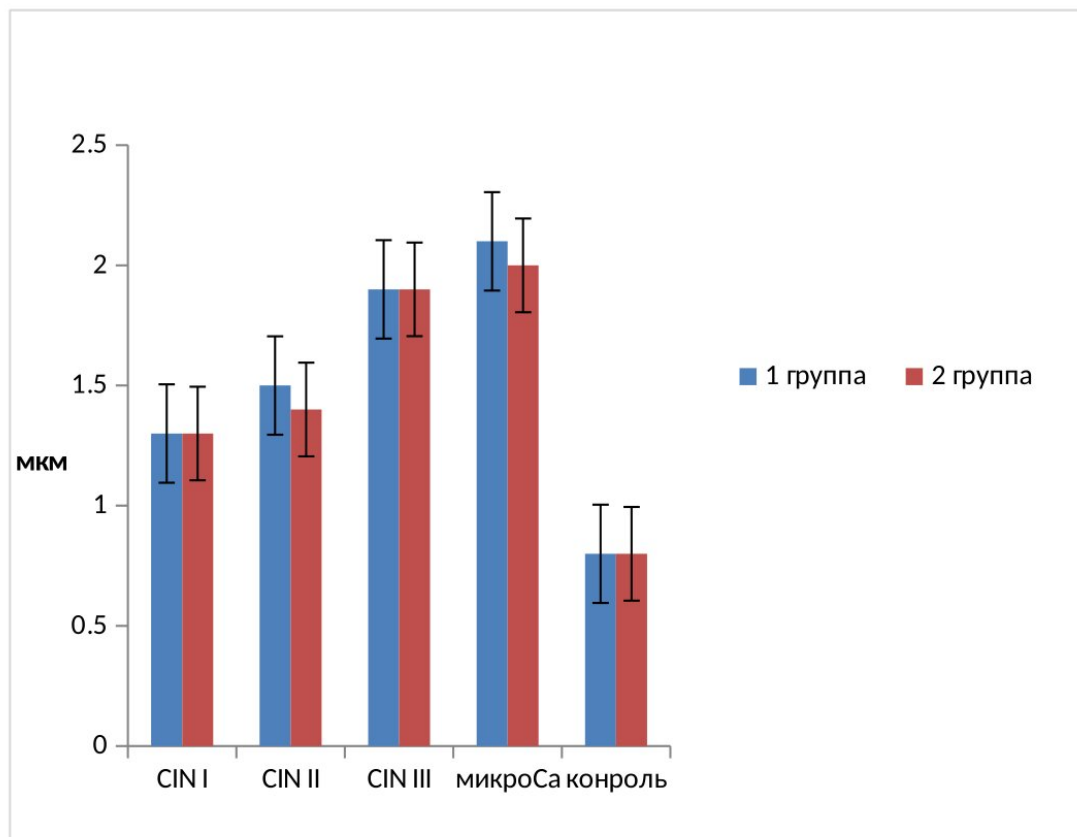


Рисунок 13 – Диаметр ядер в других слоях многослойного плоского эпителия (мкм)

Оценивая выраженность койлоцитоза, как морфологического проявления ВПЧ-инфекции, было установлено, что при CIN I у женщин 1 группы койлоцитоз верифицировали у 100 % пациенток, во 2 группе также часто – у 93 % женщин (рисунок 14).

Нарастание диспластических изменений сопровождалось снижением частоты и выраженности койлоцитоза, достигая минимальных значений при микрокарциноме: данный признак встречали у 15 % пациенток 1 группы и у 9 % женщин 2 возрастной группы (см. рисунок 14).

При этом распространенность койлоцитической трансформации эпителиоцитов в эпителиальном пласте была выше в 1 группе, поскольку молодые женщины являются наиболее уязвимой группой по инфицированности ВПЧ и, вероятно, вирусная нагрузка у них в эпителии выше. Известно, что при минимальной атипии сохраняется клеточный цикл, что способствует репликации вируса и появлению койлоцитоза, а при нарастании атипии (прогрессировании CIN) прогрессируют нарушения внутриклеточной регуляции, что вероятно становится причиной исчезновения проявлений койлоцитоза.

Из всей группы женщин репродуктивного возраста лейкоплакия выявлена у 25 человек, и большая часть встречена при дисплазии легкой степени – 56 % (у 14 человек), а при CIN II в 32 % случаев (8 человек). Также ороговение в эпителии экзоцервикса встретили у 14 женщин менопаузального возраста, из которых менее чем в половине случаев при CIN I и CIN II – 42 % и 26 % соответственно. При CIN III признаков ороговения не было встречено ни у одной пациентки в обеих группах, при микрокарциноме – единичные случаи (рисунок 15).

Из выше указанного можно заключить, что у пациенток обеих групп нарастание клеточной атипии в МПЭ сопровождается утратой способности к ороговению. Данное обстоятельство подтверждается тем, что в структуре плоскоклеточного рака ШМ неороговевающий плоскоклеточный рак встречается наиболее часто [83, 84, 246].

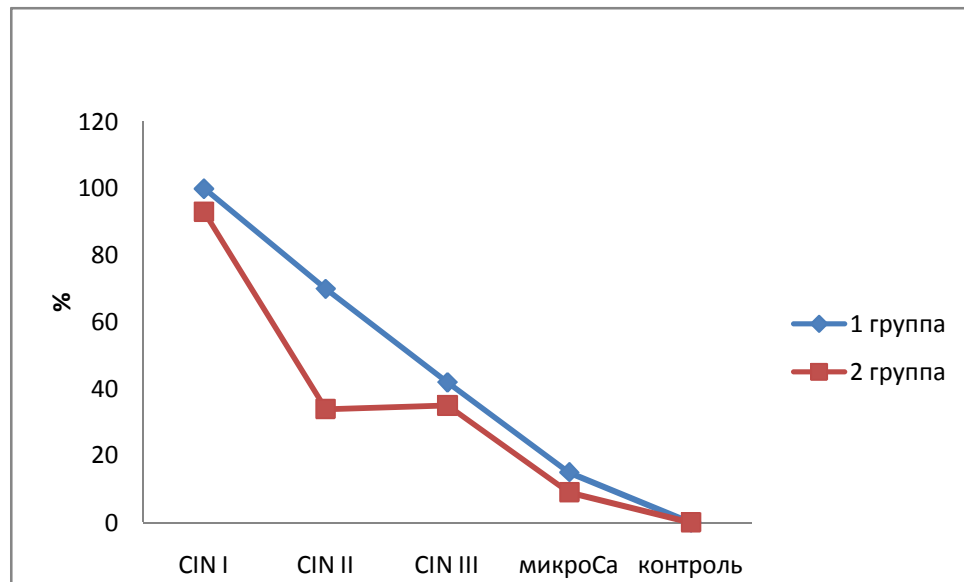


Рисунок 14 – Частота встречаемости койлоцитоза в эпителии шейки матки

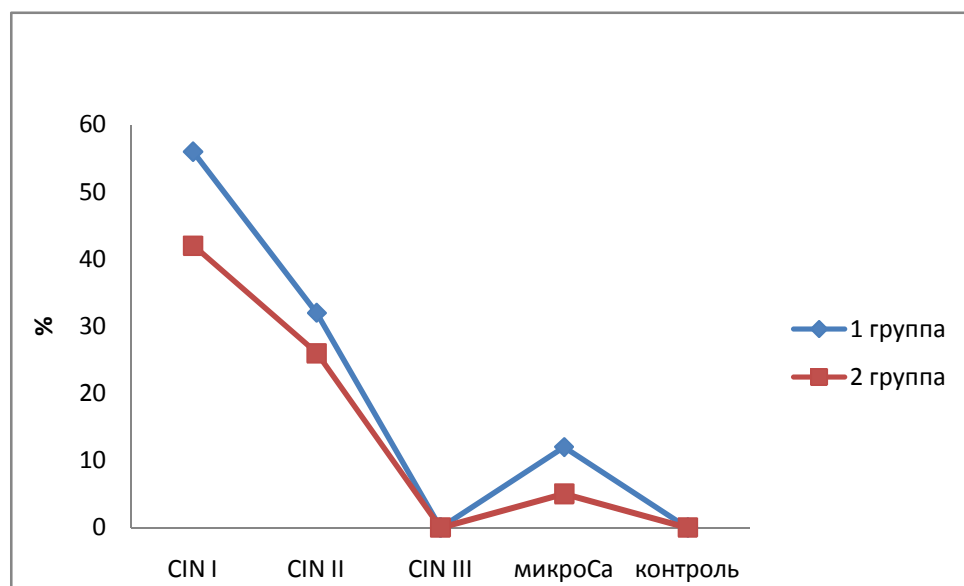


Рисунок 15 – Частота встречаемости лейкоплакии в многослойном плоском эпителии шейки матки

3.3 Морфометрический анализ воспалительного клеточного инфильтрата в шейке матки женщин двух возрастных групп с CIN разной степени выраженности и микроинвазивной карциномой

В основные группы исследования вошли женщины, инфицированные ВПЧ, что обусловило у них наличие воспалительной инфильтрации. В строме ШМ определялась сформированная воспалительно-клеточная инфильтрация в виде диффузно-очаговых скоплений клеток разной степени выраженности. Так в каждом из фрагментов ШМ воспалительная инфильтрация распределялась в строме следующим образом: более выраженная инфильтрация клетками воспаления располагалась в подэпителиальной зоне стромы ШМ непосредственно под участками диспластически измененного эпителия и микрокарциномой.

В состав воспалительно-клеточного инфильтрата вошли различные клетки, в том числе лимфоциты, плазмоциты, макрофаги, лейкоциты, фибробласты.

В 1 и 2 группах контроля в подэпителиальной строме ШМ также выявляли диффузно-очаговый воспалительно-клеточный инфильтрат, однако в сравнении с основными группами он был менее выражен.

При морфометрической оценке воспалительных изменений в строме шейки матки выявлено, что объемная плотность воспалительного клеточного инфильтрата в подэпителиальной зоне стромы ШМ у женщин обеих основных групп была достоверно выше, чем у женщин контрольных групп и увеличивалась с прогрессированием дисплазии вплоть до микроинвазивной карциномы. Так при CIN I у пациенток 1 и 2 возрастных групп объемная плотность воспалительного клеточного инфильтрата увеличилась в 1,5 и 2,0 раза, соответственно, и составила 14,5 % и 7,4 % в сравнении с соответствующими группами контроля. Также установлено, что у пациенток менопаузального возраста этот показатель был достоверно ниже, чем у молодых женщин (в 2,0; 2,1; 2,2 и 1,4 раза, соответственно) (таблица 2).

Таблица 2 – Сравнительная характеристика результатов морфометрического исследования клеточного состава воспалительного инфильтрата в группах женщин разных возрастов с CIN разной степени выраженности и микроинвазивной карциномой

[illegible]

Морфометрический анализ клеточного состава воспалительного инфильтрата выявил, что у женщин обеих групп при всех степенях CIN и при микроинвазивной карциноме содержание макрофагов в составе воспалительного инфильтрата было примерно одинаковым (см. таблицу 2, рисунок 20) и значительно не изменялось в обеих группах в каждой подгруппе, а в сравнении с группами контроля несколько увеличилось: в 1 возрастной группе установлено максимальное значение при CINII – 28,9 %, что в 1,2 раза выше, чем в соответствующей группе контроля; у женщин 2 возрастной группы максимальное количество макрофагов в составе воспалительного инфильтрата выявлено при CINIII – 30 %, что в 1,6 раза выше, чем в соответствующей группе контроля (см. рисунок 20).

Наибольшую долю клеток инфильтрата составили лимфоидные клетки (лимфоциты и плазмоциты) (см. таблицу 2, рисунки 16 и 17), содержание которых в сумме было около 40 % от всех клеток у женщин обеих возрастных групп.

При этом установлено, что у женщин 1 группы содержание лимфоцитов значительно не различалось во всех подгруппах и их доля в 1 группе колебалась от 29,7 % при CINI до 24,6 % при карциноме (см. таблицу 2, рисунок 16). Во второй группе показатель изменялся от 28,5 % при CINI до 24,5 % при CINIII, достоверно увеличившись до 35,9 % лишь при микроинвазивной карциноме и был в 1,5 раза выше, чем у молодых женщин в той же подгруппе, а в сравнении с группой контроля показатель увеличился более чем в 1,5 раза (см. таблицу 2, рисунок 17).

У женщин репродуктивного возраста доля плазматических клеток в инфильтрате увеличивалась с нарастанием степени CIN вплоть до карциномы и составила 11 %, 12,4 %, 19 % и 24 %, соответственно. При микрокарциноме в 1 группе пациенток, в сравнении с показателями контроля, отмечено значительное увеличение доли плазматических клеток – практически в 5 раз и в 1,7 раза, в сравнении с женщинами менопаузального возраста (см. таблицу 2, рисунки 16 и 17).

У женщин старшей возрастной группы доля плазмоцитов значительно не

изменялась при прогрессировании патологического процесса и составила от 9 % до 14 % (см. таблицу 2, рисунок 17).

В составе воспалительной инфильтрации содержание нейтрофилов и эозинофилов было невысоким у пациенток обеих групп (см. таблицу 2, рисунки 18 и 19), однако в целом суммарно доля этих клеток у пациенток репродуктивного возраста была выше во всех подгруппах (см. таблицу 2, рисунок 18) и достигла максимальных значений при CINIII и микроинвазивной карциноме, составив суммарно – 20 % и 14 %, соответственно, а у пациенток 2 группы только – 3 % и 6 % соответственно. Сравнивая результаты основных групп с соответствующими группами контроля установлено, что суммарное содержание нейтрофилов и эозинофилов в обеих основных группах, достигнув максимальных значений, увеличилось в 5 раз.

Отмеченная тенденция свидетельствует о большей активности перифокальной воспалительной реакции в строме шейки матки в более молодом возрасте, что согласуется с рядом исследований.

Доля фибробластов из общего состава клеток инфильтрата, напротив, была выше при всех степенях CIN и при микроинвазивной карциноме у пациенток 2 группы в сравнении с молодыми женщинами (в 1,3, 1,5, 2,5 и 1,9 раза, соответственно), и даже в соответствующей контрольной группе данный показатель был выше в 1,7 раза, что указывает на более активные процессы фиброобразования у женщин старшего возраста (рисунок 21).

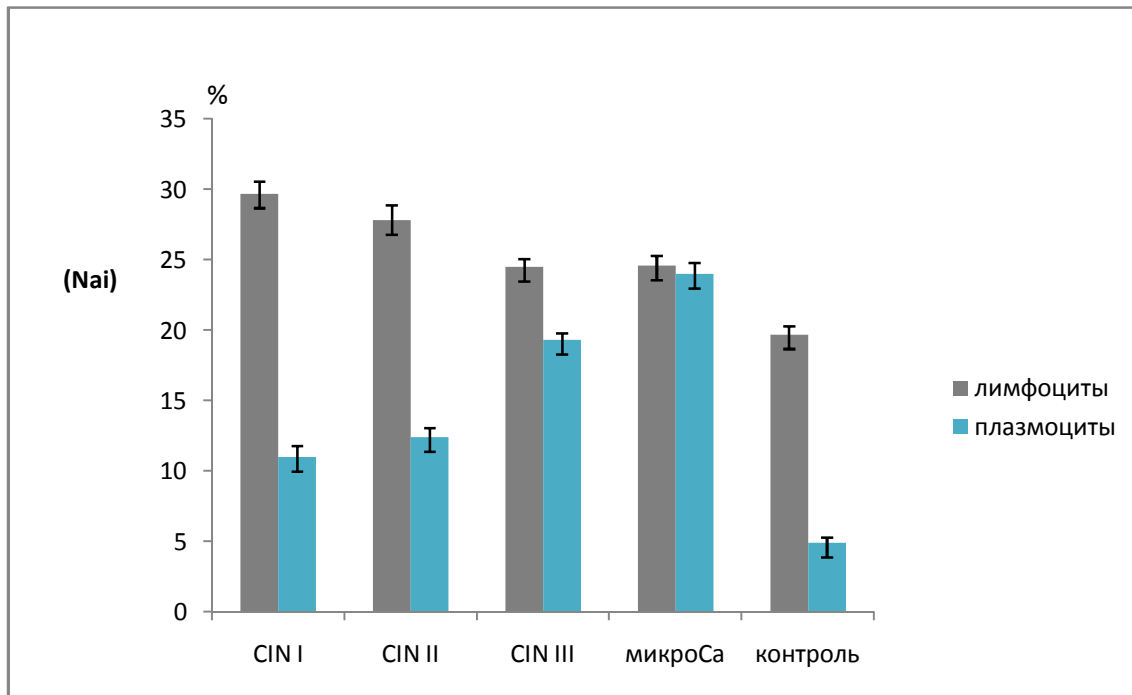


Рисунок 16 – Численная плотность лимфоцитов и плазмоцитов в составе воспалительного инфильтрата: женщины 1 группы (Nai)

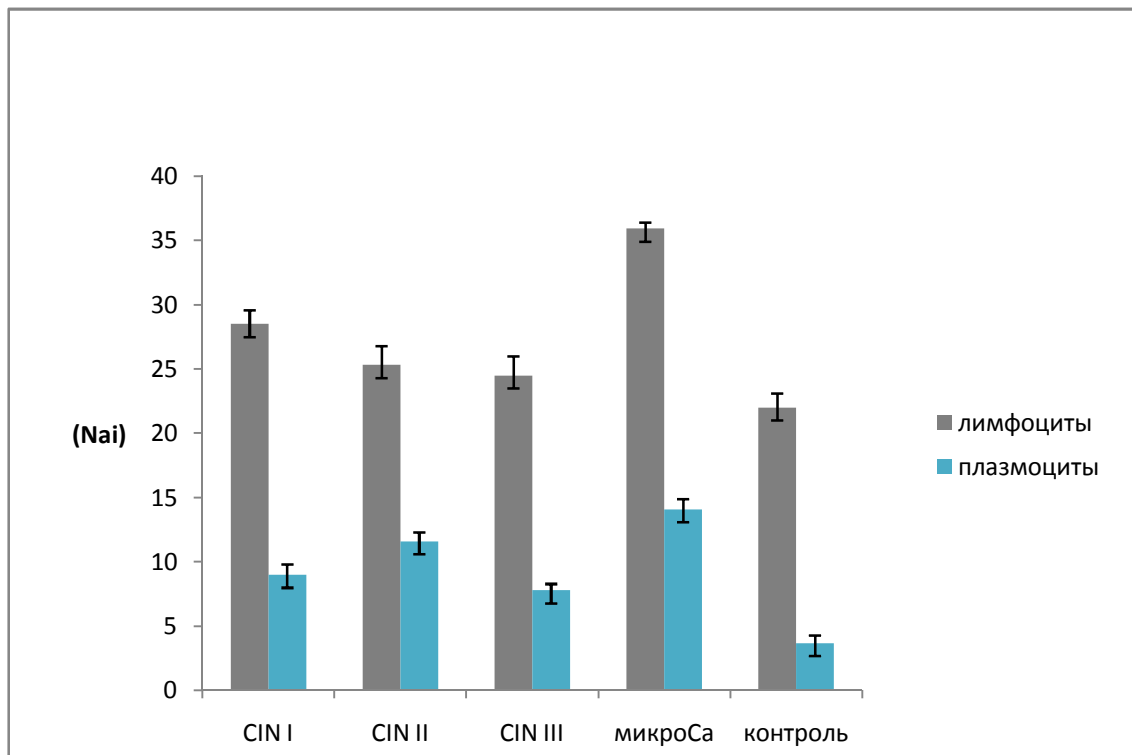


Рисунок 17 – Численная плотность лимфоцитов и плазмоцитов в составе воспалительного инфильтрата: женщины 2 группы (Nai)

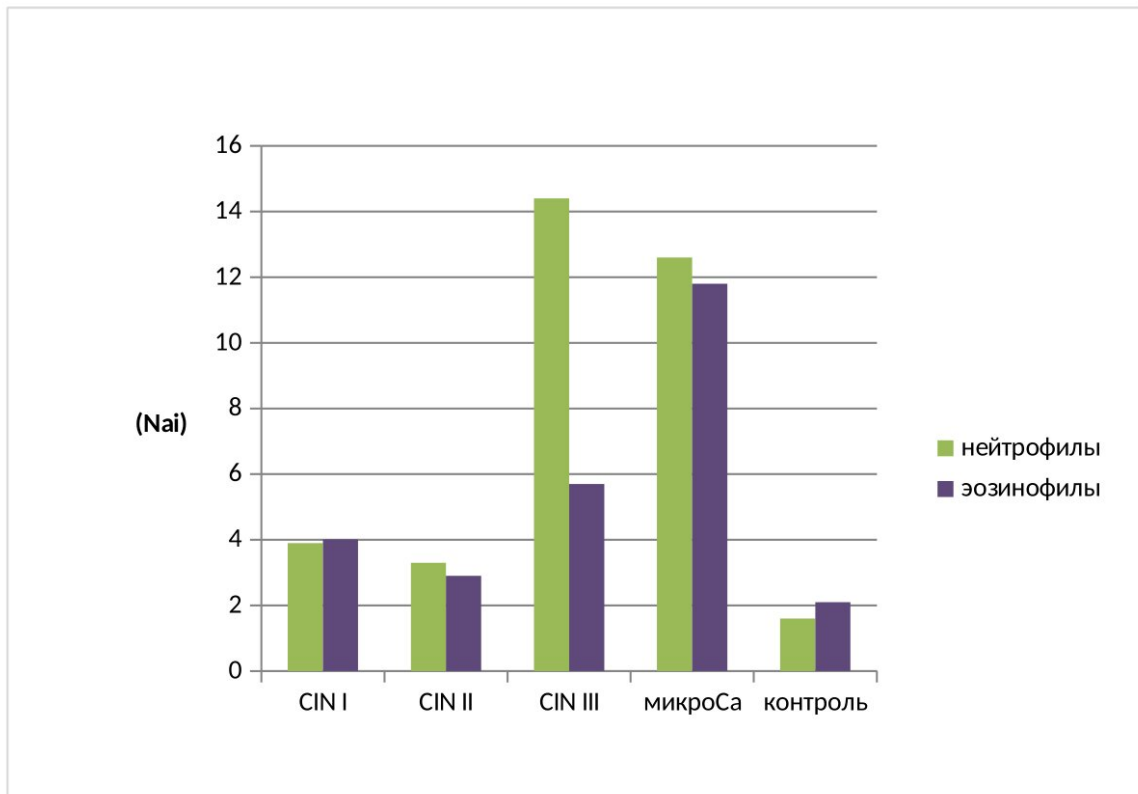


Рисунок 18 – Численная плотность нейтрофилов и эозинофилов в составе воспалительного инфильтрата: женщины 1 группы (Nai)

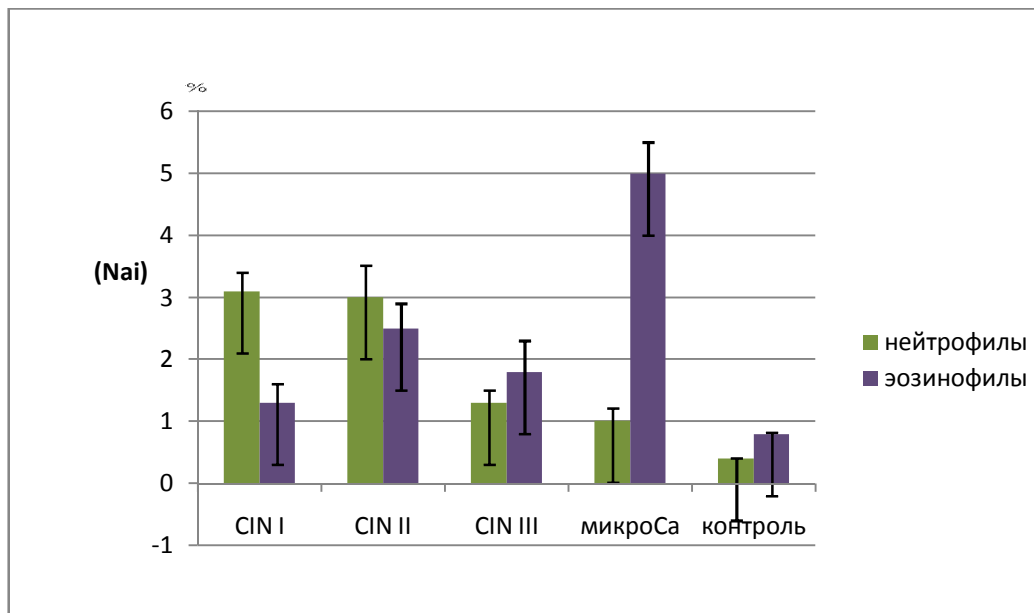


Рисунок 19 – Численная плотность нейтрофилов и эозинофилов в составе воспалительного инфильтрата: женщины 2 группы (Nai)

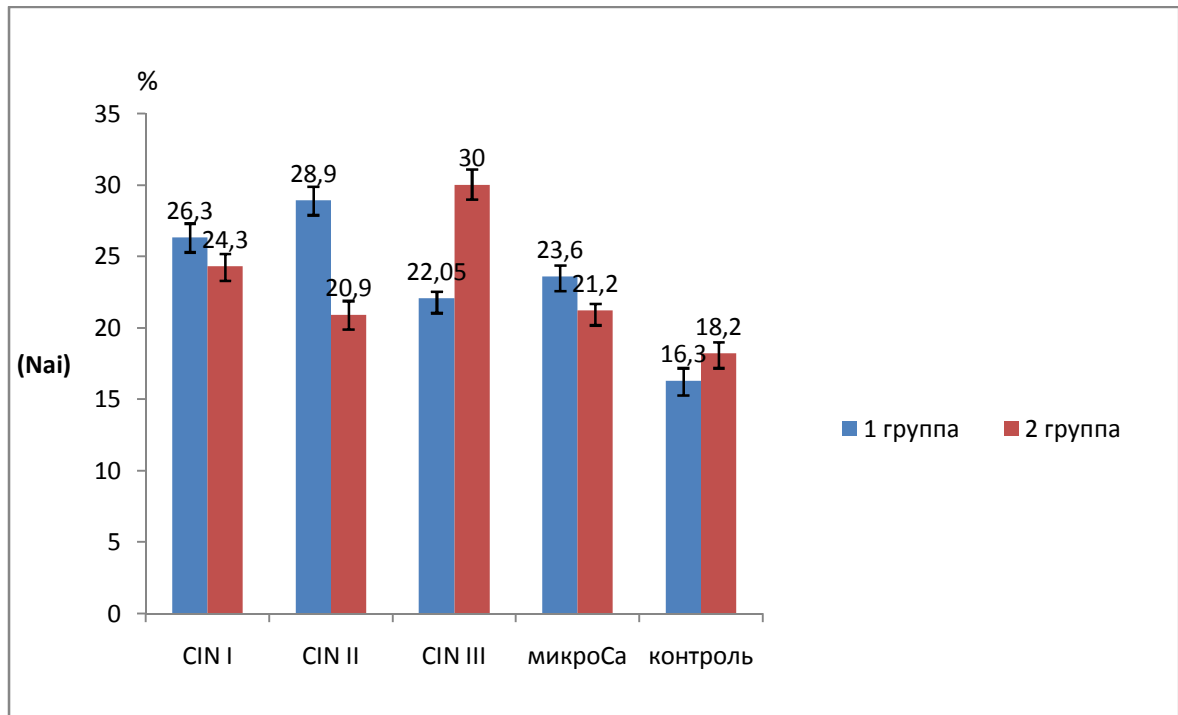


Рисунок 20 – Численная плотность макрофагов в составе воспалительного инфильтрата (Nai)

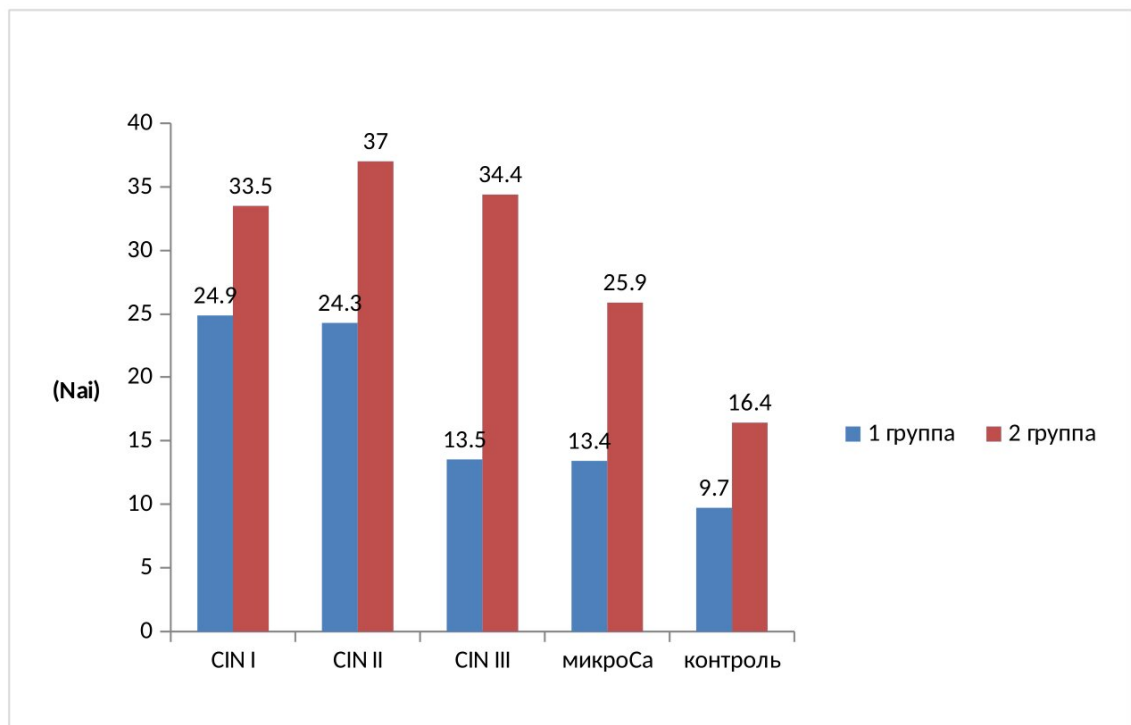


Рисунок 21 – Численная плотность фибробластов в составе воспалительного инфильтрата (Nai)

3.4 Оценка экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону в многослойном плоском эпителии и строме шейки матки женщин двух возрастных групп с CIN разной степени выраженности и микроинвазивной карциномой

При ИГХ-окрашивании рецепторы к эстрогенам (ER) и рецепторы к прогестерону (PR) определяются в виде ядерного окрашивания разной степени интенсивности. В группах контроля отмечена следующая иммуноморфологическая картина: ядерное окрашивание ER в эпителии ШМ – 1 контрольной группы встречалось в достоверно большем количестве клеток, в сравнении с соответствующей основной группой, такая же картина установлена между 2 контрольной и основной группами.

При оценке экспрессии ER в эпителии ШМ установлено, что в сравнении с контрольными группами она снижалась в условиях дисплазии плоского эпителия у женщин 1 и 2 группы примерно в 2 раза при CIN I: у женщин 1 возрастной группы с 16,3 % в контрольной группе и до 8,6 %; а у женщин 2 возрастной группы с 21,4 % и до 11,8 % соответственно (таблица 3, рисунок 22).

Далее по мере нарастания дисплазии у женщин молодого возраста данный показатель, начиная с CIN I и до микрокарциномы, продолжал снижаться и уменьшился более чем в 6 раз с 8,6 % до 2,4 %, соответственно. Более ярко изменения распределения экспрессии ER выявлены при дисплазии тяжелой степени и при микрокарциноме, так установлена следующая иммуноморфологическая картина, в каждом из исследуемых фрагментов в участках эпителия типичного морфологического строения позитивно окрашенные клетки располагались в базальном и парабазальном слоях МПЭ, в участках патологически измененного эпителия встречались единичные слабо позитивно окрашенные клетки, либо их вовсе не было встречено.

У женщин старшей возрастной группы при нарастании дисплазии экспрессия ER значительно не изменялась. Также установлено, что в целом во 2 группе этот показатель, начиная с CIN II, был в 2 раза выше, чем у молодых в

тех же подгруппах.

В 1 контрольной группе количество экспрессируемых PR в эпителии ШМ также было выше, в сравнении с соответствующей основной группой, и лишь при CIN I данный показатель был достоверно ниже. У женщин 2 контрольной группы ядерная экспрессия PR в эпителии ШМ выявлялась чаще, чем у женщин 2 основной группы при CIN III и микрокарциноме в 3,4 раза и в 2,8 раза соответственно.

При прогрессировании предопухолевого процесса экспрессия PR в эпителии ШМ (таблица 4, рисунок 23) достоверно снижалась в обеих группах женщин. Так у женщин молодого возраста этот показатель снизился в 6 раз от CIN I до микрокарциномы – с 7,2 % до 1,2 %, а у женщин 2 возрастной группы снизился примерно в 4 раза – с 2,5 % до 0,6 %, соответственно. Между основными возрастными группами достоверное различие экспрессии PR в МПЭ ШМ было выявлено только при CIN I, и данный показатель был выше примерно в 3 раза у женщин репродуктивного возраста.

Между группами контроля также выявлено достоверное различие в экспрессии PR в эпителии ШМ – у молодых женщин 1 контрольной группы данный показатель был в 3,5 раза выше, в сравнении со старшей группой контроля, что вероятно связано с гиперэстрогенией, которая по принципу обратной связи способствует повышенной экспрессии рецепторов прогестерона.

В обеих контрольных группах женщин количество позитивно окрашенных к ER клеток в строме ШМ было ниже, в сравнении с женщинами соответствующих основных групп, и лишь у молодых женщин при микрокарциноме данный показатель был примерно на одном уровне с соответствующей ей контрольной группой, а у женщин 2 основной группы при CIN I он был ниже, чем в соответствующей контрольной группе (см. таблицу 4, рисунок 24).

Оценка экспрессии рецепторов к стероидным гормонам в строме шейки матки выявила (см. таблицы 3 и 4; рисунки 24 и 25): у женщин 1 возрастной группы экспрессия ER в строме ШМ при прогрессировании дисплазии несколько снижалась, оставаясь в целом выше, чем в соответствующей группе контроля.

Также установлено, что начиная с CINII до микрокарциномы количество позитивно окрашенных клеток было достоверно ниже, чем у женщин 2 возрастной группы – в 1,5, 2 и в 2,5 раза соответственно, у которых экспрессия ER увеличилась более чем в 2 раза от CINI к микрокарциноме – с 8,8 % до 19,3 % соответственно (см. таблицу 3, рисунок 24).

Экспрессия PR в строме ШМ у женщин обеих возрастных групп была достоверно выше, в сравнении с соответствующими группами контроля и увеличивалась с прогрессированием диспластических изменений, вплоть до микроинвазивной карциномы: у женщин 1 группы данный показатель увеличился в 2 раза с 17,8 % при CINI и до 33,7 % при микрокарциноме (см. таблицу 4, рисунок 25), у женщин менопаузального возраста этот показатель увеличился в 1,8 раза с 16,1 % до 29,6 % соответственно (см. таблицу 4, рисунки 25 и 26).

Таблица 3 – Иммуногистохимическое исследование экспрессии рецепторов к эстрогенам в многослойном плоском эпителии и строме шейки матки женщин 1 и 2 возрастных групп

Оцениваемые параметры	1 группа (женщины моложе 35 лет) (n = 89)				2 группа (женщины старше 49 лет) (n = 71)				1 группа контроля (n = 10)	2 группа контроля (n = 10)
	CINI (n = 24)	CINII (n = 20)	CINIII (n = 25)	микрокар- цинома (n = 20)	CINI (n = 30)	CINII (n = 10)	CINIII (n = 17)	микрокар- цинома (n = 14)		
ER в эпителии	8,6 ± 1	5,8 ± 1*	2,2 ± 0,3*	2,4 ± 1,5*	10 ± 0,6	9 ± 1*	7,5 ± 1,1*	8,1 ± 1,4*	16,3 ± 0,2	21,4 ± 0,4
ER в строме	11,8 ± 1,9*	8,5 ± 1*	8,5 ± 0,8*	7,6 ± 0,9*	8,8 ± 1*	12,9 ± 1,05*	17,8 ± 0,08*	19,3 ± 0,4*	7,9 ± 1,3	9,1 ± 0,05

Примечания: * достоверные отличия средних величин рассматриваемых параметров между сравниваемыми соответствующими значениями 1 и 2 группы. Различия между группами признавались достоверными при p < 0,05.

Таблица 4 – Иммуногистохимическое исследование экспрессии рецепторов к прогестерону в многослойном плоском эпителии и строме шейки матки женщин 1 и 2 возрастных групп

Оцениваемые параметры	1 группа (женщины моложе 35 лет) (n = 89)				2 группа (женщины старше 49 лет) (n = 71)				1 группа контроля (n = 10)	2 группа контроля (n = 10)
	CINI (n = 24)	CINII (n = 20)	CINIII (n = 25)	микрокар- цинома (n = 20)	CINI (n = 30)	CINII (n = 10)	CINIII (n = 17)	микрокар- цинома (n = 14)		
PR в эпителии	7,2 ± 1*	2,4 ± 0,4	1,4 ± 0,1*	1,2 ± 0,03*	2,5 ± 0,4*	2,5 ± 0,6	0,5 ± 0,08*	0,6 ± 0,03*	6,1 ± 0,7	1,7 ± 0,1
PR в строме	17,8 ± 1,3	16,5 ± 1,1	30,9 ± 1,7*	33,7 ± 0,9*	16,1 ± 0,7	15,3 ± 1	24,7 ± 0,7*	29,6 ± 1,3*	13,4 ± 1,7	14,5 ± 0,9

Примечания: * достоверные отличия средних величин рассматриваемых параметров между сравниваемыми соответствующими значениями 1 и 2 группы. Различия между группами признавались достоверными при p < 0,05.

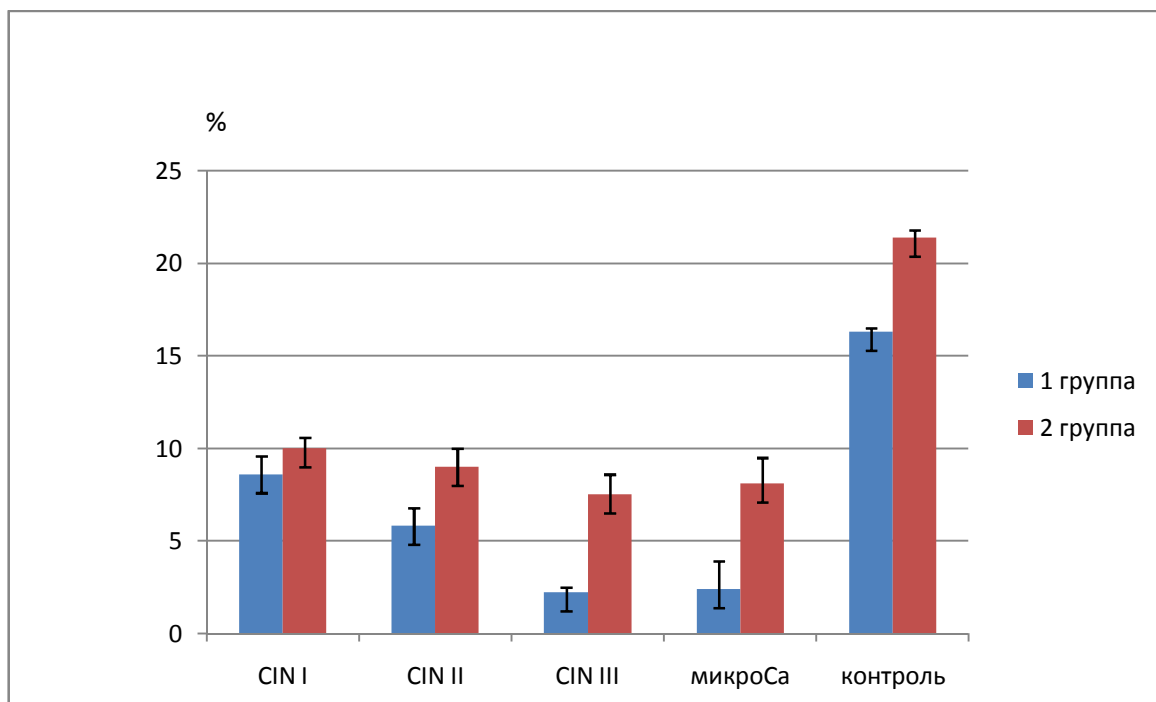


Рисунок 22 – Экспрессия рецепторов к эстрогенам в многослойном плоском эпителии шейки матки у женщин 1 и 2 групп (%)

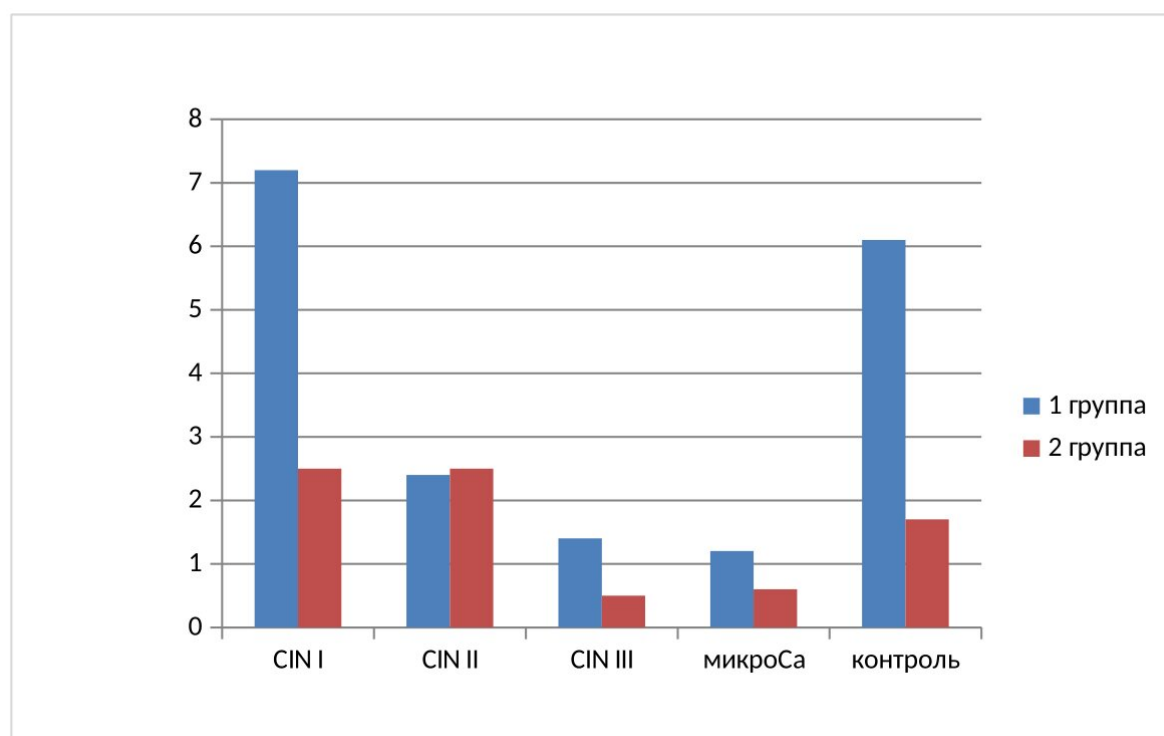


Рисунок 23 – Экспрессия рецепторов к прогестерону в многослойном плоском эпителии шейки матки у женщин 1 и 2 групп (%)

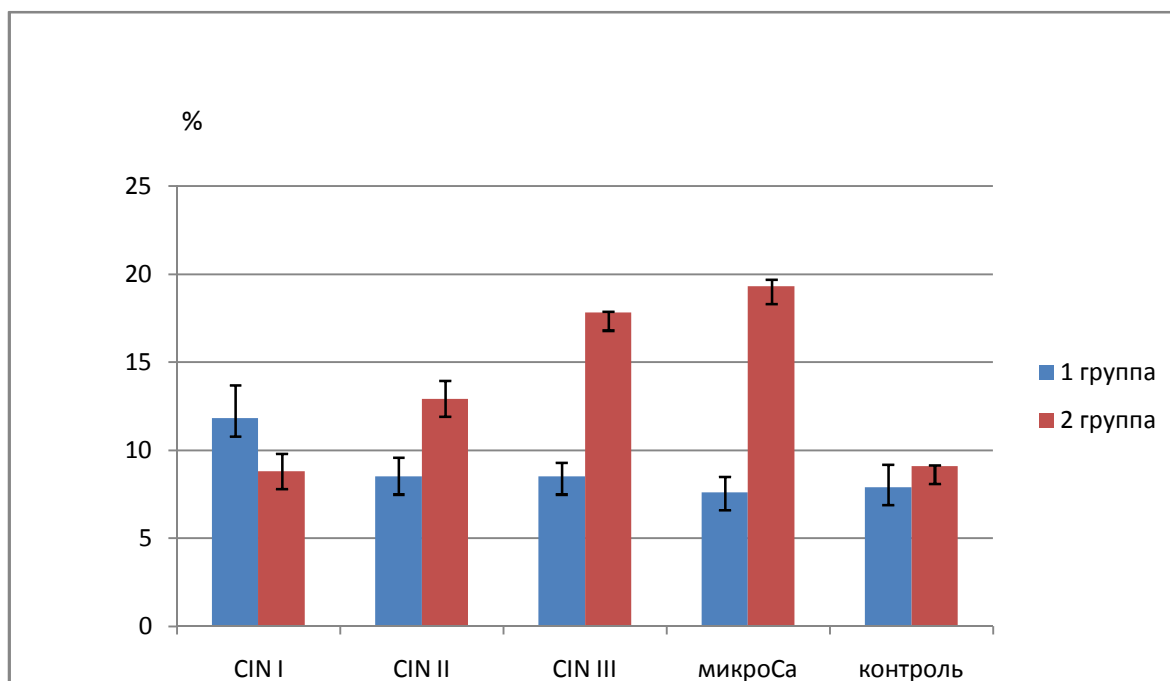


Рисунок 24 – Экспрессия рецепторов к эстрогенам в строме шейки матки у женщин 1 и 2 групп (%)

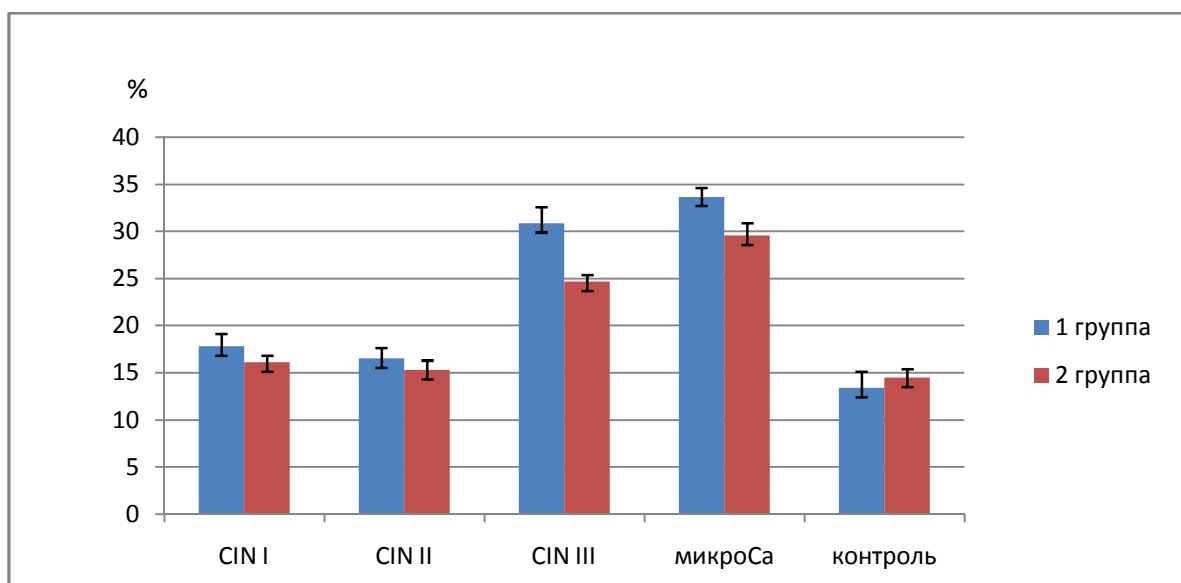


Рисунок 25 – Экспрессия рецепторов к прогестерону в строме шейки матки у женщин 1 и 2 групп (%)

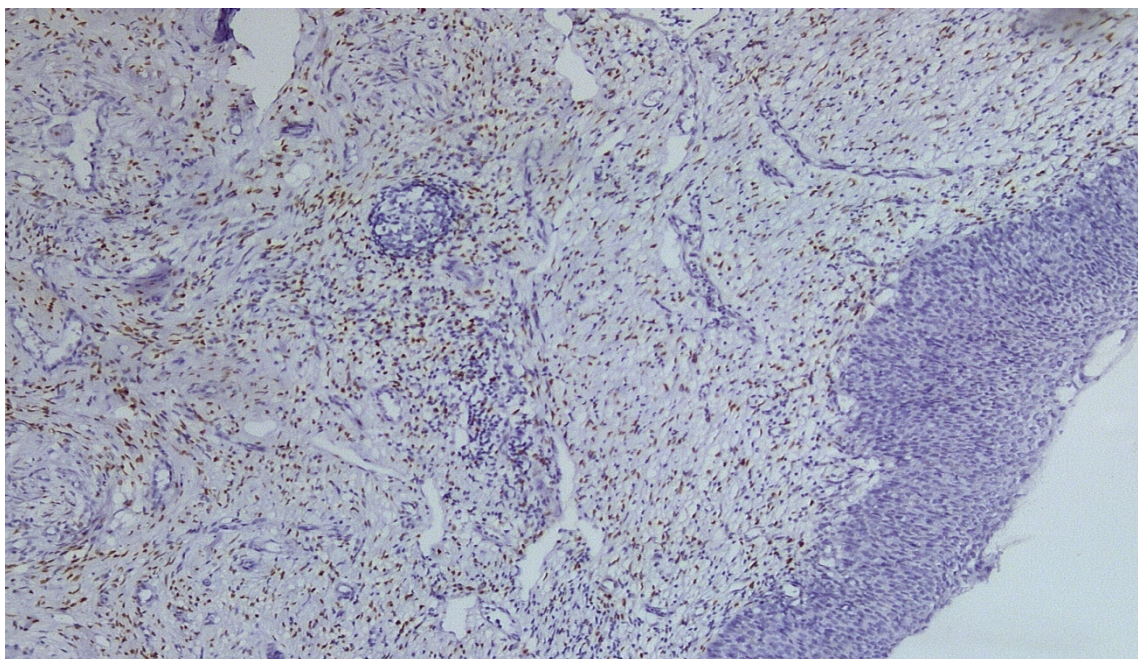


Рисунок 26 – Экспрессия PR в эпителии и строме шейки матки при тяжелой интраэпителиальной неоплазии (CINIII) у женщины 2 группы. $\times 100$.

Иммуногистохимическое исследование

3.5 Сравнительная оценка экспрессии внутриклеточных белков: p16, Ki-67, p53 в эпителии шейки матки у женщин 2 возрастных групп при диспластических изменениях и микроинвазивной карциноме

При оценке результатов ИГХ-окрашивания, установлено, что в обеих контрольных группах белок p16 экспрессировался в крайне малом количестве – менее чем в 1 % клеток МПЭ, что является вариантом нормы, поскольку в нормальном клеточном цикле белка p16 столь мало, что он не выявляется ИГХ-методом, либо экспрессируется в цитоплазме единичных клеток.

В условиях дисплазии экспрессия белка p16 у женщин обеих возрастных групп значительно увеличивалась вплоть до микроинвазивной карциномы и в сравнении с показателями в контрольных группах увеличилась с 0,3 % до 74 % клеток в МПЭ у женщин 1 группы и с 0,03 % до 65 % у женщин старшего возраста (таблица 5, рисунок 27).

Также установлено, что у молодых женщин экспрессия белка p16 была

достоверно выше, чем у женщин менопаузального возраста при CIN I и CIN II: в 4,5 и в 2,5 раза, соответственно, что вероятно связано с тем, что у женщин молодого возраста вирусная нагрузка более высокая, которая способствует более частому и агрессивному разобщению в процессе клеточного цикла и экспрессии данного белка. При CIN III и микрокарциноме этот показатель значительно не различался в обеих группах, составив от 60 до 74 %.

Таблица 5 – Иммуногистохимическое исследование экспрессии белка p16, белка p53, маркера пролиферативной активности Ki-67 в многослойном плоском эпителии шейки матки женщин 1 и 2 возрастных групп

[illegible]

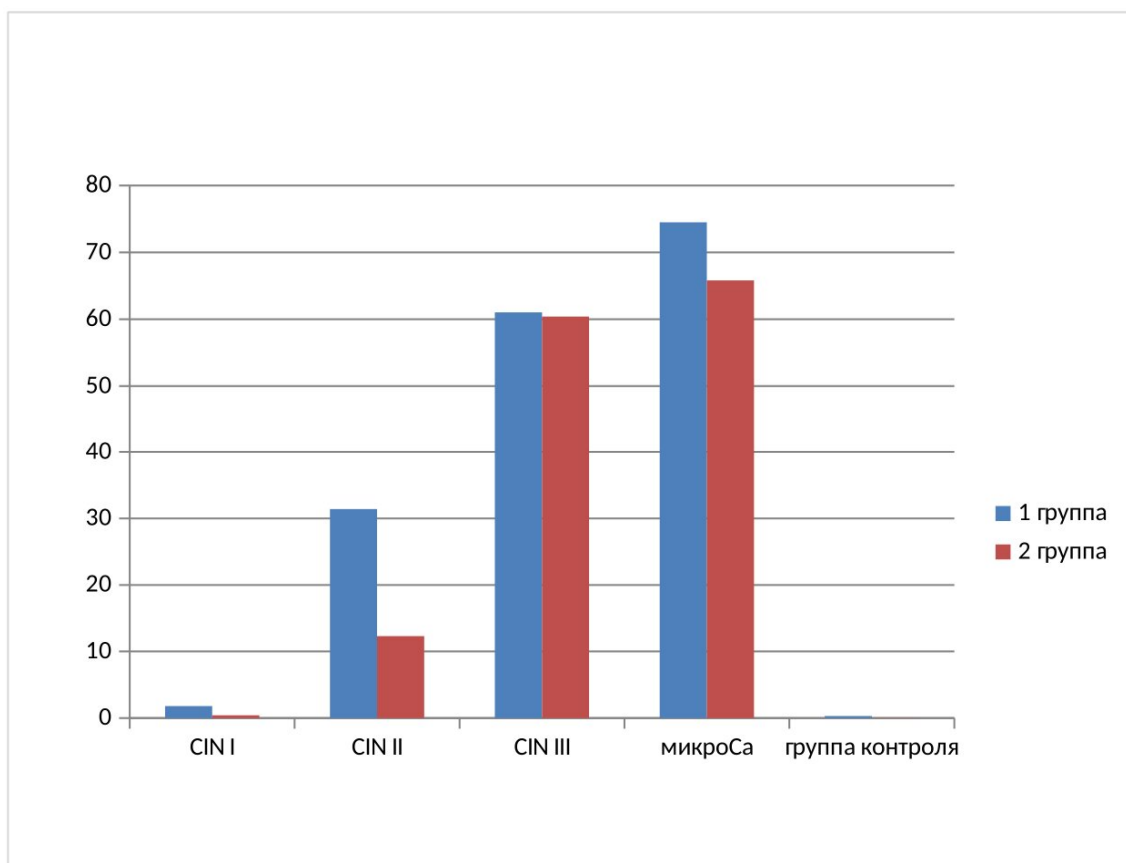


Рисунок 27 – Экспрессия белка p16 в многослойном плоском эпителии шейки матки у женщин 1 и 2 групп

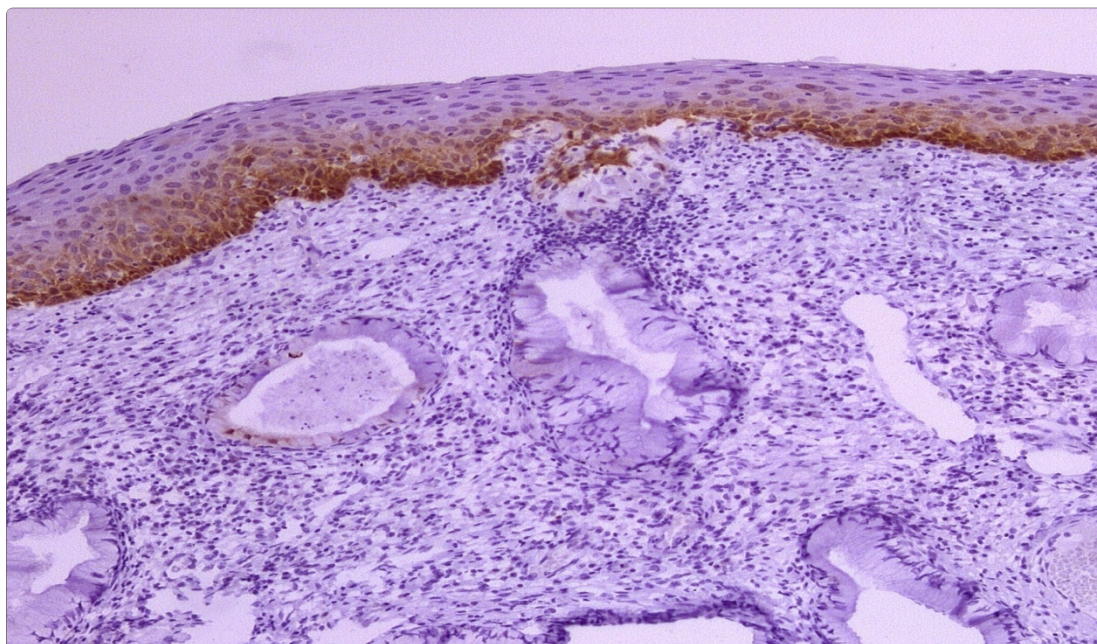


Рисунок 28 – Ядерная и цитоплазматическая экспрессия белка p16 у женщины 1 группы с CIN I. $\times 100$. Иммуногистохимическое исследование

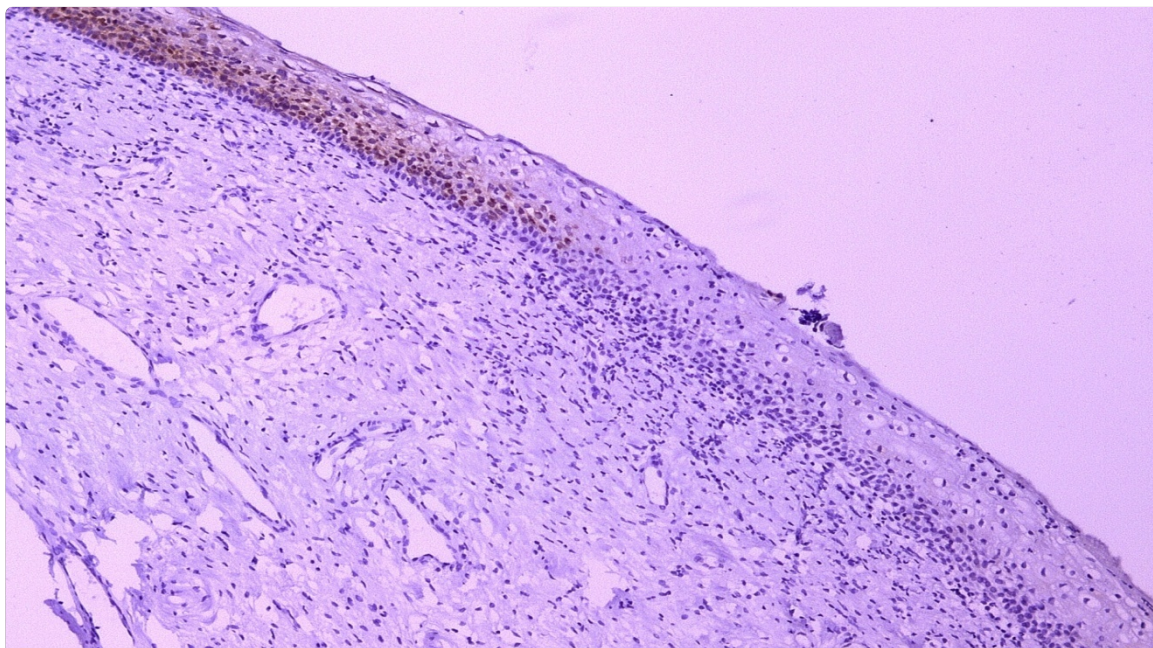


Рисунок 29 – Экспрессия белка p16 у женщины 2 группы с CINII. $\times 100$.
Иммуногистохимическое исследование

Белок p53 – супрессор опухолевого роста. Активный белок p53 определяется в виде ядерной окраски в клетках эпителия. В сравнении с группами контроля ядерная экспрессия белка p53 увеличилась при прогрессировании дисплазии, определялись слабо позитивно окрашенные клетки, которые располагались дискретно во всех слоях многослойного плоского эпителия ШМ, неравномерно (рисунок 31). Так у женщин 1 и 2 возрастной групп данный показатель увеличился более чем в 8 раз при микроинвазивной карциноме.

Установлено, что у пациенток молодого возраста максимальное количество клеток МПЭ, экспрессирующих белок p53, было выявлено при CINI и составило 2,1 %, однако данный показатель снижался при прогрессировании дисплазии, максимально снизившись до 0,7 % при CINIII (см. таблицу 5, рисунок 30). Тогда как у женщин старшего возраста отмечена противоположная картина, этот показатель нарастал и при микроинвазивной карциноме достиг максимального значения, увеличившись в 14раз – с 0,5 % при CINI до 7,1 % и был самым высоким как внутри группы, так и в сравнении с женщинами молодого возраста.

У пациенток старшего возраста увеличение количества p53 – позитивно

окрашенных клеток при дисплазии тяжелой степени, вероятно, отражает имеющиеся у них более значимые нарушения регуляции клеточного цикла эпителиальных клеток с экспрессией не только «дикого», но и мутантного белка p53. Вероятно, это может быть связано с тем, что в течение жизни женщины накапливают различные мутации, влияющие на процессы апоптоза, даже вне зависимости от количества персистирующего ВПЧ.

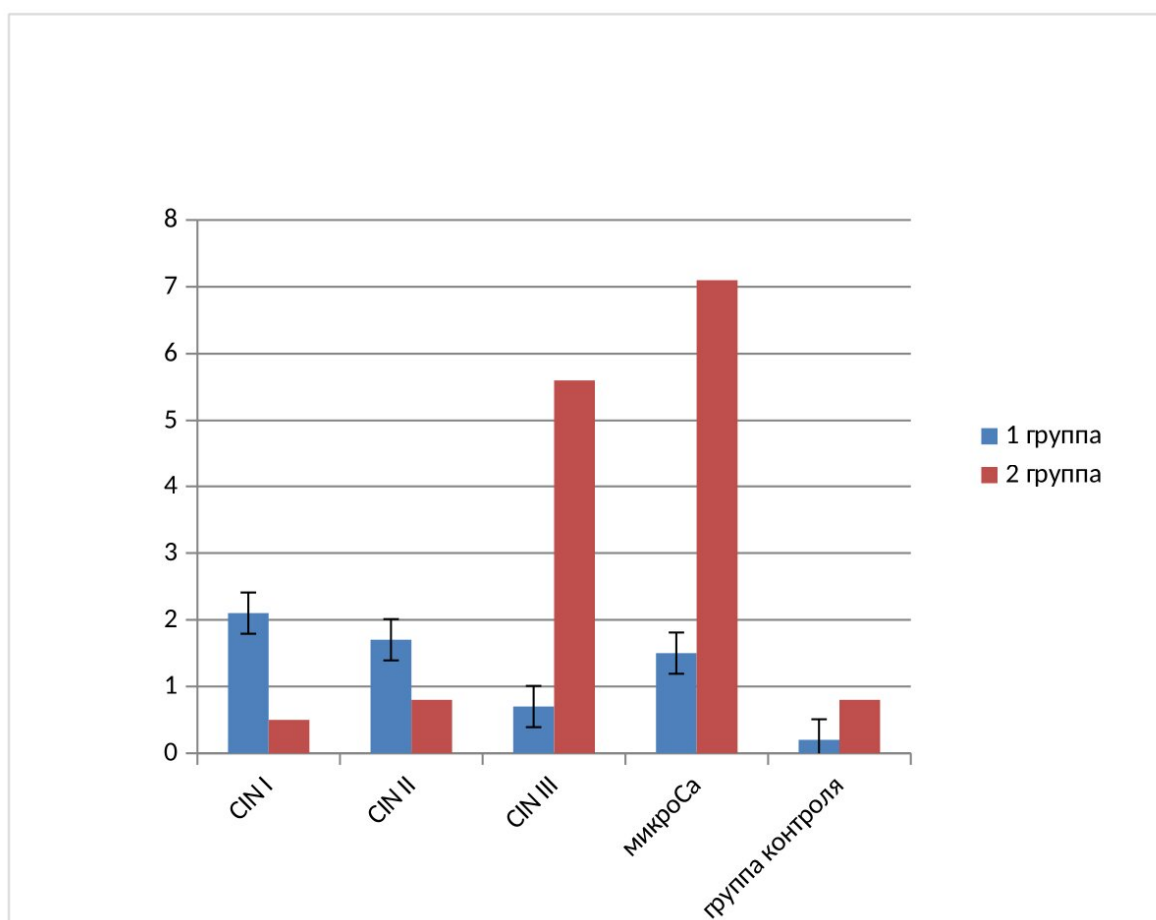


Рисунок 30 – Экспрессия белка p53 в многослойном плоском эпителии шейки матки у женщин 1 и 2 групп

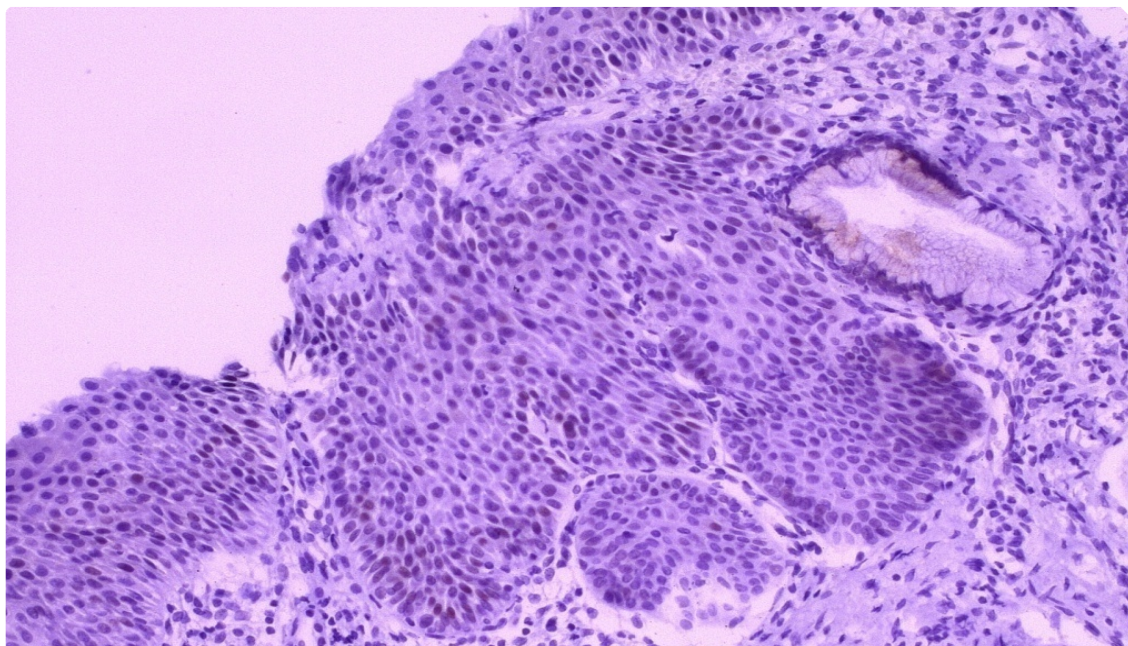


Рисунок 31 – Ядерная экспрессия белка p53 в многослойном плоском эпителии шейки матки у женщины 2 группы при CINIII. × 200.

Иммуногистохимическое исследование

При ИГХ-окраске Ki-67 позитивная ядерная реакция выявляется в клетках, которые находятся в G1-S, G2 и M фазах клеточного цикла, то есть готовятся к митозу, находятся в стадии митоза, а также еще некоторое время в постмитотическом периоде. В норме, в условиях физиологической регенерации МПЭ белок Ki-67 экспрессируется в базальном слое эпителиального пласта, располагаясь достаточно равномерно. И в 1 и 2 контрольной группах пациенток имела место именно такая локализация Ki-67-позитивных клеток, тогда как в условиях дисплазии Ki-67-позитивные клетки выявляли и в более верхних зонах, вплоть до самой поверхности эпителиального пласта, и распределялись они неравномерно.

ИМ маркера пролиферативной активности Ki-67 нарастал при прогрессировании патологического процесса в МПЭ ИМ обеих возрастных групп, однако у женщин молодого возраста он был несколько выше во всех подгруппах – в 1,4; 1,8; 1,2; 1,2 раза, соответственно (см. таблицу 5, рисунок 32), увеличившись с 17,7 % при CIN I до 73,3 % при микрокарциоме. В сравнении с

группами контроля индекс мечения достигал максимально высокого значения при микроинвазивной карциноме и у женщин 1 возрастной группы увеличился примерно в 8 раз, а у женщин 2 возрастной группы – в 11 раз.

Эти данные, вероятно, связаны с соответствующей возрасту гормональной стимуляцией многослойного плоского эпителия шейки матки, и, соответственно, с более активными процессами пролиферации на этом фоне у молодых пациенток не только в условиях нормы, но при дисплазии и микрокарциноме.

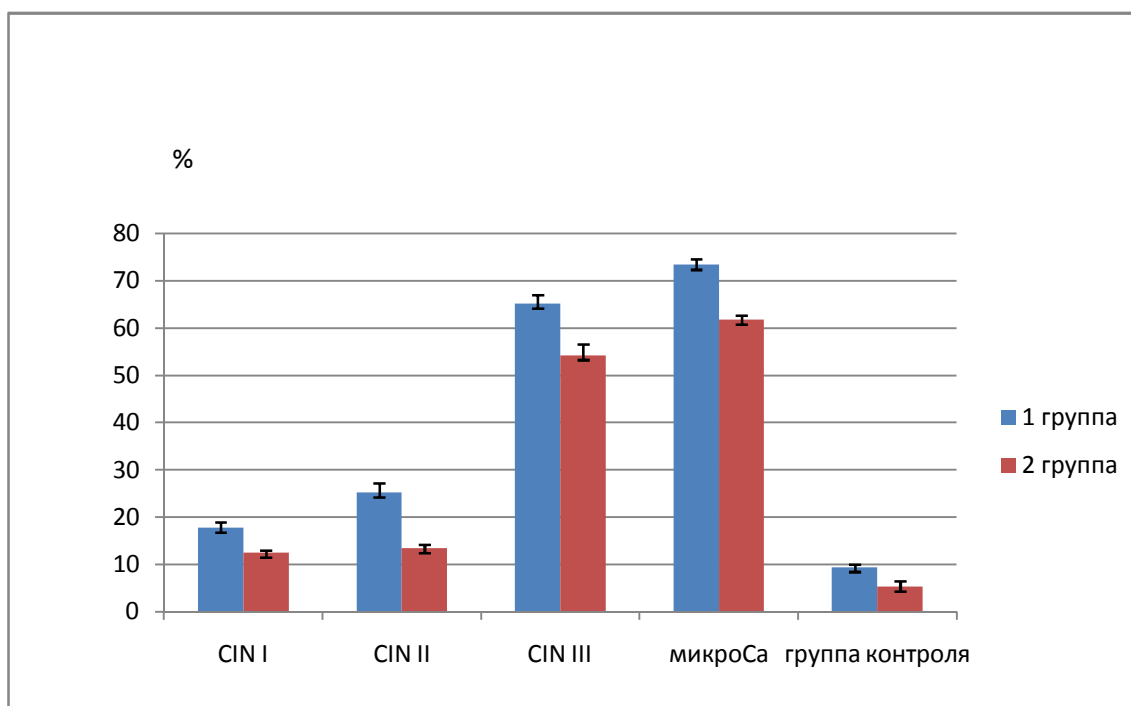


Рисунок 32 – Индекс мечения маркера пролиферативной активности Ki-67 в многослойном плоском эпителии шейки матки у женщин 1 и 2 групп

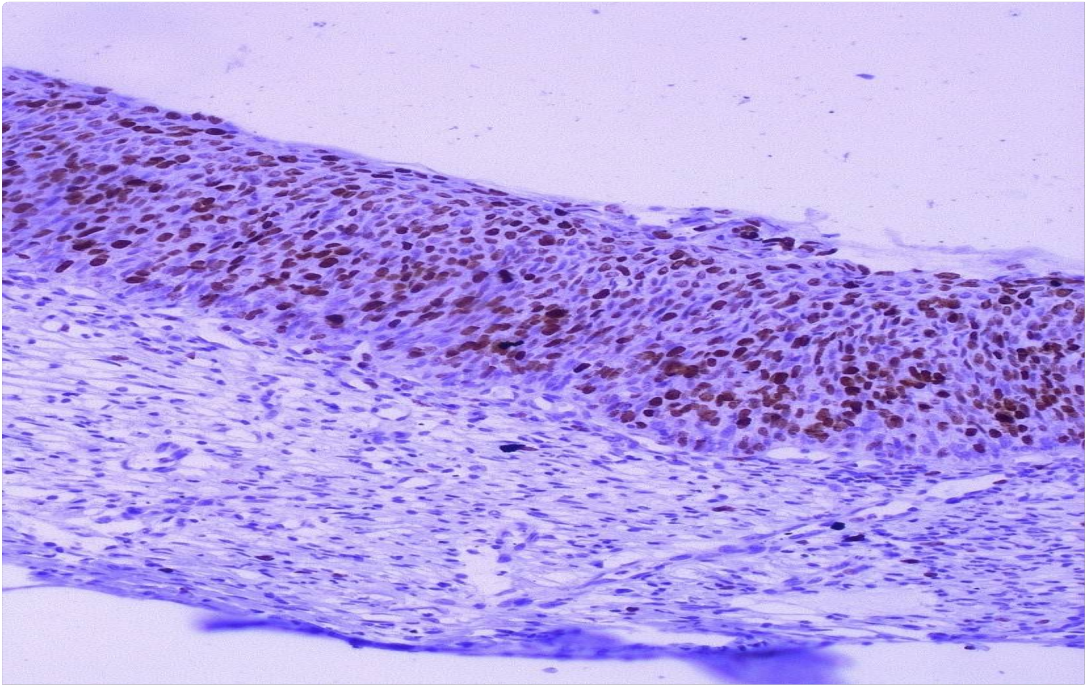


Рисунок 33 – Индекс мечения маркера пролиферативной активности Ki-67 при CINIII у пациентки 1 возрастной группы. $\times 200$.

Иммуногистохимическое исследование

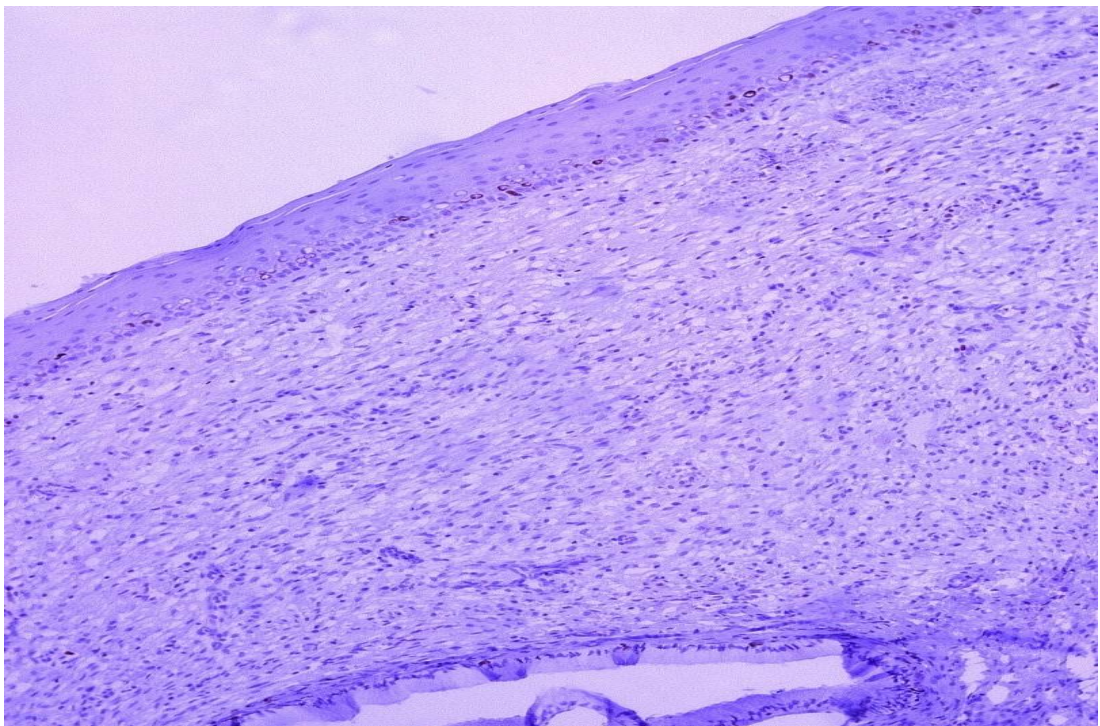


Рисунок 34 – Индекс мечения маркера пролиферативной активности Ki-67 у пациентки 2 контрольной группы. $\times 100$. Иммуногистохимическое исследование

3.6 Экспрессия матриксных металлопротеиназ, их универсального тканевого ингибитора TIMP-1 и VEGF в строме шейки матки у женщин 2 возрастных групп при диспластических изменениях и микроинвазивной карциноме

В норме и при патологии MMPs экспрессируются в цитоплазме различных клеток, в том числе в клетках стромы органов, в клетках воспалительного инфильтрата, а также в небольшом количестве клеток паренхимы органов и эпителиальных клетках, что в контрольных группах пациенток определялось в виде редких рассредоточенных по строме клеток, имеющих разную интенсивность окрашивания цитоплазмы, содержащей данные ферменты-белки (рисунки 39 и 40).

При оценке экспрессии MMPs установлено, что в обеих основных группах пациенток при прогрессировании дисплазии, в сравнении с соответствующими группами контроля, увеличивалась экспрессия MMP2, достигнув максимальных значений при микрокарциноме, в итоге увеличившись в 39 раз у молодых женщин и в 40 раз – у женщин старшего возраста (таблица 6, рисунки 35, 36, 37 и 38). Наряду с этим у женщин первой возрастной группы экспрессия MMP2 также была достоверно выше, в сравнении с показателями в старшей возрастной группе, начиная с CINII и до микроинвазивной карциномы (в 5,0; 1,2 и в 1,5 раза соответственно) (см. рисунки 35, 36, 37 и 38).

Аналогично установлено, что уровень экспрессии MMP9 увеличился в обеих основных группах, в сравнении с соответствующими группами контроля и продолжал повышаться с прогрессированием патологического процесса. Также у молодых женщин уровень экспрессии MMP9 был достоверно выше во всех подгруппах от CINI до микроинвазивной карциномы (в 4,7; 2,0; 1,5 и в 1,3 раза, соответственно) (см. рисунки 35, 36, 37, 38, 39 и 40), в сравнении с женщинами менопаузального возраста.

При этом установлено, что MMP7 экспрессировалась в самых минимальных значениях при всех степенях CIN и при микроинвазивной карциноме у женщин

обеих возрастных групп (см. таблицу 6, рисунки 35, 36, 36 и 38), тогда как в соответствующих группах контроля экспрессия данной MMP практически не встречалась. Также установлено увеличение экспрессии MMP7 параллельно с прогрессированием степени дисплазии внутри основных групп: у молодых женщин в 18 раз с 0,07 % при CIN I и до 1,3 % при микрокарциноме; у женщин менопаузального возраста в 36 раз с 0,03 % при CIN I и до 1,1 % при микрокарциноме, не имея достоверных различий между группами.

Известно, что MMP3 может оказывать влияние на экспрессию MMP9 и MMP7, способствуя их активации. В настоящем исследовании установлено, что экспрессия MMP3 в строме шейки матки была достоверно выше, в сравнении с соответствующими группами контроля и увеличивалась с прогрессированием диспластических изменений в МПЭ многослойном плоском эпителии в обеих возрастных группах (см. рисунки 35, 36, 37 и 38), также достигнув максимальных значений при микрокарциноме: у женщин 1 группы показатель увеличился в 2,5 раза, у женщин 2 возрастной группы – в 8 раз. И на фоне нарастания этого показателя в обеих группах выявлено достоверно более значимое увеличение экспрессии MMP3 у женщин молодого возраста при всех степенях диспластических изменений – в 1,7; 2,0 и в 1,7 раза соответственно, однако при микроинвазивной карциноме этот показатель достоверно не различался в обеих возрастных группах.

Любой из белков семейства TIMP поддерживает разные про-MMP в неактивном состоянии и считается, что нарушение баланса между ферментом и его ингибитором может приводить к активности MMPs. Установлено, что у женщин репродуктивного возраста уровень экспрессии универсального TIMP1 в клетках стромы и воспалительного инфильтрата был более чем в 3 раза выше при CIN I в сравнении с соответствующей группой контроля – 2,6 % против 0,7 %, однако с нарастанием степени тяжести дисплазии он снизился примерно в 5 раз: до 0,4 % при CIN III (см. рисунки 35, 36, 37 и 38) и достигал минимальных значений при микроинвазивной карциноме, снизившись в 60 раз (встречались крайне редкие единичные позитивно окрашенные клетки) (рисунки 41 и 42).

Напротив, у женщин менопаузального возраста, этот показатель от CIN I до микроинвазивной карциномы увеличился в 17 раз – достигнув значения 1,7 % против 0,03 % в соответствующей группе контроля.

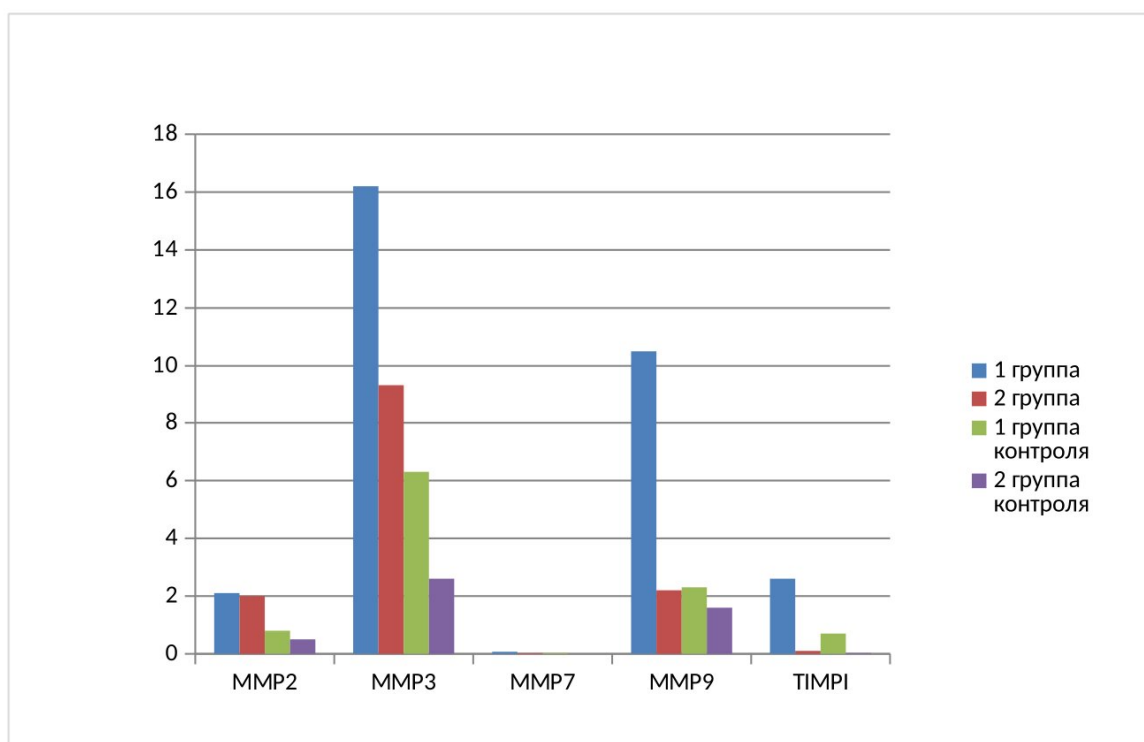


Рисунок 35 – Экспрессия MMPs и TIMP1 в строме шейки матки у женщин 1 и 2 групп при CIN I (%)

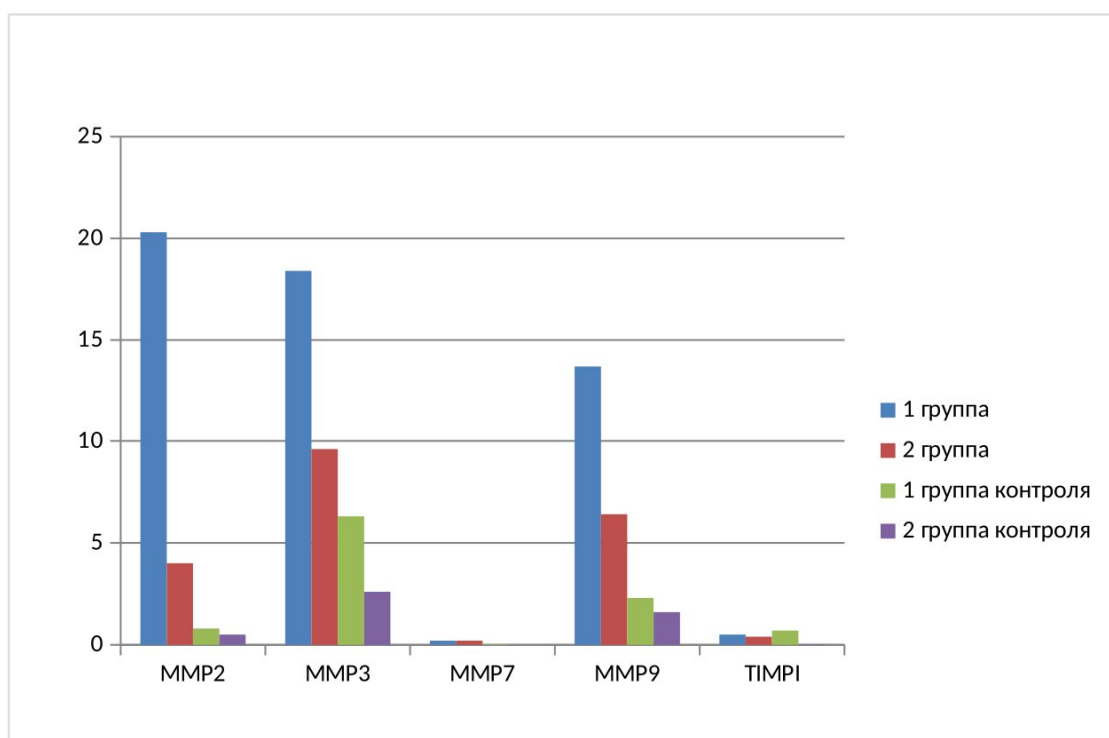


Рисунок 36 – Экспрессия MMPs и TIMP1 в строме шейки матки у женщин 1 и 2 групп при CIN II (%)

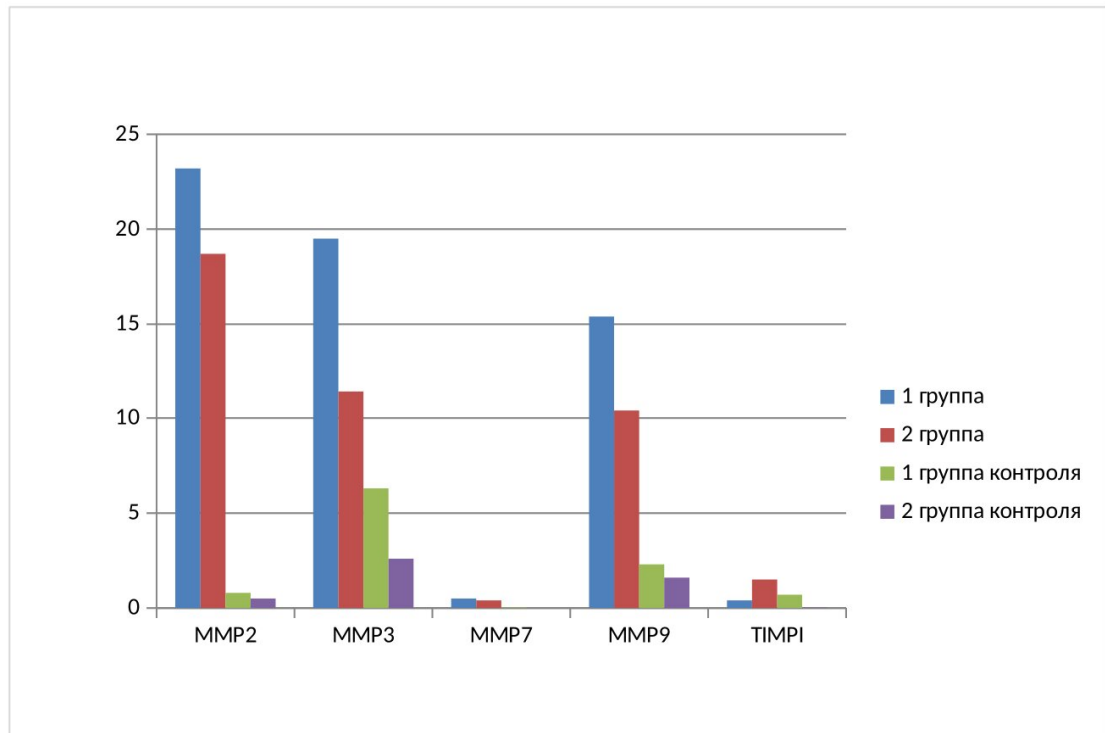


Рисунок 37 – Экспрессия MMPs и TIMP1 в строме шейки матки у женщин 1 и 2 групп при CINIII (%)

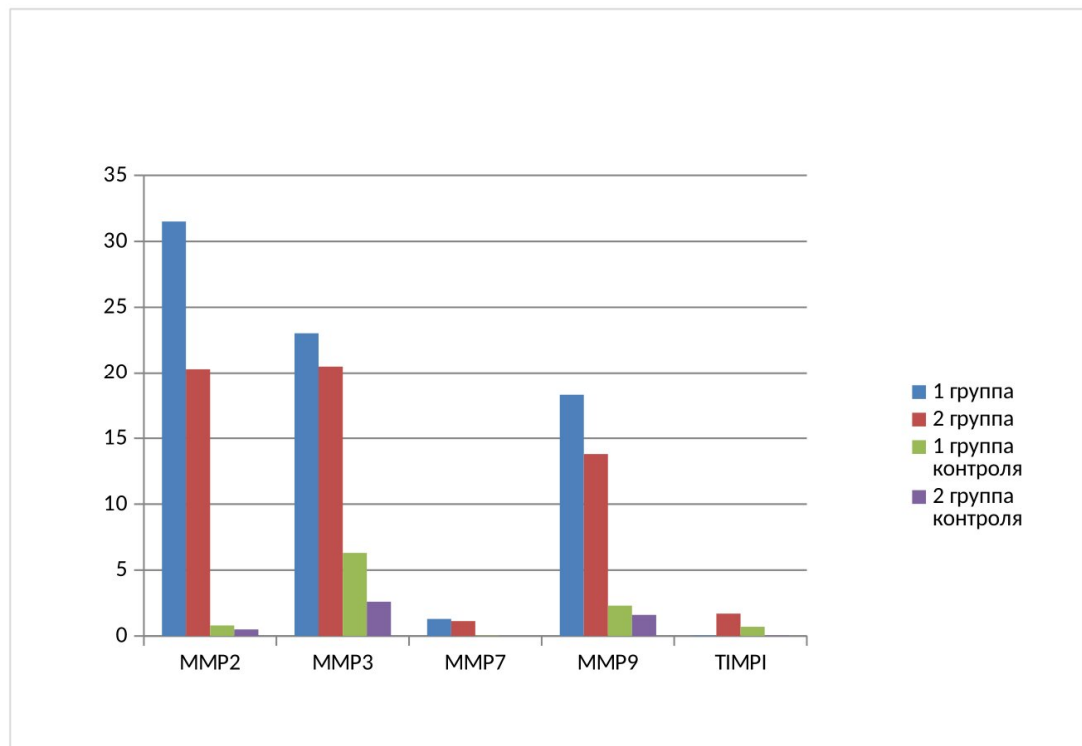


Рисунок 38 – Экспрессия MMPs и TIMP1 в строме шейки матки у женщин 1 и 2 групп при микроинвазивной карциноме (%)

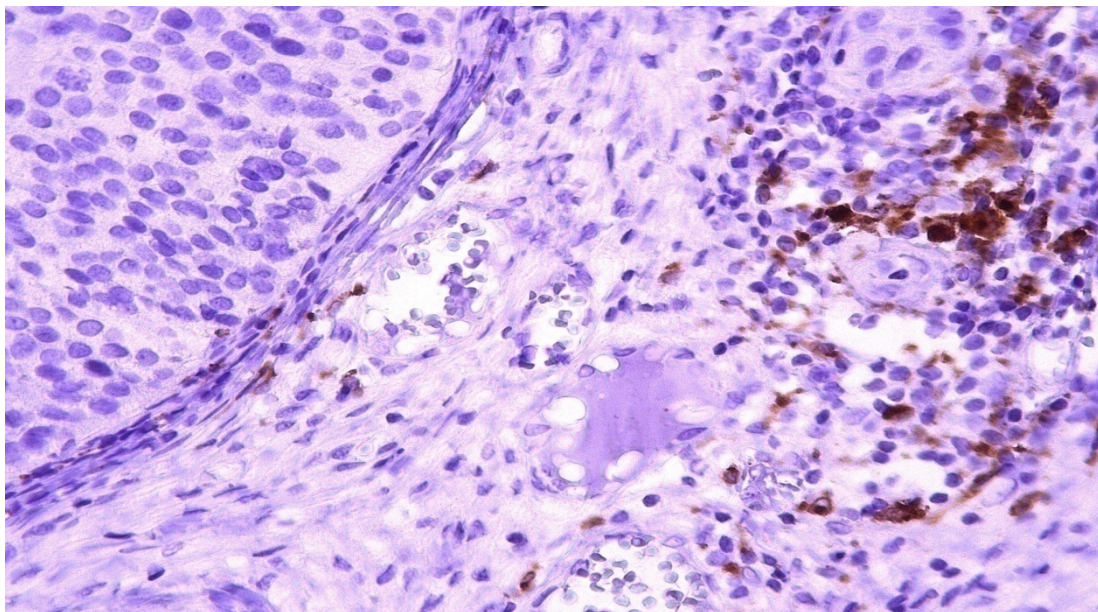


Рисунок 39 – Экспрессия MMP9 клетками воспалительного инфильтрата в строме шейки матки с микроинвазивной карциномой у пациентки 1 группы. $\times 400$.

Иммуногистохимическое исследование

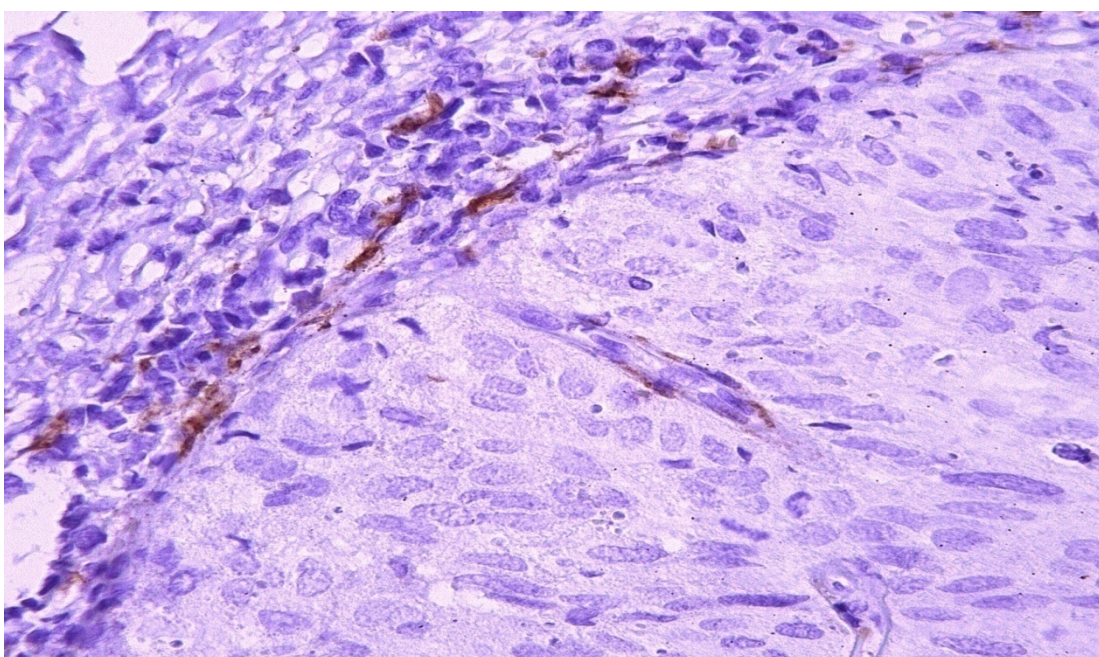


Рисунок 40 – Экспрессия MMP9 клетками воспалительного инфильтрата в шейке матки с микроинвазивной карциномой у пациентки 2 группы. $\times 400$.

Иммуногистохимическое исследование

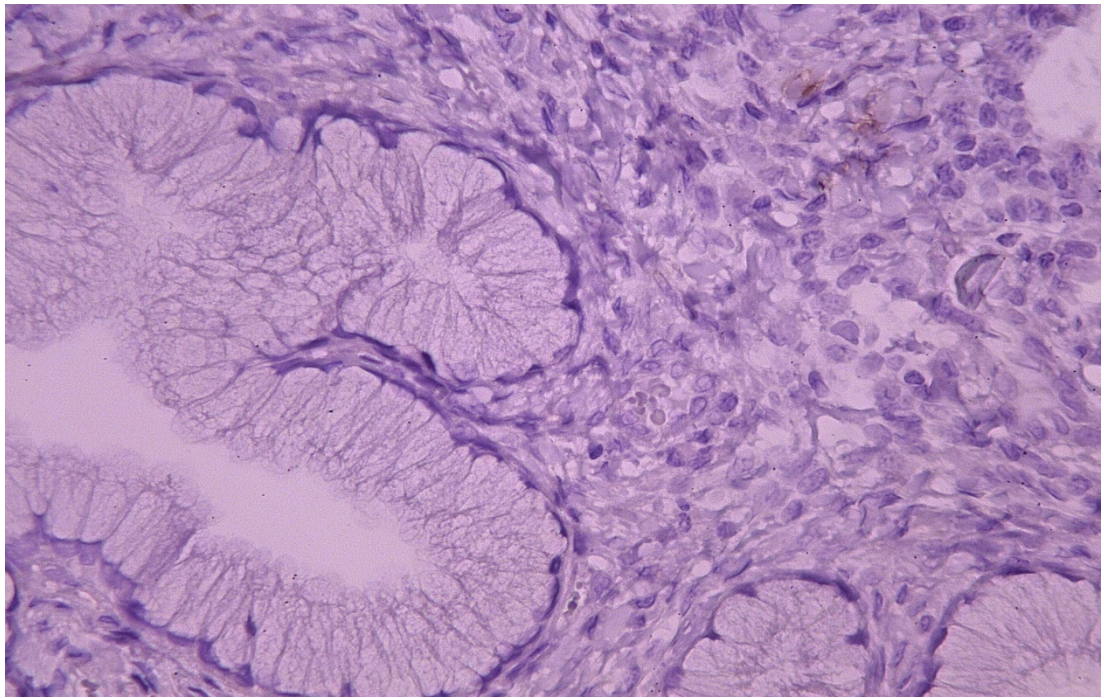


Рисунок 41 – Экспрессия TIMP1 клетками воспаления в строме шейки матки у пациентки 1 группы. $\times 400$. Иммуногистохимическое исследование

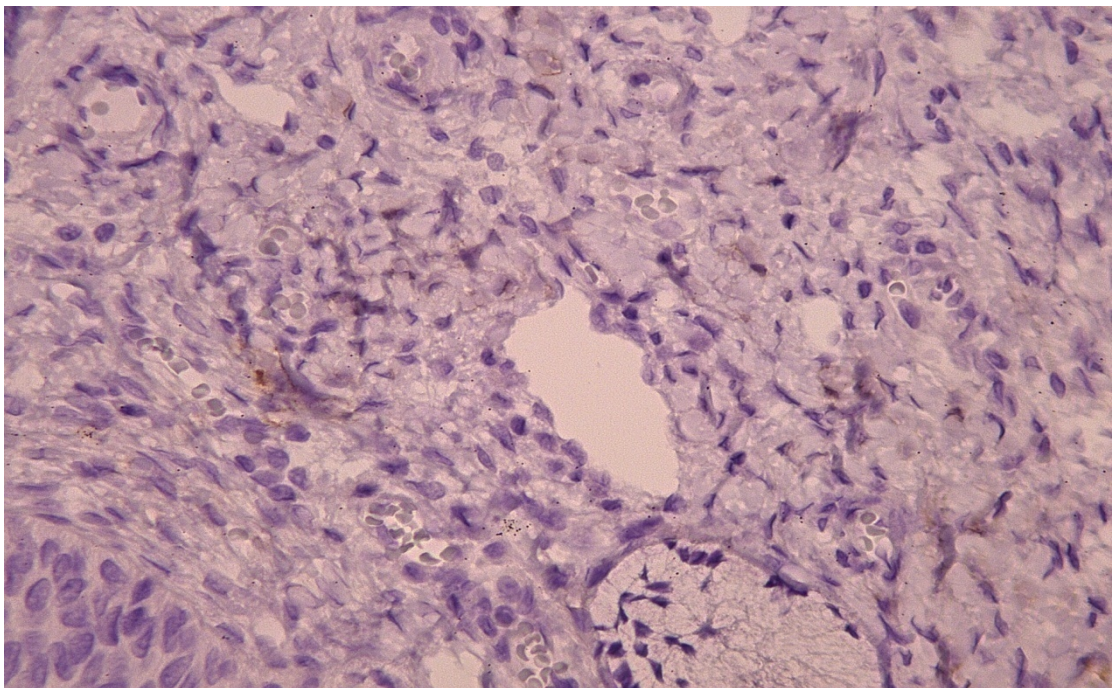


Рисунок 42 – Экспрессия TIMP1 клетками воспаления в строме шейки матки у пациентки 2 группы. $\times 400$. Иммуногистохимическое исследование

В 1 и 2 группах контроля VEGF экспрессировался в цитоплазме небольшого количества клеток – макрофагов, фибробластов, лимфоцитов в строме ШМ. С нарастанием степени дисплазии от CIN I и до микроинвазивной карциномы, у женщин молодого возраста, достоверно повышалась экспрессия VEGF с 10 % и до 29 % соответственно, увеличившись практически в 3 раза (таблица 6, рисунки 43, 44 и 45). В сравнении с группой контроля у женщин 1 возрастной группы экспрессия VEGF достигла максимального значения при микрокарциноме, увеличившись практически в 7 раз. Известно, что VEGF способствует снижению экспрессии TIMP, что может служить еще одним предрасполагающим фактором к более быстрой и агрессивной прогрессии диспластических изменений у женщин репродуктивного возраста. Как известно, его выработка стимулируется MMP 2 и 9, экспрессия которых в нашем исследовании также возрастала.

У женщин старшего возраста экспрессия VEGF также повысилась по сравнению с группой контроля при CIN I – в 1,5 раза и при CIN II – в 1,7 раза, а в дальнейшем данный показатель начал снижаться, достигнув минимального значения при микрокарциноме и был достоверно ниже, чем в соответствующей группе контроля – в 1,5 раза и в 6 раз ниже, чем у молодых женщин в соответствующей подгруппе.

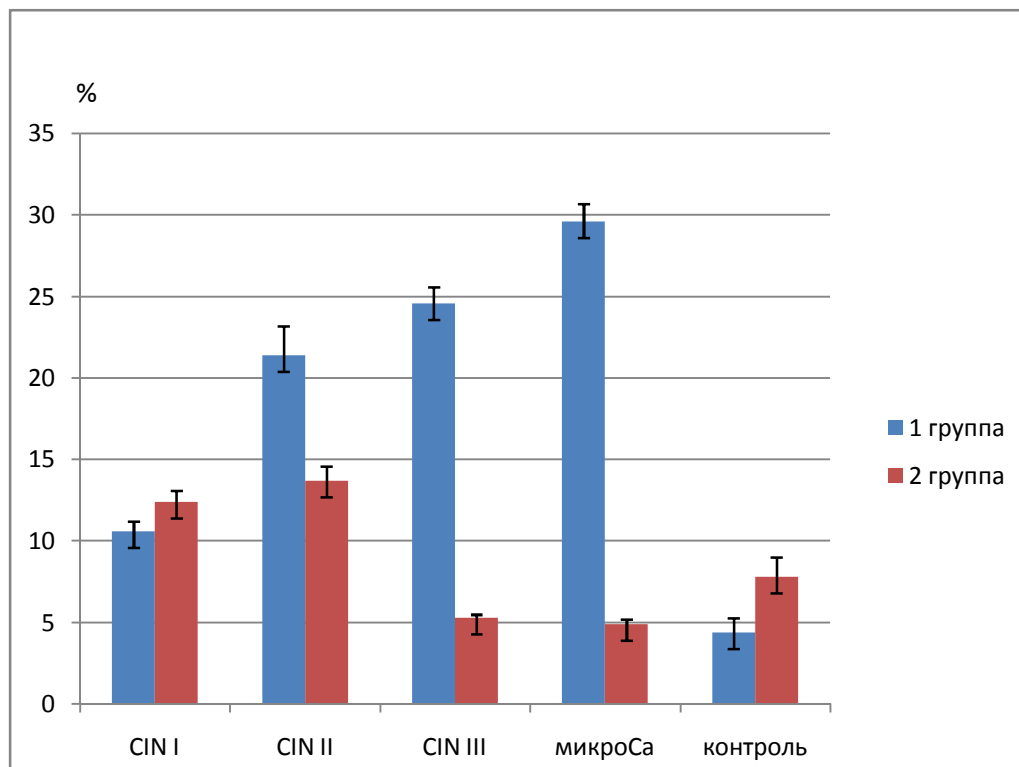


Рисунок 43 – Экспрессия VEGF в строме шейки матки у женщин 1 и 2 групп (%)

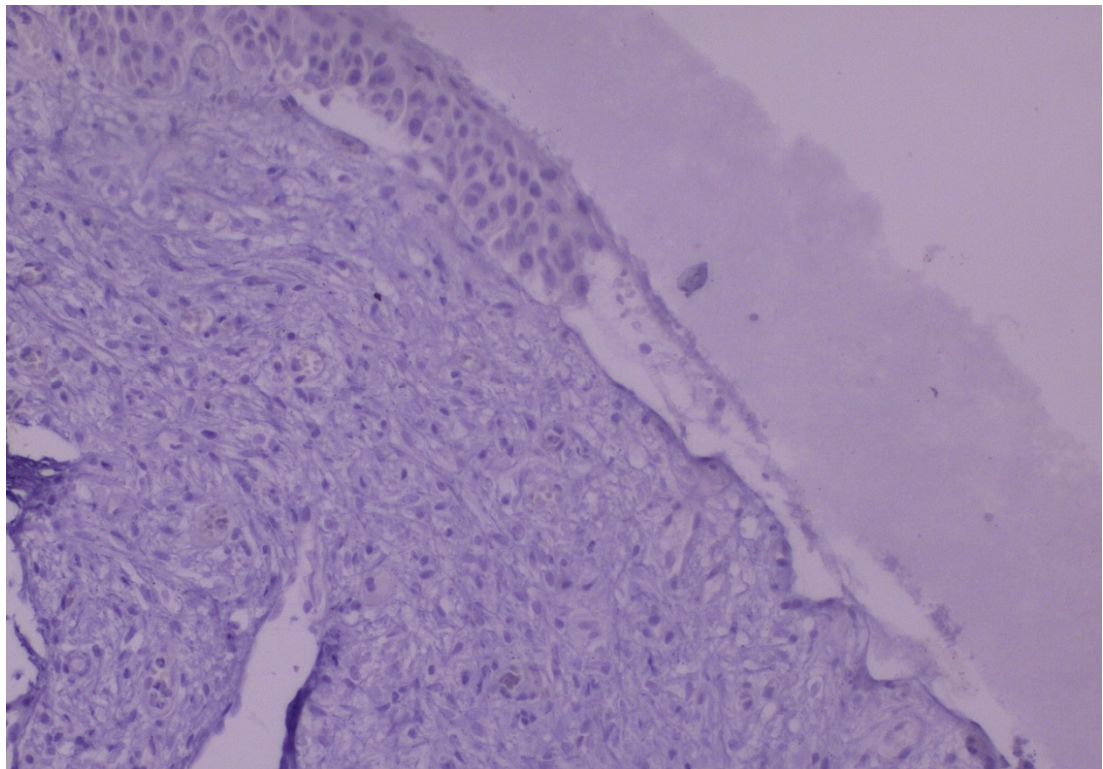


Рисунок 44 – Минимальная экспрессия VEGF в строме шейки матки у женщины 1 группы при CIN I. $\times 200$. Иммуногистохимическое исследование

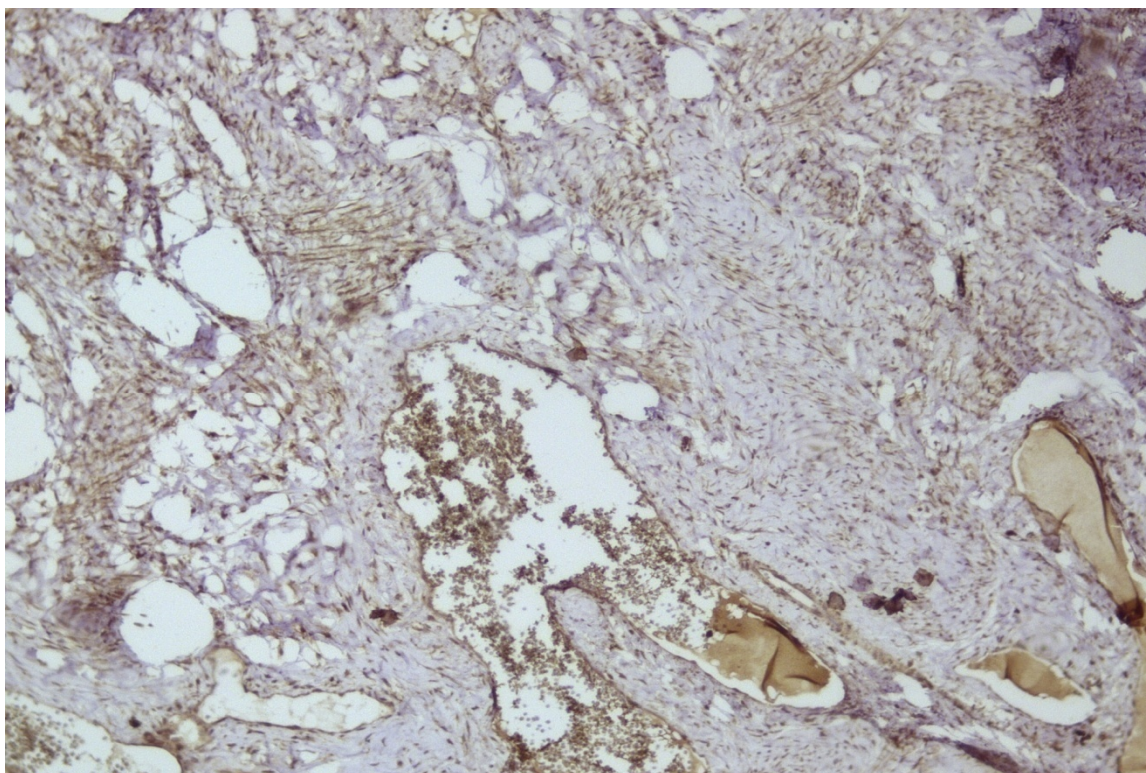


Рисунок 45 – Экспрессия VEGF в строме шейки матки у женщины 1 группы при CINIII. $\times 400$. Иммуногистохимическое исследование

3.7 Обсуждение результатов проведенного исследования

Дисплазия/интраэпителиальная неоплазия (для шейки матки используется термин цервикальная интраэпителиальная неоплазия – CIN) – это общебиологический феномен, отражающий прогрессирование нарушений внутриклеточной регуляции, реализующихся в появлении признаков морфологической (тканевой, клеточной, ультраструктурной) и других видов атипии.

Понимание закономерностей канцерогенеза на современном уровне позволяет заключить, что морфологические проявления легкой дисплазии в подавляющем большинстве случаев ассоциированы с цитокиновым дисбалансом в клеточном микроокружении в условиях травмы, воспаления, воздействия других патологических факторов, а в шейке матки одним из таких факторов является вирус папилломы человека, и примерно в 80 % случаев легкая

дисплазия, обусловленная персистенцией вируса в эпителии, реверсирует [60, 161, 196].

Дисплазия умеренной и тяжелой степени – CINII и CINIII является морфологическим отражением более значимых нарушений внутриклеточной регуляции, в подавляющем большинстве случаев ассоциированной с приобретенными мутациями в геноме, которые формируют состояние геномной нестабильности и обуславливают накопление вторичных мутаций, прогрессирование морфологической атипии, необратимость этого процесса и реализацию изменений в карциному *in situ* (для шейки матки – CIS) и инвазивную карциному.

Этот общий вектор событий в канцерогенезе многократно описан и доказан на большом количестве разных эпителиальных опухолей [36, 123, 240, 250], но сложность заключается в том, что молекулярные события/геномные повреждения индивидуальны по времени и механизму возникновения, их сочетанию. Это приводит к тому, что у конкретного пациента сегодня не представляется возможным сделать полногеномный анализ для однозначного прогноза темпов прогрессирования либо возможного регресса его диспластичных изменений.

Сегодня идет разработка программ и методов комплексной оценки состояния генов, наиболее часто задействованных в процессе канцерогенеза – генов, регулирующих пролиферацию, апоптоз, репарацию ДНК и других. Например, по ряду программ США и Израиля проводится оценка состояния некоторого количества генов комплексом методов (ПЦР, секвенирование, ИГХ), но это, во-первых, очень дорого, поэтому пока не может быть общедоступным, во-вторых, не охватывает всех вариантов возможных генетических нарушений. Разработка и внедрение таких программ происходит и в России.

Исходя из этого, является актуальным поиск косвенных суррогатных маркеров, которые бы отражали сущность неблагоприятных генетических нарушений и могли бы использоваться в ежедневной морфологической практике.

Одним из способов решения этой задачи является использование иммуногистохимического метода, позволяющего выявлять конкретно в ткани

белки-продукты экспрессии генов. По изменению количества белка и его локализации можно косвенно судить об имеющихся молекулярных нарушениях в клетке.

На современном этапе в шейке матки для оценки неблагоприятного влияния ВПЧ на геном эпителиальной клетки используют иммуногистохимический метод с выявлением экспрессии белков p16 и Ki-67 в МПЭ [55, 71], это дает наиболее объективную и полную оценку происходящим процессам, в частности позволяет определить "пролиферативный потенциал" клеток, спрогнозировать темп развития инвазивной опухоли из диспластичного эпителия, оценить скорость роста новообразования, риск возникновения и распространения метастазов, возможный ответ на терапию или эффективность уже проведенного лечения.

Учитывая высокую инфицированность ВПЧ и растущие показатели заболеваемости РШМ в России и в мире [33, 179], является актуальным поиск дополнительных морфологических маркеров/критериев, позволяющих оценить глубину молекулярно-генетических нарушений, выявить статистически значимые морфологические признаки, что позволит более адекватно оценить проявления дисплазии в ШМ, прогнозировать течение процесса и провести адекватное лечение.

Кроме того, необходимо учитывать, что эпителий ШМ гормонально-зависим – его пролиферация регулируется стероидными гормонами, поэтому является актуальным рассмотрение особенностей диспластических изменений у женщин разного возраста, однако работ, в которых бы было проведено сравнительное исследование этого аспекта не встречено.

В данной работе предприняты попытки провести патоморфологическое исследование биоптатов ШМ с дисплазией разной степени выраженности и микроинвазивной карциномой у женщин разных возрастных групп, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска, а также оценить экспрессию ряда иммуногистохимических маркеров, характеризующих пролиферацию, апоптоз, ангиогенез, инвазивный потенциал, состояние эпителиально-мезенхимального перехода, оценить экспрессию

рецепторов эстрогенов и прогестерона в эпителии и строме ШМ.

В исследование включены две возрастные группы: 1 группу составили женщины репродуктивного возраста от 20 до 35 лет с: CINI, CINII, CINIII и микроинвазивной карциномой; во 2 группу вошли женщины менопаузального возраста от 49 до 65 лет также с: CINI, CINII, CINIII и микроинвазивной карциномой.

Установлено, что у женщин молодого возраста с ВПЧ-инфекцией чаще встречаются цервикальная интраэпителиальная неоплазия умеренной и тяжелой степени, а также микроинвазивная карцинома, составляя суммарно более 72 % от всех случаев, тогда как у женщин старше 49 лет в большинстве случаев имела место цервикальная интраэпителиальная неоплазия легкой степени (более 42 % от всех случаев). Это связано с тем, что наибольший патогенный эффект ВПЧ проявляется у женщин молодого возраста, способствуя развитию у них диспластических изменений тяжелой степени, что показано и в других исследованиях [22, 60, 133].

Морфометрическая оценка эпителия шейки матки в условиях дисплазии разной степени выраженности, ассоциированной с персистенцией ВПЧ высокого онкогенного риска, продемонстрировала более активные процессы пролиферации в эпителии у женщин репродуктивного возраста при всех степенях CIN в сравнении с женщинами старшей возрастной группы.

В условиях дисплазии получен дисбаланс в экспрессии рецепторов к стероидным гормонам в МПЭ, имеющий различия в возрастных группах.

У женщин старшей возрастной группы установлена более высокая экспрессия ER в многослойном плоском эпителии ШМ – это может быть результатом недостаточности выработки гормонов, и как следствие – остаются «свободные» не израсходованные рецепторы и компенсаторно экспрессируются дополнительные.

У пациенток репродуктивного возраста более низкая экспрессия ER в эпителии ШМ, видимо, связана с достаточной или повышенной выработкой эстрогенов, которые расходуют рецепторы, а синтез новых нарушается из-за

нарастания клеточной атипии в эпителиоцитах. А сама выработка эстрогенов способствует более активной клеточной пролиферации в эпителии ШМ данной группы женщин. Аналогичная закономерность показана в ряде исследований, проведенных намного ранее [48, 200].

Значительно ранее, еще до установленной роли HPV в патогенезе РШМ и изученных молекулярных механизмов канцерогенеза и роли рецепторов, Horing E. (1952) сделал предположение о возможной роли эстрогенов в развитии опухолей в шейке матки. На основании клинических исследований аналогичный вывод сделан позднее в цикле работ Киселева В. И. с соавторами [46, 48].

Установлена более высокая экспрессия PR в эпителии ШМ у женщин 1 контрольной группы, а также при дисплазии легкой степени у молодых женщин, что может быть обусловлено достаточной выработкой эстрогенов у них, которые в свою очередь способствуют синтезу PR, как в нормальных условиях, так и при CIN I (при которой еще не сформировались глубокие нарушения клеточного цикла). Однако при прогрессировании патологического процесса экспрессия рецепторов, снизившись, была примерно на одном уровне у женщин обеих основных групп, что вероятно обусловлено клеточной атипией и неспособностью клеток отвечать на поступающие эстрогеновые сигналы. Таким образом, в условиях умеренной и тяжелой дисплазии эпителия и при микрокарциноме эпителиальные клетки теряют способность синтезировать рецепторы в нормальном количестве, даже у молодых женщин, имеющих достаточный гормональный фон.

Выявленный дисбаланс в экспрессии ER и PR в строме шейки матки у женщин основных групп, в сравнении с соответствующими группами контроля, вероятно, связан с тем, что на фоне дисплазии МПЭ, имеет место нарастание иммунного воспаления в строме с запуском воспалительного цитокинового каскада, который способствует нарушению экспрессии рецепторов [103, 110, 208]. И, вероятно, в связи с этим у молодых женщин экспрессия ER в строме ШМ при прогрессировании дисплазии несколько снижалась и, начиная с CIN II до микрокарциномы, количество позитивно окрашенных клеток было достоверно

ниже, чем у женщин 2 возрастной группы.

Экспрессия PR в строме ШМ у женщин обеих возрастных групп увеличивалась с прогрессированием диспластических изменений, вплоть до микроинвазивной карциномы. Вероятно, у женщин репродуктивного возраста увеличение экспрессии рецепторов к прогестерону в строме ШМ связано с эстрогенией, а у женщин старшего возраста, возможно, это является компенсаторной реакцией из-за снижения уровня стероидных гормонов.

По мнению ряда авторов, в том числе Казачкова Е. Л. с соавторами (2014), для развития дисплазии и РШМ дисбаланс гормонов и их рецепторов имеет важное значение [41]. Соответственно, установленные в нашем исследовании различия в рецепторном статусе эпителия и стромы ШМ сочетались с различиями в морфометрических показателях в условиях дисплазии разной степени и при микрокарциноме, ассоциированных с ВПЧ высокого онкогенного риска.

У женщин старшей возрастной группы показатели толщины эпителия в целом были ниже, что, вероятно, связано с процессами атрофии, развивающимися на фоне возрастного снижения эстрогенной насыщенности тканей, снижения пролиферативной активности и замедления созревания клеток, на что также указывают работы исследователей [13, 247] и наши собственные данные, демонстрирующие более низкий показатель ИМ Ki-67 у пациенток этой группы (он был несколько ниже во всех подгруппах – в 1,4; 1,8; 1,2; 1,2 раза, соответственно).

Распространенность койлоцитической трансформации эпителиоцитов была выше в 1 группе, поскольку молодые женщины являются наиболее уязвимой группой по инфицированности ВПЧ и, вероятно, вирусная нагрузка у них в эпителии выше, что соотносится с данными Doorbar J. и соавт. (2012) [283].

При прогрессировании CIN, а соответственно и нарастании клеточной атипии, проявления койлоцитоза встречаются значительно реже в обеих возрастных группах, что отражает дисбаланс в нормальном клеточном цикле, а соответственно нарушается процесс репликации вируса и его накопление в цитоплазме эпителиоцитов, вне зависимости от возраста.

В группе женщин молодого возраста лейкоплакия выявлена у 25 человек, большая часть из которых встречена при дисплазии легкой степени – 56 % (у 14 человек). При прогрессировании патологического процесса встречаемость лейкоплакии снижалась в обеих группах, и при дисплазии тяжелой степени признаков ороговения не было встречено ни у одной пациентки в обеих группах, при микрокарциноме – единичные случаи. Из выше сказанного можно заключить, что у пациенток обеих групп нарастание клеточной атипии в эпителии сопровождается утратой способности к ороговению. Данное обстоятельство подтверждается тем, что в структуре плоскоклеточного рака шейки матки неороговевающий плоскоклеточный рак встречается наиболее часто [83, 84, 246].

Оценка выраженности воспалительно-клеточной перифокальной инфильтрации в строме шейки матки HPV-инфицированных пациенток в условиях предопухолевого процесса имеет важное значение. Необходимо учитывать, что персистенция HPV является триггером для развития воспалительных реакций, выраженность которых зависит как от вирусной нагрузки, так и от иммунитета пациента. Но, с появлением и нарастанием морфологической и антигенной атипии, в патогенезе воспалительно-клеточных реакций все большую роль имеет противоопухолевая направленность перифокальной инфильтрации с соответствующим противоопухолевым цитокиновым профилем – формированием своеобразного микроокружения, которое, в свою очередь, также зависит от гормонального статуса человека, активности иммунных реакций и прочего [54, 94].

В условиях дисплазии у пациенток репродуктивного и перименопаузального возраста, в сравнении с соответствующими группами контроля, имеет место более выраженная перифокальная воспалительная реакция в строме шейки матки, которая увеличивалась с прогрессированием патологического процесса. А также установлено, что у пациенток репродуктивного возраста данный показатель был примерно в 2 раза выше, чем у пациенток старшей возрастной группы во всех подгруппах и даже в группе контроля.

При наличии интраэпителиальной дисплазии установленная более значительная выраженность перифокальной воспалительной реакции у молодых женщин, вероятно, обусловлена более высокой вирусной нагрузкой и частым наличием других инфекционных агентов, так как они ведут активную половую жизнь и, соответственно, находятся в группе риска по инфицированности заболеваниями, передающимися половым путем, а также более активными иммунными реакциями, регулируемые стероидными гормонами, что также было показано в работах Кононова А. В. и др. [54, 104, 110, 199].

Исследование клеточного состава воспалительного инфильтрата свидетельствует о большей активности перифокальной воспалительной реакции в строме шейки матки в более молодом возрасте, что проявлялось наличием у них в инфильтрате большего количества нейтрофилов и эозинофилов, в частности и при CINIII и микроинвазивной карциноме, составив суммарно – 20 % и 14 %, соответственно, тогда как у пациенток 2 группы их доля суммарно составила только 3 % и 6 %, соответственно. Следовательно, пациентки репродуктивного возраста имеют и более высокий клеточный потенциал для синтеза веществ, разрушающих экстрацеллюлярный матрикс и способствующих прогрессии дисплазии и инвазивному росту опухоли.

Напротив, у женщин старшего возраста при наличии диспластичных изменений отмечены более активные процессы фиброзирования в строме шейки матки во всех подгруппах – численная плотность фибробластов у них была примерно в 2 раза выше, чем у молодых пациенток, а на микроскопическом уровне отмечена большая выраженность склеротических изменений стромы.

Как известно, MMPs могут синтезироваться клетками воспаления и в исследовании установлено, что доля лимфоцитов в составе воспалительного инфильтрата в шейке матки была выше в соотношении с другими клетками у женщин всех подгрупп, при этом именно лимфоциты продуцируют воспалительные цитокины, которые стимулируют продукцию MMPs [140, 160].

В обеих возрастных группах пациенток с нарастанием степени дисплазии, вплоть до микроинвазивной карциномы, увеличивалась экспрессия MMPs, что,

вероятно, связано с нарастанием атипии, перестройкой эпителия и биохимическими изменениями прилежащей стромы, которая начинает продуцировать различные ростовые факторы, такие как эпидермальный ростовой фактор, сосудистый ростовой фактор, а они, в свою очередь, индуцируют экспрессию MMPs [262, 276].

Установлено достоверное нарастание экспрессии MMPs с прогрессированием диспластических изменений в обеих возрастных группах и данный показатель также был достоверно выше у молодых женщин в каждой подгруппе, что, видимо, ассоциировано с более выраженным и активным воспалительным процессом в строме шейки матки у них.

Под действием MMPs высвобождаются ангиогенные факторы роста, в том числе VEGF, в частности MMP2 и -9 являются основными в регуляции ангиогенеза [24, 229, 302], в настоящем исследовании установлено, что у женщин 1 группы с прогрессированием патологического процесса нарастала экспрессия VEGF, что, вероятно, связано с более значительной экспрессией MMPs, более выраженным и активным воспалением в строме шейки матки.

Иммунная воспалительная инфильтрация в шейке матки играет роль защитной реакции в условиях HPV-инфекции и одновременно является проявлением противоопухолевого иммунитета в условиях появления атипичных клеток в процессе прогрессирования дисплазии [54]. Но наряду с защитными механизмами воспаление может оказывать проинвазивный эффект, индуцируя расщепление внеклеточного матрикса металлопротеиназами.

Более высокий уровень экспрессии TIMP1 у женщин старшего возраста может являться одним из факторов, способствующих снижению синтеза MMPs у них [62, 315].

Возможно, когда уровень MMPs превышает некое «пороговое» значение, происходит снижение экспрессии TIMP1 и это, вероятно, связано с тем, что он расходуется и перестает синтезироваться в нужном количестве у женщин молодого возраста, таким образом, способствуя деградации внеклеточного матрикса металлопротеиназами, проявляя их проинвазивный потенциал.

Поэтому большая выраженность воспалительных реакций у молодых женщин – прогностически плохой признак, ассоциированный с облегчением инвазии при интраэпителиальной неоплазии и вероятного более быстрого метастазирования у женщин с инвазивной карциномой, что и отмечается в ряде клинических исследований, которые подчеркивают более высокую заболеваемость раком шейки матки у молодых женщин и более агрессивное течение заболевания у них [50, 251].

Снижение экспрессии TIMP1 у женщин молодого возраста также может быть связано с повышенной экспрессией VEGF, который, как доказано, обладает способностью к снижению синтеза TIMP [252, 310].

Таким образом, выявление уровня экспрессии металлопротеиназ и их соотношения с TIMP1 – важный дополнительный критерий оценки прогноза прогрессирования интраэпителиальной неоплазии в шейке матки у женщин разных возрастных групп.

Как известно, гормональный фон способен регулировать процессы пролиферации в эпителии ШМ. Индекс мечения маркера пролиферативной активности Ki-67 был выше у женщин репродуктивного возраста при всех степенях диспластических изменений и при микрокарциноме, что вероятно связано с соответствующей возрасту гормональной стимуляцией многослойного плоского эпителия шейки матки, и, соответственно, с более активными процессами пролиферации на этом фоне у молодых пациенток не только в условиях нормы, но и при дисплазии.

У ВПЧ-инфицированных женщин репродуктивного возраста экспрессия белка p16 в эпителии ШМ была достоверно выше при CIN I и II в сравнении с женщинами 2 группы, соответственно. Вероятно, это связано с тем, что у женщин молодого возраста вирусная нагрузка более высокая, и она способствует более частому разобщению в процессе клеточного цикла и экспрессии данного белка при разных степенях дисплазии, что согласуется с рядом исследований [80, 218, 300, 301].

Однако при CIN III и микрокарциноме этот показатель значительно не

различался в обеих возрастных группах и это обусловлено уже более глубокими нарушениями в клеточном цикле, когда белок экспрессируется уже вне зависимости от количества вируса в клетках, а иногда и его наличия.

Значительное увеличение экспрессии белка p53 у пациенток старшего возраста при CINIII и микрокарциноме, вероятно, отражает имеющиеся у них более значимые нарушения регуляции клеточного цикла эпителиальных клеток с экспрессией не только «дикого», но и мутантного белка p53 [41, 169, 203]. Вероятно, это может быть связано с тем, что в течение жизни женщины накапливают различные мутации, влияющие на процессы апоптоза, даже вне зависимости от количества персистирующего ВПЧ.

Также можно предположить, что у пациенток репродуктивного возраста, инфицированных ВПЧ высокого онкогенного риска с CINI и CINII, гиперпродукция белка p16 отражает на каком-то этапе адаптивные процессы. Тогда как у женщин менопаузального возраста, инфицированных ВПЧ высокого онкогенного риска, имелась возможность элиминировать вирус через активацию процесса апоптоза и это проявляется гиперэкспрессией белка p53, таким образом, у них развитие диспластических изменений в эпителии шейки матки имеет отсроченный эффект – регистрируются в более старшем возрасте и с меньшей выраженностью клеточной пролиферации и воспаления, снижением продукции MMPs.

Установленные возрастные различия в микроскопических и иммуногистохимических характеристиках структурных компонентов шейки матки необходимо учитывать в оценке стадий диспластических изменений многослойного плоского эпителия и определении тактики лечения пациенток разных возрастных групп.

ВЫВОДЫ

1. Диспластические изменения в эпителии шейки матки у пациенток репродуктивного возраста, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска, чаще проявляются в виде CINII, III и микроинвазивной карциномы – суммарно в 72 % случаев, тогда как у пациенток менопаузального возраста 42 % случаев составила CINI. По данным морфометрии в условиях дисплазии пациентки репродуктивного возраста имеют более выраженные микроскопические признаки пролиферации в многослойном плоском эпителии шейки матки при всех степенях CIN.

2. В условиях диспластических изменений эпителия шейки матки у пациенток обеих возрастных групп, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска, имеет место более выраженная перифокальная воспалительная реакция в строме шейки матки в сравнении с группами контроля. При этом у пациенток репродуктивного возраста в условиях дисплазии морфологические проявления воспалительной реакции более выраженные – это установлено на основании большей объемной плотности клеток воспалительного инфильтрата, более высокой активности воспаления. У пациенток менопаузального возраста преобладают склеротические процессы в строме на фоне меньшей выраженности воспалительной реакции, при всех степенях CIN и при микроинвазивной карциноме.

3. У пациенток репродуктивного возраста с интраэпителиальным поражением шейки матки, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска, на фоне более выраженного дисбаланса в экспрессии рецепторов к стероидным гормонам, в сравнении с пациентками старшей возрастной группы, имеют место различия в реакции клеточного микроокружения на диспластические изменения, свидетельствующие о возможном более быстром и агрессивном разрушении внеклеточного матрикса и базальной мембраны, новообразовании сосудов у пациенток репродуктивного возраста, что проявляется прогрессивным более значимым нарастанием индекса

мечения металлопротеиназ 2, 3 и 9 в эпителии и клетках стромы, экспрессии VEGF. Экспрессия металлопротеиназы 7 невысокая в обеих возрастных группах, однако она увеличивается от CIN I к микроинвазивной карциноме и не имеет достоверного различия между возрастными группами. У пациенток менопаузального возраста TIMP-1 экспрессируется в большем количестве при всех степенях дисплазии, достигая при микрокарциноме в 42 раза более высокого значения, чем у пациенток репродуктивного возраста, у которых экспрессия данного маркера, напротив, снижается в 60 раз с прогрессированием патологического процесса.

4. Выявленные изменения в экспрессии белков p16, p53 и маркера пролиферативной активности Ki-67 в диспластичном многослойном плоском эпителии шейки матки свидетельствуют об имеющихся различиях в дисбалансе клеточного цикла у пациенток репродуктивного и менопаузального возраста, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска:

а) при CIN I и CIN II у пациенток репродуктивного возраста белок p16 в эпителии шейки матки экспрессируется в 4,5 и 2,5 раза большем количестве в сравнении с показателями у пациенток менопаузального возраста, но при CIN III и микроинвазивной карциноме экспрессия данного белка не имеет достоверных различий между группами;

б) у пациенток менопаузального возраста экспрессия маркера апоптоза – белка p53 нарастает с прогрессированием патологического процесса и в сравнении с пациентками репродуктивного возраста при микроинвазивной карциноме его экспрессия выше в 4 раза;

в) индекс мечения маркера пролиферативной активности – Ki-67 у пациенток репродуктивного возраста при всех степенях дисплазии многослойного плоского эпителия шейки матки и микрокарциноме был приблизительно в 1,5 раза выше, чем у пациенток менопаузального возраста.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные данные различий в составе и выраженности воспалительного инфильтрата, гормонального профиля и рецепторного статуса ткани шейки матки могут послужить обоснованием необходимости учета индивидуальных особенностей тканевых реакций у женщин разного возраста в условиях инфицирования вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска.

2. Определение изменений в системе металлопротеиназы / тканевые ингибиторы металлопротеиназ может быть положено в основу методических подходов для прогнозирования индивидуальных рисков прогрессирования интраэпителиальной неоплазии в шейке матки и метастазирования микроинвазивной карциномы.

3. Данные о роли матриксных металлопротеиназ и их тканевого ингибитора – TIMP1 в пато- и морфогенезе предопухолевых изменений в шейке матки позволяют обосновать их внедрение в протокол патоморфологического исследования биоптатов шейки матки для прогнозирования течения болезни в возрастном аспекте и для разработки индивидуального подхода к лечению цервикальной интраэпителиальной неоплазии и микроинвазивной карциномы шейки матки у пациенток, инфицированных вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВПЧ	вирус папилломы человека
ИГХ	иммуногистохимия
ИМ	индекс мечения
МПЭ	многослойный плоский эпителий
ПВИ	папилломавирусная инфекция
РШМ	рак шейки матки
ШМ	шейка матки
ЭМП	эпителиально-мезенхимальный переход
CIN	цервикальная интраэпителиальная неоплазия
ER	эстрогеновые рецепторы
HPV	human papillomavirus
PR	прогестероновые рецепторы
SIL	плоскоклеточное интраэпителиальное поражение
MMPs	металлопротеиназы
TIMP	тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ
VEGF	сосудистый эндотелиальный ростовой фактор

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия : руководство / Г. Г. Автандилов – М. : Медицина, 1990. – 384 с.
2. Андреева, Ю. С. Роль нейтрофилов в регуляции микробиоценоза влагалища женщин : специальность 14.00.36 «аллергология и иммунология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Андреева Юлия Сергеевна ; Челябинская государственная медицинская академия, Южно-Уральский научный центр РАМН. – Челябинск, 2005. – 150 с. – Библиогр.: с. 128–149. – Текст : непосредственный.
3. Андреева, Ю. Ю. Опухоли тела и шейки матки. Морфологическая диагностика и генетика. Руководство для врачей / Ю. Ю. Андреева, Н. В. Данилова, Л. Э. Завалишина ; под ред. Ю. Ю. Андреевой, Г. А. Франка. – М. : Практическая медицина, 2015. – 304 с.
4. Аппар, Б. С. Клиническая кольпоскопия : иллюстрированное руководство / Б. С. Аппар, Г. Л. Броцман, М. Шпицер ; пер. с англ. под общ. ред. В. Н. Прилепской. – Москва : Практическая медицина, 2012. – 491 с.
5. Афанасьев, М. С. Вирусно-бактериальная природа дисплазии и рака шейки матки / М. С. Афанасьев, В. А. Алешкин, С. С. Афанасьев // Вестник РАМН. – 2004. – № 6. – С. 35–40.
6. Ашрафян, Л. А. Опухоли репродуктивных органов (этиология и патогенез) / Л. А. Ашрафян, В. И. Киселев. – Москва : Димитрейд График Групп®, 2007. – 212 с.
7. Бабаева, А. Г. Прошлое, настоящее и будущее проблемы лимфоидной регуляции пролиферации нелимфоидных клеток / А. Г. Бабаева // Бюл. эксперим. Биологии и медицины. – 1995. – № 9. – С. 230–234.
8. Бабаева, А. Г. Регенерация: факты и перспективы / А. Г. Бабаева ; Российская акад. мед. наук, ГУ НИИ морфологии человека РАМН. – Москва : Изд-во РАМН, 2009. – 333 с.
9. Банержи, А. Медицинская статистика понятным языком: вводный

курс / А. Банержи ; перевод с англ. под ред. В. П. Леонова. – М. : Практическая медицина, 2007 – 287 с.

10. Баткаев, Э. А. Урогенитальный хламидиоз : пособие для врачей / Э. А. Баткаев, Е. В. Липова. – М., 2004. – 70 с.

11. Берштейн, Л. М. Гормональный канцерогенез / Л. М. Берштейн – СПб. : Наука, 2000. – 199 с.

12. Берштейн, Л. М. Гормональный канцерогенез / Л. М. Берштейн // Природа. – 2000. – № 3. – С. 1.

13. Бохман, Я. В. Руководство по онкогинекологии / Я. В. Бохман. – Л. : Медицина, 1989. – 464 с.

14. Быков, В. Л. Дендритные антигенпредставляющие клетки дистального отдела женского репродуктивного тракта в норме, эксперименте и при патологических состояниях / В. Л. Быков // Архив патологии. – 1997. – Т. 59. – № 6. – С. 69–73.

15. Ваганова, И. Г. Хронический экзоцервицит: морфогенез, клиника, принципы терапии : специальность 14.00.15 «Патологическая анатомия», 14.00.01 «Акушерство и гинекология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Ваганова Ирина Геннадьевна ; Омская государственная медицинская академия. – Челябинск, 2000. – 36 с. : ил. – Библиогр.: с. 34–36. – Место защиты: Челябинская государственная медицинская академия. – Текст : непосредственный.

16. Вакцины для профилактики рака шейки матки / под ред. Питера Л. Стерна, Генри С. Китченера ; пер. с англ. А. В. Алымов ; под общ. ред. Г. Т. Сухих, В. Н. Прилепской. – Москва : МЕДпресс-информ, 2011. – 190 с.

17. Ващенко, С. Н. Иммуногистохимическая характеристика регенераторного потенциала слизистой оболочки шейки матки / С. Н. Ващенко, О. В. Семухина, А. Н. Грибань // Успехи современного естествознания. – 2009. – № 1. – С. 21–26.

18. Взаимосвязь эндокринной системы и факторов гуморального иммунитета / С. А. Ляликов, С. Д. Орехов, Т. Д. Орехова, Н. И. Степура //

Иммунология. – 1989. – № 6. – С. 39–41.

19. Влияние экспрессии белка E7 на локальный гормональный статус при различных формах роста рака шейки матки / Е. Ф. Комарова, Е. М. Франциянц, Т. И. Моисеенко [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10. – С. 679–682.

20. Внутриклеточные патогены: микробиология, диагностика и лечение: информационное письмо для практических врачей. – Хехст Мэрион Руссель, 1998. – 12 с.

21. Волкова, О. В. Основы гистологии с гистологической техникой : учебник для фельдш.-лаборант. отд-ний мед. уч-щ / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Медицина, 1982. – 304 с.

22. Высокая вирусная нагрузка и интеграция ВПЧ в геном человека как молекулярные маркеры диспластических изменений шейки матки / Н. В. Ермакова, О. Ю. Шипулина, Г. Н. Минкина [и др.] // Сб. тр. 6-ой Всерос. науч.-практ. конф. «Генодиагностика инфекционных болезней». – 2007. – № 3. – С. 83–85.

23. Гайворонская, А. Г. Новая вакцина для профилактики рака шейки матки / А. Г. Гайворонская, М. Г. Галицкая // Журн.: Союз педиатров России. – 2008. – № 6. – С. 2–3.

24. Герштейн, Е. С. Клинические перспективы исследования ассоциированных с опухолью протеаз и их тканевых ингибиторов у онкологических больных / Е. С. Герштейн, Н. Е. Кушлинский. // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2013. – № 5. – С. 16–27.

25. Герштейн, Е. С. Современные представления о механизмах передачи сигналов факторов роста как основа эффективной молекулярно-направленной противоопухолевой терапии / Е. С. Герштейн, Н. Е. Кушлинский // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2007. – Т. 5, № 1. – С. 4–9.

26. Глазунов, М. Ф. Классификация и номенклатура опухолей и опухолеподобных процессов / М. Ф. Глазунов // Злокачественные опухоли. – М. :

Медгиз, 1947. – С. 148–180.

27. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. ; пер. с англ. – М. : Практика, 1999. – 459 с.

28. Говалло, В. И. Иммунология репродукции / В. И. Говалло. – М. : Медицина, 1987. – 304 с.

29. Гуркин, Ю. А. Гинекология подростков. Руководство для врачей / Ю. А. Гуркин. – СПб. : Фолиант, 2000. – 574 с.

30. Деражне, А. Б. Преклинический рак шейки матки / А. Б. Деражне. – Л. : Медицина, 1972. – 222 с.

31. Дранник, Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Дранник. – М. : Мед. информ. агентство, 2003. – 603 с.

32. Железнов, Б. И. Морфофункциональные изменения эпителия эндоцервикса в зависимости от возраста и менструальной функции женщины / Б. И. Железнов, Л. С. Ежова, Л. А. Беляева // Акушерство и гинекология. – 1994. – № 3. – С. 12–18.

33. Заболевания аногенитальной области, ассоциированные с папилломавирусной инфекцией / В. Н. Прилепская, Н. М. Назарова, Л. А. Суламанидзе [и др.] // Гинекология. – 2015. – № 17 (1). – С. 4–7.

34. Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы: (Клинич. лекции) / В. И. Кулаков, В. Н. Серов, Л. В. Адамян [и др.] ; под ред. В. Н. Прилепской ; Науч. центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН. – 3. изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2003. – 430 с.

35. Зайратьянц, О. В. Изменения эндометрия, ассоциированные с модулятором рецепторов прогестерона. Новый вид обратимых морфологических изменений эндометрия при терапии лейомиом матки препаратом Эсмия[®] (улипристала ацетат, фармацевтическая компания «Гедеон Рихтер») / О. В. Зайратьянц // Руководство для врачей-патологоанатомов и акушеров-гинекологов. – М. ; 2013. – 30 с.

36. Зильбер, Л. А. Вирусно-генетическая теория возникновения опухолей / Л. А. Зильбер. – М. : Наука, 1968. – 286 с.

37. Имянитов, Е. Н. Молекулярная онкология: клинические аспекты / Е. И. Имянитов, К. П. Хансон. – Санкт-Петербург : Изд. дом СПбМАПО, 2007. – 211 с.
38. Инвазия опухолевых эпителиальных клеток: механизмы и проявления / Н. В. Крахмаль, М. В. Завьялова, Е. В. Денисов [и др.] // Acta Naturae. – 2015. – Т. 7. – № 2 (25). – С. 18–31.
39. Инфицирование вирусом папилломы человека высокого канцерогенного риска и прогноз рака шейки матки / В. И. Киселев, Л. И. Крикунова, Л. В. Любина [и др.] // Вопросы онкологии. – 2010. – №56 (12). – С. 185–190.
40. Инфицированность вирусом папилломы человека среди девочек-подростков в Московской области / В. И. Краснопольский, Л. С. Логутова, Н. В. Зароченцева [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2015. – № 15 (3). – С. 9–14.
41. Казачков, Е. Л. Клинико-морфологические аспекты инфекционно-воспалительных, гиперпластических и предраковых процессов шейки матки и тела матки. «Основные достижения научных школ ЮУГМУ» / Е. Л. Казачков, Э. А. Казачкова, Е. Е. Воропаева. // Сборник материалов научно-практической конференции, посвященной 70-летию Южно-Уральского государственного медицинского университета. – Челябинск, 2014. – С. 62–65.
42. Канцерогенез / под ред. Д. Г. Заридзе. – М. : Медицина, 2004. – 576 с.
43. Каприн, А. Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2012 году / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, В. Г. Петрова. – М. : ФГБУ «МНИОИ им. П. А. Герцена» Минздрава России, 2013. – 232 с.
44. Каприн, А. Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2013 году / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, Г. В. Петрова. – М. : ФГБУ «МНИОИ им. П. А. Герцена» Минздрава России, 2014. – 235 с.
45. Киселев, В. И. Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки / В. И. Киселев. – М. : Димитрейд График Групп®, 2004 – 179 с.
46. Киселев, В. И. Молекулярные механизмы развития дисплазии шейки

матки: новые знания – новые возможности / В. И. Киселев, Е. Л. Муйжнек // Вестник «Лаборатории ДНК-диагностики». – 2011. – № 4 (13). – С. 1–16.

47. Киселев, В. И. Молекулярные механизмы регуляции гиперпластических процессов / В. И. Киселев, А. А. Ляшенко. – М. : Димитрейд График Групп®, 2005. – 347 с.

48. Киселев, В. И. Роль метаболитов эстрогенов в канцерогенезе репродуктивных органов / В. И. Киселев, Е. Л. Муйжнек // Клиническая гинекология: Избранные лекции / под ред. проф. В. Н. Прилепской. – М. : МЕДпресс-информ, 2007. – С. 104–115.

49. Киселев, Ф. Л. Вирусы папиллом человека как этиологический фактор рака шейки матки: значение для практики здравоохранения / Ф. Л. Киселев // Вопросы вирусологии. – 1997. – Т. 42. – № 6. – С. 248–251.

50. Клиническое значение молекулярных маркеров при папилломавирусной инфекции / С. И. Роговская, Д. Ю. Трофимов, Е. А. Коган, Э. Х. Сабдулаева. // Акушерство и гинекология. – 2011. – № 4. – С. 4–10.

51. Козаченко, В. П. Современное состояние проблемы рака шейки матки / В. П. Козаченко // Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы (Клинические лекции) / под ред. В. Н. Прилепской. – М. : МЕДпресс, 2000. – 432 с.

52. Кондриков, Н. И. Патология матки / Н. И. Кондриков. – М. : Практическая медицина, 2008. – С. 13–26.

53. Кононов, А. В. Местный иммунитет и регенерация слизистых оболочек при хроническом воспалении: (Биопсийн. исслед.) / А. В. Кононов. – Омск : Центр клинич. патологии, 1993. – 318 с.

54. Кононов, А. В. Очерки клинической патологии шейки матки : монография / А. В. Кононов, И. Г. Ваганова. – Омск : [б. и.], 2000. – 224 с.

55. Копнин, Б. П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза / Б. П. Копнин // Биохимия. – 2000. – Т. 65, № 1. – С. 5–33.

56. Короленкова, Л. И. Ассоциированные с инфекцией вируса папилломы человека маркеры возникновения и прогрессии цервикальных

интраэпителиальных неоплазий: от научных разработок к клинической практике / Л. И. Короленкова // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2010. – № 4. – С. 64–70.

57. Костава, М. Н. Роль воспаления в диагностике и лечении патологии шейки матки / М. Н. Костава // Гинеколог. – 2005. – № 12. – С. 27–30.

58. Коханевич, Е. В. Кольпоцервикоскопия. Атлас / Е. В. Коханевич, К. П. Ганина, В. В. Суменко. – Киев : Вища школа, 1997. – С. 49.

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

60. Красильников, С. Э. Современная тактика ведения и лечения больных с генитальной инфекцией при фоновых, предраковых заболеваниях и преинвазивном раке шейки матки : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 // Красильников Сергей Эдуардович ; НГМА. – Омск, 1999. – 22 с.

61. Лейкоплакия шейки матки, ассоциированная с ВПЧ-инфекцией / В. Н. Прилепская, Т. Н. Бебнева, А. Ю. Шилев [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2012. – Т. 12, № 4. – С. 108–110.

62. Лесниченко, И. Ф. Матриксные металлопротеиназы: характеристика, роль в лейкозогенезе и прогностическое значение / И. Ф. Лесниченко, С. В. Грицаев, С. И. Капустин // Вопросы онкологии. – 2011. – № 3. – С. 286–294.

63. Мальцева, Л. И. Иммуноцитохимическое исследование экспрессии онкомаркера p16ink4a на основе жидкостной цитологии в диагностике ранних форм рака шейки матки у женщин с хроническим цервицитом и ВПЧ-инфекцией / Л. И. Мальцева, Л. Н. Фаррахова // Новые концепции механизмов воспаления, аутоиммунного ответа и развития опухоли : материалы 2 международной научно-практической конференции. – Казань, 2011. – С. 17–18.

64. Мамаева, Н. Н. Структурная организация и экспрессия рибосомных генов в физиологических и патологических условиях / Н. Н. Мамаева // Цитология. – 1997. – Т. 39. – С. 80–83.

65. Манухин, И. Б. Проллиферативная активность эпителия при плоскоклеточных эпителиальных поражениях шейки матки / И. Б. Манухин, Г. Н. Минкина // Журнал акушерства и женских болезней. – 2001. – Вып. 1. – С. 34–36.
66. Маркеры стромальной инвазии при фоновых и предраковых изменениях железистого эпителия и аденокарциноме шейки матки / Н. В. Данилова, Ю. Ю. Андреева, Л. Э. Завалишина, П. Г. Мальков // Архив патологии – 2012. – Т. 74. – № 4. – С. 28–33.
67. Маянский, А. Н. Папилломавирусы человека: возбудители доброкачественных и злокачественных неоплазий / А. Н. Маянский // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2010. – Т. 2, № 2. – С. 5–11.
68. Медведев, Б. И. Местный противинфекционный иммунитет половой системы женщины / Б. И. Медведев, В. Ф. Долгушина // Акушерство и гинекология. – 1993. – № 4. – С. 7–9.
69. Минкина, Г. Н. Мониторинг цервикальных интраэпителиальных неоплазий / Г. Н. Минкина // Патология шейки матки и генитальные инфекции. – М. : МЕДпресс-информ, 2008. – С. 48–52.
70. 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.
71. Молекулярные маркеры диспластических изменений шейки матки / Д. А. Куевда, О. Ю. Шипулина, Г. Н. Минкина [и др.] // Тез. науч. работ IX Всероссийского съезда дерматовенерологов. – Москва, 2005. – С. 53.
72. Молекулярные маркеры рака шейки и тела матки как прогностические факторы / М. Р. Кайрбаев, Ж. К. Чингисова, Е. К. Кукубасов [и др.] // Научно-практический медицинский журнал (CLINICAL MEDICINE OF KAZAKHSTAN). – 2013. – № 3 (29). – С. 42–46.
73. Молекулярные механизмы дидрогестерона (Дюфастон). Полногеномное исследование транскрипционных эффектов рецепторов прогестерона, андрогенов и эстрогенов / И. Ю. Торшин, О. А. Громова,

- Г. Т. Сухих [и др.] // Гинекологическая эндокринология. – 2010. – № 11. – С. 9–16.
74. Москалев, А. В. Инфекционная иммунология / А. В. Москалев. – Санкт-Петербург : Фолиант, 2006. – С. 92–107.
75. Нестерова, И. В. Стратегия и тактика иммунотерапии вторичных иммунодефицитов с инфекционным синдромом / И. В. Нестерова // Вестник МЕДСИ. – 2009. – № 3. – С. 24–32.
76. Новиков, А. И. Инфекции, передаваемые половым путем, и экзоцервикс / А. И. Новиков, А. В. Кононов, И. Г. Ваганова. – М. : Медицина, 2002. – 174 с.
77. Носов, Д. А. Механизмы регуляции внутриклеточной передачи сигнала и апоптоза: успехи и неудачи целенаправленной терапии / Д. А. Носов // VIII Российский онкологический конгресс (в разделе «Таргетная терапия злокачественных опухолей») : материалы конгресса. – М., 2004. – С. 61–65.
78. Онкобелок E7 вируса папилломы человека – новый маркер ранних стадий канцерогенеза / В. И. Киселев, П. Г. Свешников, П. М. Барановский [и др.] // TerraMedica. – 2011. – № 1. – С. 35–39.
79. Опухоли шейки матки (руководство для врачей) / под ред. Ю. Ю. Андреевой, Г. А. Франка. – М. : Практическая медицина, 2012. – С. 8–19.
80. Оценка пролиферативных и антипролиферативных свойств клеток эндометрия при его гиперплазии, ассоциированной с хроническим эндометритом / Э. А. Казачкова, А. В. Затворницкая, Е. Е. Воропаева [и др.] // Journal of siberian medical sciences. – 2019. – № 1. – С. 28–35.
81. Оценка риска злокачественной трансформации эпителия шейки матки при ВПЧ-ассоциированном цервиците / Л. И. Мальцева, Л. Н. Фаррахова, А. В. Ахметзянова, Н. А. Нигматуллина // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2012. – № 11 (4). – С. 53–56.
82. Оценка экспрессии мРНК p16 при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях и раке шейки матки / Н. В. Мельникова, В. К. Боженко, Л. А. Ашрафян, И. Б. Антонова // Вестник Рос. научн. центра рентгенокардиологии Минздрава России. – 2012. – Т. 4, № 12. – С. 26.

83. Патогенетические подходы к хирургическому лечению лейкоплакии шейки матки / И. А. Бабичева [и др.] // Акушерство и гинекология. – 1998. – № 2. – С. 33–38.
84. Патологоанатомическая диагностика опухолей человека (руководство для врачей) : в 2 т. Т. 2 / под ред. Н. А. Краевского, А. В. Смольяникова, Д. С. Саркисова. – М. : Медицина, 1993. – С. 222–235.
85. Петров, С. В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С. В. Петров, Н. Т. Райхлин. – 4-е изд., перераб. и доп. – Казань, 2012. – 624с.
86. Пинегин, Б. В. Макрофаги: свойства и функции / Б. В. Пинегин, М. И. Краснова // Иммунология. – 2009. – Т. 30. – № 4. – С. 241–249.
87. Пищик, Н. И. Социально-демографические, клинические и морфологические факторы, влияющие на выживаемость больных раком шейки матки / Н. И. Пищик // Онкол журн. – 2011. – № 5 (1). – С. 17.
88. Пожарисский, К. М. Значение иммуногистохимических методик для определения характера лечения и прогноза опухолевых заболеваний / К. М. Пожарисский, Е. Е. Леенман // Архив патологии. – 2000. – Т. 62. – № 5. – С. 3–11.
89. Прилепская, В. Н. Возрастные особенности шейки матки. Современные методы диагностики патологии шейки матки / В. Н. Прилепская // Акушерство и гинекология. – 1998. – № 6. – С. 51–55.
90. Прилепская, В. Н. Кольпоскопия. Практическое руководство / В. Н. Прилепская, С. И. Роговская, С. А. Межевитинова. – М. : Медицинское информационное агентство, 2001. – 100с.
91. Протасова, А. Э. Оценка онкогенного риска развития рака шейки матки методами определения ВПЧ и экспрессии белка пролиферации (p16ink4a) / А. Э. Протасова // Вестник С.-Петербургского ун-та. – 2011. – № 3. – С. 97–104.
92. Профилактика рака шейки матки: руководство для врачей Г. Т. Сухих, В. Н. Прилепская, Т. Н. Бебнева [и др.] ; под ред. Г. Т. Сухих и В. Н. Прилепской. – 3-е изд., перераб. и доп. – Москва : МЕДпресс-информ, 2012. – 190 с.

93. Рак желудка: молекулярно-биологические особенности / Е. А. Короткова, А. А. Иванников, Н. А. Огнерубов [и др.] // Вестник ТГУ. – 2014. – № 19 (3). – С. 957–969.

94. Реакция мононуклеарных клеток на опухолеассоциированные антигены, гуморальные факторы иммунитета и патоморфологическая характеристика операционного материала женщин со злокачественными новообразованиями и с дисплазией генитальной сферы / А. И. Аутеншлюс, А. П. Лыков, А. Н. Шкунов [и др.] // Медицинская иммунология. – 2007. – № 4-5. – С. 513–518.

95. Роговская, С. И. Папилломавирусная инфекция гениталий: роль интерферонов в патогенезе и лечении / С. И. Роговская // Гинекология. – 2003. – Т. 5. – № 5. – С. 195–198.

96. Роговская, С. И. Папилломавирусная инфекция нижних отделов гениталий (клиника, диагностика, лечение) : диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Роговская Светлана Ивановна ; Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН – Москва, 2003. – 273 с. – Библиогр.: с. 250–279. – Текст : непосредственный.

97. Роговская, С. И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки / С. И. Роговская. – 2-е изд., испр. и доп. – М. : изд-во ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 188 с.

98. Роговская, С. И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки / С. И. Роговская. – 2-е изд., испр. и доп. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 192 с.

99. Роговская, С. И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки: в помощь практикующему врачу / С. И. Роговская. – 2-е изд., испр. и доп. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 188 с.

100. Роговская, С. И. Шейка матки, влагалище, вульва. Физиология, патология, эстетическая коррекция: руководство для практикующих врачей / С. И. Роговская, Е. В. Липова. – М. : Издательство журнала Status praesens, 2014. – С. 832.

101. Роль VEGF в развитии неопластического ангиогенеза / В. П. Чехонин, С. А. Шеин, А. А. Корчагина, О. И. Гурина // Вестн. РАМН. – 2012. – № 2. – С. 23–24.
102. Роль вируса папилломы человека в лимфогенном метастазировании плоскоклеточного рака шейки матки / Е. В. Бахидзе, О. Е. Лавринович, О. Ф. Чепик, О. И. Киселев // Вопросы онкологии. – 2011. – № 57 (3). – С. 318–321.
103. Рудакова, Е. Б. Возрастные особенности патологии шейки матки / Е. Б. Рудакова, О. Ю. Панова, И. Р. Вотрина // Гинекология. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 184–188.
104. Русакевич, П. С. Заболевания шейки матки / П. С. Русакевич. – Минск : Высшая школа, 1998. – 367 с.
105. Русакевич, П. С. Заболевания шейки матки у беременных: диагностика, лечение, мониторинг, профилактика / П. С. Русакевич, Т. М. Литвинова. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. – 144 с.
106. Селиванов, Е. В. Определение белка E7 вирусов папилломы 16/18 типов: новая ступень в профилактике развития рака шейки матки / Е. В. Селиванов, Е. Н. Звягинцев, В. А. Такмакова // Вестник «Лаборатории ДНК-диагностики». – 2011. – № 2 (11). – С. 16–19.
107. Сенчук, А. Я. Показатели местного и гуморального иммунитета до и после лечения воспалительных заболеваний шейки матки и влагалища / А. Я. Сенчук // Особенности инфекционных процессов нижнего отдела половых путей : материалы науч.-практ. конф. – Киев, 2004. – С. 64–66.
108. Стерн, Л. Питер Вакцины для профилактики рака шейки матки / Питер Л. Стерн, Генри С. Китченер. – М. : МЕДпресс-информ, 2009. – С. 85–95.
109. Талвар, Д. П. Иммунология контрацепции / Д. П. Талвар ; пер. с англ. – М. : Медицина, 1983. – 192 с.
110. Татарчук, Т. Ф. Эндокринная гинекология (клинические очерки) ч. 1 / Т. Ф. Татарчук, Я. П. Сольский. – Киев, 2003. – С. 185–199.

111. Таусенд, С. Потенциальная польза и риск оральных контрацептивов / С. Таусенд // Network. Family Health International. – 1993. – Т. 1. – № 1. – С. 69.

112. Трунова, Т. В. Рак шейки матки: факторы риска та прогноз. Діагностичний алгоритм раннього виявлення : спеціальність 14.01.07 – онкологія : автореферат дисертації на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Трунова Татьяна Васильевна ; Харківський медичній академії післядипломної освіти МОЗ України. – Київ, 2004. – 18 с. : ил. – Библиогр.: с 18. – Место защиты: Національна академія наук України Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького. – Текст : непосредственный.

113. Трушина, О. И. Роль папилломавирусной инфекции в генезе рака шейки матки / О. И. Трушина, Е. Г. Новикова // Российский онкологический журнал. – 2005. – № 1. – С. 45–51.

114. Уварова, Е. В. Проблемы и последствия папилломавирусной инфекции у девочек / Е. В. Уварова // Материалы VIII Конгресса детских инфекционистов России, 16–18 декабря 2009 г. – г. Москва, 2009. – С. 38.

115. Умаханова, М. М. Современные представления об этиологии и патогенезе гормонально зависимых эктопий шейки матки / М. М. Умаханова, А. М. Торчинов // Гинеколог. – 2004. – № 7. – С. 33–39.

116. Фенотип иммунокомпетентных клеток и его значение в противоопухолевом иммунном ответе / З. Г. Кадагидзе, А. И. Черткова, Е. Г. Славина [и др.] // Вестник РАМН. – 2011. – № 12. – С. 20–25.

117. Франк, Г. А. Опухоли шейки матки. Руководство для врачей / Г. А. Франк, Ю. Ю. Андреева. – М. : Практическая медицина, 2014. – 116 с.

118. Фролова, И. И. Клинико-морфологические исследования дискератозов шейки матки и цервикальных интраэпителиальных неоплазий / И. И. Фролова, И. И. Бабиченко // Вестн РУДН : Серия Медицина. – 2004. – № 25 (1). – С. 79–85.

119. Хаит, О. В. Методические подходы к оценке показателей иммунного гомеостаза у женщин репродуктивного возраста / О. В. Хаит // Иммунология. – 1989. – № 4. – С. 65–70.

120. Хансон, К. П. Современные представления о канцерогенезе рака шейки матки / К. П. Хансон, Е. Н. Имянитов // Практическая онкология. – 2002. – Т. 3. – № 3. – С. 145–155.

121. Харченко, Е. П. Канцерогенез: иммунная система и иммунотерапия / Е. П. Харченко // Иммунология. – 2011. – Т. 32. – Т 1. – С. 50–56.

122. Царева, Н. В. Состояние шейки матки у женщин в постменопаузе до и в процессе заместительной гормонотерапии : специальность 14.00.01 «акушерство и гинекология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Царева Наталия Валентиновна ; Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии Российской академии медицинских наук. – Москва, 1998. – 26 с. : ил. – Библиогр.: с. 26. – Место защиты: Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН. – Текст : непосредственный.

123. Частота и распространенность эпителиально-мезенхимальной трансформации в основных гистологических типах рака желудка и ее роль в определении свойств этих опухолей / И. А. Василенко, Р. Б. Кондратюк, И. А. Колесникова [и др.] // Медицинская наука и образование Урала. – 2016. – № 1. – С. 36–40.

124. Чердынцева, Н. В. Иммунологические параллели при беременности и злокачественном росте / Н. В. Чердынцева, К. И. Жордания // Онкогинекология. – 2013. – Т. 3. – С. 4–14.

125. Шайков, К. Л. Состояние локального иммунитета шейки матки при воспалительных заболеваниях органов малого таза и методы его коррекции иммуномодулятором кипферон : специальность 14.00.01 «акушерство и гинекология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Шайков Кирилл Александрович ; Российски государственный медицинский университет Росздрава. – Москва, 2004. – 24 с. : ил. – Библиогр.: с. 23. – Место защиты: Российски государственный медицинский университет Росздрава. – Текст : непосредственный.

126. Шварцман, Я. С. Местный иммунитет / Я. С. Шварцман,

Л. Б. Хазенсон. – Л. : Медицина, 1978. – 223 с.

127. Экспрессия белка p16 в клетках некоторых распространенных форм рака / Г. М. Волгарева, Л. Э. Завалишина, Ю. Ю. Андреева [и др.] // Архив патологии – 2004 – № 5 – С. 3–5.

128. Эпителиально-мезенхимальный переход в серозном раке яичников / Е. А. Дудко, А. А. Арефьева, С. А. Калюжный [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. – 2016. – Т. 16. – С. 33–33.

129. Эпителиально-мезенхимальный переход как критерий метастатического потенциала рака толстой кишки / Ю. А. Шелыгин, О. И. Асушков, Н. И. Поспехова [и др.] // Колопроктология. – 2015. – № S1. – С. 93а–94.

130. Этиологическая роль вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки: генетические и патогенетические механизмы, возможности терапии и профилактики / В. И. Киселев, Л. А. Ашрафян, С. О. Бударина [и др.] // Гинекология. – 2004. – № 4. – С. 174–180.

131. Яковлева, И. А. Морфологическая диагностика предопухолевых процессов и опухолей матки по биопсиям и соскобам / И. А. Яковлева, Б. Г. Кукутэ. – Кишнев : ШТИИНЦА, 1979. – 148 с.

132. Яковлева, И. А. Особенности развития неопластических процессов шейки матки : Ч. 1 / И. А. Яковлева, А. П. Черный // III съезд онкологов и радиологов СНГ : Материалы съезда. – Минск : ОДО «Тонпик», 2004. – С. 42–46.

133. A higher level of human papillomavirus 16 DNA was associated with increased risk for cervical carcinoma in situ / A. M. Josefsson, P. K. Magnusson, N. Ylitalo [et al.] // J. Lancet. – 2000. – Vol. 355. – P. 2189–2193.

134. A large, population-based study of age-related associations between vaginal pH and human papillomavirus infection / M. A. Clarke, A. C. Rodriguez, J. C. Gage [et al.] // BMC Infect Dis. – 2012. – № 12. – P. 33.

135. A sea change in diagnosis and managing HPV and cervical disease / R. M. Richart [et al.] // Obstetrics and Gynecol. – 2002. – № 1. – P. 20–23.

136. Absence of HER2/neu gene expression in osteosarcoma end skeletal

Ewing's sarcoma / D. G. Thomas, T. J. Giordano, D. Sanders [et al.] // Clin Cancer Res. – 2002. – Vol. 8. – P. 788–793.

137. Adding to the Mix: Fibroblast Growth Factor and Platelet-Derived Growth Factor Receptor Pathways as Targets in Non – small Cell Lung Cancer / S. A. Kono, L. E. Heasley, R. C. Doebele, D. R. Camidge // Curr Cancer Drug Targets. – 2012. – Vol. 12 (2). – P. 107–123.

138. Ambros, R. A. Current concepts in the relationship of human papillomavirus infection to the pathogenesis and classification of precancerous squamous lesions of the uterine cervix / R. A. Ambros, R. J. Kurman // Semin. Diagn. Pathol. – 1990. – Vol. 7. – № 3. – P. 158–172.

139. Andersen, E. S. Cryosurgery for cervical intraepithelial neoplasia / E. S. Andersen, M. Hust // Gynecol. – 1996. – Vol. 45. – № 3. – P. 240–242.

140. Angiogenesis and expression of platelet-derived endothelial cell growth factor in oral squamous cell carcinoma / R. E. Alcalde, N. Terakado, K Otsuki, T. Matsumura // Oncology. – 1997. – Vol. 54, № 4. – P. 324–328.

141. Antiapoptotic effects of estrogen in normal and cancer human cervical epithelial cells / Q. Wang; X. Li; L. Wang [et al.] // Endocrinology. – 2004. – Vol. 145 (12). – P. 5568–5579.

142. Antibody anti-p16 (INK4A) in cervical cytology / A. S. Rocha, M. C. Bozzetti, L. S. Kirschnick, M. I. Edelweiss // Acta Cytol. – 2009. – Vol. 53 (3). – P. 253–62.

143. Antibody anti-p16 (INK4a) in cervical cytology / A. S. Rocha, M. C. Bozzetti, L. S. Kirschnick, M. I. Edelweiss // Acta Cytol. – 2009. – № 53 (3). – P. 253–262.

144. Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Therapy in Breast Cancer / T. B. Kristensen, M. L. Knutsson, M. Wehland [et al.] // International J. of Molecular Sciences. – 2014. – Vol. 15 (12). – P. 23024–23041.

145. Assessment of CD105, a-SMA and VEGF expression in gastric carcinomas / D. Grigore, C. E Simionescu, A. Stepan [et al.] // Rom J Morphol Embryol. – 2013. – Vol. 54, Suppl. 3. – P. 701–707.

146. Baker, A. B. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities / A. Baker, D. Edwards, G. Murphy // *J. Cell Science*. – 2002. – Vol. 115. – P. 3719–3727.
147. Bibbo, M. Procedure for immunocytochemical detection of p16ink4 α antigen in thin-layer, liquid-based specimens / M. Bibbo, W. J. Klump, J. DeCocco // *Acta. Cytol.* – 2002. – Vol. 46. – P. 25–29.
148. Blalock, J. E. The syntax of immune-neuroendocrine communication / J. E. Blalock // *Immunol. Today*. – 1994. – Vol. 15, № 11. – P. 504–511.
149. Bradlow, H. L. Nutrient modulation of female hormone metabolism: Modifying breast cancer risk / H. L. Bradlow // *Functional Medicine Approaches to Endocrine Disturbances of Aging*. – Vancouver : Institute of Functional Medicine Proceedings, 2001. – P. 100–114.
150. Buchwalow, I. Immunohistochemistry. Basics and methods / I. Buchwalow, W. Bocker. – Heidelberg : Springer, 2010. – 150 p.
151. Cancer of cervix, papillomavirus, contraception and tobacco / L. Thiry, R. Vokaer, O. Detremmerie [et al.] // *Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris)*. – 1993. – Vol. 22, № 35. – P. 477–486.
152. Carmeliet, P. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis / P. Carmeliet, R. K. Jain // *Nature*. – 2011. – Vol. 473 (7347). – P. 298–307.
153. Cellular therapy to control tumor progression / M. Kapp, L. Rasche, H. Einsele, G. U. Grigoleit // *Curr. Opin. Hematol.* – 2009. – Vol. 16. – № 6. – P. 437–443.
154. Characterization of human papillomavirus infection, p53, and Ki-67 expression in cervix cancer of Mozambican women / C. Carrilho, P. Gouveia, M. Cantel [et al.] // *Pathol. Res. Pract.* – 2003. – V. 199, № 5. – P. 303–311.
155. Chong, V. Biological, preclinical and clinical characteristics of inhibitors of vascular endothelial growth factors / V. Chong // *Ophthalmologica*. – 2012. – Vol. 227. Suppl. 1. – P. 2–10.
156. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and

proposal of taxonomic amendments / H. U. Bernard, R. D. Burk, Z. Chen [et al.] // *Virology*. – 2010. – Vol. 401. – P. 70–79.

157. Clinical implications of (epi)genetic changes in HPV-induced cervical precancerous lesions / R. D. Steenbergen, P. J. Snijders, D. A. Heideman, C. J. Meijer // *Nature Reviews Cancer*. – 2014. – № 14. – P. 395–405.

158. Co-culturing human prostate carcinoma cells with hepatocytes leads to increased expression of E-cadherin / C. C. Yates, C. R. Shepard, D. B. Stolz, A. Wells // *Br. J. Cancer*. – 2007. – Vol. 96. – P. 1246–52.

159. Combined p53 and retinoblastoma protein detection identify persistent and regressive cervical high-grade squamous intraepithelial lesions / J. P. A. Baak, A. J. Kruse, S. M. Garland [et al.] // *Am J Surg Pathol*. – 2005. – № 29. – P. 1062–1066.

160. Correlation between tumor growth delay and expression of cancer and host VEGF, VEGFR2, and osteopontin in response to radiotherapy / T. D. Solberg, J. Nearman, J. Mullins [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2008. – Vol. 72. – № 3. – P. 918–926.

161. Cronje, H. S. Screening for cervical cancer in developing countries / H. S. Cronje // *J. Of Gynecol. and Obstetrics*. – 2004. – Vol. 84. – P. 101–108.

162. Crossregulation between T helper cell Th1 and Th2: Inhibition of Th2 proliferation by IFN- γ involves interference with IL-1 / T. Oriss, S. McCarthy, B. Morel [et al.] // *J. Immunol.* – 1997. – V. 158, № 8. – P. 3666–3672.

163. Dabbs, D. G. Diagnostic immunohistochemistry: theranostic and genomic applications/ D. G. Dabbs. – 3rd ed. – 2010. – Vol. 941. – P. 167–169.

164. Della, Palma P. HPV triage of women with atypical squamous cell of undetermined significance: a 3-year experience in an Italian organized programme / P. Della Palma, A. Pojer, S. Girlando // *Cytopathology*. – 2005. – Vol. 16. – P. 22–6.

165. Deryungia, E. L. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis / E. L. Deryungia, J. P. Quigley // *Cancer Metastasis Rev.* – 2006. – Vol. 25, № 1. – P. 9–34.

166. Di Piro, J. T. Cytokine newtworks with infection: Mycobacterial infections, leishmaniasis, human immunodeficiency virus infection and sepsis / J. T. Di Piro //

Pharmacotherapy. – 1997. – Vol. 17, № 2. – P. 205–233.

167. Diagnostic accuracy of cervical lowgrade squamous intraepithelial lesions is improved with Ki-67 immunostaining / E. C. Pirog, R. N. Baergen, R. A. Soslow [et al.] // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2002. – Vol. 26. – P. 70–75.

168. Diagnostic value of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in cholesteatoma / E. Olszewska, M. Matulka, B. Mroczko [et al.] // *Histol Histopathol.* – 2016. – № 31 (3). – P. 307–315.

169. Differential in vitro immortalization capacity of eleven (probable) [corrected] high-risk human papillomavirus types / D. M. Schütze, P. J. Snijders, L. Bosch [et al.] // *J Virology.* – 2014. – Vol. 88. – P. 1714–1724.

170. Distinct tyrosine autophosphorylation sites mediate induction of epithelial mesenchymal like transition by an activated ErbB-2/Neu receptor / H. Khouri, D. L. Dankort, S. Sadekova [et al.] // *Oncogene.* – 2001. – Vol. 20. – P. 788–799.

171. Do Horto dos Santos Oliveira, L. HPV 16 detection in cervical lesions, physical state of viral DNA and changes in p53 gene / L. Do Horto dos Santos Oliveira, E. V. Rodrigues, A. P. Salles Lopes // *San Paulo Med. J.* – 2003. – Vol. 121, № 2. – P. 67–71.

172. Downregulation of VEGF-C expression in lung and colon cancer cells decelerates tumor growth and inhibits metastasis via multiple mechanisms / N. Khromova, P. Kopnin, V. Rybko, B. P. Kopnin // *Oncogene.* – 2012. – Vol. 31 (11). – P. 1389–97.

173. Dynamic behavioural interpretation of cervical intraepithelial neoplasia with molecular biomarkers / J. P. Baak, A. J. Kruse, S. J. Robboy [et al.] // *J. Clin Pathol.* – 2006. – Vol. 59. – P. 1017–28.

174. E-cadherin-mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cells / U. H. Frixen, J. Behrens, M. Sachs [et al.] // *J. Cell Biol.* – 1991. – № 1 (113). – P. 173–85.

175. Ellenson, L. H. Precursor lesion of endometrial carcinoma, In Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract / L. H. Ellenson, B. M. Ronnet, R. J. Kurman ; eds. R. J. Kurman, L. H. Ellenson, B. M. Ronnet. – 6th ed. – New York, Dordrecht,

Heidelberg, London : Springer, 2011. – P. 359–391.

176. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infection and time specific implications in cervical neoplasia / F. X. Bosh, A. N. Burchell, M. Sniffann [et al.] // *Vaccine*. – 2008. – Vol. 25 (10). – P. 1–16.

177. Epidermal growth factor receptor (EDFR) and vascular endothelial (VEGF) negatively affect overall survival in carcinoma of the cervix treated with radiotherapy / D. K. Gaffney, D. Haslam, A. Tsodikov [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2003. – Vol. 56. – P. 922–928.

178. Estrogen suppresses stromal cell-dependent lymphopoiesis in culture / G. Smithson, K. Medina, I. Ponting [et al.] // *J. Immunol.* – 1995. – V. 155, № 7. – P. 3409–3417.

179. Eurogin 2016 Roadmap: how HPV knowledge is changing screening practice / N. Wentzensen, M. Arbyn, J. Berkhof [et al.] // *Int J Cancer*. – 2017. – Vol. 140. – P. 2192–2200.

180. Evaluation of HPV-18 genotyping for the triage of women with high-risk HPV+ cytology-negative results / T. C. Wright, M. H. Stoler, A. Sharma [et al.] // *Am J Clin Pathol.* – 2011. – Vol. 136 (2011). – P. 578–586.

181. Evaluation of Ki-67-positive cell clusters as a diagnostic marker for cervical intraepithelial neoplasia / A. J. Kruse, J. P. Baak, T. Helliesen [et al.] // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2002. – Vol. 26. – P. 1501–1507.

182. Expression of VEGF, VEGFR, EGFR, COX-2 and MVD in cervical carcinoma, in relation with the response to radio-chemotherapy / V. M. Nagy, R. Buiga, I. Brie [et al.] // *Rom J Morphol Embryol.* – 2011. – Vol. 52 (1). – P. 53–59.

183. Farina, A. R. Gelatinase B/MMP-9 in tumor pathogenesis and progression / A. R. Farina, A. R. Mackay // *Cancers*. – 2014. – № 6 (1). – P. 240–296.

184. Ferrara, N. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells / N. Ferrara, W. J. Henzel // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1989. – Vol. 161 (2). – P. 851–8.

185. Ferrara, N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress / N. Ferrara // *Endocr. Rev.* – 2004. – Vol. 25. – P. 581–611.

186. Ferrara, N. VEGF –A: a critical regulator of blood vessel growth / N. Ferrara // *Eur. Cytokine Netw.* – 2009. – Vol. 20 (4). – P. 158–63.
187. Fibroblasts as efficient antigenpresenting cells in lymphoid organs / T. Kunding, M. Bachmann, C. Di Paolo [et al.] // *Science*. – 1995. – V. 268, № 5215. – P. 1343–1347.
188. Fichorova, R. N. Differential expression of immunobiological mediators by immortalized human cervical and vaginal epithelial cells / R. N. Fichorova, D. J. Anderson // *Biol. Reprod.* – 1999. – Vol. 60, № 2. – P. 508–514.
189. Follow-up evaluation of cervicovaginal human papillomavirus infection in adolescents / W. D. Rosenfeld, E. Rose, S. H. Vermund [et al.]. // *J Pediatr.* – 1992. – Vol. 121. – P. 307–311.
190. Fujiwara, M. Cervix: squamous cell carcinoma and precursors. In: *Uterine Pathology* / M. Fujiwara, C. S. Kong ; eds. R. A. Soslow and T. A. Longarce. – Cambridge University Press, 2012. – P. 19–33.
191. Gkoutela, S. Stem-like features of cancer cells on their way to metastasis / S. Gkoutela, N. Aceto // *Biol Direct.* – 2016. – Vol. 132. – P. 45–71.
192. Gulyaeva, L. F. Molecular mechanisms of endometrial carcinoma / L. F. Gulyaeva, S. E. Krasilnikov // *Acta Biomedica Scientifica*. – 2012. – № 3 (1). – P. 110–115.
193. Hay, A. D. An overview of epithelio-mesenchimal transformation / A. D. Hay // *Acta Anat (Basel)*. – 1995. – № 1 (154). – P. 8–20.
194. Hay, E. D. Organization and fine structure of epithelium and mesenchyme in the developing chick embryo / E. D. Hay // In: *Epithelial-mesenchimal interactions* ; eds. R. Fleischmajer, R. E. Billingham. – Baltimore, Maryland, USA: Williams and Wilkins, 1968. – P. 31–55.
195. Heatly, M. K. How should we grade CIN? / M. K. Heatly // *Histopathology* – 2002 – Vol. 40 – P. 377–390.
196. Herrington, M. R. Human papillomavirus and cervical neoplasia. Classification, virology, pathology, and epidemiology / M. R. Herrington // *J. Clin. Pathol.* – 1994. – Vol. 47. – P. 1066–10.

197. Hiller, O. Matrix metalloproteinases collagenase-2, macrophage elastase, collagenase-3, and membrane type 1- matrix metalloproteinase impair clotting by degradation of fibrinogen and factor XII / O. Hiller [et al.] // J. Biol. Chem. – 2000. – Vol. 275. – P. 8–13.
198. Ho, G. Y. F. HPV 16 and cigarette smoking as risk factor for high-grade cervical intraepithelial displasia / G. Y. F. Ho, A. S. Kadish, R. D. Burk [et al.] // Int. J. Cancer. – 1998. – Vol. 78. – P. 281–285.
199. Hormonal control of the production of interleukine 8 and catabolism of extracellular matrix and rabbit uterine cervical fibroblasts / I. Akira, I. Kaisuke, S. o Takashi, M. Yo // Connect. Tissue. – 1995. – V. 27, № 10. – P. 8–9.
200. Horning, E. S. Oestrogens and Neoplasia / Oxford : eds. H. Burrows, E. S. Horning. – Blackwell Scientific Publications, 1952. – P. 43.
201. HPV16 is associated with younger age in women with cervical intraepithelial neoplasia grade 2 and 3 / L. Baandrup, C. Munk, K. K. Andersen [et al.] // Gynecol Oncol. – 2012. – Vol. 124. – P. 281–285.
202. HPV16-E2 induces prophase arrest and activates the cellular DNA damage response in vitro and in precursor lesions of cervical carcinoma / Y. Xue, S. Y. Toh, P. He [et al.] // Oncotarget. – 2015. – Vol. 6. – P. 34979–34991.
203. Human papillomavirus 16 E7 oncoprotein attenuates DNA damage checkpoint control by increasing the proteolytic turnover of claspin / N. Spardy, K. Covella, E. Cha [et al.] // Cancer Res. – 2009. – Vol. 69. – P. 7022–7029.
204. Human papillomavirus E1 and E2 mediated DNA replication is not arrested by DNA damage signalling / L. E. King, J. C. Fisk, E. S. Dornan [et al.] // Virology. – 2010. – Vol. 406. – P. 95–102.
205. Human papillomavirus genotypes and the cumulative 2-years risk of cervical precancer / C. M. Wheeler, W. C. Hunt, M. Schiffman, P. E. Castle // J. Infect. Dis. – 2006. – Vol. 194. – P. 1291–1299.
206. Human papillomavirus genotypes in cervical intraepithelial neoplasia grade 3 / P. E. Castle, M. Schiffman, C. M. Wheeler [et al.] // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. – 2010. – Vol. 19. – P. 1675–1681.

207. Immunotherapy for cervical cancer: Research status and clinical potential / J. H. Su, A. Wu, E. Scotney [et al.] // *BioDrugs*. – 2010. – Vol. 24. – № 2. – P. 109–129.
208. Impairment of the mucosal immune system: IgA and IgM Cleavage detected in vaginal washings of a subgroup of patients with bacterial vaginosis / S. Cauci, R. Monte, S. Driussi [et al.] // *J Infect Dis*. – 1998. – Vol. 178 (6). – P. 1698–1706.
209. Increased ki-67b proliferative index and absence of p16INK4a in CIN-HPV related pathogenic pathways different from cervical squamous intraepithelial lesion / K. T. Kuo, H. C. Chang, C. H. Hsiao [et al.] // *British J Ophthalmol* – 2006 – Vol. 90 – P. 894–899.
210. Interleukin 6 triggered ataxia-telangiectasia mutated activation facilitates lung cancer metastasis via MMP-3/MMP-13 up-regulation / Y. N. Jiang, H. Q. Yan, X. B. Huang [et al.] // *Oncotarget*. – 2015. – Vol. 6 (38). – P. 40719–40733.
211. Intricate Functions of Matrix Metalloproteinases in Physiological and Pathological Conditions / R. Mittal, A. P. Patel, L. H. Debs [et al.] // *Journal of cellular physiology*. – 2016. – Vol. 231 (12). – P. 2599–2621.
212. Invasion and metastasis in colorectal cancer: epithelial-mesenchymal transition, mesenchymal-epithelial transition, stem cells and beta-catenin / T. Brabletz, F. Hlubek, S. Spaderna [et al.] // *Cell Tissues Organs*. – 2003. – Vol. 179. – P. 56–65.
213. Jansen, K. U. Human papillomavirus vaccines and prevention of cervical cancer / K. U. Jansen, A. R. Shaw // *Annual Review of Medicine: selected topics in the clinical sciences*. – 2004. – V. 55. – P. 319–331.
214. Kashimura, M. Reparative process of benign erosion of the uterine cervix following cryosurgery / M. Kashimura // *Gynecologie Oncology*. – 1980. – Vol. 9. – № 3. – P. 334–349.
215. Kevin. A. Ault Cervical Cancer Prevention: Better Test, Better Tools, and More Equitable Outcomes / A. Kevin // *J. Natl. Cancer Inst*. – 2011. – Vol. 103 (18). – P. 1352–1353.
216. Ki-67 immunoquantitation in cervical intraepithelial neoplasia (CIN): a sensitive marker for grading / A. J. Kruse, J. P. Baak, P. C. De Bruin [et al.] // *J. Pathol*.

– 2001. – Vol. 193. – P. 48–54.

217. Ki-67, cyclin E, and p16INK4 are complimentary surrogate biomarkers for human papilloma virus-related cervical neoplasia / J. T. Keating, A. Cviko, S. Reithdorf [et al.] // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2001 – Vol. 25 – P. 884–891.

218. Kiviat, N. B. Screening for cervical cancer in the era of the HPV vaccine – the urgent need for both new screening guidelines and new biomarkers / N. B. Kiviat, S. E. Hawes, Q. Feng // *J Natl Cancer Inst.* – 2008. – Vol. 100. – P. 290 – 291.

219. Klinger, M. H. F. Role of Blood Platelets in Infection and Inflammation / M. H. F. Klinger, W. Review Jelkmann // *J Interferon Cytokine Res.* – 2002. – Vol. 22 (9). – P. 913–922.

220. Kong, C. S. A panel of three markers including p16, ProExC, or HPV ISH is optimal for distinguishing between primary endometrial and endocervical adenocarcinomas / C. S. Kong, A. H. Beck, T. A. Longacre // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2010. – Vol. 34. – P. 915–926.

221. Kumar, S. Mechanics, malignancy, and metastasis: the force journey of a tumor cell / S. Kumar, V. M. Weaver // *Cancer Metastasis Rev.* – 2009. – Vol. 28. – № 1-2. – P. 113–127.

222. Kurihara, T. Hypoxia-inducible factor (HIF) / vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in the retina / T. Kurihara, P. D. Westenskow, M. Friedlander // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2014. – V. 801. – P. 275–281.

223. Lamagna, C. Dual role of macrophages in tumor growth and angiogenesis / C. Lamagna, M. Aurrand-Lions, B. A. Imhof // *J. Leukoc. Biol.* – 2006. – Vol. 80. – № 4. – P. 705–713.

224. Lamouille, S. Molecular mechanisms of epithelio-mesenchymal transition / S. Lamouille, J. Xu, R. Derynck // *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* – 2014. – № 15. – P. 178–96.

225. Levin, M. L. In *Breast Cancer, Progress in Clinical and Biological Research* / M. L. Levin, D. B. Thomas ; eds. A. C. Montague, G. L. Stonesifer, E. F. Lewison. – Liss, New York, 1977. – P. 9–35.

226. Liehr, J. G. Mechanism of metabolic activation and inactivation of catechol

estrogens: a basis of genotoxicity / J. G. Liehr // Polycycl. Arom. Compounds. – 1994. – Vol. 6. – P. 229–239.

227. Looi, M. L. Expression of p53, bcl-2 and ki-67 in cervical intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix / M. L. Looi, A. Z. Dali, S. A. Ali // Anal. Quant. Cytol. Histol. – 2008. – Vol. 30 (2). – P. 63–70.

228. Lord, R. S. Estrogen metabolism and the diet-cancer connection: rationale for assessing the ratio of urinary hydroxylated estrogen metabolites / R. S. Lord, B. Bongiovanni, J. A. Bralley // Altern Med Rev. – 2002. – Vol. 7. – P. 12–29.

229. Lysine-specific modifications of p53: a matter of life and death? D. Marouco, A. V. Garabadgiu, G. Melino, N. A. Barlev // Oncotarget. – 2013. – Vol. 4. – P. 1556–1571.

230. Mac Mahon, B. Etiology of human breast cancer: a review / B. Mac Mahon, P. Cole, J. Brown // J. Natl. CancerInst. – 1973. – Vol. 50. – P. 21–42.

231. Matrix metalloproteinases: inflammatory regulators of cell behaviors in vascular formation and remodeling / Q. Chen, M. Jin, F. Yang [et al.] // Mediators Inflamm. – 2013. – Vol. 2013. – P. 928315.

232. McKinnon, K. J. High prevalence of human papillomavirus and cervical intraepithelial neoplasia in a young Australian STD population / K. J. McKinnon, R. M. Ford, J. C. Hunter // Int. J STD. AIDS. – 1991. – Vol. 2, № 4. – P. 276–279.

233. Micalizzi, D. S. Cancer metastasis through the prism of epithelial-to-mesenchymal transition in circulating tumor cells / D. S. Micalizzi, D. A. Haber, S. Maheswaran // Mol Oncol. – 2017. – Vol. 11, № 7. – P. 770–780.

234. Moberg, M. Type-specific associations of human papillomavirus load with risk of developing cervical carcinoma in situ / M. Moberg I. Gustausson, U. Gyllensten // Int. J. Cancer. – 2004. – Vol. 112, № 5. – P. 854–859.

235. Modulation of murine macrophage function by interleukine-13 / T. Doherty, R. Kastelein, S. Menon [et al.] // J. Cell. Biochem. – 1994. – Suppl. 18d. – P. 307.

236. Modulation of synthesis of procollagenase, prostromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) by progesterone and oestradiol-17 / Takashi

Sato, A. Ito, Y. Mori [et al.] // *Biochem. J.* – 1991. – Vol. 275. – P. 645–650.

237. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections / A. Molijn, B. Kleter, W. Quint, L J. van Doorn // *J. Clin. Virol.* – 2005. – Vol. 32. – P. 43–51.

238. Nagase, H. Matrix metalloproteinases / H. Nagase, J. Woessner // *J. Biol. Chem.* – 1999. – Vol. 274, № 31. – P. 21491–94.

239. Natural history of human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study / C. B. Woodman, S. Collins, H. Winter [et al.] // *Lancet.* – 2001. – Vol. 356. – P. 1831.

240. Necroptosis is active in children with inflammatory bowel disease and contributes to heighten intestinal inflammation / M. Pierdomenico, A. Negroni, L. Stronati [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 109 (2). – P. 279–287.

241. Nicotine and cotinine in the cervical mucus of smokers, passive smokers, and nonsmokers / M. F. McCann, D. E. Irwin, L. A. Walton et al. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 1992. – Vol. 1, № 2. – P. 125–129.

242. Nucleotide deficiency promotes genomic instability in early stages of cancer development / A. C. Bester, M. Roniger, Y. S. Oren [et al.] // *Cell.* – 2011. – Vol. 145. – P. 435–446.

243. p16 (INK4A) expression is related to grade of cin and high-risk human papillomavirus but does not predict virus clearance after conization or disease outcome / M. Branca, M. Ciotti, D. Santini [et al.] // *Int J Gynecol Pathol.* – 2004. – Vol. 23 (4). – P. 354–65.

244. p53 overexpression in morphologically ambiguous endometrial carcinomas correlated with adverse clinical outcomes / K. Garg, M. M. Leitao, C. A. Wynveen [et al.] // *Mod. Pathol.* – 2010. – Vol. 23. – P. 80–92.

245. Parkin, D. M. Cancer burden in the year 2000. The global picture / D. M. Parkin, F. I. Bray, S. S. Devesa // *Eur J Cancer.* – 2001. – № 37 (Suppl. 8). – P. S4–66.

246. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs (WHO Classification of Tumours) / ed. A. Fattaneh Tavassoli, Peter Devilee. –

Lyon. : IARCPress. – 2003. – P. 266–268.

247. Patterns of persistent genital human papillomavirus infection among women worldwide: A literature review and meta-analysis / A. F. Rositch, J. Koshiol, M. G. Hudgens [et al.] // *Int J Cancer*. – 2013. – Vol. 133 (6). – P. 1271–1285.

248. Phelps, W. C. Human papillomavirus: molecular targets and prospects for antiviral therapy / W. C. Phelps, J. A. Barnes, D. C. Loba // *Internat Antiviral News*. – 1999. – № 7. – P. 4–8.

249. Pixley, E. Morphology of the fetal and prepubertal cervicovaginal epithelium / E. Pixley ; Eds J. A. Jordan, A. Singer // In: *The cervix*. – London-Philadelphia-Toronto, 1976. – P. 75–87.

250. Pleiotropic roles of non-coding rnas in tgf-mediated epithelial-mesenchymal transition and their functions in tumor progression / S. Grelet, A. McShane, R. Geslain, P. H. Howe // *Cancers (Basel)*. – 2017. – Vol. 9, № 7. – P. E75.

251. Prevalence and risk factors for oncogenic human papillomavirus infections in high-risk mid-adult women / R. L. Winer, J. P. Hughes, Q. Feng [et al.] // *Sex Transm Dis*. – 2012. – Vol. 39 (11). – P. 848–856.

252. Prognostic role of vascular endothelial growth factor in prostate cancer: a systematic review and meta-analysis / Z.-Q. Liu, I. M. Fang, Y.-Y. Xiao [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Med*. – 2015. – Vol. 8 (2). – P. 2289–98.

253. Proto-oncogenec-mycin uterine cervix carcinogenesis / S. Brychtova, T. Brychta, E. Sedlakova, Z. Kolar // *Neoplasma*. – 2004. – Vol. 51, № 2. – P. 84–89.

254. Quail, D. F. Microenvironmental regylation of tumor progression and metastasis / D. F. Quail, J. A. Joyce // *Nat. Med*. – 2013. – № 19 (11). – P. 1423–1437.

255. Quantitative molecular parameters to identify low-risk and high-risk early CIN lesions: role of markers of proliferative activity and differentiation and Rb availability / A. J. Kruse, I. Skaland, E. A. Janssen [et al.] // *Int. J. Gynecol. Pathol*. – 2004. – Vol. 23, № 2. – P. 100–109.

256. Reagan, J. W. Dysplasia of the uterine cervix / J. W. Reagan, M. J. Hamonic // *Ann. N.Y. Acad. Sci*. – 1956. – Vol. 63. – № 6. – P. 1236–1244.

257. Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1a / R. Ravi, B. Mookerjee, Z. M. Bhujwalla [et al.] // *Genes Dev* – 2000 – Vol. 14 – P. 34–44.
258. Reiss, C. S. The current status of viral immunology / C. S. Reiss, B. T. Rouse // *Immunol. Today*. – 1993. – V. 14, № 7. – P. 333–335.
259. Relation between HPV-DNA and expression of p53, bcl-2, p21Waf-1, MIB-1, HER-2/neu and DNA ploidy in early cervical carcinoma: correlation with clinical outcome / M. Graflund, B. Sorbe, S. Sigurdardottir, M. G. Karlsson // *Oncol. Rep.* – 2004. – V. 12, № 1. – P. 169–176.
260. Richart, R. M. Cervical Intraepithelial Neoplasia / R. M. Richart // *Pathol. Annu.* – 1973. – Vol. 8. – P. 301–328.
261. Richart, R. M. Cervical intraepithelial neoplasia / R. M. Richart // *Pathology of the Female Genital Tract*. – Verlag New York, 1977. – P. 143–165.
262. Roles of inflammatory cytokines in the progression of gastric cancer: friends or foes? / H. Tsujimoto, S. Ono, T. Ichikura [et al.] // *Gastric cancer*. – 2010. – Vol. 13. – № 4. – P. 212–221.
263. Rudolf, S. Relationship between telomerase activation and HPV16/18 oncogene expression in squamous intraepithelial lesions and squamous cell carcinomas of the uterine cervix / S. Rudolf, L. Riethdorf, G. Schulz // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2001. – Vol. 20. – P. 177–185.
264. Screening for cervical cancer / L. Peirson, D. Fitzpatrick-Lewis [et al.]. – Hamilton, ON: McMaster Evidence Review and Synthesis Centre, 2012.
265. Screening for cervical cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: results of the PALMS study / H. Ikenberg, C. Bergeron, D. Shmidt [et al.] // *J. Natl. Cancer. Inst.* – 2013. – Vol. 105 (20). – P. 1550–1557.
266. Sex steroids modulate human aortic smooth muscle cell matrix protein deposition and matrix metalloproteinase expression / A. K. Natoli, T. L. Medley , A. A. Ahimastos [et al.] // *Hypertension*. – 2005. – № 46. – P. 1129–34.
267. Shope, R. E. Infectious papillomatosis of rabbits : with a note on the histopathology / R. E. Shope, E. W. Hurst // *J Exp Med.* – 1933. – Vol. 58 (5). –

P. 607–624.

268. Shuman Moss, L. A. Matrix metalloproteinases: changing roles in tumor progression and metastasis / L. A. Shuman Moss, S. Jensen-Taubman, W. G. Stetler-Stevenson // *Am J Pathol.* – 2012. – Vol. 181 (6). – P. 1895–1899.

269. Silencing of E7 oncogene restores functional E-cadherin expression in human papillomavirus 16-transformed keratinocytes / J-H. Caberg, M. Hubert, D. Y. Begon [et al.] // *Carcinogenesis* – 2008 – Vol. 29 – P. 1441–1447.

270. Son, H. Epithelial-mesenchymal transition and cell invasion / H. Son // *Toxicol. Res.* – 2010. – Vol. 26 (4). – P. 245–52.

271. Spontaneous regression of high-grade cervical dysplasia: effects of human papillomavirus type and HLA phenotype / C. L. Trimble, S. Piantadosi, P. Gravitt [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2005. – № 11. – P. 4717–4723.

272. Srikrishna, G. Endogenous damage-associated molecular pattern molecules at the crossroads of inflammation and cancer / G. Srikrishna, H. H. Freeze // *Neoplasia.* – 2009. – Vol. 11, № 7. – P. 615–628.

273. Srivastava, S. P16INK4A and MIB-1 expression in preneoplasia and neoplasia of cervix / S. Srivastava // In: *Intraepithelial Neoplasia* / ed. S. Srivastava. – Intech, 2012. – P. 259–278.

274. Stanley, M. Immune responses to human papillomavirus / M. Stanley // *Vaccine.* – 2006. – Vol. 24, № 1. – P. 16–22.

275. Stanley, M. A. HPV: from infection to cancer / M. A. Stanley, M. R. Pett, N. Coleman // *Biocem. Soc. Trans.* – 2007. – Vol. 35. – P. 6, P. 1456–1460.

276. Stat3 / Socs3 activation by IL-6 transsignaling promotes progression of pancreatic intraepithelial neoplasia and development of pancreatic cancer / M. Lesina, M. U. Kurkowski, K. Ludes [et al.] // *Cancer Cell.* – 2011. – Vol. 19. – № 4. – P. 456–469.

277. Stoler, M. The impact of human papillomavirus biology on the clinical practice of cervical pathology / M. Stoler // *Pathol Case Rev.* – 2005. – Vol. 10. – P. 119–27.

278. Stoler, M. H. New Bethesda terminology and evidence-based management

guidelines for cervical cytology findings / M. H. Stoler // JAMA. – 2002. – Vol. 287. – P. 2140–2141.

279. Structure-function analysis of VEGF receptor activation and the role of coreceptors in angiogenic signaling / F. S. Grunewald, A. E. Prota, A. Giese, K. Ballmer-Hofer // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2010. – Vol. 1804 (3). – P. 567–580.

280. Tan, A. R. Transforming growth factor-beta signaling: emerging stem cell target in metastatic breast cancer? / A. R. Tan, G. Alexe, M. Reiss // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2009. – Vol. 115, № 3. – P. 453–495.

281. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology / D. Solomon, D. Davey, R. Kurman [et al.] // JAMA. – 2002. – Vol. 287. – № 16. – P. 2114–2119.

282. The accuracy of colposcopic biopsy: analyses from the placebo arm of the Gardasil clinical trials / M. H. Stoler, M. D. Vichnin, A. Ferenczy [et al.] // *Int J Cancer*. – 2011. – Vol. 128. – P. 1354–1362.

283. The biology and life-cycle of human papillomaviruses / J. Doorbar, W. Quint, L. Banks [et al.] // *Vaccine*. – 2012. – Vol. 30, Suppl 5. – P. F55–F70.

284. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer / F. X. Bosch, A. Lorincz, N. Munoz [et al.] // *J Clin Pathol*. – 2002. – Vol. 55. – P. 244–65.

285. The causal relation between papillomavirus and cervical cancer / E. X. Bosch, A. Lorincz, N. Muñoz [et al.] // *J. of clinical pathology*. – 2002. – Vol. 55, № 4. – P. 244–265.

286. The clinical meaning of a cervical intraepithelial neoplasia grade 1 biopsy / P. E. Castle, J. C. Gage, C. M. Wheeler, M. Schiffman // *Obstet Gynecol*. – 2011. – Vol. 118. – P. 1222–1229.

287. The detection of adducts in human cervix tissue DNA using 32P-postlabelling : a study of the relationship with smoking history and oral contraceptive use / M. M. King, A. Holligswrth, J. Cuzick, R. C. Garner // *Carcinogenesis*. – 1994. – Vol. 15. – P. 1097–1100.

288. The elevated preoperative platelet to lymphocyte ratio predicts decreased time to recurrence in colon cancer patients / J. Szkandera, M. Pichler, G. Absenger [et al.] // *Am J Surg.* – 2014. – Vol. 208 (2). – P. 210–4.

289. The HPV16 E6 AP complex function as a ubiquitin protein ligase in the ubiquitination of p53 / M. Scheffner, J. M. Huibregtse, R. D. Vierstra, P. M. Howley // *Cell.* – 1993. – Vol. 75. – P. 459–505.

290. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology / T. M. Darragh, T. J. Colgan, J. T. Cox [et al.] // *J. Low Genit Tract Dis.* – 2012. – Vol. 16. – P. 205–242.

291. The multifaceted circulating endothelial cell in cancer: towards marker and target identification / F. Bertolini, Y. Shaked, P. Mancuso, R. S. Kerbel // *Nat. Rev. Cancer.* – 2006. – Vol. 6 (11). – P. 835–45.

292. The role of sexual behavior and HPV persistence in predicting repeated infections with new HPV types / A. B. Moscicki, Y. Ma, J. Jonte [et al.] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2010. – Vol. 19 (8). – P. 2055–2065.

293. The role of steroid contraceptive hormones in the pathogenesis of invasive cervical cancer: a review / M. Moodley, J. Moodley, R. Chetty, C. S. Herrington // *Int J Gynecol Cancer.* – 2003. – Vol. 13 (2). – P. 103–110.

294. Thierry, F. Transcriptional regulation of the papillomavirus oncogenes by cellular and viral transcription factors in cervical carcinoma / F. Thierry // *Virology.* – 2009. – Vol. 384. – P. 375–379.

295. Thompson, E. W. Carcinoma invasion and metastasis: a role for epithelial-mesenchymal transition? / E. W. Thompson, D. F. Newgreen // *Cancer Res.* – 2005. – № 65. – P. 5991–5995.

296. Tomas, D. B. Oral contraceptive and invasive adenocarcinomas of the uterine cervix. The World Health Organization Collaborative Study of Neoplasia and Steroid Contraceptives / D. B. Tomas, R. M. Ray // *Am. J. Epidemiology.* – 1996. – Vol. 144, № 3. – P. 281–289.

297. Triage of women with equivocal or low-grade cervical cytology results: a meta-analysis of the HPV test positivity rate / M. Arbyn, P. Martin-Hirsch, F. Buntinx [et al.] // J. Cell Mol Med. – 2009. – № 13. – P. 648–659.
298. Tumors of the Cervix, Vagina, and Vulva. Third series, Fascicle four / R. J. Kurman, B. M. Ronnett, M. E. Sherman, E. J. Wilkinson. – American Registry of Pathology in collaboration with the Armed Forces Institute of Pathology: Washington, DC, 2010. – P. 431.
299. Type dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions / S. Vinokurova, N. Wentzensen, I. Kraus [et al.] // Cancer Res. – 2008. – Vol. 68 (1). – P. 307–313.
300. Unusual endocervical adenocarcinomas: an immunohistochemical analysis with molecular detection of human papillomavirus / K. J. Parc, T. Kiyokawa, R. A. Soslow [et al.] // Am. J. Surg. Pathol. – 2011. – № 35 (5). – P. 633–646.
301. Vaccination against HPV: indications for women and the impact on the cervical screening programme / D. Heideman, P. Snijders, J. Berkhof [et al.] // BJOG. – 2008. – № 115. – 3. 938–46.
302. Vandooren, J. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B/MMP-9): The next decade / J. Vandooren, P. E. van den Steen, G. Opdenakker // Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. – 2013. – № 48. – P. 222–272.
303. Vascular and haematopoietic stem cells: novel targets for anti-angiogenesis therapy? / S. Rafii, D. Lyden, R. Benezra [et al.] // Nat. Rev. Cancer. – 2002. – Vol. 2 (11). – P. 826–35.
304. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen / D. W. Leung G. Cachianes, W. J. Kuang [et al.] // Science. – 1989. – Vol. 246 (4935). – P. 1306–1309.
305. Vascular endothelial growth factor receptor-1 activation mediates epithelial to mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma cells / Z. Y. Yi, L. J. Feng, Z. Xiang, H. Yao // Journal of Investigative Surgery: the official journal of the Academy of Surgical Research. – 2011. – Vol. 24 (2). – P. 67–76.

306. Vascular invasion, but not lymphatic invasion, of the primary tumor is a strong prognostic factor in patients with colorectal cancer / T. Fujii, R. Yajima, T. Hirakata [et al.] // *Anticancer Res.* – 2014. – Vol. 34 (3). – P. 47–51.

307. Vascular remodeling in cancer / R. H. Farnsworth, M. Lackmann, M. G. Achen, S. A. Stacker // *Oncogene.* – 2014. – Vol. 33, № 27. – P. 3496–3505.

308. VEGF elicits epithelial-mesenchymal transition (EMT) in prostate intraepithelial neoplasia (PIN)-like cells via an autocrine loop Gonzales-/ O. Moreno, J. Lecanda, J. E. Green [et al.] // *Experimental Cell Research.* – 2010. – Vol. 316 (4). – P. 554–67.

309. Visse, R. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases: structure, function and biochemistry / R. Visse, H. Nagase // *Circulation Res.* – 2003. – № 2. – P. 827–839.

310. Wang, K. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in patients with prostate cancer: a systematic review with meta-analysis / K. Wang, H. L. Peng, L. K. Li // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2012. – Vol. 13 (11). – P. 5665–5669.

311. WHO Classification of tumours of female reproductive organs / eds R. J. Kurman, M. L. Carcangiu, C. S. Herrington, R. H. Young. – Lyon : IARC, 2014. – P. 169–206.

312. WHO Classification of Tumours of Female Reproductiw the Organs / ed. by R. J. Kurman, M. L. Carcangiu, C. S. Herrington, R. H. Young // *International Agency for Research on Cancer.* – Lyon, 2014. – P. 172–176.

313. Wieland, U. Molecular diagnosis of persistent human papilloma virus infections // U. Wieland, H. Pfister // *Intervirolology.* – 1996. – Vol. 39. – P. 145–157.

314. Wright, T. C. Precancerous lesions of the cervix. In: Blaunsteins pathology of the female genital tract / T. C. Wright, R. J. Kurman, A. Ferenczy ; ed. by R. J. Kurman. – New York : Springer, 2002. – P. 253–325.

315. Yarmolinskaya, M. I. Matriksnye metalloproteinazy i ingibitory: klassifikatsiya, mekhanizm deistviya / M. I. Yarmolinskaya, A. S. Molotkov, V. M. Denisova // *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznei.* – 2012. – № 1. –

P. 113–125.

316. Ylmaz M., Christofori G. EMT, the cytoskeleton, and cancer cell invasion / M. Ylmaz, G. Christofori // *Cancer Metastas. Rev.* – 2009. – Vol. 28. – P. 15–33.

317. Zhang, C. Y. Down regulation of p16ink4a inhibits cell proliferation and induces G1 cell cycle arrest in cervical cancer cells / C. Y. Zhang, W. L. Bao, H. Wang // *Int. J. Mol. Med.* – 2014. – Vol. 33 (6). – P. 1577–1585.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Схема-алгоритм действия онкологов при обследовании пациенток с патологией шейки матки. С. 18
2. Рисунок 2 – Акантоз, парацератоз и койлоцитоз многослойного плоского эпителия (CINI) – женщина 1 группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$ С. 52
3. Рисунок 3 – Плоская кондилома шейки матки, выраженный койлоцитоз (CINI) – женщина 1 группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 400$ С. 52
4. Рисунок 4 – Интраэпителиальная неоплазия легкой степени (CINI) у женщины 2 группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$ С. 53
5. Рисунок 5 – Интраэпителиальная неоплазия тяжелой степени у женщины 2 группы (CINIII). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$ С. 53
6. Рисунок 6 – Лейкоплакия (гиперкератоз) многослойного плоского эпителия (CINI) – женщина 2 группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$ С. 54
7. Рисунок 7 – Микроинвазивная карцинома с очагами ороговения у женщины 1 группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$ С. 54
8. Рисунок 8 – Структура диагноза CIN по группам. С. 55
9. Рисунок 9 – Структура диагноза SIL по группам. С. 55
10. Рисунок 10 – Толщина многослойного плоского эпителия (мкм). С. 59
11. Рисунок 11 – Толщина базального слоя многослойного плоского эпителия (мкм). С. 59
12. Рисунок 12 – Диаметр ядер базального слоя многослойного плоского эпителия (мкм). С. 60
13. Рисунок 13 – Диаметр ядер в других слоях многослойного плоского

	эпителия (мкм).	С. 60
14.	Рисунок 14 – Частота встречаемости койлоцитоза в эпителии шейки матки.	С. 62
15.	Рисунок 15 – Частота встречаемости лейкоплакии в многослойном плоском эпителии шейки матки.	С. 62
16.	Рисунок 16 – Численная плотность лимфоцитов и плазмоцитов в составе воспалительного инфильтрата: женщины 1 группы (Nai). . .	С. 67
17.	Рисунок 17 – Численная плотность лимфоцитов и плазмоцитов в составе воспалительного инфильтрата: женщины 2 группы (Nai). . .	С. 67
18.	Рисунок 18 – Численная плотность нейтрофилов и эозинофилов в составе воспалительного инфильтрата: женщины 1 группы (Nai). . .	С. 68
19.	Рисунок 19 – Численная плотность нейтрофилов и эозинофилов в составе воспалительного инфильтрата: женщины 2 группы (Nai). . .	С. 68
20.	Рисунок 20 – Численная плотность макрофагов в составе воспалительного инфильтрата (Nai).	С. 69
21.	Рисунок 21 – Численная плотность фибробластов в составе воспалительного инфильтрата (Nai).	С. 69
22.	Рисунок 22 – Экспрессия рецепторов к эстрогенам в многослойном плоском эпителии шейки матки у женщин 1 и 2 групп (%).	С. 75
23.	Рисунок 23 – Экспрессия рецепторов к прогестерону в многослойном плоском эпителии шейки матки у женщин 1 и 2 групп (%).	С. 75
24.	Рисунок 24 – Экспрессия рецепторов к эстрогенам в строме шейки матки у женщин 1 и 2 групп (%).	С. 76
25.	Рисунок 25 – Экспрессия рецепторов к прогестерону в строме шейки матки у женщин 1 и 2 групп (%).	С. 76
26.	Рисунок 26 – Экспрессия PR в эпителии и строме шейки матки при тяжелой интраэпителиальной неоплазии (CINIII) у женщины 2 группы. × 100. Иммуногистохимическое исследование.	С. 77
27.	Рисунок 27 – Экспрессия белка p16 в многослойном плоском	

	эпителии шейки матки у женщин 1 и 2 групп.	С. 80
28.	Рисунок 28 – Ядерная и цитоплазматическая экспрессия белка p16 у женщины 1 группы с CIN I. × 100. Иммуногистохимическое исследование.	С. 80
29.	Рисунок 29 – Экспрессия белка p16 у женщины 2 группы с CIN II. × 100. Иммуногистохимическое исследование.	С. 81
30.	Рисунок 30 – Экспрессия белка p53 в многослойном плоском эпителии шейки матки у женщин 1 и 2 групп.	С. 82
31.	Рисунок 31 – Ядерная экспрессия белка p53 в многослойном плоском эпителии шейки матки у женщины 2 группы при CIN III. × 200. Иммуногистохимическое исследование.	С. 83
32.	Рисунок 32 – Индекс мечения маркера пролиферативной активности Ki-67 в многослойном плоском эпителии шейки матки у женщин 1 и 2 групп.	С. 84
33.	Рисунок 33 – Индекс мечения маркера пролиферативной активности Ki-67 при CIN III у пациентки 1 возрастной группы. × 200. Иммуногистохимическое исследование.	С. 85
34.	Рисунок 34 – Индекс мечения маркера пролиферативной активности Ki-67 у пациентки 2 контрольной группы. × 100. Иммуногистохимическое исследование.	С. 85
35.	Рисунок 35 – Экспрессия MMPs и TIMP1 в строме шейки матки у женщин 1 и 2 групп при CIN I (%).	С. 90
36.	Рисунок 36 – Экспрессия MMPs и TIMP1 в строме шейки матки у женщин 1 и 2 групп при CIN II (%).	С. 90
37.	Рисунок 37 – Экспрессия MMPs и TIMP1 в строме шейки матки у женщин 1 и 2 групп при CIN III (%).	С. 91
38.	Рисунок 38 – Экспрессия MMPs и TIMP1 в строме шейки матки у женщин 1 и 2 групп при микроинвазивной карциноме (%).	С. 91
39.	Рисунок 39 – Экспрессия MMP9 клетками воспалительного инфильтрата в строме шейки матки с микроинвазивной	

	карциномой у пациентки 1 группы. × 400. Иммуногистохимическое исследование.	C. 92
40.	Рисунок 40 – Экспрессия MMP9 клетками воспалительного инфильтрата в шейке матки с микроинвазивной карциномой у пациентки 2 группы. × 400. Иммуногистохимическое исследование.	C. 92
41.	Рисунок 41 – Экспрессия TIMP1 клетками воспаления в строме шейки матки у пациентки 1 группы. × 400. Иммуногистохимическое исследование.	C. 93
42.	Рисунок 42 – Экспрессия TIMP1 клетками воспаления в строме шейки матки у пациентки 2 группы. × 400. Иммуногистохимическое исследование.	C. 93
43.	Рисунок 43 – Экспрессия VEGF в строме шейки матки у женщин 1 и 2 групп (%).	C. 95
44.	Рисунок 44 – Минимальная экспрессия VEGF в строме шейки матки у женщины 1 группы при CIN I. × 200. Иммуногистохимическое исследование.	C. 95
45.	Рисунок 45 – Экспрессия VEGF в строме шейки матки у женщины 1 группы при CIN III. × 400. Иммуногистохимическое исследование.	C. 96
46.	Таблица 1 – Морфометрическое исследование многослойного плоского эпителия шейки.	C. 58
47.	Таблица 2 – Сравнительная характеристика результатов морфометрического исследования клеточного состава воспалительного инфильтрата в группах женщин разных возрастов с CIN разной степени выраженности и микроинвазивной карциномой.	C. 64
48.	Таблица 3 – Иммуногистохимическое исследование экспрессии рецепторов к эстрогенам в многослойном плоском эпителии и строме шейки матки женщин 1 и 2 возрастных групп.	C. 73

49. Таблица 4 – Иммуногистохимическое исследование экспрессии рецепторов к прогестерону в многослойном плоском эпителии и строме шейки матки женщин 1 и 2 возрастных групп. С. 74
50. Таблица 5 – Иммуногистохимическое исследование экспрессии белка p16, белка p53, маркера пролиферативной активности Ki-67 в многослойном плоском эпителии шейки матки женщин 1 и 2 возрастных групп. С. 79
51. Таблица 6 – Сравнительная характеристика результатов иммуногистохимического исследования экспрессии матриксных металлопротеиназ, TIMP1 и VEGF в группах женщин разных возрастов с CIN разной степени выраженности и микроинвазивной карциномой. С. 89