

УДК 618.146-006.6:616-091.818:578.28НIV:57.088

*Л.И. Короленкова, Е.В. Степанова, А.Ю. Барышников***МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АПОПТОЗА КАК ФАКТОРЫ ПРОГРЕССИИ ЦЕРВИКАЛЬНЫХ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НЕОПЛАЗИЙ И РАКА ШЕЙКИ МАТКИ***РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва***Контактная информация:***Короленкова Любовь Ивановна, старший научный сотрудник поликлиники НИИ клинической онкологии***адрес:** 115478, Москва, Каширское ш., 24; **тел.** +7(495)324-44-06;**e-mail:** l.korolenkova@mail.ru

Статья поступила: 26.07.2010, принята к печати 16.09.2010.

Резюме

Рак шейки матки является одной из наиболее часто встречающихся форм рака у женщин в мире. Канцерогенез РШМ протекает в течение 10–30 лет на фоне персистирующей ВПЧ-инфекции высокого онкогенного риска и проходит этапы CIN I, II и III степени. В настоящее время большое внимание уделяется скринингу CIN для профилактики возникновения цервикального рака. Проводятся многочисленные исследования для оценки специфичности окрашивания неопластических клеток при разных степенях CIN в тканях шейки матки и цитологических образцах. Большое значение для идентификации таких маркеров имеет изучение механизмов и сигнальных путей, участвующих в формировании и прогрессии внутриэпителиальных неоплазий до РШМ у женщин. В обзорной статье рассматриваются основные механизмы и мишени, вовлеченные в канцерогенез РШМ. Рассматриваются перспективные маркеры для диагностики CIN.

Ключевые слова: цервикальные интраэпителиальные неоплазии, дисплазии шейки матки, CIN, ВПЧ-инфекция, маркеры прогрессии CIN.

*L.I. Korolenkova, E.V. Stepanova, A.Yu. Baryshnikov***PROLIFERATION AND APOPTOSIS' BIOMARKERS OF AS FACTORS OF CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA AND CERVICAL CANCER DEVELOPMENT***N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of RAMS, Moscow***Abstract**

Cervical cancer is one of the most widespread cancers in female population. Cervical cancerogenesis progresses for 10–30 years and is induced by persisting HPV-infection. Cervical cancerogenesis passes through a number of cervical intraepithelial neoplasias grade I, II and III. Much attention is paid to CIN screening and cervical cancer prevention. At present diverse approaches are used to reveal the specificity of neoplastic cell at different stages of CIN in cervical biopsies or smears. To identification of these biomarkers depends greatly on our knowledge of signaling pathways driving CIN to cervical cancer. In this review we discuss the signaling pathways involved in cervical cancer cancerogenesis and progression. We also suggest some new possible biomarkers to diagnose CIN.

Key words: cervical intraepithelial neoplasia, HPV-infection, markers of CIN progression.

Введение

В мире одной из наиболее часто встречающихся форм рака у женщин является рак шейки матки. Главным иницирующим фактором канцерогенеза цервикального рака является персистирующая папилломовирусная инфекция высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР).

По данным информационного центра по изучению заболеваний, вызванных ВПЧ, в результате скрининга в 2008 г. в мире зарегистрировано 300 000 000 инфицированных ВПЧ высокого и низкого канцерогенного риска, более 50 000 000 больных CIN III с тяжелой дисплазией или преинвазивным раком, 493 000 случаев РШМ (10 % от всех случаев рака у женщин) и 274 000 летальных исходов от него [57].

Преинвазивные повреждения эпителия шейки матки – дисплазии или цервикальные интраэпителиальные неоплазии – особенно часто встречаются у женщин в возрасте от 25 до 40 лет. Возникновение CIN всегда связано с персистенцией ВПЧ-инфекции.

Выделяют три степени интраэпителиальных неоплазий шейки матки:

- слабую – CIN 1;
- умеренная – CIN;
- тяжелая дисплазия и карцинома *in situ* – CIN 3.

До инвазивного рака в течение 5–10 лет прогрессируют 20–50 % CIN 3 [29; 36; 53]. При организованном скрининге больные должны быть выявлены и получить лечение до развития инвазивного рака, на этапе CIN. Традиционный цитологический скрининг имеет невысокую чувствительность даже в отношении CIN 2–3 (55–74 %) [35; 43; 50], а при скрининге, основанном на ВПЧ-тестировании, выявляют большое количество женщин с транзитной ВПЧ-инфекцией, что отражает низкую специфичность такого подхода.

Оптимальное сочетание ВПЧ-тестирования с последующей цитологической выборкой все-таки не может выявить всех больных с CIN. После выявления CIN 1–2 необходимо выделить в данной группе больных с переходом продуктивной инфекции в трансформирующую, сопряженную с риском развития РШМ.

Улучшить качество диагностики и программ скрининга РШМ можно путем дополнения традиционных цитологических, гистологических и вирусологических исследований определением специфических маркеров неоплазии цервикального эпителия. В эпоху тотальной вакцинации против ВПЧ важность этих маркеров значительно повышается. Скрининговые программы по-прежнему будут необходимы в силу возрастающей опасности инфицирования другими типами ВПЧ ВКР [19; 26; 41].

Выявление специфических маркеров по степени окрашивания неопластических клеток в тканях шейки матки проводят с помощью ИГХ биоптатов, а также цитологических образцов [8; 23; 38]. Несмотря на то, что в настоящее время известно несколько маркеров для диагностики CIN, прогнозирование течения, улучшение диагностики и лечение предраковых и раковых заболеваний шейки матки невозможно без новых специфических маркеров неопластического процесса. Большое значение для идентификации таких маркеров имеет изучение механизмов и сигнальных путей, участвующих в формировании и прогрессии CIN у женщин.

Признаки развития и прогрессии CIN Молекулярно-биологические маркеры пролиферации

В разных слоях эпителия происходит выделение белков ранних (*E2, E4, E5, E6, E7*) и поздних (*L1, L2*) генов ВПЧ, однако не всегда события жизненного цикла вируса являются упорядоченными. В зоне трансформации при формировании CIN 2–3 последовательная слоям эпителия экспрессия вирусных генов нарушается: экспрессия *E4* смещается к поверхностным слоям эпителия; в основной части клеток эпителия экспрессируются белки *E6* и *E7* и суррогатные их биомаркеры *MCM (E7), PCNA, Ki 67* и *P16*, белок *L1* может вообще не экспрессироваться. Суррогатные биомаркеры *E6* и *E7* постепенно выполняют все слои эпителия вплоть до поверхности с увеличением числа митозов в клетках. Вероятно, именно эта дисрегуляция экспрессии вирусных генов лежит в основе формирования тяжелых интраэпителиальных повреждений, а длительно существующая экспрессия белков ранних вирусных генов создает условия, в которых вторичные генетические сбои в геноме клетки хозяина не могут быть устранены. В результате нарастает нестабильность клеточного генома.

Вирусные белки *E6* и *E7* различными молекулярными механизмами способствуют ускорению прохождения инфицированными клетками клеточного цикла и ингибированию *p53*-зависимого апоптоза [49]. В итоге происходит неконтролируемое деление клеток и дисбаланс между пролиферацией и апоптозом, наблюдаемый при цервикальном канцерогенезе [61].

Переход пролиферирующих клеток из одной фазы клеточного цикла в другую контролирует набор специфических регуляторных белков и кодирующих их генов. К положительным регуляторам клеточного цикла относятся синтезирующиеся на определенных этапах комплексы циклинов и циклин-зависимых киназ и транскрипционные факторы и семейства *E2F*. К отрицательным регуляторам – белки-супрессоры *p53* и *pRb*, а также ингибиторы циклин-киназных комплексов *p15, p16* и *p21*.

Белок *pRb* ингибирует переход клетки в S-фазу и регулируется через фосфорилирование циклина D1. Последовательное и длительное фосфорилирование *pRb* ведет к его инактивации и снижению ин-

гибиторной активности [51]. Онкогенные белки ВПЧ ВКР *E6* и *E7* инактивируют *p53* и *pRb* соответственно [1; 45; 55; 62]. Как показывают многочисленные исследования, инактивация *pRb* через *p16/cdk*-циклин/*Rb* молекулярный путь, ассоциированный с увеличением экспрессии *p16* в ВПЧ-трансформированных клетках, является главным механизмом цервикального канцерогенеза. При этом основной биологической задачей данного пути является контроль прохождения клеток по фазе G₁ клеточного цикла. Недавние исследования выявили наличие взаимодействия между некоторыми видами ВПЧ и регуляторами клеточного цикла, среди которых наиболее значимы CDK и их ингибиторы CDKI [27; 47; 48; 51].

Важную роль в регуляции клеточного роста играет циклин D1. Нарушение его продукции имеют место в канцерогенезе РШМ. Циклин D1 взаимодействует с CDK4 и CDK6, в результате чего происходит накопление киназных комплексов. Киназы, фосфорилируя *pRb*, обеспечивают продвижение клетки по фазе G₁ клеточного цикла [42].

Циклин D1 определяется ИГХ в нормальном эпителии шейки матки даже при сниженной или отсутствующей экспрессии в неопластических участках [5]. Показано отсутствие циклина D1 в 87 % ВПЧ ВКР-ассоциированных тяжелых интраэпителиальных повреждений (CIN 2–3/CIS), в то время как при CIN 1–2, вызванных ВПЧ низкого онкогенного риска, экспрессия D1 сохранялась в 92 % случаев [42].

Другим маркером клеточной пролиферации может служить продукт гена *CDKN2A*, белок *p16^{INK4A}* – опухолевый супрессор, тормозящий клеточный цикл путем инактивации циклин-зависимых киназ, вовлеченных в фосфорилирование белка ретинобластомы. *pRb* – белок-супрессор опухолевого роста, который ингибирует переход в S-фазу клеточного цикла и регулируется через фосфорилирование циклина D1. Последовательное и длительное фосфорилирование *pRb* ведет к его инактивации и редукции ингибиторной активности [51].

За счет действия через путь *pRb p16* может противодействовать некоторым из нежелательных механизмов дисрегуляции клеточного цикла. Однако *pRb* оказывается заблокирован вирусным белком *E7*. Белок *E7*, малый цинк-связывающий белок, подавляет путь *pRb* на нескольких уровнях, в основном за счет связывания самого *pRb*, что приводит к его дегградации и освобождению транскрипционного фактора *E2F*. В результате утрачивается транскрипционный контроль над клеточным циклом и запускается неконтролируемая пролиферация [51; 56]. В настоящее время *p16* рассматривают как потенциальный маркер прогрессии CIN. ИГХ-исследования показывают, что в неопухолевой ткани шейки матки с метапластическими, реактивными или воспалительными изменениями *p16* не экспрессируется [33]. Кроме того, в прилегающей к CIN условно нормальной ткани окрашивание антителами к *p16* также отсутствует. Практически во всех случаях CIN 1–2 имеется гиперэкспрессия *p16* [8; 22]. При CIN сильное цитоплазматическое и ядерное иммуноокрашивание *p16* резко разграничивало диспластический и нормальный эпителий [9]. В ходе многочисленных исследований экспрессия *p16* наблюдалась только в цервикальном эпителии с морфологическими признаками неоплазии и высокой пролиферативной активностью по индексу *Ki-67*. [9; 28; 49]. По данным мета-анализа, включавшего 61 исследование, в гистологических препаратах окрашивание на *p16* отмечено в 23–53 % CIN 1, в 44–92 % CIN 2 и в 72–92 % CIN 3.

В цитологических образцах *p16* экспрессируется в клетках неоплазированного эпителия шейки матки с чувствительностью 99,9 % и специфичностью 100 % [33].

Белок-продукт гена-супрессора *p53*, контролирующий вступление в S фазу клеточного цикла и играющий основную роль в пролиферации, в нормальных тканях быстро деградирует и не определяется ИГХ. Мутация или утрата *p53* характерна для многих злокачественных новообразований. Однако данные относительно состояния этого гена при РШМ противоречивы [7; 13; 24; 52]. По результатам некоторых исследований, экспрессируемый в неоплазированном эпителии *p53* в большинстве случаев неактивен, так как белок-онкоген *E6* ВПЧ ВКР увеличивает степень его деградации, что требуется для поддержания пролиферативного фенотипа неоплазированных клеток. В нормальном эпителии шейки матки *p53* не накапливается, тогда, как при CIN очаговая гиперэкспрессия маркера наблюдается в образцах тканей до 75 % случаев, а при РШМ – до 100 % [13; 15].

Количество делящихся клеток является суммарным показателем независимости от ростовых сигналов, нечувствительности к сигналам, блокирующим деление, неограниченной возможности деления и адекватного неоангиогенеза. Белок *Ki-67* (*MKI67*), маркер клеточной пролиферации, присутствует в клетках, находящихся в фазах цикла поздней G_1 , S, G_2 и M, но не в клетках в состоянии покоя (фазы G_0 и ранняя G_1). Показано, что экспрессия *Ki-67* прямо коррелирует со степенью CIN [4; 34; 59]. Критерии оценки экспрессии *Ki-67* у разных авторов различны, начиная от локализации окрашивания (ядро, цитоплазма, ядро и цитоплазма), его интенсивности и заканчивая процентом *Ki-67* положительных клеток в разных слоях эпителия [30]. Определение *Ki-67* позволяет предсказать спонтанную регрессию CIN 1–2 или прогрессию до CIN 3 и более. Необходимо, однако, разработать более точные и стандартизированные критерии степени экспрессии *Ki-67* при различных CIN и установить критический уровень показателей, свидетельствующих о неблагоприятном прогнозе.

В качестве маркера инвазии на фоне CIN предложено использовать белок, связывающий инсулиноподобный фактор роста IGFBR. Экспрессия IGFBR достигает максимума при CIN 2–3, но при инвазии снижается даже ниже показателей, характерных для нормального эпителия шейки [21].

Значение молекулярно-биологических маркеров апоптоза в развитии и прогрессии CIN

Увеличение популяции опухолевых клеток происходит не только за счет фракции делящихся клеток, но также из-за блокирования механизмов апоптоза. Баланс между апоптозом и пролиферацией – критический фактор поддержания гомеостаза в многоклеточных организмах. В клетках злокачественных опухолей часто имеется нарушение механизмов апоптоза, что поддерживает неконтролируемый рост и является причиной формирования лекарственной резистентности. В процесс нарушения апоптоза вовлекаются такие молекулярные механизмы, как гиперэкспрессия анти-апоптотических белков, инактивация рецепторов апоптоза или эпигенетическая дисрегуляция генов опухолевой супрессии. Подавление апоптоза – один из ключевых факторов в развитии неоплазии эпителия на фоне персистирующей ВПЧ-инфекции [1; 45; 55; 62]. Ан-

ти-апоптотические факторы при цервикальном канцерогенезе действуют напрямую – через рецепторы апоптоза или опосредовано – за счет запуска внутриклеточных механизмов, нарушающих его сигнальные каскады. Внешний путь включается за счет активации апоптоз-индуцирующих «лигандов смерти», таких как Fas-лиганд (FasL/CD95L) и TRAIL, при их связывании с рецепторами смерти на поверхности клетки: Fas и DR4/DR5, соответственно. Каскад CD95/Fas/APO-1 является одной из наиболее изученных систем, запускающих апоптоз. Система Fas-FasL отвечает за клеточно-опосредованную цитотоксичность, регуляцию и избирательность периферического иммунного ответа, «противодействие» клеток злокачественных опухолей клеткам иммунной системы организма-хозяина. Резистентность к апоптозу через путь Fas позволяет многим опухолям избежать контакта с эффекторами иммунологического надзора. Взаимодействие Fas и FasL играет важную роль в клеточно-опосредованном апоптозе опухолевых клеток. Кроме того, имеются данные, что опухолевые клетки могут экспрессировать FasL, индуцируя апоптоз в лимфоцитах, инфильтрирующих ткани опухоли, и избегать, таким образом, иммунного контроля. Обнаружено, что полиморфизм генов Fas-670 и IL-10-592 сопряжен с большим риском развития РШМ [60]. В CIN 1–2 окрашивание антителами к FasL ограничено базальным и парабазальным слоями эпителия, а Fas рецептора – поверхностным слоем дифференцированных эпителиальных клеток. При тяжелых внутриэпителиальных повреждениях (CIN 2–3/CIS) толщина гомогенного окрашивания FasL в эпителиальном пласте прогрессивно увеличивалась, тогда, как экспрессия Fas рецептора наоборот снижалась.

Увеличение экспрессии FasL в CIN 3 и РШМ может играть функциональную роль в ускользании опухоли от иммунологического контроля [37]. Кандидатом в маркеры прогрессии CIN и начала инвазивного роста является белок, подавляющий клеточный Fas-ассоциированный апоптоз, доменоподобный интерлейкин-1-бета-конвертирующий фермент FLICE, cFLIP. Экспрессия cFLIP вообще не определяется в нормальном эпителии, но повышается прямо пропорционально степени эпителиальных повреждений, от CIN 1 до инвазивного рака [21]. Внутренний путь активации апоптоза контролируется в основном белками семейства *Bcl-2*, которые отвечают за высвобождение цитохрома C из митохондрий [11; 31]. Белки этого семейства делятся 3 подгруппы:

1. Блокирующие апоптоз (белки выживаемости) – члены семейства, структурно гомологичные *Bcl-2* (*Bcl-2*, *Bcl-x_L*, *Bcl-w* и др.);
2. Проапоптотические белки, структурно гомологичные *Bcl-2* (*Bax*, *Bad*, *Bak* и др.);
3. Проапоптотические лиганды *Bik*, *Bid*, *Bim* и др. [6].

В нормальном эпителии шейки матки наблюдается слабое и ограниченное окрашивание базального слоя антителами к *Bcl-2* (1^+ , менее 2 % клеток), тогда как при CIN отмечают увеличение, как интенсивности окрашивания, так и процента положительных клеток ($2-3^+$; 15–95 %) [31].

Экспрессия *Bcl-2* при плоскоклеточном РШМ варьирует: примерно 45 % случаев имеет сильное окрашивание опухолевых клеток ($2-3^+$; 30–100 %), а примерно 55 % полностью негативны по *Bcl-2*. Увеличение экспрессии *Bcl-2* при CIN может увеличивать выживаемость неоплазированных клеток путем ингибирования *p53*-зависимого апоптоза в G_1 фазе клеточного цикла.

Парадоксальная потеря *Vcl-2* при плоскоклеточном РШМ может быть связана с ответом на прямое ингибирование *p53* белком *E6* ВПЧ. Было показано, что потеря *Vcl-2* при РШМ является плохим прогностическим признаком [32]. С другой стороны, сохранение экспрессии *Vcl-2* в совокупности с рецепторами эстрогенов и прогестерона при сравнении CIN 3 с участками CIN 3 при микроинвазивном раке было расценено, как благоприятный признак низкого риска инвазии [17].

Молекулярно-биологические маркеры воспаления

Персистирующая ВПЧ-инфекция ведет к увеличению синтеза провоспалительных медиаторов, которые также вносят вклад в создание условий для развития опухолей [12].

Одним из важных ферментов, участвующим в данном процессе, является СОХ-2 [58]. Исследования показали, что онкобелки *E6* и *E7* ВПЧ 16-го типа увеличивают транскрипцию СОХ-2 через EGFR-сигнальный путь [44]. СОХ-2 участвует в превращении арахидоновой кислоты в простагландины и ключевые ферменты воспаления, которые также могут участвовать в канцерогенезе РШМ. Повышение синтеза и функциональной способности простагландинов приводит к снижению контроля за пролиферацией при контакте клетка-клетка, а потеря Е-кадгерина также сопровождается увеличением пролиферативной активности клеток, что является признаками злокачественной трансформации [54].

Экспрессия СОХ-2 ассоциирована не только с пролиферацией опухолевых клеток, но и с активацией неангиогенеза, блокированием апоптоза и неблагоприятным прогнозом течения некоторых опухолей [46; 16; 20]. Показано, что при CIN 3 и РШМ имеется прямая корреляция между экспрессией СОХ-2 и основного стимулятора неангиогенеза VEGF [25].

Доказана гиперэкспрессия СОХ-2 и простагландинов в преинвазивных CIN и инвазивном РШМ по сравнению с нормальной тканью и участками хронического воспаления шейки матки (ВПЧ-негативными) [12; 20]. По данным различных исследователей экспрессию СОХ-2 находят примерно в 25 % случаев CIN 3, в 38 % случаев микроинвазивного плоскоклеточного рака, в 52 % случаев инвазивного плоскоклеточного рака и в 75 % аденокарциномы шейки матки [10; 18].

Литература

1. Киселев Ф.Л., Мазуренко Н.Н., Волгарева Г.М., Киселев Н.П. Взаимодействие вирусных и клеточных генов при раке шейки матки // Мол. Биология. – 2004. – Т. 38, № 2. – С. 224–32.
2. Роговская С.И. Апоптоз при патологии шейки матки, ассоциированной с вирусом папилломы человека // Consilium Medicum: гинекология. – 2000. – Т. 2, № 3. – С. 55–9.
3. Снугур Н.В. Интраэпителиальные неоплазии и микроинвазивный рак шейки матки. Клинические и молекулярно-биологические особенности. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М., 2009. – 26 с.
4. Agoff S.N., Lin P., Morihara J. et al. p16(INK4a) expression correlates with degree of cervical neoplasia: a comparison with Ki-67 expression and detection of high-risk HPV types // Mod Pathol. – 2003. – 16(7). – P. 665–73.
5. Bae D.S., Cho S.B., Kim Y.J. et al. Aberrant expression of cyclin D1 is associated with poor prognosis in early stage cervical cancer of the uterus // Gynecol Oncol. – 2001. – 81(3). – P. 341–7.
6. Bouillet P., Strasser A. Bax and Bak: back-bone of T cell death // Nat Immunol. – 2002. – 3(10). – P. 893–4.
7. Bragança J.F., Sarian L.O., Pitta D.R. et al. Expression of p16(INK4a) and cervical infection with high-risk human papillomavirus are not related to p53 activity in cervical intraepithelial neoplasia // Int J Gynecol Cancer. – 2007. – 11. – P. 134–42.
8. Branca M., Ciotti M., Santini D. et al. 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 // Int J Gynecol Pathol. – 2004. – 23(4). – P. 354–65.

По другим данным частота экспрессии СОХ-2 составляет 39% при CIN 1 или CIN 2, 80% при CIN 3 или карциноме *in situ* и 100 % при инвазивном раке [25].

Для РШМ было показано, что экспрессия СОХ-2 может быть прогностическим фактором, предсказывающим эффективность радиотерапии, выживаемость больных и резистентность к химиотерапии [16; 40]. Однако значение СОХ-2 в преинвазивных повреждениях до сих пор не определено окончательно и изучается [14].

Полагают, что ее экспрессия увеличивается в соответствии со степенью CIN и может свидетельствовать о рецидиве после органосохраняющих операций (например, конизации).

Исследование образцов тканей шейки матки от 52 пациенток, выполненное с помощью ELISA, для уточнения роли СОХ-2 в канцерогенезе РШМ показало, что по сравнению со здоровой тканью при предраковых повреждениях и воспалительных явлениях экспрессия СОХ-2 немного повышена, а при CIN 1–2 возрастает в 4,9 раза. Эти данные позволяют предположить, что СОХ-2 может быть перспективным биомаркером злокачественной трансформации шейки матки, и служить основной для химиотерапевтической профилактики [39].

Заключение

Развитие рака шейки матки в течение десятков лет проходит этапы предраковых повреждений с разной потенцией к регрессии, персистенции и прогрессии, связанных прямо или косвенно с пролиферацией клеток шейки матки и с процессами программированной клеточной смерти – апоптозом. В связи с этим определение диагностически значимых маркеров пролиферации и апоптоза при предраковых состояниях (CIN) чрезвычайно важно для выделения больных с высоким риском развития тяжелых повреждений и их своевременного лечения с целью предотвращения исхода CIN в инвазивный рак. В случае развития CIN или РШМ эти маркеры являются дополнительным инструментом скрининга, динамического наблюдения, оценки результатов лечения и прогноза течения заболевания. Учитывая современные тенденции к использованию мишень-направленной терапии для лечения солидных новообразований возможно применение наиболее интенсивно и устойчиво экспрессируемых маркеров в качестве объектов таргетной терапии.

9. *Bulten J., van der Avoort I.A., Melchers W.J. et al.* p14ARF and p16INK4A, two products of the same gene, are differently expressed in cervical intraepithelial neoplasia // *Gynecol Oncol.* – 2006. – 101(3). – P. 487–94.
10. *Chen Y.J., Wang L.S., Wang P.H. et al.* High cyclooxygenase-2 expression in cervical adenocarcinomas // *Gynecol Oncol.* – 2003. – 88(3). – P. 379–85.
11. *Cory S., Adams J.M.* The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch // *Nat Rev Cancer.* – 2002. – 2(9). – P. 647–56.
12. *Dai Y., Zhang X., Peng Y., Wang Z.* The expression of cyclooxygenase-2, VEGF and PGs in CIN and cervical carcinoma // *Gynecol Oncol.* – 2005. – 97(1). – P. 96–103.
13. *Dimitrakakis C., Kymionis G., Diakomanolis E. et al.* The possible role of p53 and bcl-2 expression in cervical carcinomas and their premalignant lesions // *Gynecol Oncol.* – 2000. – 77(1). – P. 129–36.
14. *Farley J., Uyehara C., Hashiro G. et al.* Cyclooxygenase-2 expression predicts recurrence of cervical dysplasia following loop electrosurgical excision procedure // *Gynecol Oncol.* – 2004. – 92(2). – P. 596–602.
15. *Feng W., Xiao J., Zhang Z. et al.* Senescence and apoptosis in carcinogenesis of cervical squamous carcinoma // *Mod Pathol.* – 2007. – 20(9). – P. 961–6.
16. *Ferrandina G.* Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in tumour and stroma compartments in cervical cancer: clinical implications // *British Journal of Cancer.* – 2002. – 87. – P. 1145–1152.
17. *Fonseca-Moutinho J.A., Cruz E., Carvalho L. et al.* Estrogen receptor, progesterone receptor, and bcl-2 are markers with prognostic significance in CIN III // *Int J Gynecol Cancer.* – 2004. – 14(5). – P. 911–20.
18. *Gaffney D.K., Holden J., Zempolich K. et al.* Elevated COX-2 expression in cervical carcinoma: reduced cause-specific survival and pelvic control // *Am J Clin Oncol.* – 2001. – 24(5). – P. 443–6.
19. *Goldhaber-Fiebert J.D., Stout N.K., Salomon J. et al.* Costeffectiveness of cervical cancer screening with human papillomavirus DNA testing and HPV-16,18 vaccination // *J Natl Cancer Inst.* – 2008. – 100. – P. 308–20.
20. *Hammes L.S., Tekmal R.R., Naud P. et al.* Up-regulation of VEGF, c-fms and COX-2 expression correlates with severity of cervical cancer precursor (CIN) lesions and invasive disease // *Gynecol Oncol.* – 2008. – 110(3). – P. 445–51.
21. *Hou X.J., Zhang Y.Z., Liu X. et al.* Expressions of IGFBP-5, cFLIP in cervical intraepithelial neoplasia, cervical carcinoma and their clinical significances: a molecular pathology // *J Exp Clin Cancer Res.* – 2009. – 28. – P. 70.
22. *Ikeda K., Tate G., Suzuki T., Mitsuya T.* Coordinate expression of cytokeratin 8 and cytokeratin 17 immunohistochemical staining in cervical intraepithelial neoplasia and cervical squamous cell carcinoma: An immunohistochemical analysis and review of the literature // *Gynecol Oncol.* – 2008. – 11. – P. 314–8.
23. *Keating J.T., Ince T., Crum C.P.* Surrogate biomarkers of HPV infection in cervical neoplasia screening and diagnosis // *Adv Anat Pathol.* – 2001. – 8. – P. 83–92.
24. *Kim J.W., Lee C.G., Park Y.G. et al.* Combined analysis of germline polymorphisms of p53, GSTM1, GSTT1, CYP1A1, and CYP2E1: relation to the incidence rate of cervical carcinoma // *Cancer.* – 2000. – 88(9). – P. 2082–91.
25. *Kim J.Y., Lim S.J., Park K. et al.* Cyclooxygenase-2 and c-erbB-2 expression in uterine cervical neoplasm assessed using tissue microarrays // *Gynecol Oncol.* – 2005. – 97(2). – P. 337–41.
26. *Kiviat N.B., Hawes S.E., Feng Q.* Screening for cervical cancer in the era of the HPV vaccine--the urgent need for both new screening guidelines and new biomarkers // *J Natl Cancer Inst.* – 2008. – 100. – P. 290–1.
27. *Klaes R., Benner A., Friedrich T. et al.* p16INK4a immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia // *Am J Surg Pathol.* – 2002. – 26(11). – P. 1389–99.
28. *Klaes R., Friedrich T., Spitkovsky D. et al.* Overexpression of p16INK4a as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri // *Int J Cancer.* – 2001. – 92. – P. 276–84.
29. *Kovanda A., Juvan U., Sterbenc A. et al.* Pre-vaccination distribution of human papillomavirus (HPV) genotypes in women with cervical intraepithelial neoplasia grade 3 (CIN 3) lesions in Slovenia // *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat.* – 2009. – 18(2). – P. 47–52.
30. *Kruse A.J., Baak J.P., Janssen E.A. et al.* Low- and high-risk CIN 1 and 2 lesions: prospective predictive value of grade, HPV, and Ki-67 immuno-quantitative variables // *J Pathol.* – 2003. – 199(4). – P. 462–70.
31. *Kuwana T., Mackey M.R., Perkins G. et al.* Bid, Bax, and lipids cooperate to form supramolecular openings in the outer mitochondrial membrane // *Cell.* – 2002. – 111(3). – P. 331–42.
32. *Munakata S., Watanabe O., Ohashi K., Morino H.* Expression of Fas ligand and bcl-2 in cervical carcinoma and their prognostic significance // *Am J Clin Pathol.* – 2005. – 123(6). – P. 879–85.
33. *Murphy N., Ring M., Killalea A.G. et al.* P16^{INK4a} as a marker for cervical dyskaryosis: CIN and cGIN in cervical biopsies and ThinPrepTM smears // *J Clin Pathol.* – 2003. – 56. – P. 56–63.
34. *Nam E.J., Kim J.W., Hong J.W. et al.* Expression of the p16 and Ki-67 in relation to the grade of cervical intraepithelial neoplasia and high-risk human papillomavirus infection // *J Gynecol Oncol.* – 2008. – 19(3). – P. 162–8.
35. *Naucler P., Ryd W., Törnberg S. et al.* Efficacy of HPV DNA testing with cytology triage and/or repeat HPV DNA testing in primary cervical cancer screening // *J Natl Cancer Inst.* – 2009. – 101(2). – P. 88–99.
36. *Petry K.U.* Textbook of Gynecological Oncology. – Güneş Publishing, 2009. – P. 63–6.
37. *Reesink-Peters N., Hougardy B.M., van den Heuvel F.A. et al.* Death receptors and ligands in cervical carcinogenesis: an immunohistochemical study // *Gynecol Oncol.* – 2005. – 96(3). – P. 705–13.
38. *Rocha A.S., Bozzetti M.C., Kirschnick L.S., Edelweiss M.I.* Antibody anti-p16(INK4a) in cervical cytology // *Acta Cytol.* – 2009. – 53(3). – P. 253–62.
39. *Saldívar J.S., Lopez D., Feldman R.A. et al.* COX-2 overexpression as a biomarker of early cervical carcinogenesis: a pilot study // *Gynecol Oncol.* – 2007. – 107(1). – P. 155–62.
40. *Sarian L.O., Derchain S.F., Yoshida A. et al.* Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) and Ki67 as related to disease severity and HPV detection in squamous lesions of the cervix // *Gynecol Oncol.* – 2006. – 102(3). – P. 537–41.

41. Schiffman M. Integration of human papillomavirus vaccination, cytology, and human papillomavirus testing // *Cancer*. – 2007. – 111. – P. 145–53.
42. Skomedal H., Kristensen G.B., Nesland J.M. et al. TP53 alterations in relation to the cell cycle-associated proteins p21, cyclin D1, CDK4, RB, MDM2, and EGFR in cancers of the uterine corpus // *J Pathol*. – 1999. – 187(5). – P. 556–62.
43. Soutter W.P., Butler J.S., Tipples M. The role of colposcopy in the follow up of women treated for cervical intraepithelial neoplasia // *BJOG*. – 2006. – 113(5). – P. 511–4.
44. Subbaramaiah K., Dannenberg A.J. Cyclooxygenase-2 transcription is regulated by human papillomavirus 16 E6 and E7 oncoproteins: evidence of a corepressor/coactivator exchange // *Cancer Res*. – 2007. – 67(8). – P. 3976–85.
45. Syrjänen S.M., Syrjänen K.J. New concepts on the role of human papillomavirus in cell cycle regulation // *Ann Med*. – 1999. – 31(3). – P. 175–87.
46. Tatsuguchi A., Matsui K., Shinji Y. et al. Cyclooxygenase-2 expression correlates with angiogenesis and apoptosis in gastric cancer tissue // *Hum Pathol*. – 2004. – 35(4). – P. 488–95.
47. Tjalma W.A., Arbyn M., Paavonen J. et al. Prophylactic human papillomavirus vaccines: the beginning of the end of cervical cancer // *Int J Gynecol Cancer*. – 2004. – 14(5). – P. 751–61.
48. Tota J., Franco E.L. HPV infection and cervical cancerogenesis: epidemiology and prevention. – Textbook of Gynecological Oncology. – Güneş Publishing, 2009. – P. 49–52.
49. Tsoumpou I., Arbyn M., Kyrgiou M. et al. p16^{INK4a} immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: A systematic review and meta-analysis // *Cancer Treatment Reviews*. – 2009. – 35(3). – P. 210–20.
50. Ullal A., Roberts M., Bulmer J.N. et al. The role of cervical cytology and colposcopy in detecting cervical glandular neoplasia // *Cytopathology*. – 2008. – 20(6). – P. 359–366.
51. Vaknin Z., Gotlieb W.H. Textbook of Gynecological Oncology. – Güneş Publishing, 2009. – P. 79–84.
52. Vassallo J., Derchain S.F., Pinto G.A. et al. High risk HPV and p53 protein expression in cervical intraepithelial neoplasia // *Int J Gynaecol Obstet*. – 2000. – 71(1). – P. 45–8.
53. Walker P. The natural history of cervical cancer // Workshop book 25th International Conference Clinical and Educational Workshop 8-14 мая 2009, Мальмо, Швеция. – P. 109–24.
54. Weinberg R.A. Is metastasis predetermined? // *Mol Oncol*. – 2007. – 1(3). – P. 263–4.
55. Wells S.I., Aronow B.J., Wise T.M. et al. Transcriptome signature of irreversible senescence in human papillomavirus-positive cervical cancer cells // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2003. – 100(12). – P. 7093–8.
56. Wentzensen N. and von Knebel D.M. Biomarkers in cervical cancer screening // *Dis Markers*. – 2007. – 23. – P. 315–30.
57. www.who.int/hpvcentre
58. Young J.L. Cyclooxygenase-2 in cervical neoplasia: a review // *Gynecol Oncol*. – 2008. – 109(1). – P. 140–5.
59. Yu L., Wang L., Zhong J., Chen S. Diagnostic value of p16INK4A, Ki-67, and human papillomavirus 11 capsid protein immunohistochemical staining on cell blocks from residual liquid-based gynecologic cytology specimens // *Cancer Cytopathol*. – 2010. – 1. – P. 32–8.
60. Zoodsma M., Nolte I.M., Schipper M. et al. Interleukin-10 and Fas polymorphisms and susceptibility for (pre)neoplastic cervical disease // *Int J Gynecol Cancer*. – 2005. – 15(Suppl. 3). – P. 282–90.
61. Zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis // *J Natl Cancer Inst*. – 2000. – 92. – P. 690–8.
62. Zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application // *Nat Rev Cancer*. – 2002. – 2(5). – P. 342–50.

Н.А. Калягина^{1,2}, В.Б. Лощенко¹, К.В. Родионов¹, Д. Вольф², В. Блондель², К. Даль²

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МЕТОДА ВИЗУАЛИЗАЦИИ ДИФФУЗНОГО ОТРАЖЕНИЯ СВЕТА К РАССЕИВАЮЩИМ НАНО- И МИКРОЧАСТИЦАМ НА ОПТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

¹Институт Общей Физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва

²Национальный Политехнический Институт Лотарингии, Франция, Нанси

Задачи исследования. В большинстве случаев злокачественные новообразования мочевого пузыря возникают в эпителии. Как правило, незначительные патологические изменения ткани, такие, как при дисплазии, предшествуют раку. Многие диспластические новообразования не сильно отличаются от окружающих здоровых тканей, что затрудняет диагностику. Одной из главных особенностей таких предраковых состояний является изменения диаметра клеточных ядер. Метод визуализации диффузного отражения и спектроскопия диффузного отражения являются информационными методами для *in vivo* диагностики тканей. Эти методы являются чувствительными к некоторым рассеивающим центрам тканей, таким как клетки и ядра, которые отвечают за распределение света внутри ткани. Таким образом, целью данной работы является изучение распределения пространственной интенсивности обратно рассеянного монохроматического света в многослойных экспериментальных моделях (имитирующих слизистую оболочку мочевого пузыря) с различными размерами рассеивающих частиц.

Материалы и методы. Трехслойные макеты с полимерными нано- и микро- частицами были созданы для имитации свойств поглощения и рассеяния лазерного излучения слизистой оболочкой мочевого пузыря. Измерения проводились с помощью оптического волокна с микролинзой, источника лазерного излучения (532 нм), эндоскопа и цветной высокочувствительной камеры.

Результаты и выводы. Полученные изображения показывают пространственное распределение обратно отраженного света на поверхности ткани. В результате обработки изображений получены 3-D диаграммы интенсивности распределения света на поверхности образцов. В центре изображения содержится информация о прямо отраженном лазерном свете, а вокруг центральной области - информация о диффузно отраженном.

Интенсивность рассеянного света увеличивалась ростом диаметра нано- и микросфер. Такая информация может быть использована при оценке состояния ткани, а именно для выявления отличий воспаления, дисплазии, карциномы *in situ* и некоторых других патологических форм ткани.