

# Эритропоэтин и прогрессия плоскоклеточного рака шейки матки

В. В. Литвинова, Е. Л. Куренков

ГОУ ВПО «ЧелГМА Росздрава», кафедра акушерства и гинекологии №1, кафедра анатомии человека, г. Челябинск

## Резюме

Определяли уровень эритропоэтина в сыворотке крови женщин с диагнозом: карцинома *in situ*, высокодифференцированный, умереннодифференцированный и низкодифференцированный плоскоклеточный рак шейки матки. Установлено, что прогрессия сквамозноклеточной карциномы шейки матки сопряжена с нарастанием уровня эритропоэтина в сыворотке крови. Мы считаем, что эритропоэтин на этапе инициации плоскоклеточного рака шейки матки является коканцерогеном, а на разных этапах прогрессии — промотором.

**Ключевые слова:** эритропоэтин, плоскоклеточный рак шейки матки.

## Введение

Плоскоклеточный рак шейки матки является одной из самых распространенных злокачественных опухолей у женщин [1, 2, 3].

Несмотря на то, что патогенез сквамозноклеточной карциномы шейки матки нашел отражение во многих работах отечественных и зарубежных исследователей [4, 5], многие вопросы, касающиеся изучения условий злокачественной трансформации экзоцервикального эпителия шейки матки и закономерностей прогрессии плоскоклеточной цервикальной карциномы остаются малоизученными.

Последние годы уделяется большое внимание роли эритропоэтина в развитии сквамозноклеточной карциномы шейки матки. Общеизвестно, что эритропоэтин является гипоксией-индуцированным стимулятором эритропоэза. Действуя через свои рецепторы (рецепторы к эритропоэтину), эритропоэтин усиливает экспрессию bcl-2 и, таким образом, ингибирует апоптоз эритрокариоцитов. При этом известно, что клетки карциномы шейки матки имеют рецепторы к эритропоэтину, а гипоксия приводит к увеличению количества эритропоэтиновых рецепторов. Очаговая экспрессия эритропоэтина и индуцированного гипоксией фактора-1 обнаруживается рядом с зонами некроза в инвазивных сквамозно-клеточных карциномах. Имеется выраженная корреляция между экспрессией эритропоэтиновых рецепторов и p16 и bcl-2 в канцерозном сквамозном эпителии [6].

Изложенное выше является свидетельством того, что повышенная экспрессия эритропоэтина и его рецепторов может играть зна-

чительную роль в патогенезе плоскоклеточного рака шейки матки. Однако, анализ данных литературы, о возможной роли эритропоэтина в развитии плоскоклеточного рака шейки матки, свидетельствует о том, что до настоящего времени не проводились комплексные клинико-морфологические исследования при плоскоклеточном раке шейки матки с учетом возможной роли эритропоэтина в его развитии. В этой связи, интересным представляется изучение влияния эритропоэтина на процессы прогрессии плоскоклеточного рака шейки матки.

**Цель настоящего исследования** — определить уровень эритропоэтина в сыворотке крови женщин, которым был выставлен диагноз: карцинома *in situ*, высокодифференцированный, умереннодифференцированный или низкодифференцированный плоскоклеточный рак шейки матки, оценить возможную роль эритропоэтина на разных этапах развития цервикальной сквамозноклеточной карциномы.

## Методика

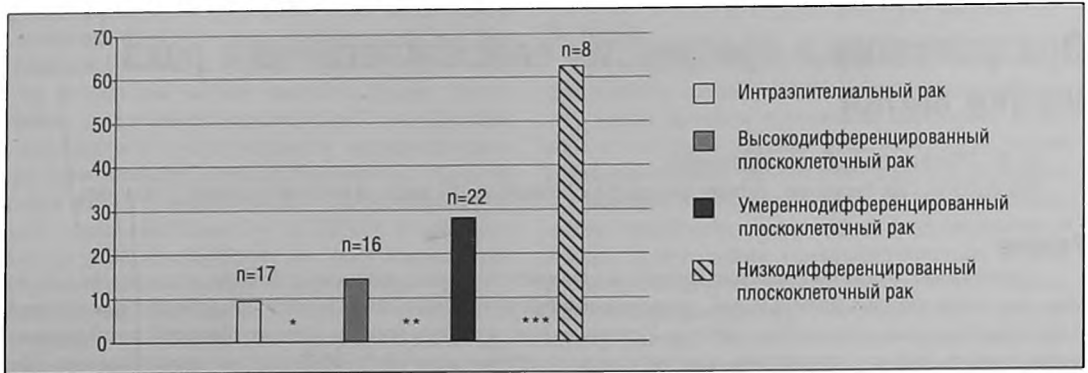
На базе Челябинского областного онкологического диспансера и городской клинической больницы №7, нами было обследовано 63 женщины, в возрасте от 20 до 60 лет. Из них 39 предъявляли жалобы на кровянистые выделения из половых путей; 46 — отмечали наличие тянущих болей внизу живота; 18 — имели контактные кровотечения; жалобы на болезненные ощущения во время полового акта (диспареуния) предъявляли 32 женщины.

Средний возраст первой менструации был в диапазоне 12-14 лет. При этом 42 женщины отмечали начало половой жизни до 17 лет; 7 пациенток имели «сексуальный дебют» в 13 лет.

Е. Л. Куренков — д. м. н., профессор;

В. В. Литвинова — аспирант каф. акушерства и гинекологии №1, ГОУ ВПО «ЧелГМА Росздрава», г. Челябинск

Рисунок Уровень эритропоэтина в плазме крови при интраэпителиальном раке, высокодифференцированном, умереннодифференцированном и низкодифференцированном плоскоклеточном раке шейки матки



Примечание. n — число обследованных женщин; достоверные различия уровней эритропоэтина в плазме крови между: \* — интраэпителиальным раком шейки матки и высокодифференцированным плоскоклеточным раком шейки матки ( $p < 0,01$ ); \*\* — высокодифференцированным плоскоклеточным раком шейки матки и умереннодифференцированным плоскоклеточным раком шейки матки ( $p < 0,00001$ ); \*\*\* — умереннодифференцированным плоскоклеточным раком шейки матки и низкодифференцированным плоскоклеточным раком шейки матки ( $p < 0,01$ ).

Всем обследуемым проводилось общее гинекологическое обследование, обследование на инфекции, передающиеся половым путем, методом ПЦР, а также расширенная кольпоскопия с прицельной биопсией шейки матки для проведения патогистологического исследования. При расширенной кольпоскопии использовались общепринятые для данного метода исследования критерии оценки состояния экзоцервикса [7, 8, 9, 10]: цвет шейки матки, состояние ее поверхности, характер эпителиальной выстилки, характер стыка многослойного плоского эпителия и цилиндрического, состояние сосудистого рисунка. С целью дифференцирования многослойного плоского эпителия от цилиндрического, оценки реакции сосудов шейки матки, выявления патологических очагов проводилась проба с 3% уксусной кислотой. По результатам расширенной кольпоскопии осуществлялся выбор наиболее измененного участка экзоцервикса для проведения прицельной биопсии и дальнейшего гистологического исследования биоптатов с использованием общепринятых морфологических критериев [11]. Для проведения гистологического исследования, полученные фрагменты слизистой оболочки шейки матки фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина и заливались в парафин. Тканевые срезы, полученные с каждого парафинового блока, имели толщину 5–7 мкм. После предварительного депарафинирования срезы окрашивались гематоксилином и эозином для проведения обзорной микроскопии. Все исследования были проведены нами на основании информированного письменного согласия пациенток.

В анамнезе, по данным кольпоскопии, цитологического и патоморфологического исследования у 43 женщин была выявлена псевдоэрозия шейки матки. У 45 женщин был диагностирован хронический цервицит. При обследовании у 53 женщин были выявлены инфекции, передающиеся половым путем: трихомонады у 2 обследованных, кандиды у 19 человек, хламидии были обнаружены у 23 пациенток, уреаплазмы у 12, микоплазмы у 5. Вирусные инфекции выявлены у 52 женщин. При этом ВПЧ 16 и 18 типа — у 48 человек, ВПЧ 31, 33 — у 32, ВПЧ 6, 11, 35, 45 — у 2, ВПГ 1 или 2 типа — у 4 пациенток.

Обследованные нами женщины в соответствии с характером и степенью тяжести структурных изменений многослойного плоского эпителия были разделены на 4 группы. Первую составили пациентки с карциномой *in situ* (n=17), во вторую группу вошли женщины с высокодифференцированным плоскоклеточным раком шейки матки (n=16), в третьей группе были пациентки с умереннодифференцированным плоскоклеточным раком шейки матки (n=22), в четвертую группу вошли женщины с низкодифференцированным плоскоклеточным раком шейки матки (n=8). Средний возраст женщин с карциномой *in situ* составил — 34,9 лет, с высокодифференцированным плоскоклеточным раком шейки матки — 39,75 лет, с умереннодифференцированным плоскоклеточным раком шейки матки — 40,64 года, с низкодифференцированным плоскоклеточным раком шейки матки — 41,75 лет.

У обследуемых определяли содержание эритропоэтина в 1 мл плазмы крови методом

иммуноферментного анализа с использованием тест-системы EPO [Erythropoietin] ELISA [Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay], Biomerika, Inc. (U.S.A.). Забор, хранение и исследование плазмы крови на содержание эритропоэтина производились в соответствии с рекомендациями производителя тест-системы. Полученные результаты подвергали стандартным статистическим методам исследования с помощью программы Statistica 6.0. В подавляющем большинстве представленных выборок отсутствовал нормальный характер распределения вариант, проверенный с помощью критерия Шапиро-Уилка, поэтому для представления результатов исследования использовалась медиана, 25-й и 75-й процентиля, а для определения статической значимости различий между группами для каждого показателя выявляли, используя критерий Краскела-Уоллиса. Если таковая значимость присутствовала, тогда приступали к поиску статистически значимых различий между конкретными группами с помощью U-критерия Манна-Уитни. Вследствие множественного сравнения вводили поправку Бонферони. Мы проводили сравнение результатов сначала в соседних группах, и если не имелось статистической значимости, то проводилось сравнение через группу.

### Результаты исследования и их обсуждение

Из данных, приведенных на рисунке, следует, что уровень эритропоэтина в плазме крови у женщин с высококодифференцированным плоскоклеточным раком шейки матки был выше, чем у пациенток с интраэпителиальным раком. В группе женщин с умереннодифференцированным плоскоклеточным раком шейки матки уровень эритропоэтина преобладал над группой пациенток с высококодифференцированным плоскоклеточным раком. Наиболее высокое содержание эритропоэтина в плазме крови зарегистрировано при низкокодифференцированном плоскоклеточном раке шейки матки, которое было достоверно выше по сравнению с умереннодифференцированной плоскоклеточной карциномой. Полученные данные позволяют утверждать, что имеется статистически достоверное нарастание уровня эритропоэтина в плазме крови по мере прогрессирования сквамозноклеточной карциномы шейки матки (интраэпителиальный рак → высококодифференцированный плоскоклеточный рак шейки матки → умереннодифференцированный плоскоклеточный рак шейки матки → низкокодифференцированный плоскоклеточный рак шейки матки).

На наш взгляд, нарастание уровня эритропоэтина в сыворотке крови может быть па-

тогенетически связано с гипоксией тканей шейки матки. Гипоксия цервикальных тканей может быть обусловлена воспалительно-дисрегенераторными изменениями собственной пластинки слизистой оболочки шейки матки (ремоделиция экстрацеллюлярного матрикса, склероз), сопровождающимися редукцией капиллярного русла. Гипоксия тканей ведет к активации синтеза в них гипоксией-индуцированного фактора, ответственного за активацию синтеза эритропоэтиновой иРНК и соответственно — эритропоэтина [12]. Справедливость данного предположения подтверждают результаты исследований [6], о том, что органы женской репродуктивной системы, включая матку, являются продуцентами эритропоэтина.

Мы полагаем, что прогрессирование канцерозных изменений сквамозного эпителия шейки матки обусловлено репрессией апоптоза экзоцервикального эпителия за счет эритропоэтинообусловленной экспрессии генов семейства *bcl* (*bcl-2*, *bcl-XL*) [6]. Ингибция апоптоза, как известно, сопряжена с накоплением в эпителии экзоцервикса генетических повреждений, являющихся важнейшим фактором трансформации карциномы *in situ* в высококодифференцированный плоскоклеточный рак шейки матки с последующей его прогрессией в умереннодифференцированный и низкокодифференцированный плоскоклеточный рак шейки матки. Это согласуется с представлениями G.Acs (2003) о роли эритропоэтина в возникновении и прогрессии карциномы шейки матки человека. Важно подчеркнуть, что экспрессия эритропоэтиновых рецепторов в инфицированном ВПЧ сквамозном эпителии шейки матки, ассоциирована с нарастанием в этих клетках протеина p16 INK4a. Это позволяет предполагать, что нарастание уровня эритропоэтина в сыворотке крови, обследованных нами женщин, возможно, ведет к усилению экспрессии p16, играющего большую роль так же, как и экспрессия генов семейства *bcl*, в карциногенезе шейки матки.

Известно, что стимуляция эритропоэтиновых рецепторов эритробластов, запускает их пролиферацию [13, 14]. По-видимому, эритропоэтин на ранних этапах шеечного канцерогенеза, стимулирует репликацию сквамозного эпителия [15, 16], которая является обязательным условием онкогенеза и выступает, таким образом, в качестве коканцерогена.

С учетом того, что нами зарегистрировано нарастание уровня эритропоэтина в сыворотке крови по мере прогрессии плоскоклеточного рака шейки матки (высокодифференцированный, умереннодифференцированный и низкокодифференцированный) и сопряженной с

ней повышающейся пролиферативной активностью и репрессией апоптоза канцерозных клеток. Следует полагать, что эритропоэтин, в данном случае, может выступать в качестве промотора, то есть стимулятора митогенной активности раковых клеток экзоцервикса.

Полученные нами данные, свидетельствуют о том, что прогрессирующее нарастание уровня эритропоэтина в крови обследованных женщин, сопряжено с возникновением плоскоклеточного рака шейки матки и его прогрессией. Для дальнейшего изучения влияния эритропоэтина на морфогенез и прогрессию сквамозноклеточной цервикальной карциномы, необходимо исследование особенностей клеточного обновления (пролиферация, апоптоз) в экзоцервиксе при карциноме *in situ*, высокодифференцированном, умереннодифференцированном и низкодифференцированном плоскоклеточном раке шейки матки, определяя при этом содержание эритропоэтина в крови и тканях шейки матки.

## Литературы

1. Бохман Я. В. Руководство по онкогинекологии. СПб: ООО «Издательство Фолиант»; 2002. 195-229.
2. Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы. Клинические лекции. Под редакцией проф. В. Н. Прилепской. М.: «Медпресс»; 2000. 133-138.
3. Киселев В. И. Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки. М: Компания «Димитрейд График Групп»; 2004. 5-8.
4. Бохман Я. В. Лекции по онкогинекологии. М: Медицинское информационное агентство; 2007.
5. Кулаков В. И., Манухин И. Б., Савельева Г. М. Гинекология. Национальное руководство. М: ГЭОТАР-Медиа; 2007. 890-897.
6. Acs G., Zhang P.J., McGrath C.M. et al. Hypoxia-inducible signaling in squamous dysplasia and squamous cell carcinoma of the uterine cervix and its potential role in cervical carcinogenesis and tumor progression. *American J. of Pathology* 2003; 162(6): 1789-1804.
7. Бауэр Г. Цветной атлас по кольпоскопии. Пер. с немецкого. Под ред. С.И.Роговской. М: ГЭОТАР-МЕД; 2002. 287.
8. Коханевич Е. В., Ганина К. П., Суменко В. В. Кольпоскопия (атлас). Киев: Гидромакс; 2004.
9. Прилепская В. Н., Роговская С. И., Межевитинова Е. А. Кольпоскопия. Практическое руководство. М: Медицинское информационное агентство; 2001

Полный список литературы см. на сайте [www.urmj.ru](http://www.urmj.ru)

## Использование цитологического метода, качественного и количественного определения вируса папилломы человека в прогнозировании развития рака шейки матки

Е. Б. Рудакова, О. Ю. Цыганкова

Омская государственная медицинская академия, Омск

### Резюме

**Цель исследования:** сравнить и оценить диагностическую значимость цитологического метода, метода качественного и количественного определения вирусов папилломы человека (ВПЧ) в комплексной диагностике предрака шейки матки.

**Материал и методы исследования:** был проведен анализ эффективности действующего цитологического скрининга по данным заболеваемости раком шейки матки за период с 1996 по 2006 гг. в Омской области на базе областного онкологического диспансера.

Обследовано 282 женщины с патологически измененной шейкой матки в возрасте от 18 до 60 лет. Проводилось цитологическое исследование мазков с экзо — и эндоцервикса. Для качественного определения ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска использовалась тест-система АмплиСенс ВПЧ ВКР-скрин FEP с флуоресцентной детекцией, а для определения вирусной нагрузки — АмплиСенс R — V12(RG,IQ,M) скрин-титр FRT.

По показаниям проводилась биопсия с проведением морфологического исследования.

**Результаты исследования:** информативность цитологического метода низкая (около 24,18%). Определенная часть женщин (37%) с цервикальной интраэпителиальной неоплазией имеет в анамнезе ложноотрицательные цервикальные мазки. 68% цитологических мазков имеют картину воспаления. У женщин неинфицированных вирусом папилломы человека 16, 18

Е. Б. Рудакова — д. м. н., профессор, зав кафедрой акушерства и гинекологии №2, ГОУ ВПО Омская ГМА Росздрава, г. Омск;

О. Ю. Цыганкова — аспирант кафедры акушерства и гинекологии №2, ГОУ ВПО Омская ГМА Росздрава, г. Омск.