

вание — хроническую окиси-углеродную интоксикацию.

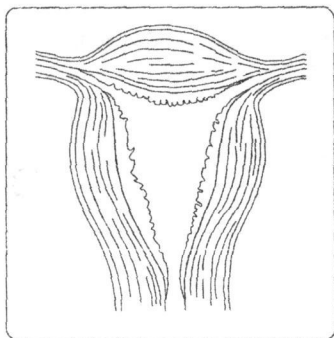
Л и т е р а т у р а

1. Кириленко Л.И. // Охрана лесов от пожаров в Хабаровском крае. Хабаровск, 1999. С.11-12.
2. Лещенко Я.А. // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра. 2003. №2. 200 с.

3. Методические указания о количественном определении карбоксигемоглобина и карбоксимемоглобина. М., 1974. 17 с.

4. Малик Е.П., Сиротина З.В., Кожарская О.В. // Здоровоохранение Дальнего Востока. 2004. Т.11, №3. С.28-32.

5. Шабалов Н.П. Неонатология. СПб.: Спец. лит., 1997. 496 с.



УДК 616 - 091.8 : 618.146 : 616 - 006

Т.Е. Белокриницкая, Ю.Н. Пономарева, Г.М. Ломнева,
Е.П. Маккавеев

ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ПРИ ПРЕДРАКОВЫХ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ПОРАЖЕНИЯХ ШЕЙКИ МАТКИ

Читинская государственная медицинская академия,
Читинский областной диагностический центр,
Читинское областное патолого-анатомическое бюро, г. Чита

Определение биологического поведения патологических процессов и потенции злокачественного роста является одним из решающих факторов при выборе тактики лечения и прогнозе заболевания [1, 3]. В качестве одного из возможных маркеров опухолевой трансформации может быть использована оценка интенсивности процессов клеточного роста. При изучении пролиферативной активности широкое применение получил иммуногистохимический метод определения белков-регуляторов жизненного цикла клеток. К ним относятся циклины, циклин-зависимые киназы, белки Ki-67, MPM-2, PCNA и др., функции которых сопряжены с митотическим циклом. Согласно современным представлениям, универсальным маркером пролиферации клеток может быть белок, присутствующий во всех фазах митотического цикла и исчезающий по его окончании. Подобные свойства были отмечены при исследовании антигена ядер пролиферирующих клеток (Proliferating Cell Nuclear Antigen) — PCNA, вспомогательного полипептида ДНК-полимеразы, который в настоящее время активно используется для определения пролиферативной активности [5, 6]. Показано, что высокие уровни экспрессии PCNA в эпителиоцитах ассоциированы с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями высокой степени, инфицированием папилломавирусами и хламидиями [2, 4]. В то же время, исследований, посвященных изучению пролиферативных процессов в качестве дифференциально-диагно-

стического критерия патологических процессов шейки матки, в литературе недостаточно и результаты их противоречивы [9-11].

Целью настоящего исследования явилась сравнительная оценка пролиферативной активности клеток при предраковых и злокачественных поражениях шейки матки в зависимости от клинической формы, стадии заболевания, гистологического варианта и рецепторного статуса половых стероидов.

Материалы и методы

Проведено ретроспективное иммуногистохимическое исследование 314 образцов тканей шейки матки, полученных при биопсии и хирургическом лечении пациенток с дисплазией и раком шейки матки, находившихся на обследовании и лечении в Читинском областном онкологическом диспансере в период с 1998 по 2004 г.

Возраст пациенток находился в пределах от 19 до 52 лет и составил в среднем $41,9 \pm 6,9$ года.

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 31 (11,7±3,1%) пациентки, умеренная — у 34 (12,9±4,5%) и тяжелая — у 43 (16,3±6,0%) женщин. Внутриэпителиальный рак был обнаружен у 46 (17,4±2,0%) больных, I стадия — у 40 чел. (15,2±2,5%), II стадия — у 39 чел. (14,8±6,1%) и III стадия злокачественного процесса — у 31 (11,7±3,5%) пациентки. В качестве контрольной группы использовали 50 образцов тканей шейки матки здоровых женщин.

Определение пролиферативной активности и рецепторов эстрогенов и прогестерона проводили иммуногистохимическим методом в лаборатории патоморфологии областного Диагностического центра г. Читы. Для оценки интенсивности пролиферативных процессов использовали определение антигена ядер пролиферирующих клеток (PCNA). Иммуногистохимическое исследование PCNA проводили на серийных парафиновых срезах толщиной 5 мкм. Срезы инкубировали с антителами к PCNA ("Dako", Дания, клон PC-10, предварительное разведение). Сроки инкубации составили 18 ч при температуре 4°C. Для иммунного окрашивания использовали стрептавидин-биотин-пероксидазный метод ("Dako", Дания), во всех случаях проводили докрасивание ядер гематоксилином. Подсчет проводили в 20 произвольно выбранных полях зрения при увеличении 400. Индексы мечения PCNA рассчитывали как отношение числа позитивно окрашенных ядер к общему числу ядер [6]. Для определения экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона также применяли стрептавидин-биотин-пероксидазный метод с помощью моноклональных антител ("Dako", Дания) с предварительной высокотемпературной демаскировкой антигенов в тканях. Реакцию оценивали полуколичественным методом по D.C. Allred et al. [7, 8].

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), для расчета коэффициентов парных корреляций (r) применялся метод Пирсона, критический уровень значимости принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Полученные данные представлены в табл. 1. Установлена прямая зависимость между уровнем пролиферативной активности и клинической формой и стадией заболевания. Так, средний индекс PCNA для исследуемых предраковых поражений цервикального эпителия в среднем составил 41,7±7,5% и для опухолей шейки матки — 58,8±8,6%, при этом достоверные отличия обнаружены при сравнении показателей PCNA при умеренной и тяжелой дисплазии, тяжелой дисплазии и внутриэпителиальной карциноме, внутриэпителиальном и инвазивном раке шейки матки. Очевидно, что уровень пролиферативной ак-

Резюме

Проведено иммуногистохимическое исследование пролиферативной активности в 50 образцах здоровых тканей, 108 предраковых и 156 злокачественных поражениях шейки матки. Для оценки пролиферативных процессов применяли индекс мечения PCNA с использованием моноклональных антител фирмы "Dako", Дания.

Уровень PCNA при тяжелом предраке выше, чем при умеренной и слабой дисплазии, и ниже, чем при внутриэпителиальном раке, при котором показатели PCNA ниже, чем при инвазивных опухолях. Показатели PCNA обратно пропорциональны экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона при тяжелой дисплазии и раке, в плоскоклеточных карциномах индекс PCNA имеет обратные взаимоотношения со степенью дифференцировки опухоли. Использование индекса PCNA позволяет проводить дифференциальную диагностику, выбор лечения и прогнозирование патологических процессов шейки матки.

T.E. Belokrinitskaya, Y.N. Ponomaryova, G.M. Lomneva, Y.P. Makkaveyev

PROLIFERATIVE ACTIVITY CELLS IN LESIONS OF CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA AND CERVICAL CANCER

Thita State Medical Academy, vbita Regional Diagnostic Centre Regional, Department of Pathomorphology, Chita

Summary

There was a retrospective immunohistochemical investigation of proliferative activity in 50 healthy cases, in 108 - with CIN and 156 - with cervical cancer. Proliferative activity was defined with PCNA by monoclonal antibodies ("DAKO", Denmark).

PCNA was higher in CIN III than in CIN I-II and lower in intraepithelial cancer where the markers of PCNA were lower than in invasive tumors. PCNA expression was in back dependence with expression of estrogen and progesterone receptors in CIN III and cervical cancer. PCNA had back dependence with degree of tumor differentiation in squamous cell carcinoma. Proliferative activity helps to hold differentiated diagnostics, choose correct treatment and prognosticate cervical diseases.

тивности при тяжелом предраке выше, чем при умеренной и слабой дисплазии, и темпы клеточного роста в случае инвазивного рака превышают аналогичные показатели при внутриэпителиальных опухолях шейки матки. В свою очередь, тяжелая дисплазия характеризуется достоверно меньшим индексом пролиферации клеток эпителиального пласта по сравнению с преинвазивным раком.

Таким образом, уровень экспрессии PCNA представляется, на наш взгляд, адекватным маркером для оценки потенциальной неоплазии при предраке цервикального эпителия и инвазивности опухоли в случае злокачественного роста.

Нами отмечено, что в 26,9±3,5% случаев диспластических поражений шейки матки, ассоциированных с максимально высокими для предрака уровнями экспрессии PCNA, впоследствии обнаружено прогрессирование патологических изменений цервикального эпителия. При раке шейки

Показатели PCNA при дисплазии и раке шейки матки

Группы обследованных	ИМ PCNA, %	P, статистическая значимость различий по сравнению с				
		конт-ролем	умерен-ной диспла-зией	0 ст.	I ст.	II ст.
Здоровые ткани шейки матки (n=50)	10,5±7,9	-	-	-	-	-
Дисплазия шейки матки: - слабая (n=31)	35,0±5,8	0,000	0,000	-	-	-
- умеренная (n=34)	43,4±10,0	0,000	-	-	-	-
- тяжелая (n=43)	46,7±9,1	0,000	0,135	0,000	-	-
Рак шейки матки: - 0 ст. (n=46)	54,0±7,6	0,000	-	-	-	-
- I ст. (n=40)	58,6±9,1	0,000	-	0,012	-	-
- II ст. (n=39)	62,5±12,7	0,000	-	-	-	-
- III ст. (n=31)	63,2±7,0	0,000	-	-	0,120	0,794

матки с регионарными метастазами индекс PCNA в первичной опухоли в среднем составил 66,2±10,2% и 54,6±9,0% — в карциномах без поражения регионарных лимфатических узлов (p=0,000). Вероятно, высокие значения PCNA при предраковых и злокачественных изменениях шейки матки могут рассматриваться в качестве критерия степени распространенности патологического процесса.

При оценке пролиферативной активности в зависимости от гистологического варианта и степени дифференцировки рака шейки матки выявлено, что в высоко- и умеренно дифференцированных плоскоклеточных карциномах экспрессия PCNA составила 57,3±12,1%, а в низкодифференцированных опухолях - 64,7±10,0% (p=0,003). Среди аденокарцином цервикального эпителия высокие значения индекса PCNA 63,3±11,6% и 62,2±10,4% выявлены, соответственно, в эндометриодных опухолях и железисто-плоскоклеточном раке. Уровень экспрессии PCNA в мезонефроидных карциномах составил 56,0±9,1%. Следует отметить, что взаимосвязи индекса PCNA и степени дифференцировки железистого рака нами не обнаружено.

В регуляции пролиферативной активности клеток значительная роль принадлежит стероидным гормонам, посредством взаимодействия последних со специфическими белками-рецепторами. При неопластической трансформации клеток количество и функциональная активность рецепторов половых гормонов может меняться, что, в свою очередь, приводит к изменению темпов роста опухоли. При исследовании индекса PCNA и экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона нами обнаружены обратные сильные корреляционные связи при раке шейки матки: $r=-0,74$ (p=0,003) для рецепторов прогестерона и $r=-0,66$ (p=0,003) для рецепторов эстрогенов; и обратные связи сред-

ней и слабой силы при цервикальной дисплазии тяжелой степени: $r=-0,34$ (p=0,041) для рецепторов прогестерона и $r=-0,13$ (p=0,117) для рецепторов эстрогенов. Рецептронегативные карциномы характеризовались более высокими значениями PCNA по сравнению опухолями, экспрессировавшими рецепторы половых гормонов — 64,7±10,0% против 56,4±10,0% (p=0,000).

Заключение

Таким образом, полученные нами данные демонстрируют возможность использования оценки пролиферативной активности цервикального эпителия для уточнения клинической формы, стадии заболевания и степени распространенности патологического процесса с последующим выбором адекватной терапии при дисплазии и раке шейки матки.

Злокачественные опухоли характеризуются более высокими темпами пролиферативных процессов по сравнению с предраковыми изменениями цервикального эпителия. В свою очередь, повышение индекса пролиферации при дисплазии шейки матки может рассматриваться в качестве критерия неопластической трансформации. При поражениях шейки матки, ассоциированных с высокими значениями PCNA, значительно возрастает вероятность прогрессирования процесса.

Интенсивность пролиферативных процессов обратно пропорциональна уровню экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона при тяжелой дисплазии и цервикальном раке, кроме того, в плоскоклеточных карциномах шейки матки индекс пролиферативной активности имеет обратные взаимоотношения со степенью дифференцировки опухоли. Использование оценки пролиферативной активности клеток в сочетании с другими онкомаркерами, на наш взгляд, позволяет с высокой степенью достоверности проводить дифференциальную диагностику, выбирать оптимальную лечебную тактику и прогнозировать течение патологических процессов шейки матки.

Л и т е р а т у р а

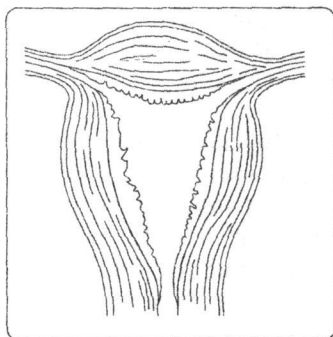
1. Бохман Я.В. Руководство по онкогинекологии. Л.: Медицина, 1989. 464 с.
2. Ваганова И.Г. // Вопросы онкологии. 2000. Т.46. №5. С.578-582.
3. Лушников Е.Ф., Абросимов А.Ю. Гибель клетки (апоптоз). М.: Медицина, 2001. 192 с.
4. Минкина Г.Н., Манухин И.Б., Франк Г.А. Предрак шейки матки. М.: Аэрограф-медиа, 2001. 112 с.
5. Пожарисский К.М., Леенман Е.Е. // Архив патологии. 2000. Т.62, №5. С.3-11.
6. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / Под ред. С.В. Петрова, Н.Т. Райхлина. Казань, 2004. 456 с.
7. Хариет Э.Р., Гаттер К.С. // Молекулярная клиническая диагностика. Методы. / Под ред. С. Херрингтон, Дж. Макги. М.: Мир, 1999. 558 с.

8. Эллиниди В.Н., Анисеева Н.В., Максимова Н.А. Практическая иммуноцитохимия. СПб.: ВЦЭРМ МЧС России, 2002. 36 с.

9. Herbsleb M., Knudsen U.B., Orntoft T.F. et al. // Gynecol. Oncol. 2001. Vol. 83(2), P.216-220.

10. Kanai M., Shiozawa T., Xin L. et al. // Cancer. 1998. Vol. 82(9). P.1709-1719.

11. Xue Y., Feng Y., Zhu G. et al. // Chin. Med. Jour. (Engl). 1999. Vol.112(4). P.373-375.



УДК 616.146:616-076.5

В.П. Гордиенко, Т.Э. Кочегарова

РОЛЬ И МЕСТО ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ

Амурская государственная медицинская академия;
Амурский областной онкологический диспансер, г. Благовещенск

Актуальность данной проблемы обусловлена ее большой социальной значимостью, поскольку рак шейки матки занимает первое место по частоте среди опухолей гениталий у женщин, составляя, по данным разных авторов, от 45,8 до 70,5% и значительным его "омоложением" [5, 7, 8].

Ранняя цитологическая диагностика патологии шейки матки, в частности рака, является одним из решающих моментов в процессе успешного лечения заболеваний этого органа [2, 6, 7, 9-11]. Именно цитологический метод диагностики позволяет выявить предраковые и раковые изменения в самом начале их морфологического формирования, когда клиническое выявление злокачественного роста очень сложно и злокачественный характер поражения не предполагается; выявить рак шейки матки при нетипичном течении и в большинстве случаев подтвердить клинический диагноз. Цитологические заключения представляют большую ценность для уточнения степени распространенности рака, определения степени дифференцировки и его гистологической формы [1, 5]. Простота, быстрота, легкая повторяемость цитологических исследований привлекают в практической работе при контроле за эффективностью лечевого, химиотерапевтического воздействия на опухоль и при контроле зоны регионарного метастазирования, обнаружения рецидивов рака и прогрессирования болезни [6, 8, 9].

Цитологическая диагностика опухолей основывается на том, что в процессе злокачественной трансформации клетки приобретают ряд характерных морфологических особенностей, которые позволяют отличить их от клеток соответствующих нормальных тканей [5, 9-11].

Целью настоящего исследования явился анализ выявляемости тяжелой дисплазии, подозрения на

Резюме

В работе представлены данные возрастных критериев цитологической выявляемости тяжелой дисплазии, подозрения на рак и рака шейки матки, сопоставлены данные направительного клинического диагноза и цитологического заключения, определено соотношение морфологических форм рака шейки матки и процент гистологических подтверждений цитологического диагноза. Подтверждена ценность цитологического метода исследования, особенно в случаях не предполагавшегося злокачественного характера заболевания, и при систематическом наблюдении и лечении больных с фоновой патологией.

V.P. Gordienko, T.E. Kochegarova

ROLE AND PLACE OF CYTOLOGICAL EXAMINATION IN DIAGNOSTICS OF UTERINE NECK DISEASE

Amur State Medical Academy, Amur Regional oncology Center, Blagovschensk

Summary

Data concerning age criteria of cytological revelation of severe dysplasia, suspicion of cancer and cancer of uterine neck are presented in this work. Data of direct clinical diagnoses and cytological diagnoses were compared; correlations of morphological forms of uterine neck cancer and the percentage of histological confirmations of cytological diagnosis were determined. The value of cytological examination particularly in cases with non-suspected malignant character of the disease and in systemic observation and treatment of patients with the background pathology was confirmed.

рак и рака шейки матки в зависимости от возраста пациенток, клинического диагноза, представля-