

ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭПИТЕЛИЯ ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ПОРАЖЕНИЯХ ШЕЙКИ МАТКИ

В качестве критерия предраковых изменений многослойного плоского эпителия шейки матки рассмотрена его пролиферативная активность, изученная с помощью моноклональных антител PC-10 к антигену ядер пролиферирующих клеток (PCNA). Результаты исследований показали, что для больных с низкой степенью плоскоклеточного интраэпителиального поражения характерна слабая пролиферативная активность, а для больных с высокой степенью поражения – умеренная и выраженная. Повышение пролиферативной активности является прогностическим фактором, определяющим длительную персистенцию и вероятную прогрессию поражения.

В течение последнего десятилетия, когда однозначно признана связь вируса папилломы человека (ВПЧ) с предшественниками цервикального рака, стало ясно, что основной принцип, лежащий в основе их классификации, некорректен. Патология эпителия, отнесенная к цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ЦИН), не имеет единой сущности и содержит поражения двух типов. Поражения, которые цитологически и гистологически относятся к высокой степени, имеют моноклональную пролиферацию плоскоэпителиальных клеток, которая обычно анеуплоидная и связана почти всегда с «канцер-ассоциированными» ВПЧ-типами, такими как 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51 и 58 [5, 14]. Проспективные исследования продемонстрировали, что плоскоклеточные интраэпителиальные поражения высокой степени (В-ПИП) являются истинной неоплазией и ведут к персистенции или прогрессии, если их не лечить [9, 11].

Гистологически и цитологически низкая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения (Н-ПИП) характеризуется значительным цитопатическим эффектом, проявляющимся в продуктивной ВПЧ-инфекции, и обычно содержит большое количество вирионов. В противоположность В-ПИП, Н-ПИП совершенно гетерогенны. Они могут быть как моноклональными, так и поликлональными, обычно они диплоидные или полиплоидные и могут быть связаны с любым из более чем 25 типов ВПЧ, которые инфицируют аногенитальный тракт. Н-ПИП имеют гетерогенное биологическое поведение: хотя более половины спонтанно регрессирует в отсутствие терапии, приблизительно 16% имеют вероятность прогрес-

сировать в В-ПИП или инвазивный рак, если остаются непролеченными [6, 11].

В то время как ВПЧ играет критическую роль в процессе цервикального канцерогенеза, взаимодействие с другими онкогенами может быть важным для финального превращения в рак. В настоящее время внимание исследователей привлечено к изучению цервикального канцерогенеза путем наблюдения за взаимосвязью различных биомаркеров с цервикальными поражениями во время их прогрессии в цервикальный рак. Изучаются количественные гистопатологические маркеры, пролиферативные, регуляторные маркеры, основные маркеры стабильности генома и др. Особое место принадлежит белку p53. Исследованию его структуры занимаются ведущие биологи мира, считая, что он является узловой точкой генома, изменения в которой запускают развитие опухоли [2, 4, 13, 15]. В 1990 г. были определены функции p53 в нормальных клетках как гена-супрессора опухолевого роста [1, 10], особенностью которого является одновременное функционирование обоих аллелей в нормальных клетках. Нарушение функции p53 может происходить в результате потери одного аллеля и/или мутации в другом. Итогом является повышенная сверхэкспрессия гена и, как следствие, появление в клетке мутантной формы белка p53, утрата его сдерживающего влияния на пролиферацию клеток, что может приводить к их неконтролируемому делению [1, 7, 8]. На тканевом уровне нарушения в геноме проявляются в неконтролируемой пролиферации опухолевых клеток.

Исследованию пролиферативной активности (ПА) как показателю биологической агрессии

опухоли в последнее десятилетие придается большое значение, чему особенно способствовало появление моноклональных антител к белкам пролиферации и внедрение в лабораторную практику проточных цитофотометров и анализаторов изображения, что позволило стандартизировать подходы к определению ПА [12].

Широкое распространение в настоящее время получили антитела PC-10, которые реагируют с формалин-резистентным эпителиальным ядром, где содержится антиген пролиферирующих клеток (PCNA), накапливающийся во время клеточного цикла. Использование моноклональных антител к PCNA дает возможность предположить, что PCNA является существенным компонентом при синтезе ДНК. Полупериод существования белка PCNA составляет около 20 часов и, таким образом, его можно обнаружить иммуногистохимически в клетках, которые завершили клеточный цикл.

Пролиферативная активность многослойного плоского эпителия (МПЭ) изучена нами с помощью моноклональных антител PC-10 к антигену ядер пролиферирующих клеток (PCNA) в биоптатах 144 пациенток с гистологически подтвержденным плоскоклеточным интраэпителиальным поражением (ПИП). Оценка интенсивности реакции проводилась полуколичественным методом путем подсчета количества окрашенных ядер в процентах по отношению к их общему числу. Использованы следующие критерии: количество окрашенных клеток; интенсивность окраски (изменение окраски ядер от светло-коричневой до темно-коричневой); распределение окрашенных клеток в ткани (в пласте многослойного плоского эпителия).

Поскольку у большей части больных (71%) атипичный эпителий находился в пределах зоны трансформации, в качестве контроля исследованы 3 биоптата оригинального МПЭ и 7 биоптатов, соответствующих морфологичес-

кому диагнозу эндоцервикоза. Установлено, что ни в одном случае контроля (как при нормальном МПЭ, так и эндоцервикозе) экспрессия PCNA иммуногистохимическим методом не выявляется.

Среди 144 биоптатов с наличием ПИП в 120 (84%) случаях была выявлена пролиферативная активность. Слабая реакция (+), когда было окрашено до 25% ядер, наблюдалась в 54 (38%) биоптатах, подавляющая часть которых (89%) приходилась на гистологическую группу с Н-ПИП. Иммуногистохимический анализ показал наличие окрашенных ядер только в базальном слое МПЭ. Специфическое окрашивание изменялось от светло-коричневого до коричневого цветов. При этом отмечено преобладание слабоокрашенных ядер и только отдельные клетки были окрашены умеренно. Число окрашенных ядер варьировало от 6,2% до 24,6%.

Умеренная экспрессия PCNA (++) была выявлена в 40 (28%) биоптатов, большей частью представленных В-ПИП (65%). Отмечалось сходство иммуногистохимических картин в препаратах, относящихся к различным гистологическим группам. В поверхностных слоях МПЭ ядер с продуктами реакции не выявлено. В основном пролиферирующие ядра располагались в базальном и парабазальном слоях эпителиального пласта ткани шейки матки. Количество клеток с меткой в ядрах при данном уровне ПА увеличилось по сравнению со слабым, окрашенные составили от 38,8% до 49,0% всех клеток МПЭ.

Высокий уровень экспрессии PCNA (+++) присутствовал в 26 (18%) биоптатах и также чаще встречался у больных с В-ПИП (62%). Окрашенные в темно-коричневый цвет ядра пролиферирующих клеток располагались по всему эпителиальному пласту, включая поверхностные слои. В некоторых случаях отмечалась зональность реакции, что проявлялось в наличии очагов клеток с окрашенными ядрами в пределах

покровного эпителия. Какой-либо закономерности расположения клеток не наблюдалось. Количество клеток с мечеными ядрами составило больше 50% от всех клеток МПЭ.

И наконец, в 24 (16%) случаях ПИП выявлена отрицательная иммуногистохимическая реакция, чаще наблюдаемая в группе Н-ПИП (63%).

Таким образом, результаты исследований показали, что 84% ПИП сопровождаются экспрессией PCNA. При этом 55% Н-ПИП характеризуются наличием слабой пролиферативной активности и только 11% – высокой. Для большинства же больных с В-ПИП (74%) характерна умеренная и выраженная ПА, являющаяся, по видимому, критерием предраковых изменений МПЭ.

Как известно, продукты вирусных онкогенов E6 и E7 инактивируют продукты генов опухолевой супрессии p53 и Rb. Белок p53 контролирует начальную фазу цикла клеточного деления. Продолжительная экспрессия онкогенов ВПЧ ведет к деградации p53, геномной нестабильности цервикальных клеток и их неконтролируемому делению [1, 7]. В то же время некоторые авторы [12] обнаружили наиболее высокую ПА в базальных слоях цервикальных кондилом, содержащих ДНК ВПЧ типов «низкого риска» (6/11). Возможно, этот факт свидетельствует о пролиферативной фазе развития поражения, подобно наличию таковой при остроконечных кондиломах [3], и плоские кондиломы, как и остроконечные, могут быть разделены на три группы: пролиферативные, с наличием вирусной репликации и регрессивные. Следовательно, повышение ПА является если и не критерием неопластического процесса, то, по крайней мере, фактором прогноза, определяющим длительную персистенцию и вероятную прогрессию ПИП, что чрезвычайно важно для определения лечебной тактики. Выжидательная тактика и надежда на самопроизвольную рег-

рессию оправданы только при поражениях низкой степени со слабой пролиферативной активностью. Все поражения высокой степени и Н-ПИП с умеренной и выраженной ПА должны подвергаться локальной деструкции.

Литература

1. Crook T., Wrede D., Tidy J.A. et al. Clonal p53 mutation in primary cervical cancer association with human papillomavirus negative tumours // *Lancet*. – 1992. No. 339. – P. 1070-1073.
2. Dellas A., Schultheiss E., Almendral A.C. et al. Altered expression of mdm-2 and its association with p53 protein status, tumor-cell-proliferation rate and prognosis in cervical neoplasia // *Int. J. Cancer*. – 1997. – Vol. 74. – No. 4. – P. 421-425.
3. Dias E.P., Gouvea A.L., Eyer C.C. Condyloma acuminatum: its histopathological pattern // *Rev. Paul. Med.* – 1997, Mar-Apr. – Vol. 115. – No.2. – P. 1383-1389.
4. Gu Z., Pim D., Labrecque S. et al. DNA damage induced p53 mediated transcription is inhibited by human papillomavirus type 18 E6 // *Oncogene*. – 1994. – Vol.9. – P. 629-633.
5. Haba T., Enomoto T., Fujita M. et al. Clonal analysis of cervical intraepithelial neoplasia // *Abstract Proc. Annu Meet. Am. Assoc. Cancer Res.* – 1997. – P. 38 (A 717).
6. Ho G.Y., Burk R.D., Klein S. Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia // *J. Natl. Cancer Inst.* – 1995. – Vol. 87. – P. 1365-1371.
7. Lane S., Wells M. Human papillomaviruses, p53 and cervical neoplasia // *J. Pathol.* – 1994. – Vol. 172. – P. 299-300.
8. Lassus J., Ranki A. Simultaneously detected aberrant p53 tumor suppressor protein and HPV-DNA localize mostly in separate keratinocytes in anogenital and common warts // *Experiment. Dermatol.* – 1996. – Vol. 5. – No. 2. – P. 72-78.
9. Lungu O., Sun X.W., Felix J. et al. Relationship of human papillomavirus type to grade of cervical intraepithelial neoplasia // *JAMA*. – 1992. – Vol. 267. – P. 2493-2496.
10. Midgeley C.A., Fisher C.J., Bartek J. et al. Analysis of p53 expression in human tumours: An antibody raised against human p53 expressed in *Escherichia coli* // *J. Cell. Sci.* – 1992. – No. 101. – P. 183-189.
11. Mitchell M.F., Schottenfeld D. The natural history of CIN and management of the abnormal Papanicolaou smear // Rubin S.C, Hoskins W.J. (eds). *Cervical cancer and preinvasive neoplasia*. – New York: Lippincott-Raven., 1996. – P. 103-113.
12. Mittal K., Demopoulos R.I., Tata M. A comparison of proliferative activity and atypical mitosis in cervical condylomas with various HPV types // *Int. J. Gynaecol. Pathol.* – 1998, Jan. – Vol. 17. – No. 1. – P. 24-28.
13. Park D.G., Wilczynski S.P., Paquette R.L. et al. P53 mutations in HPV-negative cervical carcinoma // *Oncogene*. – 1994. – Vol.9 – P. 205-210.
14. Rihet S., Lorenzato M., Clavel C. Oncogenic human papillomaviruses and ploidy in cervical lesions // *J. Clin. Pathol.* – 1996. – Vol. 49. – No. 11. – P. 892-896.
15. Woodworth C.D., Wang H., Simpson S. et al. Overexpression of wild-type p53 alters growth and differentiation of normal human keratinocytes but no human papillomavirus-expressing cell lines // *Cell. Growth. Differ.* – 1993. – Vol.4. – P. 367-376.