

УДК 616-003.725:576.8.097.1:618.146-006.6:616-007.17
Т.Е.Белокриницкая¹, Ю.Н.Пономарева¹,
Г.М.Ломнева², Е.В.Вологдин³, О.В.Вершинин³
**ЭКСПРЕССИЯ C-erb-B2 ПРИ ДИСПЛАЗИИ
И РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ**

¹Читинская государственная медицинская академия (ректор – заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор А.В.Говорин)

²Читинский областной диагностический центр (главный врач – Коржов Б.В.)

³Читинский областной онкологический диспансер, г. Чита (главный врач – Лесков С.В.)

Проведено иммуногистохимическое исследование экспрессии C-erb-B2 у 140 больных цервикальной дисплазией, 144 пациенток с опухолями шейки матки и 30 здоровых женщин. Для определения C-erb-B2 использовали поликлональные антитела к C-erb-B2 ("Dako", Дания). В нормальном эпителии, при слабой и умеренной дисплазии шейки матки экспрессии C-erb-B2 обнаружено не было. Определение C-erb-B2 при тяжелой цервикальной дисплазии было связано с высоким риском малигнизации. Инвазивные карциномы шейки матки отличались от тяжелого предрака и внутриэпителиального поражения более высоким уровнем экспрессии C-erb-B2, степень которого коррелировала с наиболее злокачественным мелкоклеточным раком и эндометриоидной аденокарциномой. Представленные нами данные позволяют считать, что иммуногистохимическое исследование C-erb-B2 может быть использовано для раннего выявления неопластических изменений, прогнозирования течения дисплазии и рака шейки матки.

Введение

В настоящее время не вызывает сомнений факт ассоциации вирусов папилломы человека с развитием цервикальной неоплазии, однако, большинство исследователей обращает внимание, что только одного инфицирования недостаточно для индукции опухолевого роста, и указывает на роль кофакторов в папилломавирус-зависимом канцерогенезе. Очевидно, что в процессы иммор- тализации и трансформации инфицированных клеток вовлечены факторы, участвующие в регуляции митотического цикла и клеточной дифференцировки [1, 2, 6]. Среди последних важное значение имеют факторы роста и их рецепторы, в частности, C-erb-B2, являющийся тирозин-киназным рецептором эпидермального фактора роста. Гиперэкспрессия C-erb-B2 связана с инициацией транскрипционных механизмов, ускоряющих процессы пролиферации и неограниченного роста клеток. Амплификация этого протоонкогена обнаружена в ряде опухолей (рак легкого, молочной железы, толстой кишки) и является неблагоприятным прогностическим фактором [3, 4]. Исследования, посвященные экспрессии C-erb-B2 в тканях шейки матки, крайне немногочисленны и в большинстве случаев посвящены исключительно цервикальным карциномам [7, 8].

Целью настоящего исследования явилось изучение экспрессии C-erb-B2 в тканях шейки матки при цервикальной дисплазии и раке.

Материалы и методы

Проведено ретроспективное иммуногистохимическое исследование экспрессии C-erb-B2 в биопсийном и операционном материале 140 пациенток с предраковым поражением шейки матки и 144 больных с цервикальными опухолями, которые находились на обследовании и лечении в областном онкологическом диспансере г. Читы в 1998-2004 гг.

Диагностика заболеваний шейки матки включала клинические, кольпоскопические, цитогистологические и иммуногистохимические методы исследования. Стадирование предраковых процессов шейки проводилось в соответствии с общепринятой Международной статистической классификацией болезней (1992), гистологической классификацией опухолей женского полового тракта ВОЗ (1995) и рака шейки матки в соответствии с классификацией по системе TNM и по системе FIGO (1997). В зависимости от тяжести заболевания пациентки распределились следующим образом. Слабая дисплазия шейки матки была диагностирована у 44 (31,4±13,1%) жен-

щин, умеренная - 49 (35,0±9,5%) и тяжелая - у 47 (33,6±11,5%) больных. Внутриэпителиальный рак был обнаружен у 44 (30,6±12,0%) пациенток, микроинвазивный - у 54 (37,5±10,2%) и инвазивный - у 46 (31,9±8,1%) женщин. В качестве контрольной группы использовали 30 образцов шейки матки здоровых женщин, не имеющих в настоящее время патологических изменений цервикального эпителия. Возраст обследованных варьировал в пределах от 19 до 52 лет, и составил в среднем 39,9±7,5 года.

Иммуногистохимическое исследование экспрессии C-erb-B2 проводили по стандартной методике в лаборатории патоморфологии Областного диагностического центра г. Читы. Для иммунного окрашивания применяли стрептавидин-биотин-пероксидазный метод с использованием кроличьих поликлональных антител к C-erb-B2 (рабочее разведение 1:200, "Dako", Дания) [5]. При оценке иммуногистохимической реакции принимали во внимание интенсивность и полноту окрашивания цитолеммы клеток. Яркая мембранная непрерывная по контуру клетки реакция соответствовала выраженной экспрессии белка (+++), при наличии умеренной окраски с прерывающимся контуром клеток реакцию расценивали как умеренную (++) и слабая реакция небольшого количества клеток соответствовала низкой экспрессии C-erb-B2 (+). Цитоплазматическое окрашивание исследуемого онкопротеина в расчет не принималось [4].

Данные представлены в виде $M \pm m$, где M - среднее арифметическое, m - ошибка среднего. Для оценки статистически значимых различий полученных данных использовали критерий Стьюдента, критический уровень значимости принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Результаты проведенного исследования представлены в таблице 1.

Мембранное окрашивание C-erb-B2-позитивных клеток было отмечено в 8 (5,8±2,1%) случаях дисплазии и в 43 (29,9±2,1%) образцах цервикального рака. Экспрессии C-erb-B2 в нормальном эпителии, при слабой и умеренной дисплазии шейки матки выявлено не было. В случаях тяжёлого предрака и внутриэпителиальной карциномы достоверных отличий в исследуемых группах обнаружено не было - превалировала низкая экспрессия C-erb-B2, в четверти наблюдений уровень исследуемого протоонкогена был умеренно выражен.

Количество случаев определения и степень

Таблица 1

Экспрессия C-erb-B2 в тканях шейки матки при цервикальной дисплазии и раке

Группы обследованных	n	Количество иммунопозитивных случаев и степень экспрессии C-erb-B2, абс./ %		
		+	++	+++
Здоровые	30	-	-	-
Цервикальная дисплазия				
слабая	44	-	-	-
умеренная	49	-	-	-
тяжелая	47	6/10,6±2,7 p=0,346	2/4,3±0,4 p=0,102	-
Рак шейки матки				
внутри-эпителиальный	44	5/11,4±5,6	2/4,6±1,9	-
микроинвазивный	54	9/16,7±5,5 p=0,000	4/7,4±1,5 p=0,000	5/9,3±2,0
инвазивный	46	4/8,7±3,1 p ₁ =0,000	3/6,5±2,1 p ₁ =0,027	11/23,9±9,1 p ₁ =0,000

p - достоверность различий по сравнению с внутриэпителиальным раком;

p₁ - достоверность различий по сравнению с микроинвазивным раком.

экспрессии C-erb-B2 возрастали при инвазивных опухолях шейки матки. Микроинвазивный рак характеризовался увеличением количества клеток, позитивных к C-erb-B2 - увеличилось количество случаев слабого и умеренного окрашивания клеток, а в 5 (9,3±3,0%) наблюдениях была выявлена выраженная экспрессия C-erb-B2, чего не было отмечено ни при внутриэпителиальном раке, ни при тяжелой дисплазии. При инвазивном раке преобладающей была выраженная экспрессия C-erb-B2 - в 11 (23,9±9,1%) случаях против 3 (6,5±2,1%) наблюдений умеренного и 4 (8,7±3,1%) - слабого окрашивания опухолевых клеток. В то же время общее количество иммунопозитивных клеток при микроинвазии и инвазивных карциномах достоверно не отличалось.

При изучении взаимосвязи определения C-erb-B2 и гистологических вариантов цервикальных карцином выраженная экспрессия исследуемого протоонкогена была ассоциирована преимущественно с прогностически неблагоприятными мелкоклеточными опухолями и эндометриоидными аденокарциномами - соответственно в 9 (56,3±16,2%) и 5 (31,5±11,0%) случаях.

При диспластических изменениях цервикального эпителия, ассоциированных с экспрессией C-erb-B2, в 5 (62,5±12,9%) наблюдениях было отмечено рецидивирование предрака и в 2 (4,3±1,4%) - развитие рака. Иммунопозитивные опухоли шейки матки с умеренной и выражен-

ной экспрессией C-erb-B2 в 14 (56,0±16,7%) случаях сочетались с поражением регионарных лимфатических узлов.

Таким образом, проведенное нами исследование C-erb-B2 в тканях шейки матки показало, что экспрессия C-erb-B2 при цервикальной дисплазии связана с высоким риском малигнизации, что может быть использовано в ранней диагностике неопластических изменений. Кроме того, инвазивные карциномы шейки матки отличались от тяжелого предрака и внутриэпителиального поражения более высоким уровнем экспрессии C-erb-B2, степень которого коррелировала с наиболее злокачественными опухолями. Представленные данные позволяют считать, что иммуногистохимическое исследование C-erb-B2 может быть использовано для раннего выявления неопластических изменений, прогнозирования течения дисплазии и рака шейки матки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Киселев В.И. Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки / В.И. Киселев, О.И. Киселев - СПб.: Роза мира, 2003. - 216 с.
2. Мазуренко Н.Н. Роль вирусов папиллом в канцерогенезе шейки матки / Н.Н. Мазуренко // Современная онкология. - 2003. - Т. 5. - №1. - С. 7-10.
3. Пожариский К.М. Значение иммуногистохимических методик для определения характера лечения и прогноза опухолевых заболеваний / К.М. Пожариский, Е.Е. Леенман // Архив патологии. - 2000. - Т. 62, № 5. - С. 3-11.
4. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / Под ред. С.В. Петрова, Н.Т. Райхлина. - Казань, 2004. - 456 с.
5. Хариет Э.Р. Иммуноцитохимия: электронная микроскопия / Э.Р. Хариет, К.С. Гаттер. // Молекулярная клиническая диагностика. Методы.: Пер. с англ.; Под ред. С Херрингтон, Дж. Макги - М.: Мир, 1999. - 558 с.
6. Biology of human papillomaviruses / H.R. McMurrey, D. Nguyen, T.F. Westbrook, D.J. McAnce // Int. J. Exp. Pathol. - 2001. - Vol. 82. - P. 15-33.
7. Costa M.J. Cervical carcinoma with glandular differentiation: histological evaluation predict disease recurrence in clinical stage I or II patients / M.J. Costa, K.R. McIlroy, J. Trelford // Human Pathol. - 1995. - Vol.26, № 6. - P. 829-836.
8. Oncogene expression in cervical intraepithelial neoplasia and invasive cancer of cervix / S.B. Pinion, J.H. Kennedy, R.W. Miller, A.B. McLean // Lancet. - 1991. - Apr. 6; 337(8745). - P. 819-820.