

Factores que intervienen en la diseminación del cáncer de cuello uterino

Factor for dissemination of cervical carcinoma

Enrique Lerma

RESUMEN

El carcinoma de cérvix es la segunda neoplasia ginecológica más frecuente.

La supervivencia a los 5 años es mayor del 95% en los pacientes en estadio IA, del 80% al 90% en IB, 75% en II y de menos del 50% en estadio III o IV. No obstante, hay algunos puntos débiles en la correlación entre estadio y pronóstico que hacen necesario el estudio de los nuevos marcadores diagnósticos y pronósticos. Dada la complejidad y diversidad de los mecanismos patogénicos del cáncer de cérvix, limitamos esta revisión a aquellos factores que podrían tener mayor potencial pronóstico y que clasificamos en:

1. Factores relacionados con la proliferación celular neoplásica.
2. Receptores de membrana de los factores de crecimiento.
3. Moléculas de adhesión.
4. Proteasas y sus inhibidores.
5. Respuesta inflamatoria de la paciente al tumor.

Palabras clave: cérvix, carcinoma escamoso, pronóstico, factores pronósticos, patología, revisión.

SUMMARY

Cervical carcinoma is the second most prevalent gynecological neoplasm. The 5 years survival is higher than 95% in stage IA, 80-90% in stage IB, 75% in stage II and less than 50% in stages III and IV. Nevertheless, there are some points where the direct correlation between stage and prognosis is not clear. This fact makes necessary the search for new diagnostic and prognostic cervical carcinoma markers. Because of the complexity and diversity of pathogenetic mechanisms this review is limited to those factors with higher prognostic potential, here classified as follows:

1. Factors related with cell proliferation
2. Membrane growth factor receptors
3. Adhesion molecules
4. Proteases and inhibitors
5. Host's inflammatory response to neoplasm

Key words: cervix, squamous cell carcinoma, prognosis, Pathology, immunohistochemistry, review.

Rev Esp Patología 2005; 38 (4): 201-206

INTRODUCCIÓN

El carcinoma de cérvix constituye el 12% de las neoplasias que se diagnostican en las pacientes de sexo femenino. Histológicamente se distinguen dos tipos principales: el escamoso (80-90%) y el adenocarcinoma (10-20%). Su incidencia es mayor en Asia, América del Sur y África y se estima que cada año aparecen 500.000 casos nuevos (1).

Los principales agentes etiológicos identificados en la actualidad son las infecciones por el virus del papiloma humano (HPV), el inicio precoz de relaciones sexuales, la promiscuidad, la multiparidad, la toma de contraceptivos orales (relación con adenocarcinomas), el tabaco y algunos factores genéticos (relacionados con la inmunidad) (2).

Actualmente se conocen unas 20 cepas mucosotrópicas del HPV, que pueden producir un cáncer de cérvix y

se que clasifican en virus de bajo riesgo (tipos 6, 11, 41, 42, 43, 44) y de alto riesgo (tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68). Las cepas de alto riesgo (principalmente 16 y 18) pueden identificarse en más del 90% de los carcinomas escamosos invasores (3) y en la mayoría (60-85%) de adenocarcinomas (4,5). La entrada del HPV en la célula está relacionada con la integrina $\alpha 6$ (6).

La localización episómica del HPV produce tetrasomías o trisomías, que pueden identificarse por FISH en los cromosomas 1, 17 y X. La integración del ADN viral en el huésped ocasiona CIN III y carcinomas y suele asociarse con aneuploidías. Esta integración viral en el genoma del huésped se asocia con la rotura del código de lectura abierta y pérdida de función de E2, que fisiológicamente regula E6 y E7 (6,7) y en consecuencia se produciría una proliferación celular sin control, pues la proteína E6 acelera la degradación de p53 (7) mientras que E7 interfiere la vía de p16^{INK4a}/CDK4/ciclina D1/pRb (8,9).

Recibido el 3/1/06. Aceptado el 27/1/2006.
Servicio de Patología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.
elerma@santpau.es

Inmunidad y genética está íntimamente relacionadas y ambas muy importantes en la resistencia a las infecciones por HPV. El riesgo relativo de cáncer de cérvix entre madres e hijas y entre gemelas es aproximadamente de 2 (10). Algunos haplotipos de HLA se han relacionado con susceptibilidad a las infecciones virales y una mayor facilidad para la progresión de CIN a cáncer (11,12).

Distintos polimorfismos en los genes de p53, de TGF β 1, de MMP 1, de IL-10 y del promotor de Fas pueden tener también cierta importancia en la progresión del carcinoma cervical (citados en 13).

PROGRESIÓN DEL CÁNCER DE CÉRVIX

La progresión del cáncer de cérvix (PCC) va a determinar el pronóstico de la paciente. Numerosos investigadores están buscando insistentemente los puntos clave de la progresión neoplásica y así poder predecir la evolución de la enfermedad y buscar nuevos tratamientos más efectivos. Desde un punto de vista práctico, el pronóstico del cáncer de cérvix sigue basándose en el estudio patológico de los tumores y principalmente en los parámetros ya conocidos como son su tamaño, profundidad de invasión y las metástasis ganglionares (14). Estos últimos son la base para el estadificar el tumor. El estadio es el mejor método para determinar un pronóstico. En el cáncer de cérvix se puede determinar mediante una exploración clínica, RX torácica, pielograma, cistoscopia y proctoscopia (15). No obstante, estudios patológicos posteriores permiten identificar extensión parametrial en el 31-63% de los casos que clínicamente estaban en estadio IB y en el 58% de las pacientes en estadio IIA. Las metástasis ganglionares se pueden identificar en el 36% de las pacientes con invasión parametrial y las metástasis para-aórticas suelen estar precedidas por las pélvicas (15).

Con los actuales métodos de tratamiento, la supervivencia a los 5 años es mayor del 95% en los pacientes en estadio IA, del 80% al 90% en IB, 75% en II y de menos del 50% en estadio III o IV (1). No obstante, hay algunos puntos débiles en la correlación entre estadio y pronóstico: p ej, la supervivencia puede variar entre 85-70% en estadio IIA con tumores pequeños, mientras que algunos tumores (>4 cm, estadio IB2), aún localizados en cérvix se asocian con una supervivencia del 70-50% (1). Estas pequeñas imprecisiones hacen, si cabe, más necesario el estudio de los nuevos marcadores. Dada la complejidad y diversidad de los mecanismos patogénicos, limitamos esta revisión a aquellos factores que podrían tener mayor potencial pronóstico y que clasificamos de la siguiente manera:

1. Factores relacionados con la proliferación celular neoplásica.
2. Receptores de membrana de los factores de crecimiento.
3. Moléculas de adhesión.

4. Proteasas y sus inhibidores.
5. Respuesta inflamatoria de la paciente al tumor.

1. Proliferación celular neoplásica

En este «cajón de sastre», en el se incluyen los factores que inhiben la apoptosis, reparan del ADN o inducen una mayor proliferación celular, destaca:

La inactivación de **p53** es muy importante para el desarrollo del carcinoma cervical, bien inducida por E6-HPV o más raramente debida a mutaciones. Estos trastornos suelen asociarse con un patrón inmunohistoquímico de sobre-expresión que se puede advertirse en la progresión de CIN a carcinoma invasor (16). No obstante, el valor pronóstico de esta sobre-expresión no está claro (17). La presencia de **p63** en carcinomas cervicales, que también puede ser inactivada por E6, ha sido relacionada con recidiva y mal pronóstico (23).

La proteína **p16** es un inhibidor de las ciclinas que participa en el «check point» G1 del ciclo celular, junto con la pRb y la Ciclina D1. La p16 se encuentra sobre-expresada en las lesiones cervicales asociadas a infecciones por las cepas de alto riesgo del HPV (18,19). Con frecuencia coinciden la sobre-expresión de p16 y la expresión de **Ki67** hasta en los estratos superiores del epitelio, cómo recientemente han sido descritas en lesiones intraepiteliales de alto grado (20). La sobre-expresión de estas proteínas, junto con la de **p14**, podrían ser útiles para el diagnóstico y para predecir la progresión de las lesiones cervicales (21). La detección inmunohistoquímica de p16 puede aplicarse también en citologías de cérvix, para aclarar el diagnóstico de las lesiones atípicas (ASCUS). La inmunoreactividad de p16 podría tener el mismo valor predictivo de lesión escamosa que los estudios virales con Captura de Híbridos (22).

La pérdida de expresión de **PTEN** puede tener un papel importante es las fases iniciales de la neoplasia cervical y la metilación de su promotor ha sido descrita en el 58% de los carcinomas escamosos invasores y en el 40% de los SIL (24). La proteína **MSH2**, que repara el ADN, podría jugar un cierto papel en el carcinoma de cérvix. Su sobre-expresión podría tener un importante papel en las fases iniciales de la carcinogénesis cervical, pues ha sido identificada en lesiones premalignas y neoplasias (25). Estos hallazgos relacionan la inestabilidad genética con el cáncer de cérvix (26).

La expresión anormal de **FHIT** (fragile histidine triad) se ha identificado en diversos procesos precancerosos (27), y hasta en el 50% de carcinomas de cérvix (28). Este gen se podría relacionar con metástasis ganglionares, invasión parametrial y afectación vaginal (27). También se han identificado pérdidas genéticas en 3p14 (donde se localiza el gen FHIT) en el 47% de los carcinomas (26).

La activación de la subunidad catalítica de la telomerasa (**hTERT**) ha sido descrita en lesiones cervicales y la amplificación de este gen podría utilizarse como marcador de malignización en varios tumores, incluyendo los de cérvix. El HPV podría activar la expresión de telomerasa (29).

La sobre-expresión de las **ciclinas D1, E, A and B1** ha sido observada en 13%, 22%, 24%, y 18%, respectivamente, de una serie de carcinomas cervicales, con ligero predominio en los casos en estadio avanzado. De estos hallazgos destaca que la sobre-expresión de ciclina A se relaciona con metástasis ganglionares (30).

La amplificación de **c-myc** puede tener relación con infecciones por HPV, proliferación celular e incluso se ha considerado un indicador del mal pronóstico en carcinomas en estadio bajo (40).

La sobre-expresión de **H-ras** y **N-ras** podría participar en la patogenia del cáncer de cérvix. K-ras no parece importante en los carcinomas escamosos de cérvix pues las mutaciones puntuales en el codón 12 del gen K-ras son muy raras (41).

También se ha relacionado con el cáncer de cérvix la hipermetilación de los promotores de algunos genes como p16, APC, HIC-1, O-6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT), Death associated protein kinase (DAPK), RARbeta, FHIT, GSTP1, hMLH1 y cadherina E(CDH1) (31).

2. Receptores de los factores de crecimiento

La familia del «Epidermal Growth Factor Receptor» (EGFR) comprende 4 receptores transmembrana estructuralmente relacionados: HER1 (EGFR ó c-erbB-1), HER2 (neu o c-erbB-2), HER3, and HER4.

La sobreexpresión de **EGFR** puede identificarse en el 50% de los carcinomas escamosos, mientras que la sobreexpresión de **HER2-neu** es más común en adenocarcinomas (33). No obstante, EGFR participa, en ambos tipos de tumores, en la transformación de displasia a carcinoma, mientras c-erbB-2 es más importante en la progresión tumoral e invasión (32).

Aunque algunos estudios identifican que la sobre-expresión de EGFR en carcinomas escamosos se asocia a mala supervivencia (33), incluso en estadios I y II, otros trabajos no confirman estos hallazgos (32). Recientemente se ha descrito que los carcinomas neuroendocrinos de célula grande de cérvix EGFR+/Her2- tienen muy mal pronóstico (34). Además de su acción en receptores específicos, el EGF facilita la movilidad celular y aumenta la expresión of **$\alpha 2\beta 1$ -integrin**, posiblemente mediante la hipofosforilación de FAK (35).

La ciclooxigenasa-2 (**COX-2**), que es muy importante en la síntesis de prostaglandinas (PG), se ha encontrado sobre-expresada en diversas neoplasias, incluyendo el

cáncer de cérvix. Además, la COX 2 puede inducir la sobre-expresión de «vascular-endothelial growth factor» **VEGF** que regula la neo-angiogénesis y que puede aumentar la densidad de la microcirculación en cáncer de cérvix (36), aunque no se ha encontrado que la presencia de VEGF tenga correlación con pronóstico ni con otras variables clinicopatológicas (37). La expresión autocrina de VEGF y la activación de su receptor pueden ser importantes en el inicio del cáncer de cérvix, pues se ha identificado en carcinomas cervicales y en más del 50% de CIN 3 (38). Las **PG** también pueden potenciar la expresión de VEGF en el cáncer de cérvix (37).

El Transforming Growth Factor (**TGF**) puede facilitar la producción de mRNA de diversos factores de crecimiento como VEGF y FGF2. Además, el TGF- β producido por las células neoplásicas puede incrementar la expresión de iNKRs y así inhibir la reacción linfocitaria citotóxica antitumoral (39).

3. Moléculas de adhesión celular

La capacidad invasiva de las células neoplásicas está muy directamente relacionada con la expresión de las moléculas de adhesión celular, de las que se conocen los siguientes grupos: cadherinas, integrinas, CD44, superfamilia de las inmunoglobulinas y selectinas.

Las cadherinas son glicoproteínas transmembrana que facilitan la adhesión intercelular por mecanismos dependientes de calcio. La **E-cadherina** es la más abundante y su dominio citoplásmico se conecta al citoesqueleto por medio de las **cateninas**. La hipermetilación del gen CDH1 podría explicar la pérdida de expresión de E-cadherin (42) y alteraciones β -catenina se han descrito en el 50% de tumores cervicales (43).

Inicialmente, los niveles de mRNA de E-cadherina, α y β -catenina se encontraron disminuidos en carcinomas avanzados de cérvix. Posteriormente, esta alteración se ha identificado también en carcinomas escamosos en estadios iniciales (44) e incluso en adenocarcinomas y carcinomas adenoescamosos (45). De todos modos, no se ha confirmado que los niveles de E-cadherina, α , β y γ -catenina sean variables independientes relacionadas con el pronóstico en una serie de carcinomas escamosos en estadio IB (44).

La de **FAK** (focal adhesion kinase) participa en el anclaje de E-cadherina con β -catenina. Su fosforilación puede facilitar la invasión en el cáncer cervical (46).

El **CD44** es una molécula de adhesión que contacta con el ácido hialurónico (HA). Una variante ésta, el **CD44v6** tiene un marcado potencial metastatizante y ha sido relacionado con la supervivencia de las pacientes con carcinomas cervicales y con la recidiva de los tumores. Recientemente se ha visto que la pérdida de tinción membranosa y el progresivo incremento de la citoplás-

mica de E-cadherin y CD44v6 podría relacionarse con la transformación neoplásica (47).

La sobre-expresión de la $\alpha 2$ -integrina pero no de la $\beta 1$ -integrina de las puede facilitar la emigración e invasión de las células del cáncer de cérvix (6). La sobre-expresión de $\beta 3$ integrina ha sido considerada como una variable pronóstica independiente de mal pronóstico en carcinoma de cérvix (48). La $\gamma 2$ -laminina 5 suele identificarse en lesiones cervicales con capacidad invasiva (49).

4. Proteasas e Inhibidores

La mayoría de las proteasas, dependen de serina, cistina o zinc para su activación. Las que dependen de zinc se denominan también metaloproteinasas. El balance entre las metaloproteinasas de la matriz (MMP) y sus inhibidores es muy importante para la regulación de la invasión tumoral. MMP-1, MMP-14, y MMP-15 han sido detectadas en 55-81% de los carcinomas escamosos y además MMP-1 también se pudo identificar en el 39% de HSIL (50).

El incremento de MMP-2 and MMP-9, ha sido detectado tanto en carcinomas de cérvix como neoplasias de mama, colon y páncreas (38). La expresión de MMP-2 en SIL y la consecutiva coexpresión de MMP-1 y MMP-2 en cáncer invasor sugieren un incremento del potencial invasor. La expresión focal de MMP-2 en HSIL podría indicar las zonas con mayor potencial invasivo (50), pues al asociarse con la $\alpha \nu \beta 3$ integrina facilita la degradación de la matriz (48). También se ha encontrado un incremento progresivo de expresión de MMP-2 and MMP-9 en carcinomas escamosos, en relación con el estadio, las metástasis ganglionares y la recidiva tumoral (39).

La identificación de mRNA de MMP11 (Stromelysin 3 ST3), MMP12 (Human macrophage metalloelastase) y Cathepsin F en un microarrays de cDNA se ha relacionado con su expresión IHQ en lesiones cervicales, La MMP15 no solo facilita la invasión sino que también frena la apoptosis mediada por la vía TNF/Fas (51).

En contraposición a los puntos anteriores, los niveles de TIMP (inhibidores tisulares de las proteinasas) se encuentran elevados en el 10-61% de los carcinomas escamosos (39).

5. Respuesta linfocitaria del huesped

Además de inducir la proliferación celular cervical, el HPV interacciona con los antígenos de histocompatibilidad (HLA) y con el sistema Fas. El CD95/Fas es un miembro de la familia de receptores de membrana TNF-R que participan en la apoptosis y su estudio puede ayudarnos a comprender mejor la progresión de la neoplasia cervical.

Existen dos mecanismos para explicar cómo la interacción Fas-FasL puede participar en la carcinogénesis cervical: a) Inhibición de la apoptosis de los queratinocitos infectados, mediante la pérdida de expresión de Fas y b) la producción de ligando Fas por células tumorales puede inducir la apoptosis de los linfocitos CD8.

Las neoplasias de cérvix de pacientes con el polimorfismo 670-GG en el promotor de Fas suelen tener una marcada disminución de la expresión del receptor (52) y un comportamiento más agresivo (13,53,54) aunque no todos los autores están de acuerdo (55).

Queratinocitos de cultivos celulares pueden producir FasL, bajo el estímulo del interferón y así inducir la apoptosis de linfocitos T (56). También se ha identificado la producción de Fas-L en carcinomas de cérvix (57) y recientemente, hemos advertido la sobre-expresión de Fas-L en 40% de los carcinomas de cérvix en estadio I y en el 62,5% de tumores de estadios II y III.

En resumen, se están identificando numerosos factores que facilitarían la progresión del cáncer de cérvix, aunque ninguno de ellos haya demostrado gran valor para predecir la progresión de la enfermedad neoplásica. Aún se necesitan numerosos estudios para precisar mejor su papel y abrir potenciales vías para el tratamiento más ajustado en cada caso.

BIBLIOGRAFÍA

1. Waggoner SE. Cervical cancer. *Lancet* 2003; 361: 2217-25.
2. Kjellberg L, Hallmans G, Ahren AM, Johansson R, Bergman F, Wadell G, Angstrom T, Dillner J. Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intra-epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. *Br. J. Cancer* 2000; 82: 1332-8.
3. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518-27.
4. Milde-Langosch K, Schreiber C, Becker G, Loning T, Stegner HE. Human papillomavirus a detection in cervical adenocarcinomas by polymerase chain reaction. *Hum Pathol* 1993; 24: 590-4.
5. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, et al., Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12-9.
6. Smida Rezgui S, Honore S, Rognoni JB, Martin PM, Penel C. Up-regulation of alpha 2 beta 1 integrin cell-surface expression protects A431 cells from epidermal growth factor-induced apoptosis. *Int J Cancer* 2000; 87: 360-7.
7. Mantovani F, Banks L. The human papilloma virus E6 protein and its contribution to malignant progression. *Oncogene* 2001; 20: 7874-7.
8. Brehm A, Kouzarides T. Retinoblastoma protein meets chromatin. *Trends Biochem Sci* 1999; 24: 142-5.
9. Jones DL, Munger K. Interactions of the human papillomavirus E7 protein with cell cycle regulators. *Semin Cancer Biol* 1996; 7 : 327-37.

10. Magnusson PK, Sparen P, Gyllensten UB. Genetic link to cervical tumors. *Nature* 1999; 400: 29-30.
11. Gostout BS, Podratz KC, McGovern RM, et al. HLA Association with Cervix Cancer in Indian Women. Abstract Presented at the Twenty-Fourth Annual Meeting of the Western Association of Gynecologic Oncologists, May 29-June 2, 1996. *Gynecol Oncol* 1996; 62: 415.
12. Fowler NL, Frazer IH. Mutations in TAP genes are common in cervical carcinomas. *Gynecol Oncol* 2004; 92: 914-21.
13. Lerma E, Romero M, Gallardo A, Fuentes J, Lloveras B, Bussaglia E, Prat J. SNPs in -670 fas promoter as a risk factor for squamous cell carcinoma of cervix. *Diagn Mol Pathol* 2005 (in press).
14. Creasman WT, Kohler MF. Is lymph vascular space involvement an independent prognostic factor in early cervical cancer? *Gynecol Oncol* 2004; 92: 525-9.
15. Tavassoli FA, et al (eds). *Tumors of the breast and female genital organs*. Lyon: WHO. 2002.
16. Lie AK, Skarsvag S, Skomedal H, Haugen OA, Holm R. Expression of p53, MDM2, and p21 proteins in high-grade cervical intraepithelial neoplasia and relationship to human papillomavirus infection. *Int J Gynecol Pathol* 1999; 18: 5-11.
17. Pillai MR, Jayaprakash PG, Nair MK. bcl-2 immunoreactivity but not p53 accumulation associated with tumour response to radiotherapy in cervical carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 1999; 125: 55-60.
18. Nakao Y, Yang X, Yokoyama M. Induction of p16 during immortalization by HPV 16 and 18 and not during malignant transformation. *Br J Cancer* 1997; 75: 1417-20.
19. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, et al. Overexpression of p16 (INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J cancer* 2001; 92: 276-84.
20. Qiao X, Bhuiya T, Spitzer M. Differentiating High-Grade Cervical Intraepithelial Lesion from Atrophy in Postmenopausal Women Using Ki-67, Cyclin E, and p16 Immunohistochemical Analysis. *J Low Genit Tract Dis* 2005; 9:100-7.
21. Aoyama C, Liu P, Ostrzega N, Holschneider CH. Histologic and immunohistochemical characteristics of neoplastic and nonneoplastic subgroups of atypical squamous lesions of the uterine cervix. *Am J Clin Pathol* 2005; 123: 699-706.
22. Nieh S, Chen SF, Chu TY, Lai HC, Lin YS, Fu E, Gau CH. Is p16(INK4A) expression more useful than human papillomavirus test to determine the outcome of atypical squamous cells of undetermined significance-categorized Pap smear? A comparative analysis using abnormal cervical smears with follow-up biopsies. *Gynecol Oncol* 2005; 97: 35-40.
23. Cho NH, Kim YB, Park TK, Kim GE, Park K, Song KJ. P63 and EGFR as prognostic predictors in stage IIB radiation-treated cervical squamous cell carcinoma. *Gynecol Oncol* 2003; 91: 346-53.
24. Cheung TH, Lo KW, Yim SF, Chan LK, Heung MS, Chan CS, Cheung AY, Chung TK, Wong YF. Epigenetic and genetic alternation of PTEN in cervical neoplasm. *Gynecol Oncol* 2004; 93: 621-7.
25. Giarnieri E, Mancini R, Pisani T, Alderisio M, Vecchione A. Msh2, Mlh1, Fhit, p53, Bcl-2, and Bax expression in invasive and in situ squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3600-3606
26. Hidalgo A, Baudis M, Petersen I, Arreola H, Pina P, Vazquez-Ortiz G, Hernandez D, Gonzalez J, Lazos M, Lopez R, Perez C, Garcia J, Vazquez K, Alatorre B, Salcedo M. Microarray comparative genomic hybridization detection of chromosomal imbalances in uterine cervix carcinoma. *BMC Cancer* 2005; 5: 77.
27. Huang LW, Chao SL, Chen TJ. Reduced Fhit expression in cervical carcinoma: correlation with tumor progression and poor prognosis. *Gynecol Oncol* 2003; 90: 331-7.
28. Baykal C, Ayhan A, Al A, Yuce K, Ayhan A. No relationship is indicated between Fhit expression and clinicopathologic prognostic parameters in early stage cervical carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2003; 13: 192-6.
29. Fu B, Quintero J, Baker CC. Keratinocyte growth conditions modulate telomerase expression, senescence, and immortalization by human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes. *Cancer Res* 2003; 63: 7815-24.
30. Shiohara S, Shiozawa T, Miyamoto T, Feng YZ, Kashima H, Kurai M, Suzuki A, Konishi I. Expression of cyclins, p53, and Ki-67 in cervical squamous cell carcinomas: overexpression of cyclin A is a poor prognostic factor in stage Ib and II disease. *Virchows Arch* 2005; 446: 626-33.
31. Yang HJ, Liu VW, Yang Y, Chan KY, Tsang PC, Khoo US, Cheung AN, Ngan HY. Detection of hypermethylated genes in tumor and plasma of cervical cancer patients. *Gynecol Oncol* 2004; 93: 435-40.
32. Leung TW, Cheung AN, Cheng DK, Wong LC, Ngan HY. Expressions of c-erbB-2, epidermal growth factor receptor and pan-ras proto-oncogenes in adenocarcinoma of the cervix: correlation with clinical prognosis. *Oncol Rep* 2001; 8: 1159-64.
33. Lee CM, Lee RJ, Hammond E, Tsodikov A, Dodson M, Zempolich K, Gaffney DK. Expression of HER2neu (c-erbB-2) and epidermal growth factor receptor in cervical cancer: prognostic correlation with clinical characteristics, and comparison of manual and automated imaging analysis. *Gynecol Oncol* 2004; 93: 209-14.
34. Tangjitgamol S, Ramirez PT, Sun CC, See HT, Jhingran A, Kavanagh JJ, Deavers MT. Expression of HER-2/neu, epidermal growth factor receptor, vascular endothelial growth factor, cyclooxygenase-2, estrogen receptor, and progesterone receptor in small cell and large cell neuroendocrine carcinoma of the uterine cervix: a clinicopathologic and prognostic study. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15: 646-56.
35. Yamanaka I, Koizumi M, Baba T, Yamashita S, Suzuki T, Kudo R. Epidermal growth factor increased the expression of alpha2beta1-integrin and modulated integrin-mediated signaling in human cervical adenocarcinoma cells. *Exp Cell Res* 2003; 286: 165-74.
36. Kim M, S. Seo, Y. Song, D. Kang, I. Park, S. Kang and H. Lee, Expression of cyclooxygenase-1 associated with expression of VEGF in primary cervical cancer and at metastatic lymph nodes. *Gynecol Oncol* 2003; 90: 83-90.
37. 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: 96-103.
38. Van Trappen PO, Steele D, Lowe DG, Baithun S, Beasley N, Thiele W, Weich H, Krishnan J, Shepherd JH, Pepper MS, Jackson DG, Sleeman JP, Jacobs IJ. Expression of

- vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and VEGF-D, and their receptor VEGFR-3, during different stages of cervical carcinogenesis. *J Pathol* 2003; 201: 544-54.
39. Sheu BC, Chiou SH, Lin HH, Chow SN, Huang SC, Ho HN, Hsu SM. Up-regulation of inhibitory natural killer receptors CD94/NKG2A with suppressed intracellular perforin expression of tumor-infiltrating CD8⁺ T lymphocytes in human cervical carcinoma. *Cancer Res* 2005; 65: 2921-9.
 40. Iwasaka T, Yokoyama M, Oh-uchida M, Matsuo N, Hara K, Fukuyama K, Hachisuga T, Fukuda K, Sugimori H. Detection of human papillomavirus genome and analysis of expression of c-myc and Ha-ras oncogenes in invasive cervical carcinomas. *Gynecol Oncol* 1992; 46: 298-303.
 41. Mammas IN, Zafiropoulos A, Koumantakis E, Sifakis S, Spandidos DA. Transcriptional activation of H- and N-ras oncogenes in human cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2004; 92: 941-8.
 42. Chen CL, S.S. Liu, S.M. Ip, L.C. Wong, T.Y. Ng and H.Y. Ngan, E-cadherin expression is silenced by DNA methylation in cervical cancer cell lines and tumours. *Eur J Cancer* 2003; 39: 517-523
 43. Pereira-Suárez AL, M.A. Meraz, M. Lizano, C. Estrada-Chávez, F. Hernández and P. Olivera et al., Frequent alterations of the β -catenin protein in cancer of the uterine cervix. *Tumor Biol* 2002; 23:45-53.
 44. Van de Putte G, G.B. Kristensen, M. Baekelandt, A.K. Lie and R. Holm, E-cadherin and catenins in early squamous cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 2004; 94: 521-7.
 45. Fadare O, Reddy H, Wang J, Hileeto D, Schwartz PE, Zheng W. E-Cadherin and beta-catenin expression in early stage cervical carcinoma: a tissue microarray study of 147 cases. *World J Surg Oncol* 2005; 3: 38.
 46. Moon HS, Park WI, Choi EA, Chung HW, Kim SC. The expression and tyrosine phosphorylation of E-cadherin/catenin adhesion complex, and focal adhesion kinase in invasive cervical carcinomas. *Int J Gynecol Cancer* 2003; 13: 640-6.
 47. Nagamo O, Saya H. Mechanism and biological significance of CD44 cleavage. *Cancer Sci* 2004; 95: 930-5.
 48. Chattopadhyay N et al. Human cervical tumor cell surface α 5 β 1 integrin receptor has associated matrix metalloproteinase (MMP-2) activity. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 11: 653-8.
 49. Skyldberg B, Salo S, Eriksson E, Aspenblad U, Moberger B, Tryggvason K, Auer G. Laminin-5 as a marker of invasiveness in cervical lesions. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 1882-7.
 50. Brummer O, Bohmer G, Hollwitz B, Flemming P, Petry KU, Kuhnle H. MMP-1 and MMP-2 in the cervix uteri in different steps of malignant transformation-an immunohistochemical study. *Gynecol Oncol* 2002; 84: 222-7.
 51. Abraham R et al. Identification of MMP15 as an antiapoptotic factor in cancer cells. 1. *JBC Papers in Press...* M508155200.
 52. Pinti M, Troiano L, Nasi M, et al. Genetic polymorphisms of Fas (CD95) and FasL (CD178) in human longevity: studies on centenarians. *Cell Death Differ* 2002; 9: 431-8.
 53. Engelmark MT, Renkema KY, Gyllensten UB. No evidence of the involvement of the Fas -670 promoter polymorphism in cervical cancer in situ. *Int J Cancer* 2004; 112: 1084-5.
 54. Dybikowska A, Sliwinski W, Emerich J, Podhajska AJ. Evaluation of Fas gene promoter polymorphism in cervical cancer patients. *Int J Mol Med* 2004; 14: 475-8.
 55. Lai HC, Sytwu HK, Sun CA, et al. Single nucleotide polymorphism at Fas promoter is associated with cervical carcinogenesis. *Int J Cancer* 2003; 103: 221-5.
 56. Strand S, Hofmann WJ, Hug H, Muller M, Otto G, Strand D, Mariani SM, Stremmel W, Krammer PH, Galle PR. Lymphocyte apoptosis induced by CD95 (APO-1/Fas) ligand-expressing tumor cells - a mechanism of immune evasion? *Nat Med* 1996; 2: 1361-6.
 58. Das H, Koizumi T, Sugimoto T, Chakraborty S, Ichimura T, Hasegawa K, Nishimura R. Quantitation of Fas and Fas ligand gene expression in human ovarian, cervical and endometrial carcinomas using real-time quantitative RT-PCR. *Br J Cancer* 2000; 82: 1682-8.