

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 618.146-018.7-076.5

Т. А. Кармакова, Р. И. Якубовская, О. И. Трушина, Е. Г. Новикова, Н. Н. Волченко, В. Ю. Мельникова, М. С. Воронцова, О. С. Балахонцева

ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МУЦИНА MUC1 В ЦЕРВИКАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ

ФГБУ Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П. А. Герцена (дир. — акад. РАМН В. И. Чиссов) Минздравсоцразвития России

Проведен анализ иммуноцитохимического (ИЦХ) исследования с использованием моноклональных антител ИКО25 продукции муцина MUC1 в клетках цервикального эпителия у здоровых женщин (n = 34), больных с неопухолевыми заболеваниями шейки матки (n = 22), при выраженной цервикальной интраэпителиальной неоплазии (умеренная, тяжелая дисплазия и преинвазивный рак, ЦИН2-3, n = 32), у больных начальным плоскоклеточным раком шейки матки (РШМ, n = 12), а также у пациенток после органосохраняющего лечения (n = 66). Показано, что при ЦИН2-3 и начальном РШМ атипичные клетки плоского эпителия в цервикальных мазках в подавляющем числе (95%) случаев могут быть детектированы ИЦХ-исследованием с ИКО25. Исключение составили 2 случая, в которых были обнаружены голые атипичные ядра клеток. Отмечена гетерогенность продукции MUC1 в клетках инвазивного рака. ИЦХ-исследование позволяет эффективно визуализировать MUC1-позитивные дискариотические клетки в мазках с выраженным воспалительным фоном и большим количеством клеток крови. Выявлена корреляция между обнаружением клеток базального и парабазального типа, имеющих высокое содержание MUC1 на поверхностной мембране, и наличием у пациенток вируса папилломы человека высокого канцерогенного риска. Применение ИЦХ-исследования с ИКО25 может быть перспективно для повышения чувствительности цитологической диагностики цервикальных неоплазий, а также для оценки риска развития и прогрессии патологических изменений в эпителии шейки матки.

Ключевые слова: муцин MUC1, цервикальная неоплазия, иммуноцитохимическое исследование

IMMUNOCYTOCHEMICAL STUDY OF MUC1 MUCIN IN THE CERVICAL EPITHELIUM

T. A. Karmakova, R. I. Yakubovskaya, O. I. Trushina, E. G. Novikova, N. N. Volchenko, V. Yu. Melnikova, M. S. Vorontsova, O. S. Balakhontseva

P. A. Herzen Moscow Oncology Research Institute, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow

Immunocytochemical (ICC) staining using the monoclonal antibody ICO25 was performed to examine MUC1 mucin expression in the cervical smears obtained from healthy women (34), patients having benign cervical disease (n = 22), low-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN1, n = 3), high-grade CIN (CIN2-3, n = 32), early squamous cervical cancer (SCC, n = 12), and from those after organ-saving treatment (n = 66). In CIN2-3 and SCC, atypical squamous epithelial cells were shown to be detectable by ICO24 ICC staining in the vast majority (95%) of cases. Negative staining of dyskaryotic naked nuclei was observed in 2 cases. Staining heterogeneity was noted in SCC. ICC staining allowed efficient detection of MUC1-positive dyskaryotic cells in the smears with a pronounced inflammatory background and a high blood cell count. There was a correlation between the detection of basal and parabasal cells having a depolarized MUC1 expression pattern onto the surface membrane and the presence of high-risk human papillomavirus. ICO25 staining can be a promising way to enhance the sensitivity of cytological diagnosis of cervical neoplasias and to assess the risk and progression of pathological cervical epithelial changes.

Key words: MUC1 mucin, cervical neoplasias, immunocytochemical assay

Рак шейки матки (РШМ) в мире занимает одно из ведущих мест в структуре онкологических заболеваний у женщин. Диагностика РШМ на ранних стадиях позволяет провести более эффективное, безопасное органосохраняющее лечение. Своевременное выявление и лечение предопухолевых нарушений в слизистой шейки матки способно предупредить возникновение злокачественного новообразования.

Основным методом первичной диагностики заболеваний шейки матки является цитологическое исследование. Цитологическая диагностика неоплазии основывается на характеристике состояния ядра и оценке степени зрелости клеток. Чувствительность данного метода в отношении выявления выраженных интра-

эпителиальных изменений (умеренная и тяжелая дисплазия, внутриэпителиальный рак) варьирует от 60 до 84% [1, 2, 12]. Эффективность метода ограничивают качество забора и приготовления мазков, малая информативность материала при небольших размерах патологических очагов, слабо выраженные признаки клеточной атипии в ряде случаев, а также субъективность интерпретации цитологической картины. Поиск дополнительных методов, которые позволили бы повысить эффективность цитологической диагностики предопухолевых изменений в цервикальном эпителии, остается актуальным.

В настоящее время для уточняющей диагностики изменений в цервикальном эпителии в качестве дополнительных методов предлагают иммуноцитохимические (ИЦХ) тесты, основанные на выявлении аномальной продукции белков, регулирующих клеточный цикл и репликацию ДНК [10, 20].

Целью данной работы явилось определение возможности применения для ранней и уточняющей диагности-

Для корреспонденции: Кармакова Татьяна Анатольевна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отд-ния модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии; 125284, Москва, 2-й Боткинский пр., д. 3

ки неопластических изменений в эпителии шейки матки ИЦХ-детекции муцина MUC1.

Муцин MUC1 — высокомолекулярный трансмембранный гликопротеид, преимущественно продуцируется эпителиальными клетками и относится к группе опухоляссоциированных антигенов. В норме MUC1 локализуется в апикальной мембране дифференцированных клеток цилиндрического эпителия, участвуя в защите поверхности клеток от внешних повреждающих воздействий. Исследования последних лет показывают, что MUC1 выполняет ключевую роль в поддержании целостности эпителия при инфекционном воспалении [15, 16]. Считается, что увеличение продукции MUC1 и его аномальное внутриклеточное распределение могут опосредовать формирование агрессивных биологических свойств опухолевых клеток [9, 11, 20].

Увеличение содержания MUC1 в эпителии обнаруживают и при предопухолевых заболеваниях ряда органов [8, 13, 14, 23]. Появление его аномальной продукции может иметь прогностическое значение в отношении рецидива злокачественного заболевания [4]. Эти наблюдения свидетельствуют о том, что изменение продукции MUC1 в эпителии может происходить на ранних этапах развития неоплазии, и позволяют предположить, что MUC1 может служить маркером предопухолевых патологических нарушений.

В ходе настоящего исследования проведен сравнительный анализ характера распределения MUC1 в клетках цервикального эпителия при отсутствии клинических и цитологических признаков заболевания, при дисплазии и начальном раке шейки матки.

Исследован цитологический материал, полученный у 169 женщин:

- 56 женщин без неоплазии (40 женщин в репродуктивном возрасте от 19 до 48 лет (медиана 33 года), 16 женщин в постменопаузе в возрасте от 56 до 75 лет (медиана 62 года). При клиническом и цитологическом исследовании у 34 женщин не выявлено патологических изменений слизистой шейки матки, у 4 диагностирован дискератоз шейки матки, у 9 — эндоцервикоз, у 9 — цервицит.
- 47 пациенток с дисплазией или начальным раком шейки матки (возраст от 22 до 48 лет, медиана 32 года). На основании данных гистологического исследования тканей, полученных при диагностическом выскабливании цервикального канала и биопсии слизистой шейки матки, у 12 больных диагностирован микроинвазивный плоскоклеточный рак (стадия T1a, N0M0 или T1a, N0M0), у 6 — внутриэпителиальный рак (*cr in situ*, CIS), у 17 — тяжелая дисплазия, у 9 — умеренная дисплазия, у 3 — слабая дисплазия.
- 66 пациенток с цервикальной дисплазией или CIS после минимального органосохраняющего лечения (фотодинамическая терапия). Возраст пациенток составлял от 25 до 74 лет (медиана 33 года). Пациентки обследованы в сроки от 4 до 72 мес после лечения, 12 из них неоднократно за время наблюдения (всего 95 наблюдений). Положительный эффект лечения у пациенток, наблюдавших более 12 мес после лечения (40 больных), подтвержден данными гистологического исследования.

Всем пациенткам с заболеванием шейки матки до начала лечения, а также после органосохраняющего лечения проводили вирусологическое исследование на наличие вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВКР) типов 16, 18, 31, 33, 35, 45, 55, 56, 58, 63, 78, 83. ДНК ВПЧ определяли мето-

дом полимеразной цепной реакции (лаборатория Молекулярно-диагностического центра Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии, Москва).

ИЦХ исследование. Материалом для исследования служили мазки со слизистой влажной порции шейки матки (эктоцервикса) и цервикального канала (эндоцервикса). Мазки фиксировали 95% этанолом в течение 10 мин, высушивали и хранили при 4°C в плотно закрытой упаковке. В каждом случае с одним из парных мазков проводили ИЦХ-исследование с антителами для определения MUC1, другой мазок окрашивали по Папаниколау для цитологического контроля. Оценку цитограммы проводили в соответствии с описательной системой ВОЗ [5].

Для детекции MUC1 использовали мышиные моноклональные антитела ИКО25 к высокоочищенному антигену мембран жировых глобул женского молока [6], взаимодействующие с комплексной углеводно-пептидной детерминантой MUC1. Антиген выявляли методом непрямого иммунофлюоресцентного окрашивания. После завершения иммунохимической реакции мазки отмывали в буферном растворе, докрашивали гематоксилином Майера и заключали в смесь глицерин:буферный раствор (1:1). Флюоресценцию анализировали на люминесцентном микроскопе Axioplan ("Opton", Германия).

Исследование начинали с микроскопии в проходящем свете при 100-кратном увеличении для выявления эпителиальных клеточных элементов. Люминесцентную микроскопию проводили при 200-кратном увеличении, регистрировали окрашенные клетки, полноту и интенсивность окрашивания и характер распределения антигена. По разнице окрашивания границы и внутренней части клетки, а также доступности ядра для визуализации при люминесцентном исследовании дифференцировали мембранную и цитоплазматическую локализацию антигена. Окрашивание четко ограниченного участка поверхности считали соответствующим окрашиванию апикальной части клетки. Апикальное окрашивание, а также преимущественное окрашивание ограниченной части цитоплазмы или мембраны расценивали как полярное. Окрашивание всей поверхностной мембраны или окрашивание всей цитоплазмы — как деполаризованное.

Чередую люминесцентное освещение и освещение проходящим светом, при 400-кратном увеличении анализировали морфологию окрашенных и неокрашенных клеточных элементов и оценивали наличие атипии.

После анализа флюоресценции мазки освобождали от покровного стекла, отмывали от глицерина и докрашивали гематоксилином и эозином для цитологического контроля.

Характер распределения MUC1 в цервикальном эпителии в отсутствие неоплазии был определен по результатам анализа иммуноцитохимически окрашенных мазков у женщин с неизменной шейкой матки и с неопухолевыми заболеваниями шейки матки.

В мазках, полученных с неизменной слизистой шейки матки у женщин репродуктивного возраста, клетки многослойного плоского эпителия в большинстве своем не продуцировали MUC1. В отдельных разрозненных клетках поверхностного и промежуточного типа наблюдали варибельное по интенсивности окрашивание с ИКО25, при этом окрашивание в клетках равномерно распределялось по поверхностной мембране (рис. 1, а). В незрелых клетках метаплазированного плоского эпителия поверхностная мембрана окрашивалась более интенсивно по сравнению с более зрелыми клеточными элементами (см. рис. 1, б). В пластах клеток незрелой плоскоклеточной метаплазии отчетливо прослеживался

поляризованный характер распределения антигена на поверхностной мембране, что придавало комплексам в целом вид “чешуи” (см. рис. 1, в).

У женщин в постменопаузе в большинстве исследованных случаев в мазках присутствовали клетки плоского эпителия парабазального типа, располагающиеся рыхлыми группами и/или разрозненно. В части случаев окрашивание с ИКО25 имело крайне гетерогенный характер: наблюдались как интенсивно окрашенные, так и негативные клетки одинаковой морфологии. MUC1-позитивные (MUC1+) клеточные элементы отличало интенсивное диффузное или мелкодисперсное окрашивание цитоплазмы, имеющее поляризованный характер распределения в клетке.

В клетках реснитчатого и железистого эпителия независимо от репродуктивного статуса женщин имело место поляризованное апикальное окрашивание различной интенсивности (см. рис. 1, з), в слизеобразующих клетках — слабое неорганизованное окрашивание содержимого цитоплазмы, иногда с апикальным компонентом.

В мазках, полученных в зоне эктопии, встречались группы MUC1+ пролиферирующих резервных клеток с мелкодисперсным окрашиванием цитоплазмы. Фрагменты эпителия, образованные пролиферирующими клетками цилиндрического эпителия, были негативны и визуализировались только при анализе в проходящем свете. Окрашивание апикальной части клеток наблюдалось только в клетках, формирующих поверхностный слой комплексов.

При дискератозе равномерно и относительно слабо окрашивались массивные пласты и небольшие группы мелких клеток с признаками патологического ороговения. При воспалительном процессе во влагалище или на слизистой шейки матки клетки плоского и цилиндрического эпителия с признаками воспалительной атипичности окрашивались так же, как нормальные клеточные элементы соответствующей морфологии.

У пациенток с дисплазией шейки матки и РШМ, по данным цитологического и гистологического исследований, патологические изменения локализовались в пло-

ском или метаплазированном плоском эпителии. В мазках присутствовали как атипичные, так и нормальные клетки. Окрашивание нормальных клеток и клеток реактивно измененного эпителия соответствовало таковому у женщин без заболевания.

При нарушениях, соответствующих слабой дисплазии, продукция MUC1 в дискариотических клетках промежуточного типа была низкой или отсутствовала. При умеренной, тяжелой дисплазии и CIS окрашивание атипичных клеток плоского и метаплазированного плоского эпителия с дискариозом различной степени выраженности выявлено в 30 из 32 случаев, при РШМ — во всех 12 случаях. В двух случаях (умеренная и тяжелая дисплазия) причиной отсутствия окрашивания были выраженные дистрофические изменения клеток, в цитограмме были представлены голые атипичные ядра.

В атипичных клетках преимущественно окрашивалась поверхностная мембрана клеток, реже — в сочетании с окрашиванием цитоплазмы (рис. 2, а—в). Распределение антигена всегда имело деполаризованный характер. При инвазивном плоскоклеточном раке отмечена более высокая гетерогенность окрашивания опухолевых клеток, вплоть до полного отсутствия специфической реакции в некоторых из них.

Вследствие того что окрашивание наблюдалось как в нормальных, так и в атипичных клетках плоского эпителия, о наличии и выраженности дискариоза в конкретной клетке можно было судить только при оценке морфологии ее ядра в проходящем свете. При анализе картины флюоресцентного окрашивания на атипичный характер клеток косвенно указывали варибельность размеров и/или причудливая форма окрашенных клеточных элементов, нерегулярный или грубый рисунок окрашивания поверхностной мембраны, наличие окрашенных внутриклеточных включений. Наиболее интенсивно окрашивались дискариотические клетки среднего и малого размера.

В 18% случаев при дисплазии и начальном раке шейки матки наряду с атипичными клетками в мазках присутствовали MUC1+ массивные комплексы пролиферирующих клеток парабазального типа, увеличенных

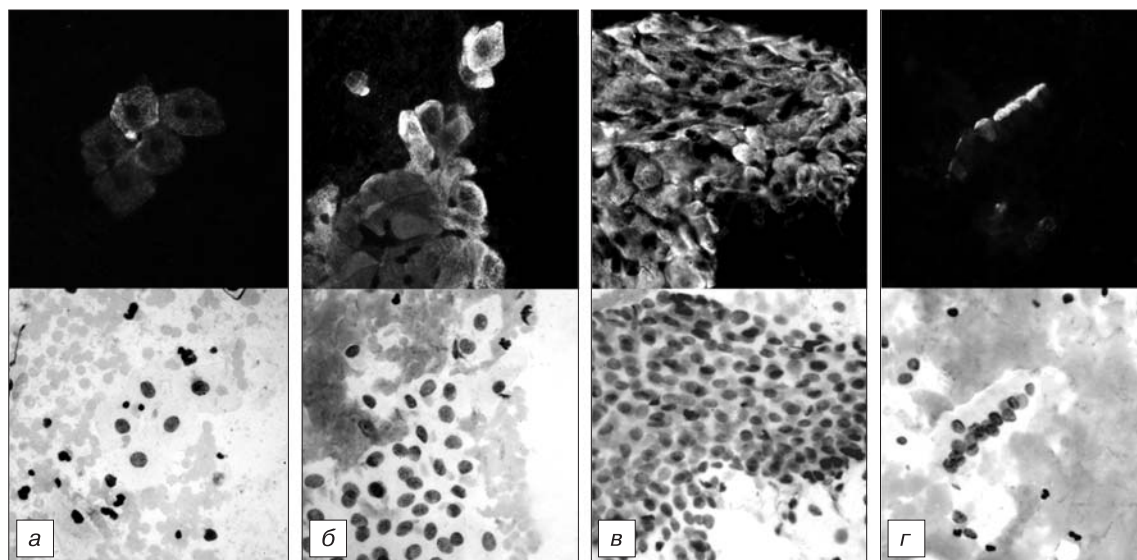


Рис. 1. Содержание MUC1 в клетках цервикального эпителия.

Здесь и на рис. 2, 3: сверху — иммунофлюоресцентное окрашивание с моноклональными антителами ИКО25, внизу — соответствующее изображение окрашенных гематоксилином клеток в проходящем свете.

а — слабое деполаризованное окрашивание цитоплазмы в клетках плоского эпителия, б — интенсивное деполаризованное окрашивание мембраны и/или цитоплазмы в клетках метаплазированного плоского эпителия, в — поляризованное окрашивание поверхностной мембраны в клетках незрелой плоскоклеточной метаплазии, г — апикальное окрашивание цилиндрических клеток. $\times 200$.

в размерах, иногда с гиперхромными ядрами, слабо выраженным полиморфизмом (см. рис. 2, *з*). Интенсивное окрашивание поверхностной мембраны и/или цитоплазмы клеток в этих комплексах выделяло их среди групп пролиферирующих резервных клеток, пролиферирующего железистого эпителия и пластов клеток незрелой плоскоклеточной метаплазии.

Одной из особенностей картины ИЦХ-исследования цервикальных мазков при дисплазии и начальном раке шейки матки являлось наличие разрозненных мелких клеток базального или парабазального типа с интенсивным деполаризованным окрашиванием поверхностной мембраны (БПМ⁺-клетки; рис. 3). Подобные клетки выявлены во всех 12 (100%) случаях при РШМ и в 32 (91%) из 35 случаев при тяжелых интраэпителиальных нарушениях. В мазках у пациенток с заболеванием шейки матки количество БПМ⁺-клеток варьировало от множества до единичных на всем мазке. Преимущественно их обнаруживали в материале, полученном со слизистой в зоне трансформации: в 20 наблюдениях БПМ⁺-клетки выявлены только в соскобах с эктоцервикса, в 22 — как в эктоцервиксе, так и в эндоцервиксе, в 5 — только в эндоцервиксе.

Морфология ядер в БПМ⁺-клетках варьировала. Встречались клетки со светлым ядром правильной формы, с увеличенным в размере ядром и регулярной структурой хроматина, с резко гиперхромным ядром, иногда неправильной, угловатой формы, с мелкоглыбчатым распределением хроматина в сочетании с неровной линией ядерной мембраны. В отдельных клетках наблюдали кариорексис.

Малый размер и отсутствие выраженных изменений ядра не позволяли трактовать БПМ⁺-клетки как атипичные по общепринятым цитологическим критериям. Кроме того, в группе наблюдений у женщин без клинических и цитологических признаков неоплазии независимо от наличия или отсутствия реактивных изменений в слизистой шейки матки единичные БПМ⁺-клетки наблюдали в 7 (13%) из 47 случаев. Во всех случаях эти клетки детектировались в мазках, полученных с эктоцервикса.

Известно, что инвазивные диагностические процедуры, такие как диагностическое выскабливание цервикального канала и биопсия слизистой шейки матки (ДВ/Б), могут приводить к существенному искажению

цитологической картины, особенно при очаговом характере имеющихся нарушений. Так, при цитологическом и ИЦХ-исследовании, выполненном у пациенток с предопухолевыми изменениями шейки матки непосредственно перед лечением, т. е. через 1,5—2 мес после ДВ/Б, атипичные клетки в соскобах цервикального эпителия обнаружены только в 11 (31%) из 35 случаев. Тем не менее БПМ⁺-клетки обнаруживали в 69% этих случаев независимо от того, присутствовали или нет в мазках клетки с дискариозом. Данное наблюдение позволяло предположить, что БПМ⁺-клетки являются частью патологического фона, ассоциированного с неоплазией.

Основным этиологическим фактором возникновения дисплазии и рака шейки матки является персистирующая инфекция ВПЧ [24]. Сопоставление данных ИЦХ-анализа с результатами вирусологического исследования у пациенток с заболеванием шейки матки показало, что обнаружение БПМ⁺-клеток в цервикальном эпителии коррелирует с наличием ВПЧ ВКР.

Так, до проведения процедуры ДВ/Б в группе пациенток с предопухолевыми изменениями шейки матки ВПЧ ВКР детектировалась в 32 (91%) из 35 случаев, непосредственно перед лечением — в 27 (77%) из 35 случаев. В исследованиях, выполненных непосредственно перед лечением, БПМ⁺-клетки обнаружены в 21 (78%) из 27 случаев с положительным результатом теста на ВПЧ (ВПЧ+) и только в 3 (38%) из 8 случаев с отрицательным результатом теста на ВПЧ (ВПЧ-). В одном из этих трех последних случаев, но ни в одном из пяти других ВПЧ-случаев характерные признаки ПВИ были отмечены при цитологическом исследовании.

После органосохраняющего лечения БПМ⁺-клетки в цервикальных мазках у пациенток были выявлены в 5 (23%) из 22 ВПЧ+-наблюдений, и только в 3 (4%) из 73 ВПЧ-наблюдений. В одном из этих трех последних ВПЧ-наблюдений койлоцитоз плоскоэпителиального покрова отмечен при гистологическом исследовании ткани, полученной при контрольном обследовании.

Три из 22 ВПЧ+-наблюдений соответствовали случаям, в которых при положительном клиническом эффекте терапии не была достигнута эрадикация ВПЧ, детектированного до лечения (1-я группа); 9 наблюдений — слу-

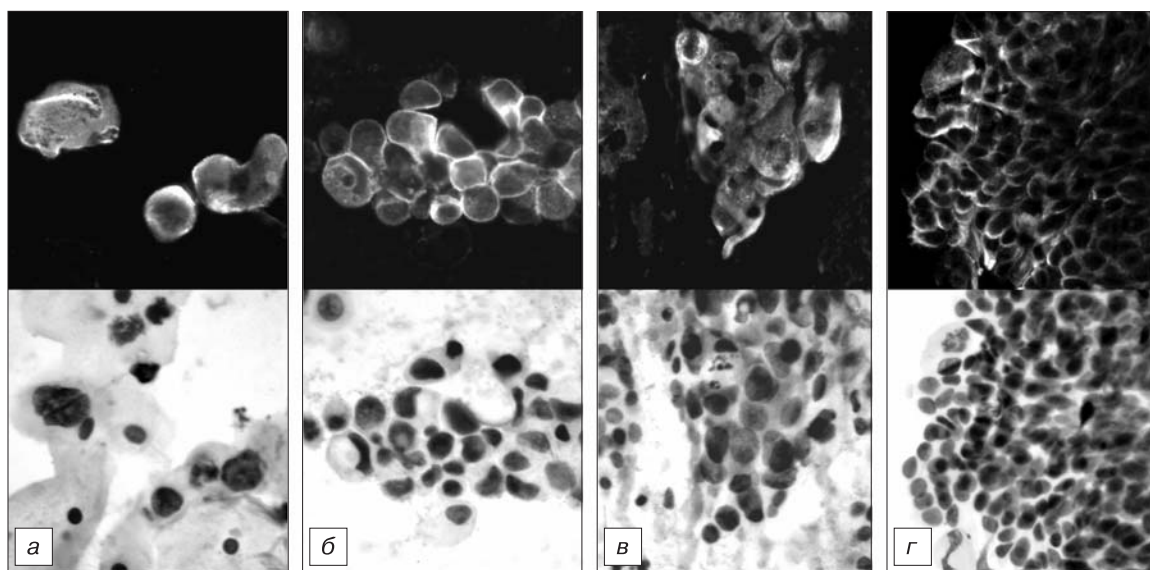


Рис. 2. Содержание MUC1 в атипичных клетках цервикального эпителия. Деполаризованное окрашивание мембраны и цитоплазмы клеток плоского эпителия с выраженным дискариозом в мазках пациенток с тяжелой дисплазией (*а*) и преинвазивным раком (*б*). Комплекс MUC1+ опухолевых клеток (*в*) и пласт MUC1+ пролиферирующих парабазальных клеток (*г*) в мазках пациенток с микроинвазивным плоскоклеточным РШМ. $\times 400$.

чаям, в которых наблюдалась частичная эрадикация ВПЧ ВКР, когда после лечения сохранялись только некоторые из множества типов вируса (2-я группа); 10 наблюдений — случаям реинфекции ВПЧ ВКР, т. е. когда обнаруженный после лечения тип вируса отличался от типа ВПЧ, идентифицированного у пациенток до лечения (3-я группа).

В 1-й группе во всех 3 наблюдениях детектировался ВПЧ 16-го типа. Во 2-й и 3-й группах определялись различные типы ВПЧ (18 и/или 31, 33, 35, 45, 55, 56, 58, 63, 78, 83), но не ВПЧ 16-го типа.

БПМ⁺-клетки выявлены в 3 случаях в 1-й группе (см. рис. 3, з), в 1 случае — во 2-й группе, в 1 случае — в 3-й группе (100, 11 и 10% наблюдений соответственно).

Таким образом, результаты ИЦХ-исследования показывают, что уровень продукции MUC1 в цервикальном эпителии в первую очередь определяется морфологическим типом клеток, характером и степенью их дифференцировки.

Моноклональные антитела ИКО25, которые использовали в настоящем исследовании, взаимодействуют с комплексным углеводно-пептидным эпитопом в составе муцина. В норме продукция этого эпитопа ограничена апикальной мембраной клеток однослойного цилиндрического эпителия [7]. Его появление на поверхностной мембране клеток плоского эпителия, в частности при метаплазии, может быть расценено как отражение изменения дифференцировки клеток. Наличие эпитопа в цитоплазме парабазальных клеток плоского эпителия при атрофических процессах, в цитоплазме пролиферирующих резервных клеток цилиндрического эпителия при реактивных изменениях может быть следствием их недостаточной зрелости. В то же время наблюдаемая вариабельность окрашивания в незрелых клетках позволяет предположить, что состояние функциональной дифференцировки не является единственным фактором, от которого зависит характер продукции MUC1.

При дисплазиях и раке шейки матки MUC1 определяется на поверхностной мембране и в цитоплазме атипических клеток с дискариозом в подавляющем большинстве исследованных случаев. Это может быть связано с тем, что неопластические изменения, как известно, наиболее часто локализуются в зоне трансформации, в метаплазированном плоском эпителии слизистой шей-

ки матки, в котором продукция MUC1 значительна и в норме. С другой стороны, высокое содержание антигена в цитоплазме и поверхностной мембране может свидетельствовать о недостаточной дифференцировке клеток.

Высокое содержание антигена в морфологически нормальных метаплазированных клетках существенно ограничивает возможности использования антител к MUC1 в цитопатологии для диагностики заболеваний шейки матки [17, 22]. К такому же выводу в отношении ценности MUC1 как маркера неоплазии привели результаты исследования гистологического материала [18]. Однако мы полагаем, что, несмотря на отсутствие количественных и качественных отличий между нормальными и атипическими клетками метаплазированного плоского эпителия, направленный поиск MUC1+ клеток в сочетании с оценкой их морфологии может повысить эффективность обнаружения признаков патологических изменений в цервикальных мазках. Так, в 4 из 47 исследованных нами случаев среди пациенток с предопухолевыми заболеваниями и начальным РШМ мазки, полученные на первичном этапе клинического обследования, были малоинформативны для цитологического анализа из-за малого количества атипических клеток, большого количества элементов крови и выраженного воспалительного фона. При ИЦХ-исследовании флюоресцентное окрашивание MUC1+ клеток, выделявшихся на фоне неокрашенного или аморфно окрашенного составляющего мазков, давало возможность находить и анализировать клетки с дискариозом (рис. 4).

В большинстве исследованных случаев при неоплазии в цервикальном эпителии наряду с атипическими клетками наблюдали MUC1+ незрелые метапластические клетки базального и парабазального типа округлой формы, с интенсивным циркулярным окрашиванием поверхностной мембраны — БПМ⁺-клетки. В части наблюдений у пациенток с патологическими изменениями в слизистой шейки матки морфология этих клеток соответствовала мелкоклеточному дискариозу — популяции клеток, которую выделяют при описании выраженных интраэпителиальных нарушений [21] и для которой особо подчеркивают трудности в ее идентификации и интерпретации цитологической картины [3]. За счет высокого содержания MUC1 удавалось детектировать даже

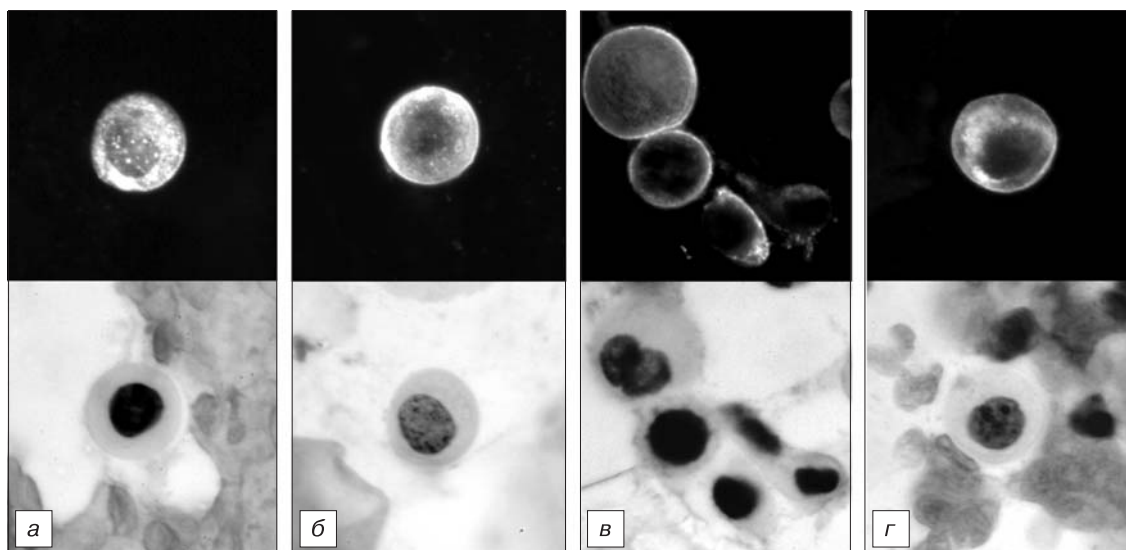


Рис. 3. БПМ⁺-клетки в мазках цервикального эпителия у пациенток с тяжелой дисплазией (а, б) и микроинвазивным плоскоклеточным РШМ (в) до лечения, у пациентки с положительным результатом теста на ВПЧ ВКР 16-го типа после успешного органосохраняющего лечения тяжелой дисплазии шейки матки (г). Оригинальное увеличение $\times 400$. Размер изображений увеличен в 2 раза по сравнению с изображениями на рис. 2.

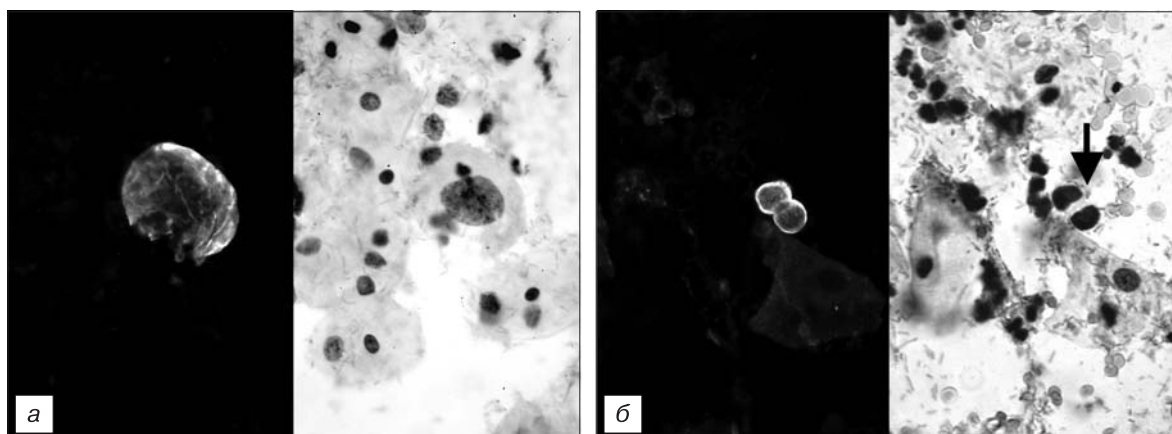


Рис. 4. Примеры детекции атипических клеток цервикального эпителия при недостаточной информативности мазка (единичные клетки с выраженным дискариозом) у больной с тяжелой дисплазией (а), при выраженном воспалительном фоне в мазке у больной начальным плоскоклеточным РШМ (б). Иммунофлуоресцентное окрашивание с моноклональными антителами ИКО25 (слева) и соответствующее изображение окрашенных гематоксилином клеток в проходящем свете (справа). $\times 400$.

единичные подобные клеточные элементы и дифференцировать их, в частности, от гистиоцитов.

Особый интерес представляет обнаруженная корреляция между выявлением в цервикальных мазках БПМ⁺-клеток и ВПЧ ВКР слизистой шейки матки. По существующим представлениям трансформирующая активность ВПЧ реализуется при его персистенции в базальных клетках, которые становятся доступными для инфекции в участках поврежденной слизистой [24]. Морфология, указывающая на недостаточную дифференцировку, в сочетании с деполаризованным распределением MUC1 на поверхностной мембране, часто наблюдаемые изменения в ядре — резкая гиперхромия, искажения формы, дегенеративные изменения позволяют предположить, что БПМ⁺-клетки могут быть носителями персистирующей папилломавирусной инфекции. Характер изменений в структуре ядра при этом может отражать цитопатическую активность вируса на уровне базального и парабазального слоев. Предположительно, выявление множества БПМ⁺-клеток в отсутствие однозначных признаков выраженного дискариоза в клетках плоского эпителия может косвенно указывать на высокую вероятность скрытых, мелкоочаговых патологических изменений в эпителии или свидетельствовать о высоком риске прогрессии начальных форм нарушений.

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что ИЦХ-исследование MUC1 в клетках цервикального эпителия с использованием моноклональных антител ИКО25 может быть использовано для повышения чувствительности цитологической диагностики неоплазий, особенно в случаях неполноценного цитологического материала, а также в случаях, когда патологические изменения преимущественно представлены популяцией мелких дискариотических клеток. Мы полагаем, что данный подход может быть полезным для уточняющей диагностики цервикальных нарушений у женщин без клинических признаков заболевания, а также для выделения группы высокого риска в отношении рецидива заболевания среди пациенток после органосохраняющего лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Касоян К. Т., Минкина Г. Н., Шабалова И. П. и др. // Клини. лаб. диагн. — 2007. — № 9. — С. 18.

2. Подистов Ю. И., Лактионов К. П., Петровичев Н. Н. // Клини. лаб. диагн. — 2003. — № 3. — С. 15—25.
3. Титмуши Э., Адамс К. Шейка матки. Цитологический атлас / Под ред. Н. И. Кондрикова. — М.: Практическая медицина, 2009. — С. 147—149.
4. Чиссов В. В., Соколов В. В., Телегина Л. В. и др. // Рос. онкол. журн. — 1997. — № 3. — С. 32—37.
5. Шабалова И. П. Цитологический атлас. Критерии диагностики шейки матки. — Тверь: Губернская медицина, 2001. — С. 67.
6. Якубовская Р. И., Казачкина Н. И., Кармакова Т. А. и др. // Эксперим. онкол. — 1990. — Т. 12, № 4. — С. 61—65.
7. Якубовская Р. И., Барышников А. Ю., Кармакова Т. А. и др. // Арх. пат. — 1991. — № 6. — С. 11—16.
8. Baldus S. E., Mönig S. P., Hanisch F. G. et al. // Histopathology. — 2002. — Vol. 40, N 5. — P. 440—449.
9. Baldus S. E., Engelmann K., Hanisch F.-G. // Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. — 2004. — Vol. 41, N 2. — P. 189—231.
10. Benevolo M., Vocaturo A., Mottolese M. et al. // Am. J. Clin. Pathol. — 2008. — Vol. 129. — P. 606—612.
11. Carraway K. L. 3rd, Funes M., Workman H. C., Sweeney C. // Curr. Top. Dev. Biol. — 2007. — Vol. 78. — P. 1—22.
12. Franco E. L. // J. Natl. Cancer Inst. Monogr. — 2003. — Vol. 31. — P. 89—96.
13. Glickman J. N., Blount P. L., Sanchez C. A. et al. // Hum. Pathol. — 2006. — Vol. 37, N 10. — P. 1304—1315.
14. Gold D. V., Karanjawala Z., Modrak D. E. et al. // Clin. Cancer Res. — 2007. — Vol. 13, N 24. — P. 7380—7387.
15. Kim K. C., Lillehoj E. P. // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. — 2008. — Vol. 39, N 6. — P. 644—647.
16. McGuckin M. A., Every A. L., Skene C. D. et al. // Gastroenterology. — 2007. — Vol. 133, N 4. — P. 1210—1218.
17. Moncrieff D., Ormerod M. G., Coleman D. V. // Anal. Quant. Cytol. — 1984. — Vol. 6, N 3. — P. 201.
18. Rollanson T. P., Byrne P., Williams A., Brown G. // J. Clin. Pathol. — 1988. — Vol. 41. — P. 547—552.
19. Siddiqui M. T., Hornaman K., Cohen C., Nassar A. // Arch. Pathol. Lab. Med. — 2008. — Vol. 132, N 10. — P. 1648—1652.
20. Singh P. K., Hollighworth M. A. // Trends Cell. Biol. — 2006. — Vol. 16, N 9. — P. 467—476.
21. Smith P. A., Turnbull L. S. // Cytopathology. — 1997. — Vol. 8, N 1. — P. 3—8.
22. Valkova B., Ormerod M. G., Moncrieff D., Coleman D. V. // J. Clin. Pathol. — 1984. — Vol. 37, N 9. — P. 984—989.
23. Young M. R., Neville B. W., Chi A. C. et al. // Cancer Immunol. Immunother. — 2007. — Vol. 56, N 7. — P. 1077—1086.
24. zur Hausen H. // Nat. Rev. Cancer. — 2002. — Vol. 2, N 5. — P. 342—350.

Поступила 20.04.10