

دور البلاعم في تطور الآفات التنشؤية داخل ظهارة عنق الرحم، دراسة شكليائية لخزغ عنق الرحم في مشفى الأسد الجامعي

الدكتور عيسى يوسف أحمد *

(تاريخ الإيداع 16 / 2 / 2011. قُبِلَ للنشر في 1 / 6 / 2011)

□ ملخص □

تعتبر سرطانة عنق الرحم الواسعة الانتشار في العالم المتقدم سبباً مهماً للموت عند النساء، تحاول عناصر
الالتهاب القضاء على العوامل المؤذية وتلعب دوراً سلبياً فيما يخص التنشؤ الورمي داخل ظهارة عنق الرحم، نشأ
خلاف بين الباحثين حول دور الالتهاب في التنشؤ الورمي الظهاري لعنق الرحم. قمنا باستعمال المقاطع النسيجية
المحضرة روتينياً والملونة H&E والتلوينات المناعية النسيجية الكيماوية (IHC) من أجل كشف مستضدات البلاعم
CD68 عن طريق استخدام أضداد مضادة للمستضد السابق. حاولنا رصد تعداد البلاعم في مختلف آفات عنق الرحم
التنشؤية الورمية والالتهاب. توصلنا إلى نتيجة هي أنه يزداد عدد البلاعم مع زيادة درجة الآفة التنشؤية داخل ظهارة
العنق وفي السدى. تفترض هذه المعطيات إمكانية استعمال البلاعم في علاج الآفات التنشؤية الورمية العنقية وسرطانة
العنق و تستعمل كواسم لتطور الآفات التنشؤية الورمية.

الكلمات المفتاحية: الالتهاب، البلاعم، آفة حرشفية داخل ظهارة العنق، سرطانة موضعة، مناعة نسيجية كيماوية.

* مدرس - قسم التشريح المرضي - كلية الطب - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

The Role of Macrophages in the Development of Cervical Squamous Intraepithelial Lesions, Morphologic Study of Cervical Biopsies in al-Assad University Hospital

Dr. Issa Yusuf Ahmad*

(Received 16 / 2 / 2011. Accepted 1 / 6 / 2011)

□ ABSTRACT □

The carcinoma of the cervix is widespread in the developed world. It is an important cause of death in women. Inflammatory reactions try to eliminate injurious factors, but they play a negative role with regard to neoplasia within the epithelium of the cervix. A dispute arises between researchers on the role of inflammation in cervical intraepithelial neoplasia. We have used tissue sections of routinely processed and H & E stain and immunohistochemistry (IHC) for the detection of macrophage CD68 + antigen by using anti-antibodies to the antigen previously. We have tried to count the macrophages in various degrees of cervical neoplastic lesions and inflammation. Our result is that increasing the number of macrophages with increasing the degree of the cervical squamous intraepithelial lesions in epithelium and in the stroma. These figures assume the possibility of the use of macrophages in the treatment of cervical squamous intraepithelial lesions and carcinoma and are used as markers for the development of cervical intraepithelial lesions.

Keywords: inflammation, macrophages, cervical squamous intraepithelial lesions, carcinoma in situ, immunohistochemistry.

* Assistant Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, University of Tishreen, Lattakia, Syria.

مقدمة:

إن سرطانة عنق الرحم هي المرض الأساسي بين النساء في معظم بلدان العالم المتطور وسبب مهم لوفيات النساء [2,1]، تتفاعل الأورام الخبيثة مع المركبات المحيطة بها ودوماً تحاول تسخير ما يمكن استعماله من أجل النمو والغزو الموضعي أو إعطاء النقائل البعيدة، ويتم ذلك من خلال تثبيط إشارات النمو السلبية وتعزيز إشارات حثّ التكاثر وتأمين التروية الدموية عن طريق تحريض التنشؤ الوعائي الجديد، تقاوم إشارات النمو الأوامر الحادثة على موت الخلايا المبرمج (Apoptosis) وتحرّض تكاثر الخلايا أو تضاعفها [6,5,4,3]، توفرت معلومات تجريبية في السنوات الأخيرة عن دور الالتهاب الهام في عملية نمو وتضاعف الخلايا و تثبيط إشارات الموت المبرمج، كما يُنقَص استعمال مضادات الالتهاب من خطر الخبث ويؤخر تظاهر الآفات ما قبل سرطانية، الخلايا التي تلعب دوراً في هذه العملية هي البلاعم المرافقة للورم [9,8,7, 5]. تشتق البلاعم (Macrophages) من وحيدات نقي العظم، تكتسب عندما تدخل إلى الدوران أنماطاً جينية ظاهرية (phenotypes) متباينة، بينما عندما تغادر إلى الأنسجة تعطي الخلايا التغصنية النسيجية المتنوعة مثل خلايا لنغرهنز (Langerhans cells) في الظهارة الجلدية، والبلاعم. تسمى الوحيدات المستوطنة بخلايا لنغرهنز وتشكل خط الدفاع المناعي الأول ضد العوامل الممرضة الآتية من البيئة، يُحرّض الالتهاب البلاعم و يدفعها على الهجرة إلى منطقة الالتهاب وتسمى وحيدات التهابية [12,11,10]. تشكل البلاعم مركباً أساسياً في المنظومة المناعية الفطرية، حيث تحمي الأنسجة من الإنتانات الجرثومية وتنظم إعادة بناء النسيج و إصلاح الأذيات. تفرز البلاعم طيفاً واسعاً من السيتوكينات (Cytokines) وعوامل النمو والبروتينات و ليزوزيم (Lysozyme) ومركبات المتممة وعوامل تخثرية و بروتينيات (Prostaglandins). وتبدي البلاعم أنماطاً ظاهرية مختلفة، ويمكن أن تسهم في النمو الورمي والغزو والنقائل والتنظيم المناعي والموضعي والتنشؤ الجنيني [7]. يترافق تراكم البلاعم في الرشاحة الالتهابية في عدد من الأورام مع إنذار سيء مثل سرطانة المبيض والثدي [7]. قد تمّ إظهار عدد من المركبات في الورم وفي الدم المحيطي والتي تنتجها الخلايا السرطانية العنقية والتي تعتبر جواذب كيميائية بلعمية مثل بروتين جذب الوحيدات الكيماوي (CCL2)، والعامل الحاث لمستعمرات البلاعم (CSF-1)، وعامل النمو البطاني الوعائي (VEGF) [21,20,19,18,17,16,15,14,13]. يرتفع مستوى عامل النمو البطاني الوعائي في سيروم المرضى المصابين بفيروس الحليموم الإنساني (HPV) في العنق وبالتنشؤ الورمي داخل الظهارة العنقية (CIN) [16]. تطرح هذه المعطيات فكرة جدلية حول دور البلاعم في التسرطن.

لقد برهن بعض المؤلفين على زيادة عدد البلاعم مع زيادة درجة الآفات التنشؤية الحرشفية داخل الظهارة العنقية (CSIL) وتحولها إلى سرطانة غازية، وأن الإبتان بفيروس الحليموم الإنساني في القناة التناسلية لدى المرأة هو عامل سببي للآفات السرطانية وطلائعها الموضعة ضمن الظهارة [25,24,23,22]، لكن الدراسات التي تأخذ بعين الاعتبار تزامن الآفات التنشؤية داخل الظهارة العنقية مع السير السريري والإبتان قليلة [27,26, 28,29,30,31]. يرى آخرون أنه يتناقض عدد البلاعم في الآفات التنشؤية داخل الظهارة العنقية مقارنة مع الطبيعي ووجود الجينات الورمية الخاصة بفيروس الحليموم الإنساني HPV E6/E7 [36,35,34,33,32].

أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية البحث من النقاط التالية:

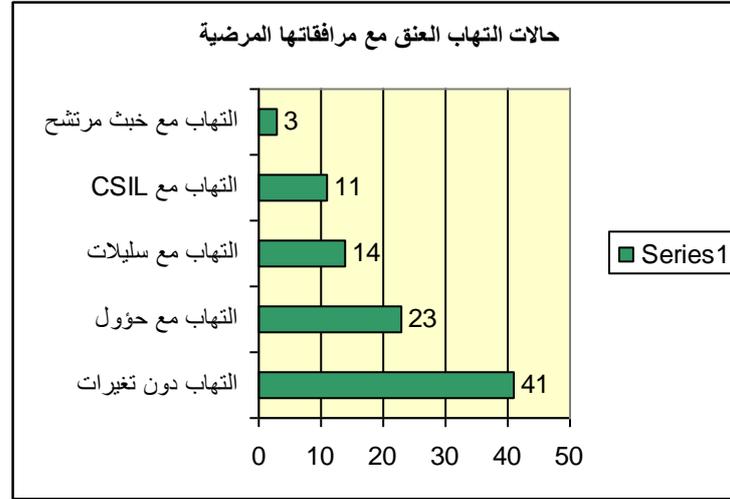
- 1- تزايد نسبة الوفيات من سرطانة عنق الرحم في العالم المتقدم.
 - 2- تزايد نسبة التهابات السبيل التناسلي السفلي عند النساء.
 - 3- تزايد الخلافات بين الباحثين حول اعتبار بعض عوامل الالتهاب كعناصر مُسرطنة وخصوصاً البلاعم التي يظن أنها تحت التنشؤ الورمي داخل الظهارة العنقية.
- يمكن إيجاز أهداف البحث بما يلي:
- 1- محاولة فهم العلاقة بين التهاب عنق الرحم المزمن و الآفات التنشؤية الورمية ضمن ظهارة عنق الرحم.
 - 2- دور البلاعم في آفات عنق الرحم التنشؤية الورمية.

طرائق البحث ومواده:

من أجل الإضاءة على هذه المسألة الجدلية، فقد أجريَتْ دراسة حول عدد البلاعم في عينات عنق الرحم الملتهب دون تغييرات أخرى وفي العينات المصابة بالآفات التنشؤية داخل الظهارة العنقية، استعملت مقاطع نسيجية (3-5 μ ميكرون) مأخوذة من نسيج مصبوب بالشمع مُحضرة ومُلونة روتينياً H&E ، كما استعملت المقاطع المأخوذة من مكعبات الشمع لأجل التلوين بالملونات المناعية النسيجية الكيماوية (Immunohistochemistry or IHC) مع أضداد (Anti-CD68) مضادة للمستضد CD68. والنقطت صور التلوينات المناعية IHC والروتينية H&E أثناء التقويم باستعمال كاميرا رقمية (Nikon DS-Fi1) مركبة على مجهر ضوئي (Nikon Eclipse 50i) أو كاميرا رقمية من نوع (Sony, cyber-shot)، مع تكبير X 10 أو X20 أو X 40 أو X 60 للعدسة الجسمية وتكبير X 10 للعدسة العينية، وتم التعامل معها في حاسوب شخصي في برنامج ويندوز (Microsoft XP professional version 2002). تم تقسيم العينات بحسب وجود الالتهاب المزمن في منطقة الآفة أو في مجاوراتها و نوع التغييرات التنشؤية داخل الظهارة العنقية إلى المجموعات التالية: 1- يوجد التهاب دون تغييرات مرضية تنشؤية ورمية، 2- يوجد التهاب مع آفة حرشفية منخفضة الدرجة داخل الظهارة العنقية (LSIL) ، 3- يوجد التهاب مع آفة حرشفية عالية الدرجة داخل الظهارة العنقية (HSIL)، 4- يوجد التهاب مع سرطانة عنق موضوعة ضمن الظهارة (CIS). وتم عدّ الخلايا البلعمية في الظهارة و السدى كل على حدا بعد التلوين بملونات مناعية نسيجية كيماوية، وذلك في عشر ساحات مجهرية لكل عينة، تكبير X20 للعدسة الجسمية، X 10 للعدسة العينية، وحساب متوسط عدد البلاعم التي هي إيجابية على CD68+ في ساحة مجهرية واحدة لكل مجموعة. قد حددنا عدد البلاعم في 9 عينات توزعت كما يلي: عينتان تبدي علامات التهاب دون آفات تنشؤية، 3 حالات التهابية مترافقة مع آفة حرشفية منخفضة الدرجة داخل الظهارة العنقية، 3 حالات التهابية مترافقة مع آفة حرشفية عالية الدرجة داخل الظهارة العنقية وحالة واحدة سرطانة عنق موضوعة. ويكون عدد الساحات المجهرية المدروسة في كل العينات هي 90 ساحة مجهرية مختلفة. ثم حسبنا متوسط عدد البلاعم في ساحة واحدة في كل مجموعة. تم إجراء هذا البحث في كلية الطب البشري و مشفى الأسد الجامعي في الفترة بين 2010 /7/12 م و 2011/2/13 م.

الجدول 4 توزع الحالات الالتهابية بحسب ترافقها مع آفات أخرى

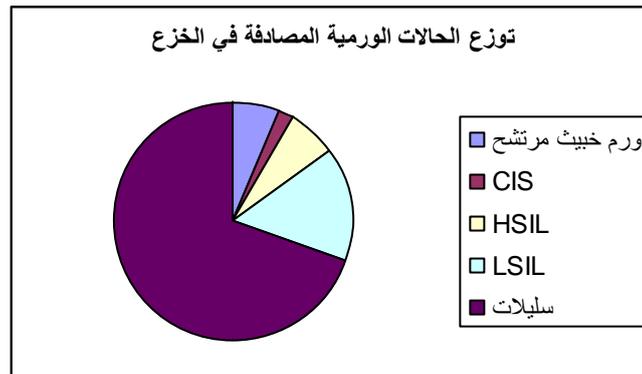
المجموع (النسبة المئوية)	التهابات مع تغيرات أخرى				التهابات دون تغيرات أخرى	التغيرات المرضية
	أورام خبيثة	آفات تنشؤية داخل ظهارية	سليلات باطن عنق رحم	حوول حرشفي		
92 (%67.65)	3	11	14	23	41	العدد



الشكل 2 حالات التهابات عنق الرحم بحسب مرافقاتها الأخرى

الجدول 5 توزع الحالات الورمية المصادفة في العينات

المجموع	نوع السليلة العنقية			الآفة التنشؤية داخل الظهارية			خبثية مرتشحة			التغيرات المرضية
	أخرى	التهابي	مخاطي	CIS	HSIL	LSIL	غرن عضلي أملس	نقائل سرطانة بطانية	سرطانة غير متميزة	
46	8	3	21	1	3	7	1	1	1	العدد
46	32			11			3			المجموع

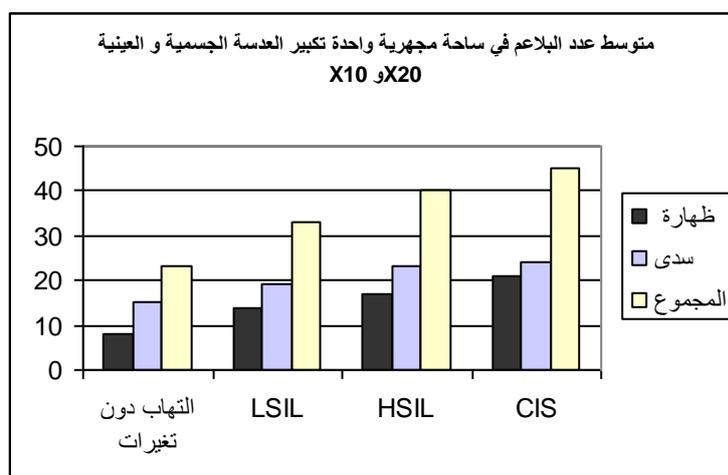


الشكل 3 الأورام السليمة والخبثية والآفات داخل ظهارة عنق الرحم

متوسط أعمار المصابات بالخبيث وبالآفات التنشؤية داخل الظهارة العنقية 48.64 سنة. مجموع حالات الالتهايات المزمنة سواء كانت دون تغيرات أو مع تغيرات أخرى (حؤول، تنشوات ورمية أو سرطانات أو أورام سليمة) هي 92 (67.65%) حالة، متوسط أعمارهم 48.05 سنة. الجدول رقم (4) و الأشكال (2،5). قد تراوح الالتهاب من التهاب بسيط أو متوسط إلى شديد.

الجدول 6 يبيّن متوسط عدد البلاعم في ساحة مجهرية واحدة تكبير العدسة الجسمية X20 والعينية X10 في مجهر Nikon في مختلف درجات الآفات داخل ظهارة عنق الرحم و الالتهاب

التغيرات المكان	التهاب دون تغيرات تنشؤية	التهاب مع LSIL	التهاب مع HSIL	التهاب مع CIS
الظهارة	8	14	17	21
السدى	15	19	23	24
المجموع	23	33	40	45



الشكل 4 متوسط عدد البلاعم في ساحة مجهرية واحدة في مختلف درجات التنشؤ الورمي داخل الظهاري وفي الالتهاب، في السدى وفي الظهارة والمجموع

أظهرت المعطيات تماشي عدد البلاعم في السدى والظهارة العنقية مع التحوّل التنشؤي الورمي داخل ظهارة عنق الرحم، يزداد عدد البلاعم في السدى والظهارة مع زيادة درجة الشذونية الجدول رقم (6) والأشكال ذوات الأرقام (4،6،7)، تفترض هذه الموجودات هجرة البلاعم من السدى عبر الغشاء القاعدي إلى الظهارة حيث تمارس فعلها في المساهمة في عملية الحث على تضاعف الخلايا وظهور الشذونية التنشؤية، تزداد الخلايا الالتهابية من الناحية المرضية ومن ضمنها البلاعم مع زيادة درجة الآفة التنشؤية داخل الظهارة، نلاحظ من الجدول رقم (6) والشكل رقم (4) زيادة عدد البلاعم مع زيادة درجة الآفة الظهارية، يجذب الالتهاب البلاعم من الناحية الفيزيولوجية، تنمّ هذه المعطيات على أنه تجذب الآفة الالتهابية و كذلك الآفة الورمية البلاعم، و تؤثر البلاعم على تكاثر الخلايا. برهن العديد من الباحثين على زيادة عدد البلاعم مع تزايد درجة الآفة ما قبل السرطانية في ظهارة عنق الرحم [22,23,24,25,26,27,37]، ولكن كان لعدد آخر من المؤلفين رأي معاكس تماماً، حيث توصلوا إلى أنه يتناقص

عدد البلاعم مع زيادة درجة الشذوذية في ظهارة عنق الرحم [38,36,34,32]، لكن هذا الاختلاف كان بسبب أن أصحاب الرأي المعاكس يبحثون عن خلايا لغيرهنز عالية الخصوصية في تقديم المستضد واستعملوا المستضدات (S-100, CD1a)، وتشكل هذه الخلايا الحاجز المناعي الأول ضد العوامل المؤذية الآتية من البيئية الخارجية، إن الدقة في اختيار منطقة الإصابة بالتنشؤ الورمي داخل الظهاري هو في غالب الأحيان صعب ويؤثر على النتائج، بينما أظهر الباحثون الآخرون البلاعم باستخدام المستضدات (CD68, Ki-M1p)، قد توصلوا إلى استنتاج أنه يزداد عدد البلاعم مع زيادة درجة الشذوذية داخل الظهارة [42,41,40,39,37,31,30,27,26,8]. إضافة إلى الأسباب التي ذكرناها آنفاً، نعتقد أن النتائج الأخيرة هي التي تتوافق نوعاً ما مع تحليلاتنا وهي الأقرب إلى الحقيقة.

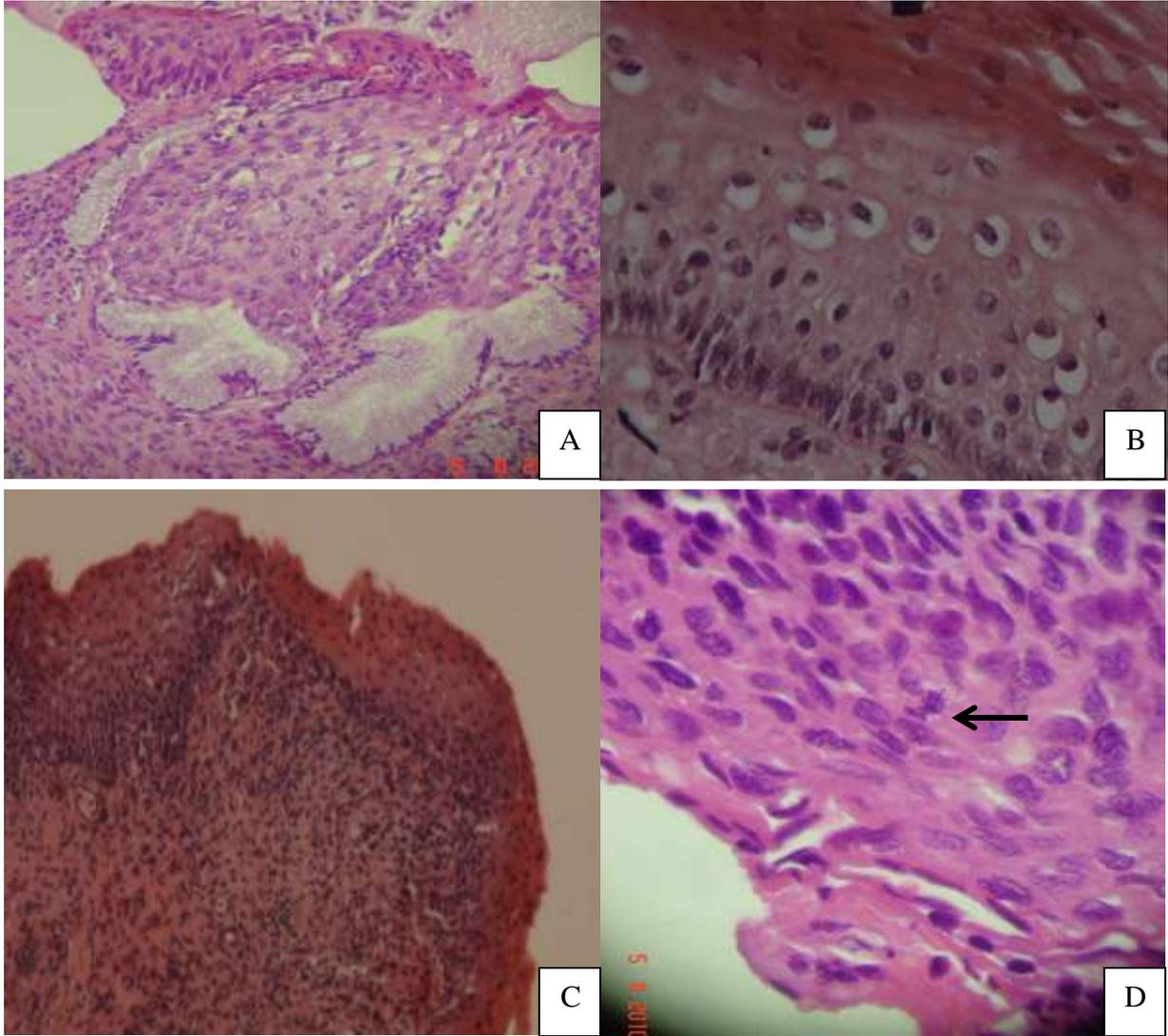
لقد ذكرت معظم الدراسات في السنوات الأخيرة زيادة عدد البلاعم في أورام الإنسان لترتبط مع الإنذار السيء، تشمل هذه الآفات سرطانات الثدي، الموتة، والمبيض، وعنق الرحم، والرئة، والمثانة. كما أن هناك توافقاً بين عدد البلاعم و التنشؤ الوعائي الجديد [7]. كما هو منشور في الأدب الطبي، تثبُط الخلايا الورمية خلايا لغيرهنز لتسمح بالنمو الأولي للورم، لكن كما هو مفترض في دراسات أخرى وفي نتائجنا تتجذب البلاعم إلى الآفة الخبيثة ويتم تسخيرها لتساعد في عملية التطور إلى ورم موضع خبيث ومن ثم آفة غازية [8]. تنتج الخلايا الثدنية (dysplastic cells) العنقية بعض الجواذب الكيماوية للبلاعم أو تشتق جواذب البلاعم الكيماوية من السدى المحيط، مثل (CSF-1) وهو العامل الحاث للمستعمرة البلعمية (M-CSF)، المركب الأخير مسؤول عن تحريض تميز وتكاثر الخلايا البلعمية وحيدة النوى، وهذه المركبات الكيماوية قد كشفت بتراكيز عالية في السائل الصفاقي وفي مصل المرضى بالسرطانة العنقية [19]، قد ترافق الإنتان بفيروس الحليموم الإنساني مع زيادة مستويات السيروم من العامل الحاث للمستعمرة البلعمية [16]. لقد بينت الدراسات في الزجاج تشارك الخلايا الظهارية العنقية و المهبلية الدائمة النمو في السبيل التناسلي السفلي في الوظيفة المناعية بإفراز العامل الحاث للمستعمرة البلعمية [18]، تفرز الخلايا العنقية الورمية طليعة السيتوكين المولد للأوعية الذي يعطي عامل النمو البطاني الوعائي و يعتبر جاذباً كيماوياً، ويشاهد بكثرة في السرطانة العنقية وفي طلائها [21,20,15,14]. يمكن للسيتوكينات التي تجذب البلاعم أن تغير من نمطها الظاهري لتصبح عامل ما قبل ورمي، من الأمثلة على هذه السيتوكينات (IL-4, IL-10, TGFβ-1, PGE-2) [7,6]. عندما تحرض الأورام البلاعم تفقد الأخيرة النمط الظاهري الطبيعي مؤدية إلى ضعف قدرتها على تعريف المستضدات وتنشيط تكاثر الخلايا وتحت أكثر على التنشؤ الوعائي وتزداد قدرتها على إعادة بناء الأنسجة، وبذلك تسهل عملية غزو خلايا الورم للتراكيب المجاورة وإعطاء النفاذ البعيدة [5]. قد انتزعت في إحدى التجارب البلاعم من الجسم المصاب بالسرطانة وتم تفعيلها في الزجاج ثم أعيدت إلى الجسم المصاب بالسرطانة كعلاج ذاتي للورم، فلم تكن فعالة كعلاج مضاد للورم الخبيث، أي إن الورم قد تثبُط البلاعم [7]. يمكن أن توجد البلاعم في مرحلة السرطانة الموضوعة قريباً من نقطة تمزق الغشاء القاعدي مفترضة أن بروتياز البلاعم هي ضرورية لتسهيل عملية غزو الخلايا الورمية [5]، تحرر البلاعم أيضاً عامل النمو البشري (EGF) وتؤثر مباشرة على الخلايا الورمية المحيطة، ويمكن للبلاعم أن تعزز عوامل توليد الأوعية مثل (VEGF, angiogenin) حيث يُنتج الورم مثل هذه الوسائط، ولهذا يتم تحريض التنشؤ الوعائي الجديد [43]. تتمكن البلاعم من إنتاج مزيد من الجواذب الكيماوية وبالتالي يستمر هجرة البلاعم إلى منطقة التغيرات المرضية.

بسبب وجود علاقة متينة بين البلاعم والأورام، يمكن محاولة استعمال البلاعم في علاج الأورام، وذلك عن طريق تغيير الجينات التي بواسطتها تؤثر البلاعم على الخلايا الظهارية أو تتأثر بالخلايا الورمية. تملك البلاعم

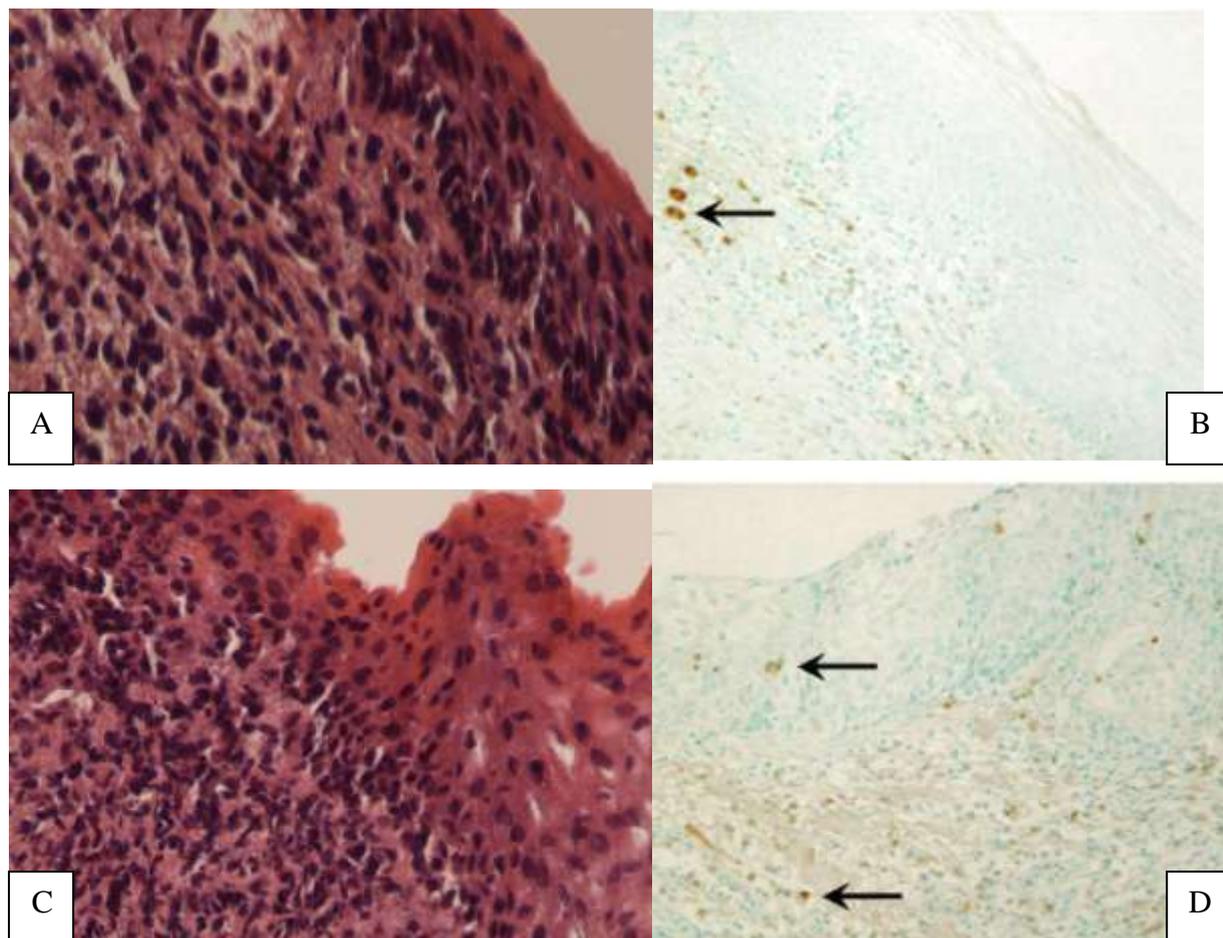
صبيغات ثابتة، ونادراً ما تتعرض للطفرات، لذلك يضعف احتمال تطور مقاومة على العلاج، ربما تتعزز السيطرة على نمو الأورام من خلال تثبيط بعض خطوات تفاعل البلاعم مع الأورام. إحداهن طفرة في المورثة المسؤولة عن إنتاج العامل الحاث للمستعمرة البلعمية في بلاعم الفأر المصاب بسرطان الثدي، يؤدي إلى نقص واضح في النمو الورمي والنقائل [44]. تم بالتجربة في الأحياء تغيير الجينات المسؤولة عن إنتاج العوامل المضادة للسرطان، ومن ثم تم إعادتها إلى الورم، لوحظ هجرة البلاعم إلى أماكن نقص الأكسجة داخل الكتل الورمية وتحريرها تحريراً فعالاً لمنتجات المورثة التي تم تغييرها، أي أنها لم تتصرف كخلية مضادة للورم [6].

الاستنتاجات والتوصيات:

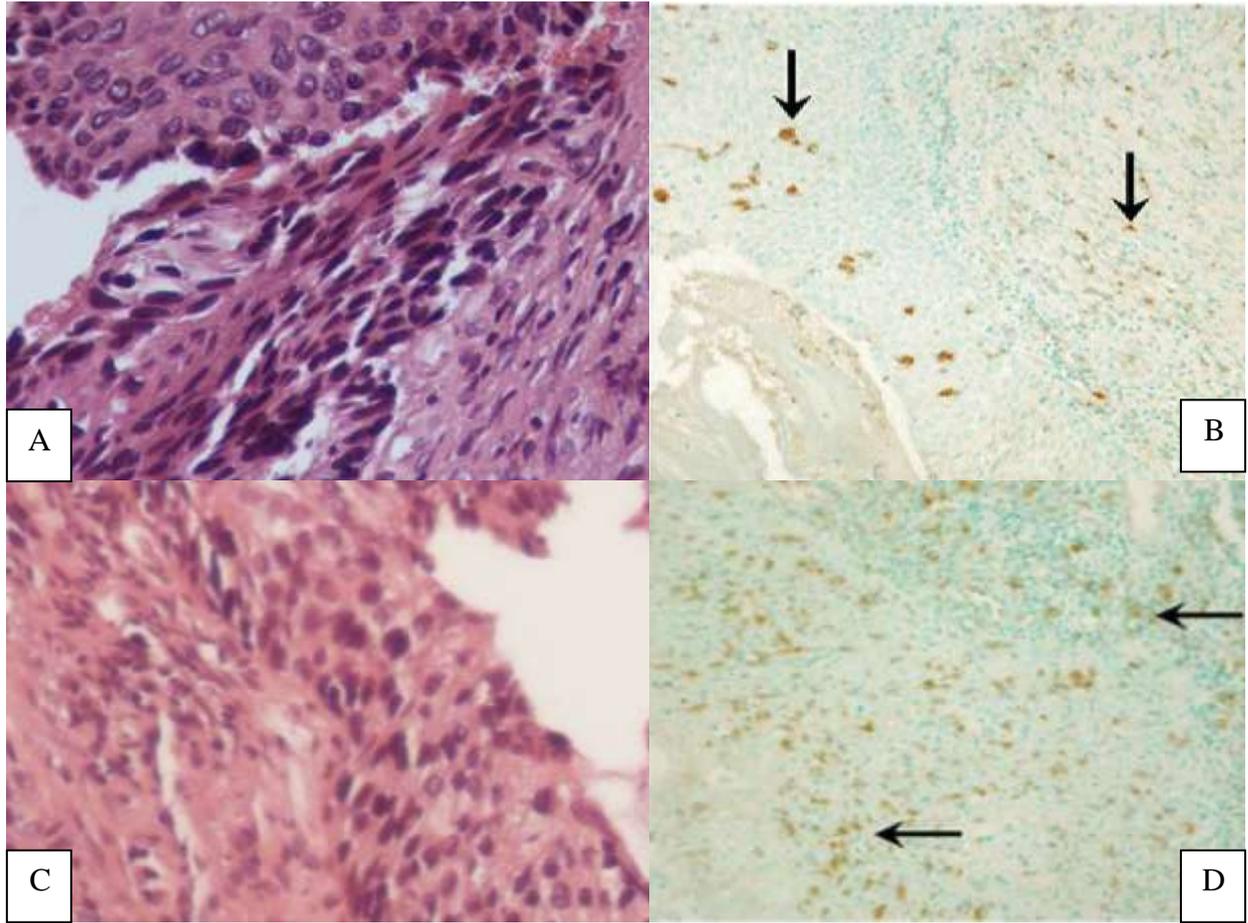
- 1- هناك ترافق بين البلاعم CD68+ مع التسرطن العنقي وآفات العنق التنشؤية الورمية داخل الظهارة.
- 2- يزداد عدد البلاعم CD68+ مع زيادة درجة الآفة التنشؤية الورمية داخل ظهارة العنق.
- 3- تهاجر خلايا البلاعم CD68+ من السدى إلى الظهارة وتمارس تأثيرها على الالتهاب وعلى الخلايا النديية.
- 4- تفترض الدراسة أن تشكل البلاعم CD68+ عامل خطر لتطور الآفات التنشؤية داخل الظهارة العنقية.
- 5- تفترض النتائج إمكانية استعمال البلاعم CD68+ في علاج سرطانة عنق الرحم.
- 6- يمكن استخدام البلاعم كواسم لتطور الآفة التنشؤية الورمية في سرطانة عنق الرحم.
- 7- لأن حجم العينة صغير فإنه من الضروري إجراء دراسات مستقيضة أكثر على عينات أكبر ليكون لها قيمة إحصائية، و من أجل إيضاح الأهمية الإنذارية للبلاعم CD68+ في الآفات التنشؤية الورمية داخل ظهارة عنق الرحم و في سرطانة العنق.



الشكل 5 بعض التغيرات المرضية المصادفة في خزغ عنق الرحم (H&E)
 A-حوؤل حرشفي الخلايا في باطن عنق الرحم B-خلايا مقعرة لا نمطية Koilocytes C- رشاحة التهابية مزمنة شديدة في عنق الرحم D- آفة حرشفية عالية الدرجة ضمن ظهارة عنق الرحم مع انقسام شاذ (السهم)



الشكل 6 - التهاب عنق رحم دون تغيرات (H&E)، نلاحظ رشاحة التهابية في السدى B- تظهر بلاعم CD68+ قليلة العدد في السدى (السهم) وشبه مفقودة في الظهارة. C- آفة حرشفية منخفضة الدرجة داخل ظهارة عنق الرحم، مع رشاحة التهابية مزمنة D- توجد أعداد من البلاعم CD68+ في السدى أكثر منه في الظهارة (الأسهم). (H&E).



الشكل 7 A -آفة حرشفية عالية الدرجة داخل ظهارة عنق الرحم (H&E). B- زيادة عدد البلاعم CD68+ داخل الظهارة والسدى (الأسهم). C-سرطانة موضعة ضمن الظهارة (H&E). C- أعداد كبيرة من البلاعم CD68+ سواء في السدى أو الظهارة.

المراجع:

- 1-ZUR HAUSEN, H. *Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application*. Nat. Rev. Cancer 2, 2002, 342–350.
- 2 –CURADO, M.P.; EDWARDS, B.; SHIN, H.R. *Cancer Incidence in Five Continents*. IARC Scientific Publications, Lyon., Vol. IX, №16, 2007, 23-24.
- 3-LONGATTO-FILHO, A.; PINHEIRO, C.; PEREIRA,S.M.M.; ETLINGER, D.; MOREIRA, M.A.R.; JUBÉ, L.F.; QUEIROZ, G.S.; BALTAZAR, F.; SCHMIT, F.C. *Lymphatic vessel density and epithelial D2-40 immunoreactivity in pre-invasive and invasive lesions of the uterine cervix*. Gynecologic Oncology 107, 2007, 45–51.
- 4-CONDEELIS, J.; POLLARD, J.W. Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis. Cell. Vol. 124, № 2, 2006, 263–266.
- 5-LEWIS, C.E.; POLLARD, J.W. *Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments*. Cancer Res. Vol. 66, № 2, 2006, 605–612.
- 6-MURDOCH, C.; LEWIS, C.E. *Macrophage migration and gene expression in response to tumor hypoxia*. Int J. Cancer. Vol.117, № 5, 2005, 701–708.
- 7-BINGLE, L.; BROWN, N.J.; LEWIS, C.E. *The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies*. J. Pathol. Vol.196, № 3, 2002, 254–265.
- 8-HAMMES,L.S.; TEKMAL,R.R.; NAUD,P.; EDELWEISS,M.I.; KERMA,N.;VALENTE,P.T.; SYRJANEN,K.J.; CANHA-FILHO,J.S. *Macrophages, inflammation and risk of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) progression-clinicopathological correlation*. Gynecologic Oncology, 105, 2007, 157-165.
- 9-ZHA, S.; YEGNASUBRAMANIAN, V.; NELSON, W.G.; ISAACS, W.B.; DE MARZO, A.M.; BLANKE, C. *Cyclooxygenases in cancer: progress and perspective—Role of COX-2 inhibitors in cancer therapy*. Cancer Lett. Vol.215, №1, 2004, 1–20.
- 10-GORDON, S.; TAYLOR, P.R. *Monocyte and macrophage heterogeneity*. Nat Rev. Immunol. Vol.5, №12, 2005, 953–964
- 11-RATZINGER, G.; BURGDORF, W.H.; METZE, D.; ZELGER, B.G.; ZELGER, B. *Indeterminate cell histiocytosis: fact or fiction?* J. Cutan. Pathol. Vol.32, № 8, 2005, 552–560.
- 12-Palucka, A.K.; Banchereau, J. *Langerhans cells: daughters of monocytes*. Nat. Immunol. Vol.7, № 3, 2006, 223–224.
- 13-RIETHDORF, L.; RIETHDORF, S.; GUTZLAFF, K.; PRALL, F.; LONING, T. *Differential expression of the monocyte chemoattractant protein-1 gene in human papillomavirus-16-infected squamous intraepithelial lesions and squamous cell carcinomas of the cervix uteri*. Am. J. Pathol. Vol.149, № 5, 1996, 1469–1476.
- 14-DAI, Y.; ZHANG, X.; PENG, Y.; WANG, Z. *The expression of cyclooxygenase-2, VEGF and PGs in CIN and cervical carcinoma*. Gynecol. Oncol. Vol.97, № 1, 2005, 96–103.
- 15-BRANCA, M.; GIORGI, C.; SANTINI, D.; DI BONITO, L.; CIOTTI, M.; BENEDETTO, A. *Aberrant expression of VEGF-C is related to grade of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and high risk HPV, but does not predict virus clearance after treatment of CIN or prognosis of cervical cancer*. J. Clin. Pathol. Vol.59, № 1, 2006, 40–47.

- 16-ADAM, R.A.; HOROWITZ, I.R.; TEKMAL, R.R. *Serum levels of macrophage colony-stimulating factor-1 in cervical human papillomavirus infection and intraepithelial neoplasia*. Am. J. Obstet. Gynecol. Vol.180, № 1, 1999, 28–32.
- 17-SUZUKI, M.; OHWADA, M.; SATO, I.; NAGATOMO, M. *Serum level of macrophage colony-stimulating factor as a marker for gynecologic malignancies*. Oncology Vol.52, № 2, 1995, 128–133.
- 18-FICHOVA, R.N.; ANDERSON, D.J. *Differential expression of immunobiological mediators by immortalized human cervical and vaginal epithelial cells*. Biol. Reprod. Vol.60, № 2, 1999, 508–514.
- 19-PUNNONEN, R.; TEISALA, K.; KUOPPALA, T.; BENNETT, B.; PUNNONEN, J. *Cytokine production profiles in the peritoneal fluids of patients with malignant or benign gynecologic tumors*. Cancer Vol.83, № 4, 1998, 788–796.
- 20-MITSUHASHI, A.; SUZUKA, K.; YAMAZAWA, K.; MATSUI, H.; SEKI, K.; SEKIYA, S. *Serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-C levels as tumor markers in patients with cervical carcinoma*. Cancer Vol.103, № 4, 2005, 724–730.
- 21-KODAMA, J.; SEKI, N.; TOKUMO, K.; HONGO, A.; MIYAGI, Y.; YOSHINOCHI, M. *Vascular endothelial growth factor is implicated in early invasion in cervical cancer*. Eur. J. Cancer Vol.35, № 3, 1999, 485–489.
- 22-DING, T.; WANG, X.; YE, F.; CHANG, X.; MA, D.; LU, W.; XIE, X. *Distribution of human papillomavirus 58 and 52 E6/E7 variant in cervical neoplasia in Chinese women*. China. Gynecologic Oncology China 119, 2010, 436–443.
- 23-YAMADA, T.; MANOS, M.M.; PETO, J.; GREER, C.E.; MUNOZ, N.; BOSCH, F.X.; *Human papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancers: a worldwide perspective*. J. Virol. 71, 1997, 2463–2472.
- 24-NINDL, I.; RINDFLEISCH, K.; LOTZ, B.; SCHNEIDER, A.; DURST, M. *Uniform distribution of HPV16E6 and E7 variants in patients with normal histology, cervical intra-epithelial neoplasia and cervical cancer*. Int. J. Cancer 82, 1999, 203–207.
- 25-GIANNI, A.; HERRINGTON, C.S. *Human papillomavirus variants and squamous neoplasia of the cervix*. J. Pathol. 193, 2001, 295–302.
- 26-TAY, S.K.; JENKINS, D.; MADDOX, P.; HOGG, N.; SINGER, A. *Tissue macrophage response in human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia*. Br. J. Obstet. Gynaecol. Vol.94, № 11, 1987, 1094–1097.
- 27-SCHOPPMANN, S.F.; BIRNER, P.; STOCKL, J.; KALT, R.; ULLRICH, R.; CAUCIG, C. *Tumor-associated macrophages express lymphatic endothelial growth factors and are related to peritumoral lymphangiogenesis*. Am. J. Pathol. Vol.161, № 3, 2002, 947–956.
- 28-FUJIMOTO, J.; SAKAGUCHI, H.; AOKI, I.; TAMAYA, T. *Clinical implications of expression of interleukin 8 related to angiogenesis in uterine cervical cancers*. Cancer Res. Vol.60, № 10, 2000, 2632–2635.
- 29-TAKEHARA, K. *Local immune responses in uterine cervical carcinogenesis*. N. S. F. G. Z. Vol.48, № 11, 1996, 1063–1070.
- 30-HACHISUGA, T.; FUKUDA, K.; HAYASHI, Y.; IWASAKA, T.; SUGIMORI, H. *Immuno-histochemical demonstration of histiocytes in normal ectocervical epithelium and epithelial lesions of the uterine cervix*. Gynecol. Oncol. Vol.33, № 3, 1989, 273–278.

- 31-AL-SALEH, W.; DELVENNE, P.; ARRESE, J.E.; NIKKELS, A.F.; PIERARD, G.E.; BONIVER, J. *Inverse modulation of intraepithelial Langerhans' cells and stromal macrophage/dendrocyte populations in human papillomavirus-associated squamous intraepithelial lesions of the cervix.* Virchows Arch. Vol.427, № 1, 1995, 41–48.
- 32-KLEINE-LOWINSKI, K.; GILLITZER, R.; KUHNE-HEID, R.; ROSL, F. *Monocyte-chemo-attractant-protein-1 (MCP-1)-gene expression in cervical intra-epithelial neoplasias and cervical carcinomas.* Int. J. Cancer Vol.82, № 1, 1999, 6–11.
- 33-KLEINE-LOWINSKI, K.; RHEINWALD, J.G.; FICHOROVA, R.N.; ANDERSON, D.J.; BASILE, J.; MUNGER, K.; *Selective suppression of monocyte chemoattractant protein-1 expression by human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins in human cervical epithelial and epidermal cells.* Int. J. Cancer Vol.107, № 3, 2003, 407–415.
- 34-HELLER, D.S.; HAMEED, M.; CRACCHIOLO, B.; WIEDERKEHR, M.; SCOTT, D.; SKURNICK, J. *Presence and quantification of macrophages in squamous cell carcinoma of the cervix.* Int. J. Gynecol. Cancer Vol.13, № 1, 2003, 67–70.
- 35-RIETHDORF, S.; RIETHDORF, L.; RICHTER, N.; LONING, T. *Expression of the MCP-1 gene and the HPV 16 E6/E7 oncogenes in squamous cell carcinomas of the cervix uteri and metastases.* Pathobiology Vol.66, № 6, 1998, 260–267.
- 36-DAVIDSON, B.; GOLDBERG, I.; KOPOLOVIC, J. *Inflammatory response in cervical intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma of the uterine cervix.* Pathol. Res. Pract. Vol.193, № 7, 1997, 491–495.
- 37-NAGY, T.; GLAVINAS, H.; SZINCSAK, N.; HUNYADI, J.; JANOSSY, T.; DUDA, E. *Tumor cells expressing membrane-bound tumor necrosis factor activate macrophages and have a compromised growth in immunosuppressed and immunodeficient mice.* Cancer Lett. Vol.196, № 1, 2003, 49–56.
- 38-DAVIDSON, B.; GOLDBERG, I.; GOTLIEB, W.H.; LERNER-GEVA, L.; BENBARUCH, G.; AGULANSKY, L. *Macrophage infiltration and angiogenesis in cervical squamous cell carcinoma—clinicopathologic correlation.* Acta. Obstet. Gynecol. Scand. Vol.78, № 3, 1999, 240–244.
- 39-CONNOR, J.P.; FERRER, K.; KANE, J.P.; GOLDBERG, J.M. *Evaluation of Langerhans' cells in the cervical epithelium of women with cervical intraepithelial neoplasia.* Gynecol. Oncol. Vol.75, № 1, 1999, 130–135
- 40-GIANNINI, S.L.; HUBERT, P.; DOYEN, J.; BONIVER, J.; DELVENNE, P. *Influence of the mucosal epithelium microenvironment on Langerhans cells: implications for the development of squamous intraepithelial lesions of the cervix.* Int. J. Cancer Vol.97, № 5, 2002, 654–659.
- 41-UCHIMURA, N.S.; RIBALTA, J.C.; FOCCHI, J.; SIMOES, M.J.; UCHIMURA, T.T.; SILVA, E.S. *Evaluation of Langerhans' cells in human papillomavirus-associated squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix.* Clin. Exp. Obstet. Gynecol. Vol.31, № 4, 2004, 260–262
- 42-ZIJLMANS, H.J.; FLEUREN, G.J.; BAELDE, H.J.; EILERS, P.H.; KENTER, G.G.; GORTER, A. *The absence of CCL2 expression in cervical carcinoma is associated with increased survival and loss of heterozygosity at 17q11.2.* J. Pathol. Vol.208, № 4, 2006, 507–517.
- 43-SICA, A.; SACCANI, A.; MANTOVANI, A. *Tumor-associated macrophages: a molecular perspective.* Int. Immunopharmacol. Vol.2, № 8, 2002, 1045–1054.
- 44-LIN, E.Y.; NGUYEN, A.V.; RUSSELL, R.G.; POLLARD, J.W. *Colony-stimulating factor 1 promotes progression of mammary tumors to malignancy.* J. Exp. Med. Vol.193, № 6, 2001, 727–740.