

STRESZCZENIE

Rak szyjki macicy jest 3. najczęściej występującym nowotworem u kobiet na świecie. Co roku na tę chorobę zapada 500 000 kobiet, z czego ok. 275 000 umiera. Choroba ta ma odległe skutki społeczne, ekonomiczne a także położnicze. W wyniku integracji wirusa HPV w genom komórki śródbłónka dochodzi do niekontrolowanej ekspresji onkoprotein wirusa: E6 i E7. Proteina E6 łączy się z białkiem p53 i powoduje jego proteolizę. W wyniku proteolizy białka p53, które odpowiada za kontrolowaną śmierć komórki, dochodzi do niekontrolowanej proliferacji komórkowej. Z kolei onkoproteina E7 przyłącza się do nieufosforylowanego białka Retinoblastoma (pRb), wywołując jego proteolizę i odłączenie od niego czynnika transkrypcyjnego. Zapoczątkowuje to transkrypcję DNA i przejście komórki z fazy G1 do fazy S. Utworzenie kompleksu E7 – Rb powoduje dezaktywację białka p16 w wyniku, której dochodzi do aktywacji kinazy cyklinozależnej. Kinaza ta fosforyluje białko Rb, które przestaje spełniać swoją aktywną funkcję w hamowaniu cyklu komórkowego. Dochodzi do niekontrolowanej proliferacji zainfekowanej komórki i nadekspresji białka p16. Białko p16 jest białkiem produkowanym przez komórkę w odpowiedzi na zakażenie wysokoonkogennymi typami wirusa HPV. Białko Ki-67 jest markerem proliferacji komórkowej. Jego aktywność jest ujawniona w fazie G1, S, G2 i M cyklu komórkowego; nie jest natomiast wykrywane w fazie G0. Białko to odpowiada za transkrypcję rybosomalnego RNA. Białko p21 jest silnym inhibitorem kinaz zależnych od cyklin. Wiąże się z kompleksami cyklin CDK2 lub CDK4, hamując ich aktywność. Tym samym działa jako regulator cyklu komórkowego w fazie G1. Ekspresja genu jest ściśle kontrolowana przez supresorowe białko p53.

W dostępnej literaturze opisuje się, iż ocena ekspresji białek proliferacji (w tym Ki-67 i p21) i apoptozy oraz p16/HPV w komórkach śródnabłonkowej neoplazji, szczególnie dużego stopnia (HSIL), może mieć istotne znaczenie w przewidywaniu progresji tych zmian do raka płaskonabłonkowego. Istotnym zagadnieniem jest także wartość oceny ekspresji białka p16 oraz p21 w rakach gruczołowych szyjki macicy w korelacji z obecnością infekcji wirusem HPV.

Użycie metod immunohistochemicznych wykrywających ekspresję białek p16, p21, p53 i Ki-67 w korelacji z hr-HPV może pomóc zwiększyć wykrywalność nieprawidłowych zmian śródnabłonka szyjki macicy. Pozwoli to na uniknięcie dodatkowych inwazyjnych procedur diagnostycznych jak kolposkopia czy biopsja.

Metoda immunohistochemiczna jest szczególnie przydatna w przypadku rozpoznania LSIL i ASC-US. Pacjentki z dodatnim wynikiem hr-HPV a ujemnym barwieniem immunohistochemicznym mogą pozostawać pod dalszą obserwacją cytologiczną. W literaturze dostępne są dane o wysokiej ekspresji białka p16 przy braku infekcji wirusem hr-HPV. Dowodzi to istnienia jeszcze innego szlaku aktywacji p16 niezależnego od onkoproteiny E7.

Celem badania była ocena ekspresji białek p16, p21, p53 i Ki-67 oraz wirusa HPV w 18 przypadkach LSIL, 30 przypadkach HSIL, 9 rakach płaskonabłonkowych oraz 8 gruczolakorakach szyjki macicy. Do oceny ekspresji p16 zastosowano metodę immunohistochemiczną z wykorzystaniem przeciwciała CINtec® Histology Test Roche (*p16 CINTEC test*), Celem oceny ekspresji białek p53, p21 oraz Ki-67 zastosowano metodę immunohistochemiczną z użyciem odpowiednich typów przeciwciał. Do oceny obecności infekcji HPV zastosowano sondę GenPoint™ HPV DNA Probe Cocktail, Biotinylated (wykrywającą wiele podtypów onkogennych wirusa HPV, w tym typ 16 i 18). Odpowiednio użyto kontroli dodatnich i ujemnych.

Wykazano statystycznie istotnie wyższą ekspresję białek Ki-67, p16 oraz p21 w neoplazji śródnabłonkowej dużego stopnia oraz rakach płaskonabłonkowych i gruczolowych w porównaniu do grupy LSIL oraz grupy kontrolnej. W przypadku białka p21 ekspresja była nawet bardziej nasiloną niż w przypadku białka p16.

Stwierdzono znamioną ekspresję białka p53 w komórkach nabłonka płaskiego w neoplazji śródnabłonkowej dużego stopnia oraz części raków płaskonabłonkowych.

W przypadku raków płaskonabłonkowych wykazano wysoką ekspresję p16 (we wszystkich przypadkach) oraz obecność hrHPV u 6 z 9 pacjentek. Ponadto wykazano znamionnie wysoką ekspresję białka p53 oraz Ki-67.