

Т.Е. Белокриницкая¹, Ю.Н. Пономарева¹, Г.М. Ломнева², Е.П. Маккавеев³**ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ**¹Читинская государственная медицинская академия (Чита)²Читинский областной диагностический центр (Чита)³Читинское областное патологоанатомическое бюро (Чита)

Цель: изучение прогностической значимости пролиферативной активности клеток в опухолях шейки матки.

Материалы и методы: ретроспективное иммуногистохимическое исследование антигена интенсивности клеточного роста в 256 образцах опухолей шейки матки ядер пролиферирующих клеток (PCNA), по степени экспрессии которого судили об увеличении размеров первичного поражения шейки матки, распространенности злокачественного поражения и снижения дифференцировки клеток ассоциированно с высоким уровнем экспрессии PCNA.

Результаты: установлена прямая зависимость между клинической стадией заболевания и индексом PCNA. Гиперэкспрессия PCNA коррелирует с уменьшением показателей общей пятилетней выживаемости.

Заключение: представленные данные демонстрируют прогностическую целесообразность исследования пролиферативной активности опухолевых клеток при цервикальном раке.

Ключевые слова: пролиферативная активность, рак шейки матки

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF PROLIFERATIVE ACTIVITY IN TUMOUR CELLS AT CERVICAL CANCERТ.Е. Belokrinitskaya¹, Y.N. Ponomaryova¹, G.M. Lomneva², Y.P. Makkaveyev³¹Chita State Medical Academy, Chita²Chita Regional Diagnostic Centre, Chita³Chita Regional Department of Pathomorphology, Chita

Aim: Study of proliferative activity of tumour cells as a factor of prognosis in cervical cancer.

Materials and methods: There was a retrospective immunohistochemical study of Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA), which determined the level of proliferation in 256 patterns of cervical cancer.

Results: Sire increase of the primary tumour size, extension of the tumour and decrease of cell differentiation were associated with the high level of PCNA expression. There was a direct dependence between the clinical disease stage and PCNA index. Hyperexpression of PCNA correlates with diminished indices 5 year-period of general survival.

Conclusions: Presented data show the prognostic necessity of investigation of proliferative activity of tumour cells under cervical cancer.

Key words: proliferative activity, cervical cancer

Пролиферативная активность является одним из ключевых механизмов, определяющих как злокачественную трансформацию клеток, так и биологическое поведение уже возникших опухолей [3]. Использование современных иммунологических методов, в частности применение антител к нормальным ядерным белкам-регуляторам жизненного цикла клетки, позволяет определять интенсивность темпов клеточного роста для оценки течения и прогноза заболевания. Среди маркеров пролиферации перспективным является исследование антигена ядер пролиферирующих клеток (Proliferating Cell Nuclear Antigen) — PCNA, экспрессирующийся практически во всех фазах митотического цикла и соответственно отражающий величину пролиферативного пула [3, 4]. Индекс мечения PCNA используется для прогнозирования ответа на проводимую терапию, лучший прогноз отмечен у больных с высокими значениями пролиферативной активности в раковых опухолях шейки матки [7]. В ряде исследований отмечена корреляция между количеством клеток, ок-

рашенных PCNA, и прогрессированием неопластического процесса цервикального эпителия [6, 8], в работах других авторов подобная закономерность не обнаружена [8].

Целью настоящего исследования явилось изучение прогностической значимости пролиферативной активности клеток в опухолях шейки матки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для ретроспективного исследования служили 256 образцов тканей шейки матки, полученных при биопсии и хирургическом лечении больных раком шейки матки, находившихся на обследовании и лечении в Читинском областном онкологическом диспансере в период с 1998 — 2004 гг.

Возраст пациенток варьировал от 19 до 52 лет и составил в среднем $41,9 \pm 6,9$ года. По стадиям заболевания больные распределялись следующим образом: внутриэпителиальный рак — 71 ($27,7 \pm 14,0$ %) больная, I стадия — 65 ($25,4 \pm 12,5$ %), II стадия — 64 ($25,0 \pm 16,1$ %) и III стадия — 56 ($21,9 \pm 9,5$ %) паци-

енток. Диагностика заболеваний шейки матки включала клинические, кольпоскопические, цитогистологические и иммуногистохимические методы исследования. Стадирование рака шейки матки проводилось в соответствии с гистологической классификацией опухолей женского полового тракта ВОЗ (1995), классификацией по системе TNM и по системе FIGO (1997). В качестве контрольной группы использовали 50 образцов здоровых тканей шейки матки.

Определение пролиферативной активности проводили в лаборатории патоморфологии областного диагностического центра г. Читы. Для оценки интенсивности пролиферативных процессов использовали иммуногистохимическое определение индекса PCNA. Исследование проводили на серийных парафиновых срезах толщиной 5 мкм. Срезы инкубировали с антителами к PCNA («Дако», Дания, клон PC-10, предварительное разведение). Сроки инкубации составили 18 ч при температуре 4 °С. Для иммунного окрашивания использовали стрептавидин-биотин-пероксидазный метод («Дако», Дания), во всех случаях проводили докрасивание ядер гематоксилином. Подсчет проводили в 20 произвольно выбранных полях зрения при увеличении $\times 200$. Индексы мечения PCNA рассчитывали как отношение числа позитивно окрашенных ядер к общему числу ядер [3, 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 (t), критический уровень значимости принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенного исследования установлена прямая зависимость между размерами первичного поражения шейки матки и индексом PCNA (рис. 1). Так, при внутриэпителиальном раке средний уровень PCNA составил $46,7 \pm 9,2\%$, при микроинвазивном – $51,4 \pm 16,8\%$ и при инвазивном раке – $61,5 \pm 19,5\%$ (соответственно $p = 0,043$ при

равнении показателей преинвазивного и микроинвазивного рака и $p = 0,000$ при сравнении параметров микроинвазивных и инвазивных карцином). Таким образом, уровень пролиферативной активности опухолевых клеток был достоверно выше в случаях инвазивного роста по сравнению с микроинвазией и внутриэпителиальным поражением цервикального эпителия. Следует отметить, что позитивное окрашивание PCNA в здоровых тканях шейки матки не превышало $10,5 \pm 3,9\%$.

Значение регионарных метастазов в клиническом течении рака шейки матки является одним из важных прогностических факторов, что связано с увеличением вероятности перехода от местно-регионарного распространения опухоли к отдаленному метастазированию [1]. Метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов сочеталось с наиболее высокими значениями индекса PCNA в первичных опухолях – $66,2 \pm 10,2\%$ против $50,3 \pm 8,9\%$ – в карциномах без поражения регионарных лимфатических узлов ($p = 0,000$) (рис. 2).

При оценке пролиферативной активности в зависимости от гистологического варианта и степени дифференцировки рака шейки матки выявлено, что в высоко- и умереннодифференцированных плоскоклеточных карциномах экспрессия PCNA составила $57,3 \pm 12,1\%$, а в низкодифференцированных опухолях – $64,7 \pm 20,0\%$ ($p = 0,003$). Среди аденокарцином цервикального эпителия высокие значения индекса PCNA $63,3 \pm 19,6\%$ и $62,2 \pm 12,4\%$ были отмечены соответственно в эндометриоидных опухолях и железисто-плоскоклеточном раке. Уровень экспрессии PCNA в мезонефроидных карциномах составил $56,0 \pm 9,1\%$. Взаимосвязи индекса PCNA и степени дифференцировки железистого рака нами не было обнаружено.

Полученные нами результаты наглядно демонстрируют, что увеличение размеров первичного поражения шейки матки, снижение дифференцировки клеток и распространенности злокачественного поражения ассоциировано с высокими темпами клеточного роста. Прогрессия неопластического процесса

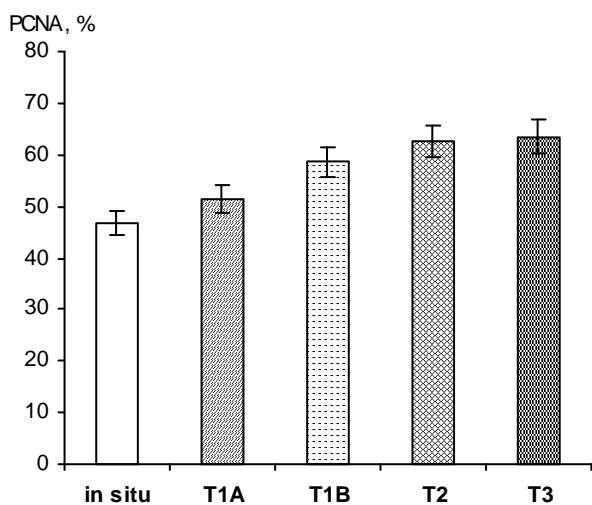


Рис. 1. Экспрессия PCNA в опухолях шейки матки в зависимости от размеров первичной опухоли.

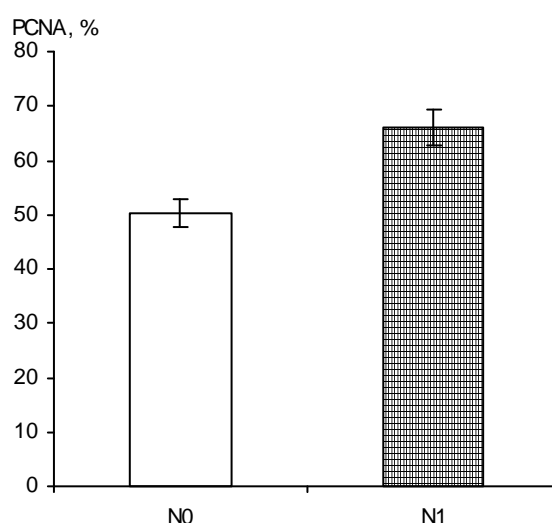


Рис. 2. Метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов в зависимости от экспрессии PCNA.

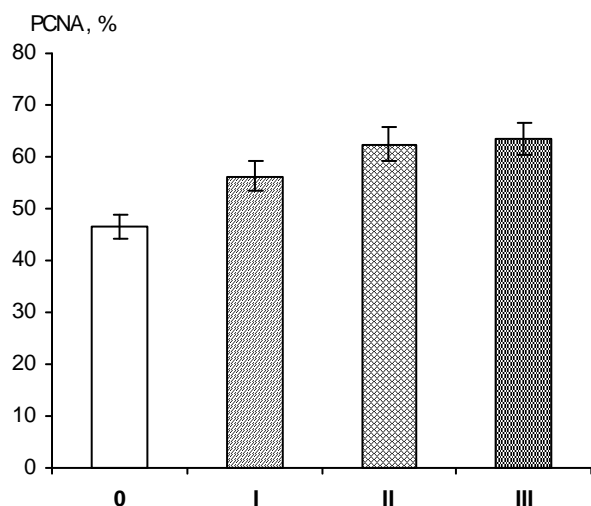


Рис. 3. Взаимосвязь между экспрессией PCNA и стадией заболевания (FIGO).

от внутриэпителиального до инвазивного рака шейки матки сопровождается последовательным увеличением индекса PCNA (рис. 3). При внутриэпителиальных опухолях средние значения индекса PCNA составили $46,7 \pm 9,1$ %, при I клинической стадии рака — $56,3 \pm 16,8$ %, при II — $62,5 \pm 12,7$ % и при III стадии заболевания — $63,5 \pm 17,7$ % ($p = 0,000$ при сравнении показателей внутриэпителиального поражения и I стадии карциномы, $p = 0,020$ при сравнении I и II стадии и $p = 0,720$ при сравнении II и III стадии).

Важнейшим фактором прогноза заболевания являются показатели выживаемости [1, 2]. У больных с медленно пролиферирующими карциномами с индексом PCNA до 50 % нами обнаружено статистически достоверное увеличение показателя общей пятилетней выживаемости по сравнению с пациентами, опухоли которых характеризовались интенсивным клеточным ростом с индексом PCNA более 50 % — $66,9 \pm 26,0$ % против $59,4 \pm 19,5$ % ($p = 0,010$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенного нами исследования, можно заключить, что определение пролиферативной активности опухолевых клеток позволяет охарактеризовать важные особенности биологических

свойств опухоли, определяющих в конечном итоге течение и прогноз заболевания. Гиперэкспрессия PCNA при раке шейки матки ассоциирована с низкой дифференцировкой опухоли, большей ее инвазивностью и поражением регионарных лимфатических узлов, а также свидетельствует о неблагоприятном прогнозе клинического течения заболевания. Представленные данные, на наш взгляд, убедительно демонстрируют прогностическую целесообразность исследования пролиферативной активности опухолевых клеток при цервикальном раке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бохман Я.В. Руководство по онкогинекологии / Я.В. Бохман. — Л.: Медицина, 1989. — 464 с.
2. Пожарисский К.М. Значение иммуногистохимических методик для определения характера лечения и прогноза опухолевых заболеваний / К.М. Пожарисский, Е.Е. Леенман // Архив патологии. — 2000. — Т. 62, № 5. — С. 3—11.
3. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / Под ред. С.В. Петрова, Н.Т. Райхлина. — Казань, 2004. — 456 с.
4. 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.
5. Pillai M.R. Tumour-proliferative fraction and growth factor expression as markers of tumour response to radiotherapy in cancer of the uterine cervix / M.R. Pillai, P.G. Jayaprakash, M.K. Nair // J. Cancer Res. Clin. Oncol. — 1998. — Vol. 124(8). — P. 456—461.
6. Proliferative activity in cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma / Y. Xue, Y. Feng, G. Zhu et al. // Chin. Med. Jour. (Engl). — 1999. — Apr; 112(4). — P. 373—375.
7. Shoji Y. Correlation of apoptosis with tumour cell differentiation, progression, and HPV infection in cervical carcinoma / Y. Shoji, M. Saegusa, Y. Takano // J. Clin. Pathol. — 1996. — 49:2. — P. 134—138.
8. Telomerase activity, MIB-1, PCNA, HPV 16 and p53 as diagnostic markers for cervical intraepithelial neoplasia / M. Herbsleb, U.B. Knudsen, T.F. Orntoft et al. // Gynecol. Oncol. — 2001. — Nov; 83(2). — P. 216—220.