

УДК:616 – 006.6: 618.146: 577.2 (575.2) (04)

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ (обзор)

Э.К. Макимбетов – докт. мед. наук, проф.

Д.К. Айтышова – аспирант

Worldwide a problem of cervical cancer is vital. Especially it concerns developing countries. Major injuries provoking cervical cancer have been studied and described in this paper.

За последние десятилетия значительно расширились представления о молекулярной генетике рака. Настоящий обзор суммирует достижения, касающиеся механизмов канцерогенеза опухолей нижнего генитального тракта, в частности, рака шейки матки (РШМ), также значению онкогенов и опухолевосупрессорных генов в развитии опухолей.

Известно, что для трансформации здоровой нормальной клетки в раковую необходима потеря гомозиготы вследствие мутации, делеции, инактивации или комбинации этих свойств.

Вирус папилломы человека (ВПЧ) играет решающую роль в развитии рака шейки матки, при которой вирусы взаимодействуют с нормальными клеточными генами. В настоящее время четко документировано повреждающее действие вируса папилломы человека E-6 и E-7 типов на клеточный геном. Рак шейки матки является актуальной проблемой во всем мире, особенно в развивающихся странах.

Вирус папилломы человека состоит из геномной цепи двойного ДНК, содержащей 7800–7900 базовых пар и непокрытого вириона. Геном состоит из трех областей: ранней, поздней (с кодами белков) и регуляторной области (без кода). Он относится к семейству А паповирусов. В настоящее время идентифицировано по меньшей мере 77 субтипов вируса папилломы. Все они являются эпителиотропными, т.е. способными поражать специфиче-

ские виды эпителия. Способны поражать аногенитальную область 23 типа этих вирусов. Вирусы папилломы человека подразделяются на онкогенные и неонкогенные типы. Известные в основном ВПЧ-6 и 11 типы, как не онкогенные вирусы, обнаруживаются у женщин с кондиломами. Вирус папилломы с дезоксирибонуклеиновой кислотой имеют 80% низкодифференцированных скваматозных поражений. В ранних сообщениях эти типы были самыми часто определяемыми типами, но в настоящее время имеется множество других типов, в том числе и недифференцированные [1]. Необходимо отметить, что этот вирус с ДНК определяется в 77% случаев высокодифференцированных скваматозных опухолей. Большинство этих высокодифференцированных неоплазий часто сочетается с 16 или 18 типами ВПЧ или 31 типом. Они часто вызывают инвазивный рак шейки матки [2]. Почти 100% вульварных интраэпителиальных неоплазий сочетается с 16 типом ВПЧ [3]. Есть сведения, что 18, 31 и 33 типы также могут быть ответственны за злокачественное перерождение [4]. Сочетание ВПЧ с низкодифференцированными интраэпителиальными неоплазиями вульвы является менее универсальным, чем с высокодифференцированными поражениями вульвы, с положительным рангом от 10 до 90%. В случаях вульварного инвазивного рака существуют две группы пациентов. Одна группа принадлежит к молодому

возрасту, характеризующемуся внутриэпителиальным поражением и высоким сочетанием с папилломавирусной инфекцией. В этой группе фиксируется примерно 90% положительных тестов, в основном на типы ВПЧ-16, 18, 31 и 33 [5]. Другая группа часто встречается у пожилых людей с низкой частотой встречаемости положительных тестов на вирус папилломы человека. Для них характерен базалиодный или вартный тип роста опухоли. Как и при интраэпителиальной цервикальной неоплазии, предрак влагалища сочетается с ВПЧ инфекцией почти в 85% случаев и с инвазивной карциномой влагалища в 21–55% случаев [6].

Знание природы вируса папилломы и его взаимодействий с геномом хозяина помогает нам понять, как воздействует вирус на канцерогенез нижнего генитального тракта.

Регуляторный участок содержит специфические связывающие локусы для множества транскрипционных активаторов и репрессоров, включающих активированный протеин-1 и нуклеарный фактор-1 [7]. Регуляторные участки контролируются транскрипцией ранних и поздних локусов, зависящих от продукции вирусом протеинов и частиц. Рано созревающие участки содержат 6 открытых остовов от E1 до E6. Они имеются у всех вирусных белков, за исключением белков с капсулой, которые развиваются в поздних участках. Шестой и седьмой типы белков имеют особое значение в канцерогенезе.

Поздние участки содержат две хорошо определяемые или читаемые рамки для вирусов с капсулированными белками. L1 кодирует крупные вирусы с капсулированными белками, которые хорошо сохраняются между материалами, а L2 кодирует мелкие вирусы с инкапсулированными белками. Они используются в качестве антигенов на различные вирусоспецифические антитела. Когда происходит заполнение L1 и L2 вирионом, последние подвергаются транскрипции. Этот процесс регулируется транскрипционными факторами, которые могут продуцироваться в более дифференцированных эпителиальных клетках инфицированного эпителия.

E6 и E7 взаимодействуют с цитоплазматическими генами, также имеющими важное значение. E6 протеин кодирует белок, состоящий из 150

аминокислот, схожих с аденовирусами типа E1B и большим T-антигеном вируса SV40. E6-вариант является цинксвязывающим протеином. Значение вируса папилломы E6 типа при раке проявляется ее эффектом на опухолевосупрессорные гены, типа p53. Альтерации в гене p53, включающие делецию, инсерцию и точечную мутацию, часто идентифицируются при других злокачественных опухолях, таких как рак толстой кишки, молочной железы и рак легкого [8]. Ген p53 негативно воздействует на клеточный цикл и способствует «потере функции» при мутации опухолевых структур [9]. Нормальная функция p53 включает транзиторное увеличение экспрессии после повреждения ДНК, приводящее к «аресту» клеточного цикла в фазе G-1. Такой «арест» способствует повреждению ДНК или потере возможности ее восстановления, что приводит к клеточному апоптозу (гибели клетки). Ген p53 воздействует через нисходящие регуляторные системы, такие как p21, приводя к ингибции циклинзависимых киназ. Доказательством служат ретинобластома, в развитии которой происходит предупреждение прогрессии клеточного цикла. Все это ведет к апоптозу через изменения на уровне BAX and BCL2 экспрессии, особенно у семейных родственников [10]. Крупный SV40 T-антиген, аденовирус E1B белок и ВПЧ-E6 белок могут также создавать комплексы с инактивацией гена p53. Однако E6 также стимулирует деградацию p53 через селективные протеолитические воздействия. E-6 белок с такими высокоонкогенными типами, как ВПЧ –16 и 18, имеет высокую повреждающую способность для p53 по сравнению с низкоонкогенными типами такими, как ВПЧ 6 и 11.

E7 кодирует 98-й аминокислотный фосфопротеин, который является схожим с аденовирусом E1A белком и SV40 T-антигеном. Он является цинксвязывающим антигеном. Значение E7 типа ВПЧ в развитии злокачественных опухолей заключается в том, что он является повинным в возникновении ретинобластомы и ее отношении к генам P107 и P130. Пролиферация нормальных клеток клеточного цикла происходит под влиянием цинкзависимых киназ. Это взаимодействие происходит, когда клетки подвергаются фосфолированию, как

при ретинобластоме [11]. При этой активной форме возможно гипофосфолирование с клеточным блоком в G-1 фазе. Когда наступает фосфолирование, транскрипционный фактор освобождается и может активизировать гены, ответственные за прогрессию S фазы. E7 также взаимодействует с двумя ингибиторами P21 и P27. Эти белки должны участвовать в нормальной пролиферации клеток.

Как белок ретинобластомы, так и P53 белок взаимодействуют с двойными более мелкими генами. P53 действует как транскрипционный активатор этих генов. Последние публикации указывают на то, что имеется повышенная экспрессия этих двойных генов примерно в 35% случаев цервикального рака, хотя это не коррелирует с папилловирусной инфекцией [12].

Однако полные взаимоотношения между ВПЧ-инфекцией и раком нижнего генитального тракта до сих пор до конца не ясны, но последние достижения в молекулярной биологии подробно раскрывают некоторые механизмы этих взаимодействий.

Хромосомные нарушения. Хотя ВПЧ играет существенную роль в развитии рака шейки матки, существуют и другие причины, способствующие канцерогенезу, например, хромосомные нарушения, включая потерю гетерозиготы. Наиболее часто сообщается о нарушениях в хромосоме р3. Примерно у 70% первичных больных раком шейки матки выявляются нарушения в 3-й хромосомной паре на 14–25 участках [13]. Подобные изменения определяются примерно у 30–57% пациенток с предраковыми заболеваниями шейки матки [14]. Larson и его коллеги предположили, что опухолевосупрессорный ген FHT локализуется именно в этой области (3p14.2) [12]. Однако Chu и его коллеги не обнаружили абберации FHT мРНК при раке шейки матки. В то же время в недавних исследованиях, проведенных Holschneider, описан этот процесс у 57% больных инвазивным и 47% преинвазивным раком шейки матки. Более достоверная связь была найдена между курением и хромосомными нарушениями [15]. Другим опухолевосупрессорным геном, ответственным за канцерогенез, является beta-catenin, ген локализованный в плече хромосомы 3 на локусе 3P211. Он является

структурным медиатором цитоскелетных волокон для целлюлярной адгезии молекул. Kesetaeker отметил изменения хромосом в этом месте в 41% случаев при раке шейки матки, но при этом не было обнаружено экспрессии бета-катенина [16].

Кроме третьей хромосомы отсутствие гетерозиготности выявлено в 6, 11, 13, 16, 17 и 19 парах при раке шейки матки и во 2, 5, 10, 11, 15, 17, 18 и 21 парах при раке вульвы. Также отмечены микросателлиты в 14–30% случаев, которые играют важную роль в генетической нестабильности клетки [13–15].

Роль специфических онкогенов, опухолевосупрессорных генов. В канцерогенезе участвуют аномалии клеточных генов, экспрессия онкогенов и потеря функции (опухолевосупрессорные гены). Выше было указано, что аномалии в функционировании гена P53 и опухолевого супрессора ретинобластомы могут быть результатом инфицирования вирусом папилломы. В 96% инвазивного рака шейки матки содержатся ВПЧ 16–18 типы, при этом обнаруживаются мутации P53 [17]. Существуют две подгруппы больных раком вульвы – с сочетанием ВПЧ и без нее. В то же время показано, что мутации P53 являются характерными для рака вульвы и без ВПЧ-инфекции. Ngan и его коллеги описали мутации P51 у 21% больных раком вульвы и считают, что этот мутационный статус не относится к инфекции ВПЧ [18]. Однако Flowers описал потерю аллели на участке P53 гена у 20% больных раком вульвы и 62% при ВПЧ негативных опухолях. Автор сообщил о достоверном повышении иммуногистохимической позитивности и повреждений онкогена P53 при ВПЧ негативных опухолях вульвы в 41% случаев. Наконец Lee и его коллеги обнаружили мутацию P53 у (44%) больных при ВПЧ негативных опухолях. [19]. Результаты этих исследований предполагают, что потеря функции P53 через ВПЧ-инфекцию или мутацию является важным фактором канцерогенеза этих опухолей.

Другие специфические генетические нарушения могут также играть важную роль в канцерогенезе и агрессивности цервикальных опухолей. Онкоген CMYC является экспрессором почти во всех дифференцированных типах клеток. Этот протеин действует как транс-

крипционный регулятор. Ген содержит участок, который построен из трех эксонов, двух промоторных и двух транскрипционных частей. Кроме того, транскрипция онкогенов увеличивается после отдыха клеток при входе в G1 фазу. Этот онкоген играет роль в апоптозе клетки посредством связывания с MAX, P53, VAX и BCLX. Апоптоз индуцируется в клетках через факторы роста [20]. Онкоген CMYC является доминирующим в активации рака шейки матки. Большинство исследований предполагает активацию CMYC в 32-34% случаев при РШМ. Усиление может коснуться увеличения размеров опухоли и увеличения размеров лимфоузлов, а также может быть фактором риска или фактором прогноза, особенно при рецидиве опухоли. Однако краткое сообщение Tate с коллегами предполагает, что CMYC мутации не являются важными при внутриэпителиальных неоплазиях [21].

Другим геном, имеющим значение в развитии семейного рака, является RAS-ген. Существуют три формы этого гена: RAS, KRAS HRAS and NRAS, которые кодируют 21-kDa белок (p21), они локализируются во внутренней плазмемной мембране и действуют как мембранно-гунозинтриптофосфатный барьер. В норме RAS P21 гидролизует его, но потеря RAS ведет ее к активации и далее к клеточной пролиферации [22]. Мутации KRAS and HRAS были описаны у 10–15% больных раком шейки матки. Только одно сообщение, проведенное Garzetti, свидетельствует о повышении RAS-экспрессии, коррелируемого с высоким риском развития метастазов в лимфоузлах [23]. В то же время Tate и его коллеги не обнаружили какой-либо связи между RAS мутациями и раком вульвы [21].

Кроме этих факторов транскрипции в канцерогенезе принимают участие рецепторы: из них два были изучены для злокачественных опухолей генитального тракта, включая рак шейки матки. Это эпидермальный рецепторный фактор роста (EGF-R) и фактор, относящийся к HER2/NEU. EGF-R – трансмембранный гликопротеин с внутрицеллюлярным компонентом. Эти лиганды являются эпидермальными и трансформирующими факторами роста (фактор альфа). Повышенная экспрессия EGF-R обычно усиливает свойства гена, и ка-

жется, что он повышает защитные свойства клеток. EGF-R экспрессия обнаружена не только в цервикальных опухолях, но в некоторых нормальных и перманентных эпителиальных клетках. Lakshmi и его коллеги предположили, что в нормальных скваматозных эпителиальных клетках экспрессия эпидермального фактора роста ограничивается базальной и парабазальной мембраной клеточного слоя, тогда как при предопухолевых и инвазивных поражениях экспрессия бывает более диффузной [24].

HER 2/NEU также кодирует около 78% территории трансмембранного гликопротеина в интрацитоплазматической части EGF-R. Он является гликопротеином (185 kDa) с тирозинкиназной активностью, некоторые авторы [38] описывают возможность наличия лиганд. Исследования Lakshmi and Berchuck показали высокий процент цервикального рака (скваматозный вариант) в результате экспрессии HER2/NEU, однако она была незначительной и коррелировала с экспрессией EGF-R [25, 26]. Berchuck описал один случай с IV стадией рака шейки матки, при котором имелось интенсивное содержание HER2/ NEU [26]. Однако заключает автор, эта краткая информация не дает возможности говорить о связи HER2/NEU и EGF-R экспрессии с прогнозом рака шейки матки.

Кроме P53, RB GF и других онкогенов, обсужденных выше, имеются и другие опухолевосупрессорные гены, которые играют определенную роль в канцерогенезе. Это CDK, циклины P16, P21, P27 и MDM.

Skomedal и коллеги недавно сообщили об экспрессии P21 у 96% больных раком шейки матки [11]. Как указывалось выше, ген P21 взаимодействует с ВПЧ-Е7 и ингибирует нормальную клеточную активность. В результате повышается уровень P21, что расценивается как адаптационная расценка после постоянной стимуляции, измененной вследствие связывания CDK 4/циклинового комплекса или мутации в нисходящей мишени P21.

Skomedal с соавторами при наблюдении над CDK и D1 обнаружили в 69% случаев повышенную экспрессию опухолевых клеток по сравнению со здоровым эпителием (3%). Поэтому действие циклина D1 на ген ретинобластомы при раке шейки матки не может быть

таким важным, как при других опухолях. Также возможно, что чрезмерная экспрессия CDK4 может быть связана с D1, D2 или D3 циклинами [11]. Как указывалось выше, 35% опухолей подвергается повышенной экспрессии протеином MDM2.

Уровень P27, циклинзависимого киназного ингибитора был снижен у 65% больных раком шейки матки по сравнению с нормальным эпителием. Указанные изменения были описаны для различных локализаций рака и коррелированных с неблагоприятным прогнозом. В то же время Skomedal с соавт. не выявили прямой взаимосвязи рака шейки матки и смертностью пациенток. Действительно, в их сообщении не было корреляции между какими-либо клеточными цикловыми протеинами и гистологическим типом опухоли, а также степенью их дифференциации по классификации FIGO.

Другой CDK ингибитор, P16, также обнаруживается при многих новообразованиях. Однако Kim и его коллеги сообщили в 1998 г., что 57% первичных опухолей не имеют делеции или мутации в этих генах [26].

Другим важным опухолевосупрессорным геном является апоптозный ингибитор BCL2, который был впервые описан при В-клеточных лимфомах с транслокацией в t (14;18) (q32;q21) [27]. Впоследствии они были обнаружены при лимфомах и эпителиальных опухолях без этой транслокации. BCL2 продуцирует 25 kDa белок, локализованный в митохондриальной мембране и расположенный как бы в ядерном конверте или плазматической мембране, или эндоплазматической ретикуломе хромосомы. Поэтому он ингибирует апоптоз, и когда BCL2 выполняет чрезмерную экспрессию. Это обуславливает лучшую выживаемость клеток. Такая экспрессия BCL2 при некоторых опухолях сочетается с уменьшением злокачественного фенотипа.

Роль ангиогенеза и ангиогенных факторов. Ангиогенез имеет существенное значение для роста солидных опухолей. Hockel с соавт. описали связь между опухолевой гипоксией и прогрессией рака шейки матки, что было связано с ангиогенной потенцией опухоли [28]. Однако всякие попытки связать эти данные с действием самих сосудистых компонен-

тов или ангиогенных факторов на самом деле очень трудно. Siracka и Kohno сообщили, что высокая компактность кровеносных сосудов при проведении радиотерапии способствует улучшению прогноза и результатов лечения [29, 30]. Bossi, Ruttgers и их коллеги сообщили об отсутствии связи между ангиогенезом и стадией болезни, а также их прогнозом [31, 32]. Недавно Raleigh сообщил, что гипоксия и экспрессия васкулярного эндотелиального фактора имеет прогностическое значение при раке шейки матки [33]. Этим фактором является дисульфидноскрепленный гликопротеин, транскрипция и экспрессия которого регулируются гипоксией, и оказывающего влияние на развитие и рост опухолей различных локализаций. Однако другие не обнаружили какой-либо связи между гипоксией и экспрессией при раке шейки матки [33]. Таким образом, можно предположить, что гипоксия является важным фактором в ответной реакции опухоли на лечение, но точная роль ангиогенного фактора в прогрессии раковой опухоли до конца не ясна.

Иммунологические факторы. Известно, что иммунитет при раковых заболеваниях, особенно цервикальном раке, снижается. Поэтому были предприняты попытки глубокого изучения иммунологических механизмов канцерогенеза. Odunsi с коллегами отметили значение иммуннокомпетентного комплекса в развитии рака шейки матки [34]. Оба фактора и антитела, и Т-клетки проявляли ответную реакцию на инфекцию вируса папилломы. Было доказано, что иммуносупрессивные больные более чувствительны к инфекции ВПЧ. Однако не у всех развивался рак. По всей видимости, был повышенный риск развития опухоли у определенных лиц, в основном связанный с типом HLA DQB1*03. В сообщении, сделанном Jochmus, показано общее усиление экспрессии I класса молекул при интраэпителиальных повреждениях, там, где был положительный тест на вирус, по сравнению с вируснегативными случаями [35]. Другими авторами обнаружена экспрессия цитокинов, которые коррелировали с типом иммунного ответа при цервикальном раке и преинвазивных повреждениях. Реакция Th-1 в ответ на вирусинфекцию имеет важное значение при неадекватном контроле инфекции.

Th-1 тип ответственен на инфекцию ВПЧ и важен для успешного контроля вирусов, тогда как Th2 ответственен за неадекватный контроль вирусной инфекции. Первый тип осуществляет свое воздействие посредством клеточного иммунитета продукцией цитокинов таких, как интерлейкин-4 и интерлейкин-10. Al-Saleh сообщил об уменьшении уровня интерлейкина-4 при высокодифференцированных чешуйчатых интраэпителиальных повреждениях [36]. Hildelsheim и его коллеги обнаружили снижение уровня рецепторов интерлейкина-2 у больных с такими же повреждениями [37]. Giannini отметил увеличение интерлейкина-10 при подобных неоплазиях [38]. Все эти данные подтверждают мнение о том, что первый тип ответа соответствует адекватному контролю над инфекцией ВПЧ. Поэтому важна защитная роль иммунной системы при развитии рака шейки матки. В настоящее время проводятся углубленные исследования по выработке вакцин для предотвращения этой инфекции.

На основании литературного обзора установлено, что некоторые аспекты генетики опухолей нижнего генитального тракта у женщин точно определены. Имеются определенные взаимоотношения между злокачественными новообразованиями шейки матки и ВПЧ-инфекцией, генетическими дефектами и иммунными факторами. И поэтому с установлением точных генетических аномалий появится возможность терапии на совершенно новом уровне.

Как указывалось, в области иммунологии рака появляются попытки эффективной иммунизации посредством использования вакцин. Исследования, проведенные Borysievich и его коллегами в первой фазе клинического триала, показали, что с помощью вакцин, содержащих вирус папилломы человека 16Е6 и 19Е6 типов, можно стимулировать иммунный ответ при проникновении вируса [39]. Они обнаружили у одного больного появление антител в виде цитотоксических Т-клеток к вирусу папилломы типа 18Е7. Stellar и его коллеги обнаружили у 5 из 7 больных раком шейки матки индуцирование иммунного ответа на вакцинацию липопептидной вакциной [40].

Другим важным шагом в лечении злокачественных опухолей может быть попытка корригировать генетические аномалии в раковых клетках. В связи с этим Hamada и его коллеги описали наблюдение об использовании *in vitro* E1 делецированного модифицированного аденовируса, содержащего ДНК на онкоген P53 при раке шейки матки [41]. Возможно, это будет новая стратегия в лечении рака шейки матки.

Литература

1. zur Hausen H. Papillomavirus infections – a major cause of human cancers // *Biochim Biophys Acta*. – 1996. – 1288. – P. 55–78.
2. Genest DR, Stein L, Cibas E, et al. A binary (Bethesda) system for classifying cervical cancer precursors: criteria, reproducibility, and viral correlates // *Hum Pathol*. – 1993. – V. 24. – P. 730–736.
3. Kohlberger PD, Kirnbauer R, Bancher D, et al. Absence of P53 protein overexpression in precancerous lesions of the vulva // *Cancer*. – 1998. – V. 82. – P. 323–327.
4. Hording U, Junge J, Daugaard S, et al. Vulvar squamous cell carcinoma and papillomaviruses: indications for two different etiologies // *Gynecol Oncol*. – 1994. – V. 52. – P. 241–246.
5. Monk BJ, Burger RA, Lin F, et al. Prognostic significance of human papillomavirus DNA in vulvar carcinoma // *Obstet Gynecol*. – 1995. – V. 85. – P. 709–715.
6. Turek LP. The structure, function and regulation of papillomaviral genes in infection and cancer // *Adv Viral Res*. – 1994. – V. 44. – P. 305–356.
7. Rodrigues NR, Rowan A, Smith MEF, et al. P53 mutations in colorectal cancer // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 1990. – V. 7. – P. 7555–7559.
8. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The P53 tumor suppressor gene // *Nature*. – 1991. – V. 351. – P. 453–465.
9. Miyashita T, Krajewski S, Krajewska M, et al. Immediate early upregulation of bax expression by P53 but not by TGβ1: a paradigm for distinct apoptotic pathways // *Oncogene*. – 1994. – V. 9. – P. 1791–1798.
10. Akiyama T, Ohuchi T, Sumida S, et al. Phosphorylation of the retinoblastoma protein by cdk2 // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 1992. – V. 89. – P. 7900–7904.

11. Skomedal H, Kristensen GB, Lie AK, Holm R. Aberrant expression of the cell cycle associated proteins TP53, MDM2, P21, P27, cdk4, cyclin D1, RB and EGFR in cervical carcinomas // *Gynecol Oncol.* – 1999. – V. 73. – P. 223–228.
12. Larson AA, Kern S, Curtiss S, et al. High resolution analysis of chromosome 3p alterations in cervical cancer // *Cancer Res.* – 1997. – V. 57. – P. 4082–4090.
13. Chu TY, Shen CY, Chiou YS, et al. HPV-associated cervical cancers show frequent allelic loss at 3p14 but no apparent aberration of FHIT mRNA // *Int J Cancer.* – 1998. – V. 75. – P. 199–204.
14. Flowers LC, Wistuba II, Scurry J, et al. Genetic changes during the multistage pathogenesis of human papillomavirus positive and negative vulvar carcinomas // *J Soc Gynecol Invest.* – 1999. – V. 6. – P. 213–221.
15. Holschneider C, Baldwin RL, Epstein JS, et al. Lost fragile histidine triad (FHIT) gene expression may link cigarette smoking and cervical cancer. Proceedings of the Society of Gynecologic Oncologists 31st Annual Meeting; 2000 Feb 5–9; San Diego, CA. – Chicago: SGO, 2000.
16. Kersemaekers AMF, Hermans J, Fleuren GJ, van de Vijver MJ. Loss of heterozygosity for defined regions on chromosomes 3, 11 and 17 in carcinomas of the uterine cervix // *Br J Cancer.* – 1998. – V. 77. – P. 192–200.
17. Crook T, Wrede D, Tidy JA, et al. Clonal P53 mutation in primary cervical cancer: association with human-papillomavirus-negative tumors // *Lancet.* – 1992. – V. 339. – P. 1070–1073.
18. Ngan HY, Cheung AN, Liu SS, et al. Abnormal expression or mutation of TP53 and HPV in vulvar cancer // *Eur J Cancer.* – 1999. – V. 35. – P. 481–484.
19. Lee YY, Wilczynski SP, Chumakov A, et al. Carcinoma of the vulva: HPV and P53 mutations // *Oncogene.* – 1994. – V. 9. – P. 1655–1659.
20. Evan G, Harrington E, Fanidi A, et al. Integrated control of cell proliferation and cell death by the c-myc oncogene // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* – 1994. – V. 345. – P. 269–275.
21. Tate JE, Mutter GL, Prasad CJ, et al. Analysis of HPV-positive and -negative vulvar carcinomas for alterations in c-myc, Ha-, Ki- and N-ras genes // *Gynecol Oncol.* – 1994. – V. 53. – P. 78–83.
22. Spandidos DA. The super-family of ras related genes. – New York, London: Plenum Press, 1991. – P. 311–338.
23. Garzetti GG, Ciavattini A, Lucarini G, et al. ras P21 immunostaining in early stage squamous cervical carcinoma: relationship with lymph node involvement and 72 kDa-metalloproteinase index // *Anti-cancer Res.* – 1998. – V. 18. – P. 609–614.
24. Lakshmi S, Balaraman Nair M, Jayaprakash PG, et al. c-erbB-2 oncoprotein and epidermal growth factor receptor in cervical lesions // *Pathobiology.* – 1997. – V. 65. – P. 163–168.
25. Berchuck A, Rodriguez G, Kamel A, et al. Expression of the epidermal growth factor receptor and Her-2/neu in normal and neoplastic cervix, vulva and vagina // *Obstet Gynecol.* – 1990. – V. 76. – P. 381–387.
26. Kim JW, Kim HS, Kim IK, et al. Transforming growth factor-1 induces apoptosis through down-regulation of c-myc gene and overexpression of P27 Kip1 protein in cervical carcinoma // *Gynecol Oncol.* – 1998. – V. 69. – P. 230–266.
27. Tuszimoto Y, Finger LR, Yunis J, et al. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation // *Science.* – 1984. – V. 226. – P. 1097–1099.
28. Hockel M, Schlenger K, Aral B, et al. Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the uterine cervix // *Cancer Res.* – 1996. – V. 56. – P. 4509–4515.
29. Siracka E, Siracky J, Pappova N. Vascularization and radiocurability in cancer of the uterine cervix. A retrospective study // *Neoplasma.* – 1994. – V. 29. – P. 183–188.
30. Kohno Y, Iwanari O, Kitao M. Importance of histological vascular density in cervical cancer treated with intra-arterial chemotherapy // *Cancer.* – 1993. – V. 72. – P. 2394–2400.
31. Bossi P, Viale G, Lee AKC, et al. Angiogenesis in colorectal tumors: microvessel quantitation in adenomas and carcinomas with clinicopathological correlations // *Cancer Res.* – 1995. – V. 55. – P. 5049–5053.
32. Rutgers JL, Mattox TF, Vargas MP. Angiogenesis in uterine cervical squamous cell carcinoma // *Int J Gynecol Pathol.* – 1995. – V. 14. – P. 114–118.
33. Raleigh JA, Calkins-Adams DP, Rinker LH, et al. Hypoxia and vascular endothelial growth factor expression in human squamous cell carcinomas using pimonidazole as a hypoxia marker // *Cancer Res.* – 1998. – V. 58. – P. 3765–3768.
34. Odunsi KO, Ganesan TS. The roles of human major histocompatibility complex and human

- papillo-mavirus infection in cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer // *Clin Oncol.* – 1997. – V. 9. – P. 4–13.
35. *Jochmus I, Durst M, Reid R, et al.* Major histocompatibility complex and human papillomavirus type 16 E7 expression in high-grade vulvar lesions // *Hum Pathol.* – 1993. – V. 24. – P. 519–524.
36. *Al-Saleh W, Gianinni SL, Jacobs N, et al.* Correlation of T-helper secretory differentiation and types of antigen-presenting cells in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix // *J Pathol.* – 1998. – V. 184. – P. 283–290.
37. *Hildesheim A, Schiffman MH, Tsukui T, et al.* Immune activation in cervical neoplasia: cross sectional association between plasma soluble interleukin 2 receptor levels and disease // *Cancer Epidemiol Bio-mark Prev.* – 1997. – V. 6. – P. 807–813.
38. *Gianinni SL, Al-Saleh W, Piron H, et al.* Cytokine expression in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix: implications for the generation of local immunosuppression // *Clin Exp Immunol.* – 1998. – V. 113. – P. 183–189.
39. *Borysiewicz LK, Fiander A, Nimako M, et al.* A recombinant vaccinia virus encoding human papillomavirus types 16 and 18, E6 and E7 proteins as immunotherapy for cervical cancer // *Lancet.* – 1996. – V. 347. – P. 1523–1527.
40. *Stellar MA, Gurski KJ, Murakami M, et al.* Cell-mediated immunological responses in cervical and vaginal cancer patients immunized with a lipidated epitope of human papillomavirus type 16 E7 // *Clin Cancer Res.* – 1998. – V. 4. – P. 2103–2109.
41. *Hamada K, Zhang WW, Alemany R, et al.* Growth inhibition of human cervical cancer cells with the recombinant adenovirus P53 in vitro // *Gynecol Oncol.* – 1996. – V. 60. – P. 373–379.