

# Роль імуногістохімічного дослідження у діагностиці цервікальної інтраепітеліальної неоплазії різного ступеня тяжкості

С.І. Жук<sup>1</sup>, О.А. Таран<sup>2</sup>, А.М. Кошмеринська<sup>3</sup>, Т.В. Лобастова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

<sup>2</sup>Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова

<sup>3</sup>Житомирський обласний онкологічний диспансер

**Мета дослідження:** встановлення характеру експресії білків – регуляторів апоптозу BCL-2, Smooth Muscle Actin та антигену Ki-67 при цервікальній інтраепітеліальній неоплазії різного ступеня тяжкості для оптимізації діагностики та прогнозу перебігу патології.

**Матеріали та методи.** У дослідженні брали участь 42 жінки репродуктивного віку з цервікальною інтраепітеліальною неоплазією шийки матки різного ступеня, які звернулися до кабінету патології шийки матки Житомирського обласного онкологічного диспансеру. Усі жінки (n=42) були розподілені на групи. У першу групу увійшли 15 пацієнок (35,7%) з цервікальною інтраепітеліальною неоплазією легкого ступеня. У другу групу було включено 13 жінок (31%) з цервікальною інтраепітеліальною неоплазією помірного ступеня. Третя група була представлена пацієнтками з цервікальною інтраепітеліальною неоплазією важкого ступеня – 14 обстежуваних (33,3%).

**Результати.** Маркер BCL-2 у пацієнок першої групи був позитивний у 7 пацієнок (46,7%), Smooth Muscle Actin був позитивний у 9 пацієнок (60%), а Ki-67 було діагностовано у 8 обстежуваних жінок (53,3%). У другій групі BCL-2 був позитивний у 8 пацієнок (61,5%), Clone 124, Smooth Muscle Actin, Clone 1A4 був позитивний у 9 пацієнок (69,2%), а Ki-67 було діагностовано у 12 обстежуваних жінок (92,3%). Маркер BCL-2 у пацієнок третьої групи був позитивний у 12 пацієнок (85,7%), Smooth Muscle Actin був позитивний у 10 пацієнок (71,4%), а Ki-67 було діагностовано у 13 обстежуваних жінок (92,9%).

**Заключення.** Канцерогенез пов'язаний із молекулярно-генетичним пошкодженням шийки матки. Деякі продукти цього процесу можна використовувати як прогностичні та діагностичні маркери пухлинної прогресії. Визначення експресії білків – регуляторів апоптозу BCL-2, Smooth Muscle Actin та антигену Ki-67 при цервікальній інтраепітеліальній неоплазії дає можливість чітко верифікувати діагноз та прогнозувати перебіг патологічних змін у плоскому епітелії шийки матки.

**Ключові слова:** цервікальна інтраепітеліальна неоплазія, рак шийки матки, морфологічна діагностика передракових станів, BCL-2, Smooth Muscle Actin, Ki-67.

Рак – важлива біологічна проблема ХХ століття. Боротьба з онкологічною патологією залишається одним з пріоритетних завдань медичної науки. Рак шийки матки (РШМ) посідає одне з провідних місць у структурі онкопатології жіночого населення. У близько 500 тис. хворих діагностують РШМ щорічно, що складає 5% у структурі онкологічної патології. Близько 200 тис. жінок у світі вмирають щорічно від РШМ. Перебіг РШМ розглядають як багатоступеневий процес: від незміненого епітелію шийки матки до цервікальної інтраепітеліальної неоплазії та до інвазивного раку [3–5].

Цервікальна інтраепітеліальна неоплазія (CIN) – це морфологічне поняття, що включає диспластичне ураження шийки матки, у більшості випадків асоційоване з мікст-інфекцією, частіше вірусного генезу, яке характеризується складними змінами в ектоцервіксі у вигляді комплексу дисрегенераторних процесів, порушення клітинного оновлення, яке часто супроводжується запально-дистрофічними змінами шийки матки та погіршенням репродуктивного здоров'я жінки [1, 2, 8].

Незважаючи на те що етіологічними чинниками РШМ визнано високоонкогенні типи вірусу папіломи людини (ВПЛ) [2, 9], в останні роки низка дослідників вважає, що для розвитку РШМ однієї ВПЛ-інфекції недостатньо. У такому складному процесі, як ініціація пухлинного росту, можуть відігравати роль інші чинники – комутагени, які самостійно не спричинюють мутацій, але посилюють мутагенні ефекти інших факторів [3, 6]. До таких можна віднести збудників генітальних інфекцій, що в останні роки набули значного поширення в усьому світі [12].

Крім ВПЛ, до числа збудників найбільш поширених генітальних інфекцій належать віруси родини Herpesviridae (віруси простого герпесу (ВПГ) 1–2-го типу і цитомегаловірус – ЦМВ), які часто рецидивують і не зумовлюють стійкого імунітету. У США, Канаді, країнах Євросоюзу носіями таких вірусів є 30–50% населення. Ще однією поширеною інфекцією статевих шляхів жінок є хламідіоз, урахувавши тропність Chlamydia trachomatis до призматичного епітелію ендодермісу. Пов'язана з цими збудниками значна частота хронічних запальних процесів ендодермісу свідчить про необхідність подальшого вивчення ролі цих комутагенів у розвитку фонових і передракових процесів шийки матки [11, 12].

Клінічний перебіг та агресивність онкопатології шийки матки чітко пов'язана з морфологією пухлини. Сьогодні одним із найбільш перспективних напрямків діагностики злоякісних пухлин є визначення пухлинних маркерів, які дають додаткову інформацію про біологічну характеристику пухлини, а також дозволяють прогнозувати перебіг хвороби та розробляти нові методи лікування даної патології. Пухлинні маркери можливо визначити на етапі розвитку цервікальної інтраепітеліальної неоплазії. BCL-2, Smooth Muscle Actin та антиген Ki-67 є маркерами патологічних змін шийки матки. BCL-2 відіграє важливу роль у регуляції апоптозу. Антиген Ki-67 – це ядерний білок, експресія якого відзначається в активну фазу клітинного циклу, включаючи мітоз [8].

У більшості країн світу щорічно констатують значне зростання цервікальної патології шийки матки. Труднощі морфологічної діагностики передракових станів, зокрема цервікальної інтраепітеліальної неоплазії важкого ступеня, не вирішені до сьогодні.

Ураховуючи все, викладене вище, особливо актуальним є пошук науково обґрунтованих підходів до діагностики цервікальної

патології для можливості вчасного проведення органозберігального лікування хворих на CIN, які б дали змогу зменшити обсяг хірургічних втручань, а в окремих випадках й уникнути їх; знизити кількість рецидивів, а також зберегти репродуктивну, сексуальну функції, що забезпечить якість життя жінки [8, 9].

**Мета дослідження:** встановлення характеру експресії білків – регуляторів апоптозу BCL-2, Smooth Muscle Actin та антигену Ki-67 при цервікальній інтраепітеліальній неоплазії різного ступеня тяжкості для оптимізації діагностики та прогнозу перебігу патології.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У дослідженні брали участь 42 жінки репродуктивного віку з цервікальною інтраепітеліальною неоплазією шийки матки різного ступеня, які звернулися до кабінету патології шийки матки Житомирського обласного онкологічного диспансеру. Усі жінки (n=42) були розподілені на групи. У першу групу увійшли 15 пацієнок (35,7%) з цервікальною інтраепітеліальною неоплазією легкого ступеня. У другу групу було включено 13 жінок (31%) з цервікальною інтраепітеліальною неоплазією помірного ступеня. Третя група була представлена пацієнтками з цервікальною інтраепітеліальною неоплазією важкого ступеня – 14 обстежуваних (33,3%). Комплекс обстежень включав рутинний гінекологічний огляд з одночасним забором матеріалу з екто- та ендоцервіксу для бактеріального та цитологічного дослідження, кольпоскопію, обстеження пацієнок на ВПЛ (за допомогою тест-системи «Квант 21»), дослідження біоценозу піхви за допомогою тест-системи «Фемофлор скрін». Діагноз у всіх обстежуваних пацієнок був верифікований гістологічно. Визначення маркерів BCL-2, Clone 124, Smooth Muscle Actin, Clone 1A4 та антигену Ki-67 проводили на кафедрі патологічної анатомії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вік пацієнок, що брали участь у дослідженні, був від 22 до 42 років. Скарги пацієнок у всіх вибірках мали подібний характер: періодичні виділення з піхви та печіння, періодична контактна кровоточивість зі статевих шляхів під час статевого акту чи при заборі матеріалу для цитологічного дослідження у гінеколога.

У 10 пацієнок (66,6%) першої групи цитологічно було діагностовано дисплазію плоского епітелію легкого ступеня та середнього ступеня тяжкості, а у 5 (33,4%) пацієнок змін у цитологічній картині не відзначено. Оцінюючи результати обстежень, ВПЛ діагностовано у 7 жінок (46,7%), ЦМВ діагностовано у 3 жінок (20%), уреоплазма виявлена у 5 із обстежуваних пацієнок (33,3%). У всіх пацієнок гістологічно було діагностовано цервікальну інтраепітеліальну неоплазію легкого ступеня. Маркер BCL-2 у пацієнок першої групи був позитивний у 7 пацієнок (46,7%), Smooth Muscle Actin був позитивний у 9 пацієнок (60%), а Ki-67 було діагностовано у 8 обстежуваних жінок (53,3%).

У жінок другої групи цитологічно було виявлено дисплазію плоского епітелію різного ступеня тяжкості – в 11 пацієнок (84,7%), запальний тип мазка діагностовано у 2 жінок (15,3%). ВПЛ діагностовано у 10 пацієнок (76,9%), ВПП виявлено у 1 пацієнтки (7,7%), одночасну персистенцію гарднерели та уреоплазми відзначено у 2 жінок (15,4%). У всіх пацієнок гістологічно верифіковано цервікальну інтраепітеліальну неоплазію помірного ступеня. Оцінюючи результати імуногістологічного дослідження, було встановлено, що у пацієнок з цервікальною інтраепітеліальною неоплазією помірного ступеня тяжкості BCL-2 був позитивний у 8 пацієнок (61,5%), Clone 124, Smooth Muscle Actin, Clone 1A4 був позитивний у 9 пацієнок (69,2%), а Ki-67 було діагностовано у 12 обстежуваних жінок (92,3%).

У 12 пацієнок (85,7%) третьої групи цитологічно було діагностовано дисплазію плоского епітелію різного ступеня тяжкості та плоскоклітинний рак цитологічно виявлено у 2 жінок (14,3%). У всіх пацієнок з цервікальною інтраепітеліальною неоплазією важкого ступеня було діагностовано високоонкогенні типи ВПЛ з клінічним навантаженням. У 4 жінок із обстежуваних виявлена одночасна персистенція 2 типів вірусів. Діагноз тяжкої цервікальної інтраепітеліальної неоплазії був гістологічно верифікований у всіх жінок. Маркер BCL-2 у пацієнок третьої групи був позитивний у 12 пацієнок (85,7%), Smooth Muscle Actin був позитивний у 10 пацієнок (71,4%), а Ki-67 було діагностовано у 13 обстежуваних жінок (92,9%).

### ВИСНОВКИ

Для покращання діагностики цервікальної інтраепітеліальної неоплазії та оптимізації діагнозу потрібно використовувати якомога більше загальногістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних методик, оцінюючи їх у сукупності.

Канцерогенез пов'язаний із молекулярно-генетичним пошкодженням шийки матки. Деякі продукти цього процесу можна використовувати як прогностичні та діагностичні маркери пухлинної прогресії. Визначення експресії білків – регуляторів апоптозу BCL-2, Smooth Muscle Actin та антигену Ki-67 при цервікальній інтраепітеліальній неоплазії дає можливість чітко верифікувати діагноз та прогнозувати перебіг патологічних змін у плоскому епітелії шийки матки.

**Роль иммуногистохимического исследования в диагностике цервикальной интраэпителиальной неоплазии разной степени тяжести**  
**С.И. Жук, О.А. Таран, А.Н. Кошмеринская, Т.В. Лобастова**

**Цель исследования:** установление характера экспрессии белков – регуляторов апоптоза BCL-2, Smooth Muscle Actin и антигена Ki-67 при цервикальной интраэпителиальной неоплазии различной степени тяжести для оптимизации диагностики и прогноза течения патологии.

**Материалы и методы.** В исследовании принимали участие 42 женщины репродуктивного возраста с цервикальной интраэпителиальной неоплазией шейки матки различной степени, обратившихся в кабинет патологии шейки матки Житомирского областного онкологического диспансера. Все женщины (n=42) были разделены на группы. В первую группу вошли 15 пациенток (35,7%) с цервикальной интраэпителиальной неоплазией легкой степени. Во вторую группу были включены 13 женщин (31%) с цервикальной интраэпителиальной неоплазией умеренной степени. Третья группа была представлена пациентками с цервикальной интраэпителиальной неоплазией тяжелой степени – 14 обследуемых (33,3%).

**Результаты.** Маркер BCL-2 у пациенток первой группы был положительный у 7 пациенток (46,7%), Smooth Muscle Actin был положительный у 9 пациенток (60%), а Ki-67 был диагностирован у 8 обследуемых женщин (53,3%). Во второй группе BCL-2 был положительный у 8 пациенток (61,5%), Clone 124, Smooth Muscle Actin, Clone 1A4 был положительный у 9 пациенток (69,2%), а Ki-67 был диагностирован у 12 обследуемых женщин (92,3%). Маркер BCL-2 у пациенток третьей группы был положительный у 12 пациенток (85,7%), Smooth Muscle Actin был положительный у 10 пациенток (71,4%), а Ki-67 был диагностирован у 13 обследуемых женщин (92,9%).

**Заключение.** Канцерогенез связан с молекулярно-генетическим повреждением шейки матки. Некоторые продукты этого процесса можно использовать как прогностические и диагностические маркеры опухолевой прогрессии. Определение экспрессии белков – регуляторов апоптоза BCL-2, Smooth Muscle Actin и антигена Ki-67 при цервикальной интраэпителиальной неоплазии дает возможность четко верифицировать диагноз и прогнозировать течение патологических изменений в плоском эпителии шейки матки.

**Ключевые слова:** цервикальная интраэпителиальная неоплазия, рак шейки матки, морфологическая диагностика предраковых состояний, BCL-2, Smooth Muscle Actin, Ki-67.

**The role of immunohistochemistry in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia of different severity**

**S. I. Zhuk, O. A. Taran, A. N. Koshmienskaya, T. V. Lobastova**

**The objective:** the finding of protein expression of apoptosis regulator BCL-2, Smooth Muscle Actin and the antigen Ki-67 in cervical intraepithelial neoplasia of different severity to optimize the diagnosis and prognosis of the disease.

**Patients and methods.** The study involved 42 women of reproductive age with cervical intraepithelial the neoplasia of the cervix varying degrees applied to the doctor of cervical pathology Zhitomir regional oncologic dispensary. All women (n=42) were divided into groups. The first group included 15 patients (35, 7%) with cervical intraepithelial neoplasia with mild. The second group included 13 women (31%) with cervical intraepithelial neoplasia a moderate degree. The third group was represented by patients with cervical intraepithelial neoplasia with severe – 14 respondents (33.3 per cent).

**Results.** Marker BCL-2 in patients of the first group was positive in 7 patients (46.7%), Smooth Muscle Actin was positive in 9 patients (60%) and Ki-67 was diagnosed in 8 of the surveyed women (53,3%). In the second group of BCL-2 was positive in 8 patients (61, 5%), Clone 1A4 was positive in 9 patients (69, 2%), and Ki-67 was diagnosed in 12 of the surveyed women (92,3%). Marker BCL-2 in patients of the third group was positive in 12 patients (85,7%), Smooth Muscle Actin was positive in 10 patients (71,4%) and Ki-67 was diagnosed in 13 of the surveyed women (92,9% ).

**Conclusion.** Carcinogenesis is associated with molecular genetic damage to the cervix. Some of the products of this process can be used as prognostic and diagnostic markers of tumor progression. Determination of protein expression of apoptosis regulator BCL-2, Smooth Muscle Actin and the antigen Ki-67 in cervical intraepithelial neoplasia makes it possible to accurately verify the diagnosis and to predict the course of pathological changes in the flat epithelium of the cervix.

**Key words:** cervical intraepithelial neoplasia, cervical cancer, morphological diagnostics of precancerous lesions, BCL-2, Smooth Muscle Actin, Ki-67.

**Сведения об авторах**

**Жук Светлана Ивановна** – Кафедра акушерства, гинекологии и медицины плода Национальной медицинской академии последилового образования имени П.Л. Шупика, 04074, г. Киев, ул. Мостицкая, 11; тел.: (044) 460-54-45. E-mail: fetalmedic@ukr.net

**Таран Оксана Анатольевна** – Кафедра акушерства и гинекологии № 1 Винницкого национального медицинского университета имени Н.И. Пирогова, 21000, г. Винница, ул. Пирогова 56; тел.: (097) 538-12-06. E-mail: taranoa@ukr.net

**Кошмеринская Алина Николаевна** – Житомирский областной онкологический диспансер, 10002, г. Житомир, ул. Фещенка-Чоповского, 24/4; тел.: (067) 113-62-75. E-mail: koshmerinskaya@mail.ru

**Лобастова Татьяна Валерьевна** – Винницкий городской клинический роддом № 1, 21000, г. Винница, ул. Пирогова, 56; тел.: (067) 899-39-84. E-mail: medyanka78@gmail.com

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Грибова С.Н., Хрипунова Г.И. Современные представления об этиологии, патогенезе, методах диагностики и лечения фоновых и предраковых заболеваниях шейки матки. Саратов, науч.-мед. журн. 2008; 2 (20): 18–23.
2. Киселев В.И. Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки / Киселев В.И. – М.: Компания «Димитрейд График Групп», 2004. – 180 с.
3. Клінічні протоколи з акушерської та гінекологічної допомоги. Розділ 1.15. Доброякісні та передракові процеси шийки матки // Наказ МОЗ України № 676 від 31.12.2004. – К., 2004. – С. 127–140.
4. Жук С.І., Кошмеринська А.М., Таран О.А. Цервікальна інтраепітеліальна неоплазія – актуальна проблема сьогодення. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. – 2012; 4 (6): 207–213.
5. Рак в Україні 2009–2010: захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби [Електронний ресурс] / З.П. Федоренко, А.В. Гайсенко, Л.О. Гулак [та ін.] // Бюлетень національного канцер-реєстру України; Національний інститут раку. – К., 2011. – Вид. № 12. – Режим доступу: <http://www.ucr.gs.com.ua/dovida9/index.htm>
6. Ранняя диагностика и лечение предраковых состояний шейки матки / С.А. Сельков [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2005. – № 3. – С. 17–20.
7. Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки: Руководство для практикующего врача / С.И. Роговская. – М., 2008. – 192 с.
8. Роговская С.И. Шейка матки, влагалище, вульва. Физиология, патология, кольпоскопия, эстетическая коррекция / Липова Е.В. – М.: ООО Медиабюро Статус презенс, 2014. – С. 653–686.
9. American Society for Colposcopy and Cervical Pathology-sponsored Consensus Conference: 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests / T.C. Jr. Wright, L.S. Massad, C.J. Dunton [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2007. – Vol. 197, Iss. 4. – P. 346–355.
10. Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies / Appleby P., et al. // Lancet. – 2007. – Vol. 370 (9599). – P. 1609–1621.
11. Persistent human papillomavirus infection and smoking increase risk of failure of treatment of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) / Acladios N., et al. // International Journal of Cancer. – 2002. – Vol. 98 (3). – P. 435–439.
12. Risk of cervical cancer associated with Chlamydia trachomatis antibodies by histology, HPV type and HPV cofactors / Madeleine M.M., et al. // Int J Cancer. – 2007. – Vol. 120 (3). – P. 650–655.

Статья поступила в редакцию 29.08.2016