

Е.А. Дядык, Ю.И. Поколотная

Прогностическое значение маркера p16ink4a в диагностике дисплазии шейки матки

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

Ключевые слова: шейка матки, дисплазия, иммуногистохимическое исследование.

Проведено прижизненное морфологическое исследование биоптатов шейки матки 110 пациенток с подозрением на цервикальную интраэпителиальную неоплазию (дисплазию), используя иммуногистохимический метод с маркером p16ink4a. Данный метод подтвердил диагноз дисплазии, выставленный при гистологическом исследовании, только у 56% пациенток. Таким образом, для более точной оценки наличия и степени дисплазии эпителия шейки матки целесообразно включать в диагностический алгоритм определение ингибитора циклиновых киназ p16ink4a.

Прогностичне значення маркера p16ink4a в діагностиці дисплазії шийки матки

О.О. Дядик, Ю.І. Поколотная

Здійснено прижиттєве морфологічне дослідження біоптатів шийки матки 110 пацієнток з підозрою на цервікальну інтраепітеліальну неоплазію (дисплазію), використовуючи імуногістохімічний метод з маркером p16ink4a. Цей метод підтвердив діагноз дисплазії, виставлений при гістологічному дослідженні, тільки у 56% пацієнток. Отже, для точнішої оцінки наявності і ступеня дисплазії епітелію шийки матки доцільно включати в діагностичний алгоритм визначення інгібітора циклінових кіназ p16ink4a.

Ключові слова: шийка матки, дисплазія, імуногістохімічне дослідження.**Патологія.** – 2012. – №2 (25). – С. 40–42

The prognostic value of p16ink4a marker in the diagnosis of cervical dysplasia

E.A. Dyadyk, Yu.I. Pokolodnaya

The morphological study of 110 cervical biopsies from patients with suspected cervical intraepithelial neoplasia (dysplasia) was performed with the help of immunohistochemical method using marker p16ink4a. This method confirmed the diagnosis of dysplasia, made after histological study, only in 56% of patients. Thus, for better assessment of the presence and degree of dysplasia of cervical epithelium it is advisable to include an identification of cyclin kinase inhibitor p16ink4a in the diagnostic algorithm.

Key words: cervix, dysplasia, immunohistochemical study.**Pathologia.** 2012; №2 (25): 40–42

Проблема заболеваний шейки матки – одна из самых актуальных в современной гинекологии. Дисплазия (или цервикальная интраэпителиальная неоплазия – cervical intraepithelial neoplasia (CIN)) шейки матки – это неинвазивное неопластическое изменение эпителия в зоне перехода однослойного цилиндрического эпителия шеечного канала в многослойный плоский неороговевающий эпителий влагалищной части шейки матки.

В последнее время большинство исследователей применяют предложенную Richart (1968) классификацию CIN, степени которой соответствовали степеням дисплазии классификации ВОЗ [2]. CIN 1 представляет собой незначительные нарушения дифференцировки эпителия с умеренной пролиферацией клеток базального слоя. Изменения захватывают 1/3 толщи эпителиального пласта, начиная от базальной мембраны. Для CIN 2 поражение занимает до 1/2 толщи эпителиального пласта, отмечается койлоцитоз, паракератоз. CIN 3 диагностируется при поражении более 2/3 эпителиального пласта. Морфологически имеются значительные изменения клеток в виде нарушений взаимоотношений клеточного расположения, гигантские гиперхромные ядра, появление патологических митозов. Процесс занимает все слои эпителия, но не проникает глубже базальной мембраны [3].

Скрининговым методом выявления дисплазии является цитологическое исследование мазков шейки матки. Основным вариантом данного исследования – мазок по Папаниколу, ПАП-тест (PAP-test). В 1988 году Национальным институтом по изучению рака США предложена новая, цитологическая, система оценки теста Папаниколу – Bethesda system, которая до сих пор применяется в мировой медицине. Все изменения разделены на 2 вида: ASCUS (atypical squamous cells of undetermined significance) плоскоклеточная атипия неопределенной значимости и SIL (Squamous Intraepithelial Lesions) плоскоклеточные интраэпителиальные поражения, которые, в свою очередь, разделены на 2 категории: низкой (LSIL – Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions) и высокой степени выраженности (HSIL – High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions). Тем не менее, ошибки в дифференциальной диагностике между HSIL и LSIL очень велики. Поэтому ведение больных, основанное лишь на цитологических данных, может иметь неудовлетворительные результаты. В связи с этим, в настоящее время обсуждается необходимость пересмотра классификации цервику-вагинальной цитологии, использование последней в качестве инструмента скрининга, а не как диагностического теста, а также не-

обходимость разработки новых, более эффективных и объективных путей диагностики [4]. От цитологического гистологическое исследование отличается тем, что его проводят с образцом ткани пациента, на сегодня оно является наиболее объективным методом исследования. Одним из современных достоверных методов морфологической диагностики различных изменений в шейке матки является иммуногистохимическое исследование (ИГХИ) гистологических препаратов, в частности, использование маркера p16ink4a.

Эпителий шейки матки представляет собой динамическую ткань с постоянным клеточным обновлением – G1, S, G2 и M фазы. Синтез p16ink4a в норме по механизму обратной связи сдерживается, концентрация данного белка в нормальной клетке чрезвычайно мала, что проявляется негативной иммуногистохимической реакцией. Основной причиной увеличения концентрации p16ink4a является белок E7 HPV(вируса папилломы человека) высокого онкогенного риска. При инфицировании HPV усиливается пролиферация клетки. Белок p16ink4a пытается сдержать пролиферативную активность, что приводит к его неконтрольному синтезу. При ИГХИ это проявляется позитивной окраской, что является биомаркером инициации канцерогенеза в эпителии шейки матки [5].

Цель работы

Проведение сравнительной оценки гистологической и иммуногистохимической диагностики диспластических изменений в эпителии шейки матки с использованием тест-системы mtm CINtec Histology, содержащей маркер p16ink4a.

Материалы и методы исследования

Изучены биопсии шейки матки 110 пациенток репродуктивного возраста (от 19 до 58 лет, средний возраст – 33,3±3,2 года) в период с 2010 по март 2011 г., которые находились на лечении в Донецком региональном центре охраны материнства и детства.

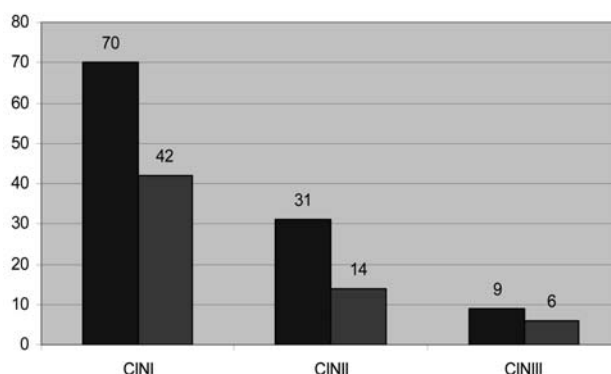
Для проведения морфологического исследования биопсийный материал помещали в нейтральный забуференный раствор формальдегида (рН 7,4) и фиксировали в течение 24 часов. После дегидратации кусочки заливали в парафин по стандартной методике. На ротационном микротоме Microm HM325 изготавливали серийные гистологические срезы толщиной 3–4 мкм, которые затем окрашивали гематоксилином и эозином. Для ИГХИ с маркером p16ink4a срезы помещали на покрытые адгезивом стекла Super Frost Plus (Menzel, Германия). Для «демаскирования» антигенов регидратированные срезы подвергали термической обработке в растворе Target Retrieval Solution (DAKO, Дания) с использованием микроволновой печи Samsung CE118KFR. Далее использовали тест-комплект для качественного определения антигена p16ink4a. Микроскопическое исследование препаратов проводили на микроскопе Olympus AX70 Provis (Olympus, Япония). Для статистической обработ-

ки полученных результатов использовали лицензионные пакеты прикладных программ Microsoft Office Excel 2003, MedStat.

Результаты и их обсуждение

В результате гистологического исследования выявлены следующие изменения: пласты многослойного плоского эпителия с разной степенью пролиферации клеток базального и парабазального слоев с нарушением их стратификации, дискератоз, фигуры митозов, койлоцитоз, внутриэпителиальная инфильтрация сегментоядерными лейкоцитами и/или лимфоцитами. В зависимости от выраженности данных изменений CIN I диагностировали в 70 (64%) случаях, CIN II – 31 (28%), CIN III – 9 (8%). Для верификации результатов, полученных при гистологическом исследовании, у всех пациенток с диагнозом «дисплазия» проведено ИГХИ с маркером p16ink4a. Из 110 пациенток отрицательное окрашивание с маркером p16ink4a отмечено у 48 (44%).

Экспрессия белка p16ink4a, соответствующая I степени, выявлена в 42 (38%) случаях, II степени – у 14 (13%), III степени – у 6 (5%) пациенток (рис. 1). Учитывая данные ИГХИ с использованием маркера p16ink4a, дисплазия шейки матки верифицирована у 62 (56%) пациенток (рис. 2).



■ биоптаты с окраской гематоксилин/эозином
 ■ биоптаты с ИГХИ с маркером p16ink4a

Рис. 1. Сопоставление результатов, полученных при гистологическом и иммуногистохимическом исследованиях.

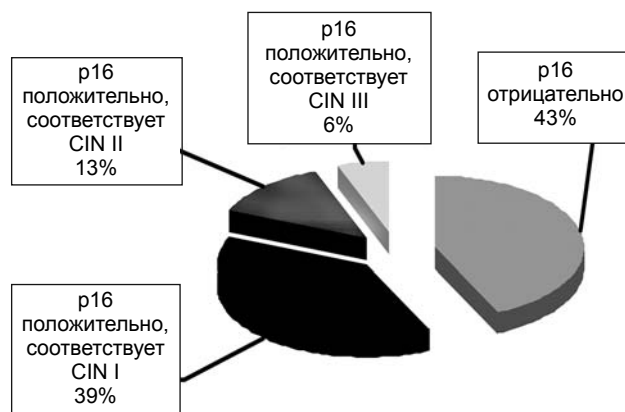


Рис. 2. Данные ИГХИ с маркером p16ink4a у 110 пациенток.

Выводы

Наряду с использованием стандартного окрашивания гематоксилином и эозином биоптатов шейки матки, у пациенток с подозрением или наличием диспластических изменений целесообразно использовать ИГХИ с маркером p16ink4a. ИГХИ позволяет верифицировать диспластические изменения в эпителии шейки матки, а также устанавливать степень этих изменений и, соответственно, выбирать адекватную лечебную тактику на разных этапах заболевания у женщин репродуктивного возраста.

Список литературы

1. *Richart R.M.* Cervical intraepithelial neoplasia / R.M. Richart // *Gynecol Oncol.* – 1973. – Vol. 19. – P. 301–328.
2. *Бохман Я.В.* Руководство по онкогинекологии / Я.В. Бохман. – М.: Медицина, 1989. – 174 с.
3. *Heatley M.K.* How should we grade CIN? / M.K. Heatley // *Histopathology* – 2002. – Vol. 40, №4. – P. 377–390.
4. *Киселев В.И.* Молекулярные механизмы регуляции гиперпластических процессов: Монография / В.И. Киселев, А.А. Ляшенко. – М.: «Дмитрейд график групп», 2005. – 346 с.
5. Procedure for immunocytochemical detection of p16INK4A antigen in thin-layer, liquid-based specimens / [Bibbo M., Klump W.J., DeCecco J., Kovatish A.J.] // *Acta Cytol.* – 2002. – Vol. 46. – P. 25–29.

Сведения об авторах:

Дядык Е.А., д. мед. н., профессор, каф. патоморфологии ДМУ им. М. Горького.
Покогодная Ю.И., студентка 5 курса 1 медицинского факультета ДМУ им. М. Горького.

Надійшла в редакцію 22.08.2012 р.