

ISSN 2305-218X

ОНКОЛОГИЯ

Журнал
имени П.А. Герцена



1'2013

Научно-практический журнал



МедиаСфера

Маркеры апоптоза и белки-регуляторы клеточного цикла при фоновых и предраковых изменениях железистого эпителия шейки матки

Н.В. ДАНИЛОВА^{1,3}, Ю.Ю. АНДРЕЕВА^{1,3}, Л.Э. ЗАВАЛИШИНА^{1,3}, П.Г. МАЛЬКОВ^{2,3}

¹ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена» Минздрава РФ; ²ГУНУ «Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова»; ³ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования», Москва

Apoptotic markers and cell cycle regulatory proteins during background and precancerous changes in the glandular epithelium of the cervix uteri

N.V. DANILOVA^{1,3}, YU.YU. ANDREYEVA^{1,3}, L.E. ZAVALISHINA^{1,3}, P.G. MALKOV^{2,3}

¹P.A. Herzen Moscow Oncology Research Institute, Ministry of Health of the Russian Federation; ²Faculty of Fundamental Medicine, M.V. Lomonosov Moscow State University; ³Russian Medical Academy of Postgraduate Training, Moscow

С целью уточнить существующую классификацию предраковых изменений, а также определить маркеры для дифференциальной диагностики предраковых и доброкачественных фоновых изменений, проведены исследования с маркерами p16, Ki-67, p53 и p27. Изучен материал от 118 пациенток с аденокарциномой шейки матки, где были выявлены различные сочетания доброкачественных неопухолевых и предраковых изменений. Проведено иммуногистохимическое исследование по стандартному протоколу с антителами к p16, p53, p27, Ki-67 с полуколичественной оценкой результатов. Установлено, что экспрессия маркеров p16 и Ki-67 значимо выше при дисплазии железистого эпителия III степени и аденокарциноме *in situ*, чем при дисплазии I—II степени. Значимых различий в уровне p16 и Ki-67 между дисплазией I—II степеней и доброкачественными фоновыми изменениями обнаружено не было. Выявлена тенденция к увеличению экспрессии белков p53 и p27 с повышением степени дисплазии. Представляется логичным упростить классификацию предраковых изменений, объединив в одну категорию дисплазию железистого эпителия III степени и аденокарциному *in situ*, а также дисплазию I и II степени.

Ключевые слова: шейка матки, иммуногистохимия, предраковые изменения.

Investigations using the markers p16, Ki-67, p53, and p27 were conducted to specify the existing classification and to define markers for the differential diagnosis of precancerous and benign background changes. Specimens from 118 patients with cervical adenocarcinoma showing different concurrences of benign nontumor and precancerous changes were examined. Immunohistochemical studies using antibodies to p16, p53, p27, and Ki-67 were performed according to the standard protocol, by making a semiquantitative assessment of their results. The expression of p16 and Ki-67 was found to be significantly higher in grade III glandular epithelial dysplasia and adenocarcinoma *in situ* than in grades I—II dysplasia. There were great differences in the levels of p16 and Ki-67 between grades I—II dysplasia and benign background changes. There was a trend towards increases in the expression of p53 and p27 proteins and in the grade of dysplasia. It is logical to simplify the classification of precancerous changes, by uniting grade III glandular epithelial dysplasia and adenocarcinoma *in situ*, as well as grades I—II dysplasia into one category.

Key words: cervix uteri, immunohistochemistry, precancerous changes.

В связи с увеличением частоты аденокарциномы шейки матки возникает повышенный интерес к изучению фоновых и предраковых изменений железистого эпителия. Особое место при этом занимает иммуногистохимическое исследование.

В литературе появилось значительное число публикаций, касающихся иммуногистохимического исследования при изменениях железистого эпителия шейки матки. Предполагается, что наибольшую диагностическую ценность имеют следующие маркеры: белки-регуляторы клеточного цикла и апоптоза (p16, p53), маркер пролиферативной активности Ki-67.

p16 является регулятором клеточного цикла. Данный белок ингибирует взаимодействие циклина D1 и циклин-зависимых киназ 4 и 6 [1]. В отсутствие p16 циклин-зависимые киназы связываются с циклином D1 и происходит фосфорилирование pRb (retinoblasroma protein), что ведет к его инактивации в контрольной точке G1/S и запуску пролиферации клетки [2].

При предраковых изменениях эпителия шейки матки происходит повышение экспрессии p16 [3—9]. Механизм остается не до конца ясным, но взаимодействие p16 с pRb

Данилова Наталья Владимировна — врач патологоанатомического отделения, ассистент каф. патологической анатомии РМАПО; 125284 Москва, 2-й Боткинский пр., д. 3; e-mail: mnioi@mail.ru

Таблица 1. Распределение материала по характеру фоновых и предраковых изменений

Вид фоновых и предраковых изменений железистого эпителия шейки матки	Число наблюдений
Дисплазия I степени	37
Дисплазия II степени	57
Дисплазия III степени	45
Аденокарцинома <i>in situ</i>	45
Тубоэндометриоидная метаплазия	54
Туннельные кластеры типа А	11
Туннельные кластеры типа В	8
Гиперплазия незаращенных остатков мезонефроса	4
Микроглангулярная гиперплазия	17
Эндометриоз	11
Резервно-клеточная гиперплазия	16
Реактивные изменения	12
Эндоцервикоз	16
Кишечная метаплазия	12
Диффузная ламинарная эндоцервикальная железистая гиперплазия	1
Пилорическая метаплазия	1

является центральным элементом большинства концепций. Известна способность pRb осуществлять негативную регуляцию синтеза p16INK4A [3]. При этом, по данным некоторых авторов, экспрессия pRb уменьшается с нарастанием степени дисплазии, что подтверждает теорию гиперэкспрессии p16 вследствие инактивации pRb в клетках цервикального эпителия [4]. Важную роль в инактивации pRb играет вирус папилломы человека (ВПЧ) [5]. В настоящее время доказано участие ВПЧ в канцерогенезе аденокарцином шейки матки [6]. Таким образом, кажущаяся на первый взгляд парадоксальной для опухолевых клеток гиперэкспрессия белка p16INK4A при цервикальной аденокарциноме может служить индикатором злокачественной трансформации клеток железистого эпителия шейки матки.

Белок p53 является супрессором опухолевого роста. При повреждении ДНК p53 вызывает остановку клеточного цикла в точке G1 путем взаимодействия с pRb и активирует белки, ответственные за репарацию ДНК. Если репарация безуспешна, p53 индуцирует апоптоз. Таким образом, он контролирует переход клетки в S-фазу клеточного цикла, деление клетки, является транскрипционным фактором и играет важную роль в регуляции клеточного роста, репарации ДНК, индукции апоптоза.

Результаты исследований экспрессии p53 в нормальном эпителии и при предраковых изменениях противоречивы. Все доброкачественные изменения железистого эпителия обычно не содержат или экспрессируют в незначительном количестве p53 и p16 [7], в то время как аденокарцинома *in situ* (AIS) чаще всего имеет выраженную экспрессию p53 (>10% клеток), p16 (диффузно, >25% клеток) и высокий митотический индекс [8–12].

Значимым маркером для дифференциальной диагностики рака, предрака и доброкачественных неопухолевых изменений железистого эпителия является белок p27.

p27 — ингибитор циклинзависимой киназы, вызывает остановку клеточного цикла в фазе G1. В нормальных эпителиальных клетках при стимуляции TGFβ p27 вызывает остановку клеточного цикла в точке G1 [8]. p27 связан с комплексом циклин E/CDK2 и, таким образом, может ингибировать фосфорилирование pRb. При гиперэкспрессии p27 блокируется переход клетки в S-фазу

клеточного цикла [9]. Снижение экспрессии p27 или его отсутствие свидетельствует о более агрессивном клиническом поведении различных опухолей, в том числе рака молочной железы, легкого, толстой кишки, желудка и яичников [10].

B. Goff и соавт. [11], показали, что p27 активно экспрессируется в нормальной шейке матки как в строме, так и в эпителии. Y. Kim и соавт. [12] также сообщают о высоком уровне экспрессии p27 в нормальных тканях шейки матки. В некоторых работах было показано, что экспрессия p27 значительно ниже у пациентов с плоскоклеточным раком шейки матки по сравнению с нормальным или диспластическим плоским эпителием. Так, A. Sgambato и соавт. [8] выявили, что снижение уровня p27 происходит также и в предраковых изменениях плоского эпителия шейки матки, причем оно становилось более явным при прогрессии от слабой дисплазии к тяжелой и к инвазивному раку [9, 10]. Экспрессия p27 при фоновых и диспластических изменениях железистого эпителия шейки матки так же как и при аденокарциноме не изучена.

Материалы и методы

Исследование проводилось на архивном материале патологоанатомического отделения МНИОИ им. П.А. Герцена за 1999–2011 гг. В работе использован операционный и биопсийный материал от 118 пациенток с аденокарциномой шейки матки. В исследованном материале были выявлены различные сочетания доброкачественных фоновых и предраковых изменений. Распределение по характеру фоновых и предраковых изменений эпителия представлено в табл. 1.

Для проведения иммуногистохимического исследования использовалась панель моноклональных антител к белкам-регуляторам клеточного цикла (p16, мутантному p53, p27), маркеру пролиферативной активности (Ki-67). С парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 3–4 мкм, которые монтировали на высокоадгезивные стекла («Menzel GmbH & Co KG», Германия). Депарафинирование, регидратацию и демаскировку антигенов проводили при помощи специализированной системы EnVision Flex («Dako», Дания). ИГХ-реакции проводили в автоматизированном режиме с помощью автостейнера

Таблица 2. Экспрессия маркера p16 при предраковых изменениях железистого эпителия и аденокарциноме шейки матки

Экспрессия p16	Дисплазия I		Дисплазия II		Дисплазия III		AIS		Рак	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Отрицательная реакция (0—10% клеток, фокальная, слабая экспрессия)	29	78,4	36	63,1	5	11,1	5	10,9	7	5,9
Слабая реакция (10—80% клеток, диффузное или фокальное интенсивное окрашивание)	6	16,2	14	24,6	10	22,2	12	26,1	15	12,7
Выраженная реакция (более 80% клеток, диффузное, интенсивное окрашивание)	2	5,4	7	12,3	30	66,7	29	63	96	81,4
Всего	37	100	57	100	45	100	46	100	118	100

Daко. В каждой серии препаратов использовали соответствующие положительные и отрицательные контроли.

Оценку реакции белков, экспрессирующихся в ядрах клеток (p53, p27, Ki-67) производили путем подсчета количества окрашенных ядер на 100 ядер препарата в 3 полях зрения ($\times 40$), выражая полученные результаты в процентах [13, 14]. Оценку реакции с p16 производили по системе, предлагаемой фирмой-производителем набора и широко используемой во многих исследованиях [15].

Анализ результатов проводили при помощи пакета программ STATISTICA 6.0, используя U-тест Манна—Уитни для двух независимых групп данных. Уровень значимости (p) принимали равным 0,05.

При изучении характера экспрессии белка p16 была выявлена ядерно-цитоплазматическая реакция. При доброкачественных изменениях железистого эпителия в подавляющем большинстве групп экспрессия маркера не выявлялась. Лишь в тубоэндометриальной метоплазии (ТЭМ) и туннельных кластерах типа А и В отмечалась положительная реакция с p16. При проведении статистического сравнения значимых различий в экспрессии p16 обнаружено не было.

При дисплазии железистого эпителия I степени в 78,4% случаев окрашивание не выявлялось. В 6 (16,2%) случаях наблюдалась умеренная реакция с p16. Выраженная реакция с p16 отмечена лишь в 2 (5,4%) наблюдениях. Сходные результаты получены при дисплазии II степени: в 36 (63,1%) наблюдениях экспрессия p16 не выявлялась. Умеренная реакция наблюдалась в 24,6%, а выраженная экспрессия — в 12,3% случаев. Несмотря на то, что имеется тенденция к увеличению экспрессии маркера при дисплазии II степени, статистически значимых различий между дисплазией I и II степени не получено.

При дисплазии железистого эпителия III степени положительная экспрессия p16 выявлялась в 89,9%, при этом выраженная реакция отмечена в 30 (66,7%) случаях. При статистическом анализе выявлено, что экспрессия белка при дисплазии III степени значимо выше, чем при дисплазии II и I степени ($p < 0,05$). При AIS железистого эпителия шейки матки маркер выявлялся в 89,1% случаев. При сравнении с данными при дисплазии III степени значимых различий не обнаружено ($p > 0,05$), однако при сравнении с группами дисплазии I и II степени выявлена статистически значимая разница ($p < 0,05$).

Данные по экспрессии маркера p16 при диспластических изменениях железистого эпителия и аденокарциноме шейки матки приведены в **табл. 2**.

Таким образом, значимое различие в экспрессии p16 выявлено между группами дисплазии I—II степени и дисплазии III/AIS, что косвенно подтверждает целесообраз-

ность разделения предраковых изменений железистого эпителия на 2 группы.

Белок p53 не выявлялся при большинстве доброкачественных неопухолевых изменений железистого эпителия. Экспрессия p53 наблюдалась только в ТЭМ и при реактивных изменениях эпителия. При ТЭМ в 6 наблюдениях выявлялась выраженная ядерная экспрессия маркера в 10—50% клеток. В предраковых изменениях отмечалась тенденция к увеличению уровня экспрессии p53 с нарастанием степени дисплазии, однако статистически значимых различий между исследованными группами обнаружено не было. Интересно, что экспрессия p53 в AIS наблюдалась в тех случаях, где структуры инвазивной аденокарциномы демонстрировали высокую ядерную экспрессию p53. При статистическом сравнении реакции с p53 в группах ТЭМ и дисплазий значимых различий выявлено не было.

Белок p27 выявлялся в 48,1% случаев при ТЭМ. В туннельных кластерах типа В наблюдалась гетерогенная экспрессия маркера: в 5 (62,5%) случаях реакция не выявлялась, а в 3 (37,5%) определялась выраженная экспрессия белка. В незарощенных остатках мезонефроса интенсивность реакции была распределена в равных пропорциях. При микрогландулярной гиперплазии в 13 (76,5%) наблюдениях окрашивание не выявлялось, а в 4 (23,5%) — наблюдалась выраженная реакция. При предраковых изменениях железистого эпителия обнаружена гетерогенная экспрессия p27. При дисплазии эпителия I и II степени выявлена положительная реакция в 48,6 и 56,1% наблюдений соответственно. При дисплазии III степени и AIS отмечено значительное преобладание случаев с положительной экспрессией p27 (86,9%). Таким образом, более высокий уровень экспрессии p27 выявлялся при предраковых изменениях железистого эпителия, однако статистически значимых различий между доброкачественными и предраковыми изменениями не обнаружено.

Экспрессия Ki-67 при доброкачественных изменениях эпителия не превышала 5%. Статистически значимой разницы между группами не обнаружено ($p > 0,05$). При дисплазии железистого эпителия I степени в 24 (64,9%) случаях наблюдалась положительная реакция, причем пролиферативная активность была низкой (менее 5% клеток). При дисплазии железистого эпителия II степени, как и при дисплазии I степени, экспрессия наблюдалась в 43 (75,4%) случаях, при этом в 20 (35,1%) из них преобладала умеренная реакция (6—20% клеток). При дисплазии III степени и AIS положительная экспрессия Ki-67 выявлялась в 100% наблюдений. Однако при AIS уровень пролиферативной активности был выше (более 60% клеток). Таким образом, при дисплазии I и II степени уровень экс-

прессии маркера Ki-67 значимо ниже, чем при дисплазии III степени и AIS ($p < 0,05$).

Проведенное нами иммуногистохимическое исследование помогло в некоторой степени определить биологическую сущность, прогностическую значимость, дифференциальную диагностику предраковых и фоновых изменений железистого эпителия шейки матки. Среди изучаемых маркеров особый интерес представляют, на наш взгляд, p16 и Ki-67.

Экспрессия p16 нарастала с увеличением степени дисплазии, что соответствует данным литературы [3, 16]. При сравнении групп предраковых и фоновых изменений выявлено, что уровень экспрессии маркера при дисплазии I, II степени и доброкачественных изменениях не различается. Уровень экспрессии p16 был значимо выше при дисплазии III степени и AIS. С другой стороны, при дополнительной группировке и сравнении между собой дисплазии I—II степени и дисплазии III/AIS статистическое различие обнаруживается. Полученные результаты косвенно свидетельствуют о низком злокачественном потенциале дисплазии I—II степени, что соответствует современным представлениям, поскольку маркер p16 считается предиктором злокачественной трансформации [17].

Следует отметить, что положительная экспрессия p16 не во всех случаях свидетельствует о неопластическом характере процесса. Так, среди доброкачественных изменений железистого эпителия она отмечалась при ТЭМ и в туннельных кластерах типа А и В. Таким образом, только наличие p16 не является определяющим, следует обращать особое внимание на уровень его экспрессии.

Экспрессия p53 при предраковых изменениях имела тенденцию к увеличению с повышением степени дисплазии, однако статистически значимых различий между изучаемыми группами не обнаружено. Интересно, что экспрессия p53 в AIS наблюдалась в тех случаях, где структуры инвазивной аденокарциномы демонстрировали высокую ядерную экспрессию p53. Такой характер экспрессии может свидетельствовать о том, что p53 играет лишь второстепенную роль в развитии предраковых изменений железистого эпителия шейки матки и включается в канцерогенез не всегда. Многими исследователями [25—27] показано, что в различных инвазивных опухолях, в том числе и аденокарциномах шейки матки, p53 является маркером агрессивности опухоли. Возможно, тот факт, что высокая экспрессия p53 в AIS выявляется в тех случаях, где инвазивный компонент экспрессирует p53 свидетельствует о высоком потенциале прогрессии AIS в инвазивный рак. Не исключено, что высокий уровень с p53 в AIS может быть косвенным признаком агрессивности будущей опухоли, а также предиктором развития определенного гистологического варианта, так как опухоли с высокой экспрессией p53 чаще имели строение серозных, низкодифференцированных аденоплоскоклеточных и низкодифференцированных эндометриоидных аденокарцином. Однако сведения в литературе по этому поводу отсутствуют. Данный вопрос требует более тщательного изучения.

При доброкачественных изменениях эпителия экспрессия p53 наблюдалась только в ТЭМ и при реактивных изменениях эпителия без значимых различий между группами.

Маркер p27 наряду с p53 в нашем исследовании показал устойчивую тенденцию к увеличению экспрессии при повышении степени дисплазии. Однако статистически значимых различий между группами не обнаружено. Этот факт весьма интересен, поскольку для предраковых изменений плоского эпителия шейки матки описана обратная тенденция — с повышением степени дисплазии плоского эпителия экспрессия маркера снижается [18]. Возможно, повышение уровня экспрессии p27 имеет механизм, сходный с p53, однако это требует дальнейшего изучения.

Маркер пролиферации Ki-67 при AIS железистого эпителия шейки матки выявлялся в 100% случаев, при этом в 39 (84,8%) наблюдениях имела место выраженная экспрессия. При дисплазии III степени получены сходные результаты, тогда как при сравнении с дисплазией I и II степени выявлена статистически значимая разница ($p < 0,05$). Таким образом, при дисплазии I и II степени уровень пролиферативной активности значительно ниже, чем при дисплазии III степени и AIS. Также обращает на себя внимание поступательное увеличение уровня экспрессии маркера при повышении степени дисплазии, что свидетельствует о постепенном накоплении генетических повреждений, ведущих к бесконтрольному делению клеток, и подтверждает теорию о том, что диспластические изменения являются последовательными ступенями канцерогенеза аденокарцином шейки матки. Уровень экспрессии Ki-67 является важным прогностическим фактором, позволяющим оценить злокачественный потенциал предраковых изменений железистого эпителия шейки матки [19, 20]. Полученные нами результаты показали, что значимо более высокая экспрессия маркера Ki-67 при дисплазии III степени и AIS характеризует эти поражения как более агрессивные по сравнению с дисплазией I—II степени и свидетельствует о более высоком риске прогрессии в инвазивный рак.

Ввиду того, что различия между дисплазией I и II степени определяются только степенью ядерной атипии, которую бывает иногда очень трудно оценить, а иммуногистохимические характеристики (низкая пролиферативная активность и низкая экспрессия p16), свидетельствуют о низком потенциале малигнизации, объединение их в одну группу, как это предлагается рядом исследователей [21, 22], вполне оправданно. Название данной объединенной группы может обсуждаться. Некоторые авторы предлагают термин «железистая атипия» [23], однако мы полагаем, что термин «дисплазия» необходимо сохранить, поскольку он лучше отражает биологическую сущность процесса.

Также представляется логичным объединение в одну категорию дисплазии железистого эпителия III степени и AIS. Данные поражения имеют множество общих характеристик: высокую степень ядерной атипии, наличие большого количества митозов, в том числе и атипичных, нарушение рядности эпителиального пласта. Кроме того, отмечается сходная экспрессия белков p16 и Ki-67.

Разделение предраковых изменений железистого эпителия на две группы значительно упростит практическую работу, позволит определить более четкие морфологические и иммуногистохимические критерии дифференциальной диагностики, а также уточнит прогностическую значимость и облегчит выбор лечебной тактики.

ЛИТЕРАТУРА

- Murphy N., Heffron C.C., King B., Ganugapati U.G., Ring M., McGuinness E. et al. p16INK4A positivity in benign, premalignant and malignant cervical glandular lesions: a potential diagnostic problem. *Virchows Arch.* 2004; 445 (6): 610—5.
- Park I.K., Morrison S.J., Clarke M.F. Bmi1, stem cells, and senescence regulation. *J. Clin. Invest.* 2004; 113(2): 175—9.
- Kim Y.T., Zhao M. Aberrant cell cycle regulation in cervical carcinoma. *Yonsei Med J.* 2005; 46 (5): 597—613.
- Tringler B., Gup C.J., Singh M., Groshong S., Shroyer A.L., Heinz D.E. et al. Evaluation of p16INK4a and pRb expression in cervical squamous and glandular neoplasia. *Hum. Pathol.* 2004; 35 (6): 689—96.
- Giarre M., Caldeira S., Malanchi I., Ciccolini F., Leao M.J., Tommasino M. Induction of pRb degradation by the human papillomavirus type 16 E7 protein is essential to efficiently overcome p16INK4a-imposed G1 cell cycle Arrest. *J. Virol.* 2001; 75 (10): 4705—12.
- Agoff S.N., Lin P., Morihara J., Mao C., Kiviat N.B., Koutsky L.A. 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): 665—73.
- Marques T., Andrade L.A., Vassallo J. Endocervical tubal metaplasia and adenocarcinoma in situ: role of immunohistochemistry for carcinoembryonic antigen and vimentin in differential diagnosis. *Histopathology.* 1996; 28 (6): 549—50.
- Sgambato A., Cittadini A., Faraglia B., Weinstein I.B. Multiple functions of p27(Kip1) and its alterations in tumor cells: a review. *J. Cell Physiol.* 2000; 183 (1): 18—27.
- Shiozawa T., Shiohara S., Kanai M., Konishi I., Fujii S., Nikaido T. Expression of the cell cycle regulator p27(Kip1) in normal squamous epithelium, cervical intraepithelial neoplasia, and invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Immunohistochemistry and functional aspects of p27(Kip1).* *Cancer.* 2001; 92 (12): 3005—11.
- Huang L.W., Chao S.L., Hwang J.L., Chou Y.Y. Down-regulation of p27 is associated with malignant transformation and aggressive phenotype of cervical neoplasms. *Gynecol. Oncol.* 2002; 85 (3): 524—8.
- Goff B.A., Sallin J., Garcia R., VanBlaricom A., Paley P.J., Muntz H.G. Evaluation of p27 in preinvasive and invasive malignancies of the cervix. *Gynecol. Oncol.* 2003; 88 (1): 40—4.
- Kim Y.T., Choi E.K., Cho N.H., Ko J.H., Yang W.I., Kim J.W. Expression of cyclin E and p27Kip1 in cervical carcinoma. *Cancer Lett.* 2000; 153: 41—50.
- de Boer C.J., van Dorst E., van Krieken H., Jansen-van Rhijn C.M., Warnaar S.O., Fleuren G.J. et al. Changing roles of cadherins and catenins during progression of squamous intraepithelial lesions in the uterine cervix. *Am. J. Pathol.* 1999; 155 (2): 505—15.
- Feng W., Xiao J., Zhang Z., Rosen D.G., Brown R.E., Liu J. et al. Senescence and apoptosis in carcinogenesis of cervical squamous carcinoma. *Mod. Pathol.* 2007; 20 (9): 961—6.
- Focchi G.R., Silva I.D., Nogueira-de-Souza N.C., Dobo C., Oshima C.T., Stavale J.N. Immunohistochemical expression of p16(INK4A) in normal uterine cervix, nonneoplastic epithelial lesions, and low-grade squamous intraepithelial lesions. *J. Low Genit. Tract. Dis.* 2007; 11 (2): 98—104.
- Smedts F., Ramaekers F.C., Hopman A.H. The two faces of cervical adenocarcinoma in situ. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 29 (4): 378—85.
- Wright T.C., Kurman R.J., Ferenczy A. Precancerous lesions of the cervix. In: R.J. Kurman, ed. *Blaunstein's pathology of the female genital tract.* New York: Springer; 2002: 253—325.
- Sgambato A., Zanoni G.F., Faraglia B., Camerini A., Tarquini E., Spada D. et al. Decreased expression of the CDK inhibitor p27Kip1 and increased oxidative DNA damage in the multistep process of cervical carcinogenesis. *Gynecol. Oncol.* 2004; 92 (3): 776—83.
- Liang J., Mittal K.R., Wei J.J., Yee H., Chiriboga L., Shukla P. Utility of p16INK4a, CEA, Ki67, P53 and ER/PR in the differential diagnosis of benign, premalignant, and malignant glandular lesions of the uterine cervix and their relationship with Silverberg scoring system for endocervical glandular lesions. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 2007; 26 (1): 71—5.
- Mikami Y., Kojima A., Kiyokawa T., Manabe T. Ki67 labelling index and p53 status indicate neoplastic nature of atypical lobular endocervical glandular hyperplasia (ALEGH). *Histopathology.* 2009; 55 (3): 362—4.
- Scully R.E., Bonfiglio T.A., Kurman R.J. Histological typing of female genital tract tumours. In: *World Health Organization International histological classification of tumours.* Berlin: Springer-Verlag; 1994: 13—5.
- Кондриков Н.И. Патология матки. Иллюстрированное руководство. М.: Практическая медицина; 2008.
- Kurman R.J., Ronnett B.M., Sherman M.E., Wilkinson E.J. Tumors of the cervix. In: Silverberg S.G., ed. *AFIP atlas of tumor pathology. Ser. 4. Tumors of the cervix, vagina, and vulva.* Maryland: ARP Press; Silver Spring; 2010: 67—255.

Поступила 03.09.2012