



## ПРИМЕНЕНИЕ CD44 И ТЕНАСЦИНА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАННЕЙ СТРОМАЛЬНОЙ ИНВАЗИИ В АДЕНОКАРЦИНОМЕ ШЕЙКИ МАТКИ

**Н.В. ДАНИЛОВА<sup>1</sup>, Ю.Ю.АНДРЕЕВА<sup>1</sup>  
П.Г. МАЛЬКОВ<sup>2</sup>, Л.З. ЗАВАЛИШИНА<sup>1</sup>,  
Г.А. ФРАНК<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена

<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

e-mail: natalyadanilova@gmail.com

В статье представлена проблема поиска показательных маркеров для диагностики ранней стромальной инвазии и дифференциальной диагностики предрака и высококодифференцированных инвазивных аденокарцином. В данном исследовании предпринята попытка оценить возможности применения в качестве маркеров стромальной инвазии следующие белки: CD44, E-кадгерин,  $\beta$ -катенин, тенасцин, ламинин.

Ключевые слова: ранняя стромальная инвазия, аденокарцинома шейки матки, CD44, тенасцин, E-кадгерин,  $\beta$ -катенин, ламинин

Выявление ранней стромальной инвазии при плоскоклеточных неоплазиях шейки матки чаще всего не вызывает особых затруднений. Это обусловлено четкостью эпителиально стромальной границы и архитектурными особенностями многослойного плоского эпителия. Каплевидная инвазии в зоне цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) распознается относительно легко, чего нельзя сказать об аденокарциноме *in situ* шейки матки (AIS). Чтобы идентифицировать инвазию необходимо четко различить железистые структуры с AIS вовлекающей предсуществующие крипты и инвазивные очаги, что бывает не просто, особенно в высококодифференцированных аденокарциномах. С другой стороны, порой доброкачественные железистые поражения создают иллюзию инвазивного роста. В свете данных особенностей железистых поражений особенно актуальным становится поиск показательных маркеров стромальной инвазии. В данном исследовании предпринята попытка оценить возможности применения в качестве маркеров стромальной инвазии следующие белки: CD44, E-кадгерин,  $\beta$ -катенин, тенасцин, ламинин.

Настоящее исследование включает 118 случаев: фоновые железистые изменения, дисплазия и аденокарцинома *in situ* и инвазивная аденокарцинома. Во всех случаях мы наблюдали сочетанные поражения в виде фоновых, предраковых изменений эпителия и аденокарциномы шейки матки. Для проведения иммуногистохимического исследования использовалась панель моноклональных антител к CD44, ламинину, тенасцину, E-кадгерину,  $\beta$ -катенину. С парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 3 мкм, которые монтировали на высокоадгезивные стекла (Polysine Slides, Menzel GmbH&Co KG; Germany). Депарафинирование, регидратацию и демаскировку антигенов проводили при помощи специализированной системы EnVision Flex (Dako, Denmark) при температуре 95-98 °C, pH 9,0 в течение 20 минут в модуле предобработки к автостейнеру (PT-Module). ИГХ-реакции проводили с помощью автостейнера Dako. В качестве системы детекции применяли систему EnVision Flex (Dako, Denmark) с DAB-хромогеном. После проведения реакции срезы докрашивали гематоксилином (1 – 3 минуты) и заключали в бальзам. В каждой серии препаратов использовались соответствующие положительные и отрицательные контроли. Для оценки экспрессии применялся полуколичественный метод анализа.

CD 44 – это многофункциональное семейство трансмембранных белков [1]. Отдельные изоформы этого белка участвуют в процессах метастазирования и инвазии [1, 2, 3]. При фоновых и предраковых изменениях железистого эпителия шейки матки наблюдается гетерогенная мембранная экспрессия CD44, что не позволяет считать его маркером агрессивности поражения. При аденокарциноме шейки матки в опухолевых клетках CD44 также демонстрирует фокальное и гетерогенное окрашивание, что ограничивает его применение как прогностического маркера. Отмечена высокая экспрес-

сия CD44 в строме при инвазивных аденокарциномах шейки матки, что, вероятно, является следствием нарушения развития и изменения свойств стромы при опухолевом процессе и делает CD44 ценным инструментом для идентификации ранней стромальной инвазии при аденокарциноме *in situ* и верификации диагноза при высокодифференцированных инвазивных опухолях (таких как аденокарцинома цервикального типа и злокачественная аденома).

Тенасцин также может считаться маркером ранней инвазии, так как его экспрессия при микроинвазивном и инвазивном плоскоклеточном раке шейки матки значительно возрастает по сравнению с CIN [4]. В нашем исследовании экспрессия тенасцина выявлена только в строме, что соответствует данным литературы. Наблюдалась умеренная реакция в виде полосы расположенной под нормальным цилиндрическим и плоским покровным эпителием шейки матки, а также в сосудах. Подобные варианты экспрессии также описаны в литературе. Интересно, что интенсивность реакции в группе аденокарцином шейки матки была значимо выше, чем при фоновых и предраковых изменениях железистого эпителия. Таким образом, данный маркер также можно использовать для выявления ранней стромальной инвазии и для диагностики инвазивного рака с очень высоко дифференцированными железистыми структурами.

E-кадгерин и  $\beta$ -катенин, являются центральным звеном межклеточных взаимодействий, их экспрессия снижается при опухолевой прогрессии и инвазии во многих типах новообразований [5]. Нарушения в опосредованных этими белками межклеточных взаимодействиях приводят к изменению фенотипа клеток, увеличению способности к инвазии, подвижности и т.д. В нашем исследовании E-кадгерин и  $\beta$ -катенин экспрессировались исключительно на мембранах клеток во всех исследованных группах, при этом статистически значимых различий интенсивности окраски не обнаружено. В отличие от плоскоклеточной карциномы шейки матки накопления  $\beta$ -катенина в ядре не происходило, что свидетельствует, по всей видимости, об отсутствии изменений в E-кадгерин/ $\beta$ -катенин/Wnt – сигнальном пути при развитии аденокарцином шейки матки.

Ламинин в нормальных цервикальных железах, фоновых и предраковых изменениях железистого эпителия экспрессировался вдоль базальной мембраны, что соответствует данным литературы. При аденокарциномах шейки матки наблюдалось перераспределение маркера и накопление его в цитоплазме опухолевых клеток расположенных вдоль наиболее глубоко расположенных опухолевых комплексов.

В результате проведенного исследования нами установлено, что CD44 и тенасцин имеют большую ценность при диагностике ранней стромальной инвазии и дифференциальной диагностике предрака и высокодифференцированных инвазивных аденокарцином. E-кадгерин и  $\beta$ -катенин не имеют диагностического и прогностического значения в исследованных группах патологических процессов. Ламинин представляется потенциальным маркером инвазии, однако механизмы его экспрессии при аденокарциноме шейки матки требуют дальнейшего изучения.

### Литература

1. Makrydimas, G., Zagorianakou, N., Zagorianakou, P., et al. CD44 family and gynaecological cancer // *In Vivo*.– 2003.– 17.– 6.– P. 633-40.
2. Ibrahim, E. M., Stewart, R. L., Corke, K., et al. Upregulation of CD44 expression by interleukins 1, 4, and 13, transforming growth factor-beta1, estrogen, and progestogen in human cervical adenocarcinoma cell lines // *Int J Gynecol Cancer*.– 2006.– 16.– 4.– P. 1631-42.
3. Speiser, P., Kridelka, F., Tempfer, C., et al. CD44v6 expression is an independent prognostic factor in node-negative FIGO stage IB cervical carcinoma // *Int J Gynecol Cancer*.– 1999.– 9.– 2.– P. 160-165.
4. Buyukbayram, H. and Arslan, A. Value of tenascin-C content and association with clinicopathological parameters in uterine cervical lesions // *Int J Cancer*.– 2002.– 100.– 6.– P. 719-22.
5. Shiozaki, H., Oka, H., Inoue, M., et al. E-cadherin mediated adhesion system in cancer cells // *Cancer*.– 1996.– 77.– 8 Suppl.– P. 1605-13.



## **THE USE OF CD44 AND TENASCIN FOR DIAGNOSIS OF EARLY STROMAL INVASION IN CERVICAL ADENOCARCINOMA**

**N.V. DANILOVA<sup>1</sup>, J.U. ANDREEVA<sup>1</sup>  
P.G. MAL'KOV<sup>2</sup>, L.JE. ZAVALISHINA<sup>1</sup>  
G.A. FRANK<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Moscow Research Oncological Institute  
of a name of P.A. Herzen*

*<sup>2</sup>Moscow State University of a name  
of M.V. Lomonosov*

*e-mail: natalyadanilova@gmail.com*

The issues of searching of indicating markers for diagnosis of early stromal invasion and differential diagnosis of pre-cancer and high-differentiated adenocarcinomas were presented in the article. The attempt to estimate opportunities of use CD44, E-cadherin, tenascin,  $\beta$ -catenin, laminin as the markers of stromal invasion was made in this research.

Key words: early stromal invasion, cervical adenocarcinoma, CD44, E-cadherin, tenascin,  $\beta$ -catenin, laminin.