УДК 616-003.972:616.33-006.6:616.12-008.331.1

С.В. Вернигородський, Л.В. Дегтярьова*
Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, *Інститут екологічної патології людини, м. Київ

КЛІТИННЕ ОНОВЛЕННЯ В ДІЛЯНКАХ КИШКОВОЇ МЕТАПЛАЗІЇ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ПРИ ПЕРЕДРАКОВИХ СТАНАХ

На основі імуногістохімічного аналізу гастробіопсій при хронічному атрофічному гастриті встановлені високий рівень проліфераційної активності епітелію (за Ki-67) та поява p53 в ділянках неповної кишкової метаплазії, що дозволяє виділити атиповий («гіперпроліферативний») варіант кишкової метаплазії СОШ. Запропоновано подальше застосування імуногістохімічних маркерів Ki-67 та p53 для скринінгу хворих з високим ризиком неопластичної трансформації СОШ.

Ключові слова: клітинне оновлення, кишкова метаплазія, слизова оболонка шлунка.

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Морфогенез та патоморфоз захворювань шлунково-кишкового тракту, сечостатевої, нейроендокринної та імунної системи», № державної реєстрації 0111U010551.

Порушення фізіологічної регенерації епітеліоцитів слизової оболонки шлунка (СОШ) є одним з центральних ланцюгів морфогенезу хронічного атрофічного гастриту (ХАГ). Дисрегенераційні зсуви при атрофії представлені підвищенням проліферативної активності ДНК-синтезуючих клітин ямкового та шийкового епітелію, зниженням швидкості їх диференціації в процесі постійного оновлення епітеліального шару. Це – основа розвитку кількісного дисбалансу між сполучнотканинними та залозистими структурами СОШ і функціональної недостатності останніх. Порушення координації між процесами проліферації та диференціювання епітеліоцитів при передракових змінах, зокрема при кишковій метаплазії (КМ), і особливості проліферації й апоптозу метаплазованого епітелію СОШ у порівнянні з неметаплазованим можуть допомогти у прогнозуванні хвороби, визначенні ризику малігнізації.

Враховуючи відомості про те, що розвиток хронічного гелікобактерного гастриту завжди супроводжується порушенням клітинного оновлення СОШ [4], нами був вивчений стан проліферативної активності епітелію у хворих на ХАГ, асоційований з H.pylori, з і без КМ.

Як маркер проліферації нами був вибраний ядерний антиген Ki-67, оскільки він виявляється у всі активні фази клітинного циклу (G_1, S, G_2, та M), але відсутній у фазі спокою (G_0) [21]. Йому надається перевага відносно PCNA, який бере участь у репарації ДНК, що може відбуватися в G_0-фазі клітинного циклу. Зауважимо, що КМ потенційно з більшою імовірністю може містити генетичні поломки, а хибнопозитивний результат в цьому випадку досить імовірний.

Важливу роль у виникненні та подальшому розвитку пухлин відіграють порушення процесів апоптозу та активація внутрішньоклітинних сигнальних каскадів [15]. Білок p53 за нормальних умов бере участь в регуляції процесів розмноження клітин й апоптозу, а також ангіогенезу. Мутації гена p53, які спостерігаються більше ніж у 50% хворих на злоякісні пухлини, призводять до порушення цих процесів [20]. Крім того, у сигнальному шляху індукції апоптозу особлива роль належить білку Bcl-2. Цей протеїн поряд з іншими (наприклад, Bcl- xL, Mcl-1 тощо) виконує функцію захисту клітин від апоптозу шляхом інактивації проапоптотичних білків [16,22]. Численні клінічні спостереження останніх років переконливо доводять, що експресія білків p53 та Bcl-2 корелює з прогнозом перебігу ХАГ.

Для вивчення апоптозу епітеліоцитів СОШ в якості його маркера була вибрана каспаза-3, як ефекторна в каскаді каспаз, задіяних в апоптозі. Її активація означає незворотнє прямування клітини шляхом програмованої загибелі. Порушення координації між проліферацією та диференціюванням епітеліоцитів СОШ при передракових змінах (зокрема при КМ) вивчені недостатньо.

Метою роботи було встановлення особливостей клітинного оновлення СОШ при різних типах кишкової метаплазії у хворих на ХАГ.

Матеріал і методи дослідження. Обстежені 336 пацієнтів (192 (57%) чоловіків і 144 (43%) жінок), направлених в ендоскопічні відділення та кабінети для уточнення клінічного діагнозу. До основної групи хворих, яка підлягала динамічному спостереженню впродовж 6 років, увійшли 68 осіб з ХАГ із КМ із-за переважної асоціації останньої з цим захворюванням. У групі порівняння було дві підгрупи: перша включала 30 недужих на ХАГ без КМ, друга – 21 особу з морфологічно незміненою СОШ. Середній вік пацієнтів, що були обстежені в динаміці, склав (52,96±1,13) роки, середня тривалість захворювання на момент верифікації КМ – (2,6±0,63) роки.

В процесі фіброезофагогастродуоденоскопії та хромоендоскопії з 0,5% водним розчином метиленового синього виконували множинні біопсії (по 2 біоптата з тіла та антрального відділу шлунка та 1 з ділянки кута шлунка з урахуванням вимог модифікованої Сіднейської системи та з профарбованих ділянок СОШ) з наступним гістологічним вивченням біоптатів. Біопсійний матеріал фіксували у 10 % нейтральному формаліні і після загальноприйнятої обробки виготовляли парафінові блоки, а з них – зрізи 5–7 мкм завтовшки. Для визначення метапластичних змін СОШ використовували наступні методики: загальногістологічні (фарбування гематоксиліном й еозином та за ван Гізон), гістохімічні (забарвлення залозистим діаміном за Спайсером, орсеїном в поєднанні з альціановим синім, альдегід фуксином за Гоморі, альціановим синім при pH 1,0 та 2,5 в поєднанні з ШИК-реакцією).

Визначення персистенції H.pylori у СОШ проводилося швидким уреазним тестом, цитологічно за Папенгеймом та гістологічно – забарвленням за Романовським-Гімзою і толуїдиновим синім.

Схеми антигелікобактерної терапії базувалися на міжнародних рекомендаціях [14]. Контроль ерадикації виконувався через 4 тижні від закінчення лікування трьома методами: цитобактеріоскопією, уреазним тестом та гістологічним дослідженням. Аналогічними методами виключали ймовірність повторного інфікування через 1–6 років після ерадикації. Імуногістохімічні дослідження виконували на парафінових зрізах з використанням стрептавідин-біотинового методу ("DAKO", Данія, LSAB2 Systems, HRP). Проліферативну активність клітин оцінювали за допомогою мишачих моноклональних антитіл до ядерного антигену Ki-67 ("DAKO", клон MIB-1, Данія), як найчутливішого маркеру проліферації за методом T. Scholzen et al. [21]. Каспазу-3 виявляли за допомогою CPP32 (Novocastra). В препаратах при 400-кратному збільшенні мікроскопа визначали індекс проліферації (ядерна мітка Ki-67) та індекс апоптозу (перинуклеарна або цитоплазматична мітка CPP32 – каспаза-3) у 5 випадково вибраних полях зору (≥500 клітин) як частку у відсотках позитивно забарвлених ядер епітеліоцитів СОШ в трьох компартментах (I – поверхневий та ямковий епітелій (ПЯЕ); II – перешийкова зона, III – основа залоз, середня та нижня їх третина до базальних відділів). Аналогічним чином визначали індекс мітки p53 – маркера пошкодження ДНК та Bcl-2 – супресора апоптозу.

Для оцінки наявності/відсутності і поширеності секреції муцинів епітеліоцитами СОШ в аналогічних ділянках використовувалася напівкількісна шкала щодо присутності позитивної гістохімічної реакції в клітинах: 0 – реакція відсутня, 1 – реакція слабка (до 30% позитивно реагуючих клітин), 2 –помірна (31–60% клітин), 3 – виражена (більше 60% забарвлених клітин) [5].

Результати дослідженнь та їх обговорення. При вивченні взаємозв'язків між структурними змінами в СОШ та маркуванням епітелію Ki-67 була виявлена тісна кореляційна залежність між цими показниками (r=0,82). У хворих на хронічний атрофічний гелікобактерний гастрит виявляється підвищена проліферація епітеліоцитів за Ki-67 у СОШ антрального відділу порівняно зі здоровими особами (0,578±0,056 проти 0,17±0,005 відповідно, p<0,001), що свідчить про суттєві порушення оновлення епітелію (табл. 1).

Таблиця 1

Проліферативна активність СОШ (за Ki-67) в обстежених осіб (M±m)

Показники	Зміни СОШ при ХАГ			Незмінена СОШ IV (n=21)
	атрофія I (n=30)	атрофія з ПКМ II (n=28)	атрофія з НКМ III (n=40)	
Індекс проліферації у H.pylori+ пацієнтів	0,578±0,056	0,62±0,07	0,83±0,02	0,17±0,005
$P_{I,II,III-IV}$	<0,001	<0,001	<0,001	
P_{I-II}	>0,05			
P_{II-III}		<0,05		
P_{I-III}			<0,05	
Індекс проліферації у H.pylori– пацієнтів	0,386±0,018	0,312±0,015	0,562±0,035	
$P_{(H.pylori+)-(H.pylori-)}$	<0,001	<0,001	<0,001	

Примітка. ПКМ – повна КМ; НКМ – неповна КМ.

Виявилось, що у H.pylori+ пацієнтів проліферативна активність СОШ за Ki-67 достовірно збільшується у всіх випадках ХАГ, як без КМ, так і з нею щодо здорових осіб з морфологічно незміненою СОШ. Крім того, вона прямопропорційно залежить (r=0,76) від присутності інфекції H.pylori.

В групі хворих з неповною кишковою метаплазією (НКМ), де індекс проліферації був найвищим (0,83±0,02), експресія Ki-67 спостерігалася як на рівні зони типового проліферативного компартмента епітелію СОШ (розташування перешийків залоз), так і в ямках та базальних відділах інтестинальних залоз. Проте маркування Ki-67 в ділянках з повною кишковою метаплазією (ПКМ) переважало саме в гермінативній зоні СОШ та, як правило, не розповсюджувалося на ямки (рис. 1).

В ділянках раку шлунка спостерігали слабку кон'югацію антитіла в помірно диференційованих аденокарциномах та негативну – в низькодиференційованій (рис. 2).

При НКМ ми виявили позитивні кореляційні зв'язки між активністю запалення та інтенсивністю проліферації епітелію СОШ (r=0,62) і ступенем контамінації H.pylori антрального відділу шлунка (r=0,59), що у свою чергу може слугувати підтвердженням етіологічної ролі H. pylori у розвитку ХАГ з НКМ. Отже, зміни життєвого циклу епітеліоцитів у бік активації розмноження під впливом H. pylori призводять до затримки диференціації, тобто, до порушення клітинного оновлення СОШ та її структурної дезорганізації.

Тож отримані результати доводять участь H.pylori у канцерогенезі через розвиток ХАГ як передракового стану шлунка – першої сходинки його багатоетапного еволюційного каскаду. Враховуючи викладене, доцільно рекомендувати хворим на хронічний гелікобактерний гастрит проводити стандартну ерадикаційну терапію.

Маркування білків p53 та Bc1-2 за результатами нашого дослідженення було виявлене лише в поодиноких клітинах СОШ. В ділянках як ПКМ, так і НКМ експресія Bc1-2 не спостерігалась, що свідчить про інертність протиапоптотичних механізмів і реалізацію програми апоптозу в СОШ без задіяння генетично детермінованого шляху її активації [13]. Зазначимо, що експресія Bc1-2 загалом не є характерною для шлункового епітелію, оскільки оновлення в СОШ відбувається досить швидко і забезпечення тривалого «виживання» клітин тут не є необхідним. Маркування Bc1-2 відзначалось лише в клітинах запального інфільтрату (рис. 3) та лімфатичних фолікулах.

Слабка експресія Bcl-2 була виявлена в 11% хворих на помірно диференційовану аденокарциному (рис. 4). Експресію білка p53 відзначали лише у випадках НКМ у 27% хворих на ХАГ з КМ (рис. 5) та у 12 % недужих на ХАГ без КМ але з важким ступенем дисплазії епітелію. При раках СОШ маркування p53 виявляли переважно в низькодиференційованих аденокарциномах у 29% хворих (рис. 6). Експресія каспази-3 (за CPP32) була виявлена в ПЯЕ переважно прилеглих до КМ відділів СОШ й ентероцитах ділянок КМ. Здебільшого вона реєструвалась в зонах саме НКМ та диспластично зміненого епітелію (рис. 7).

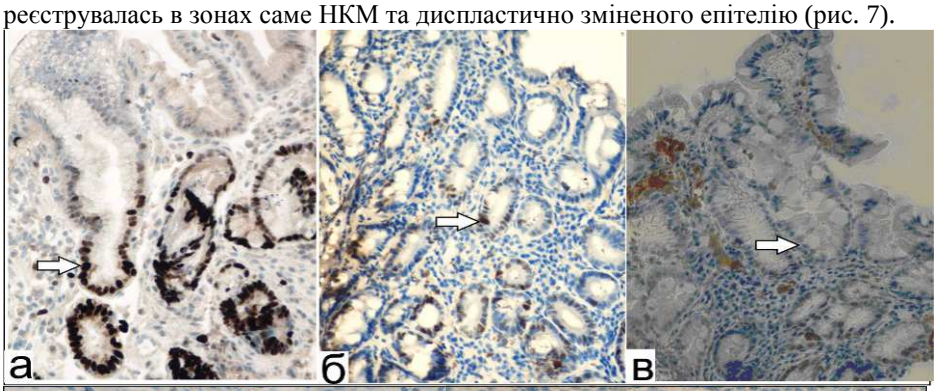

Рис. 1. Експресія Ki-67 (стрілки) у хворих на ХАГ з КМ: помірна (а) при НКМ у H.pylori+ пацієнта; слабка (б) та негативна (в) – при ПКМ у H.pylori– пацієнта. ІГХ-маркування Ki-67; х200.

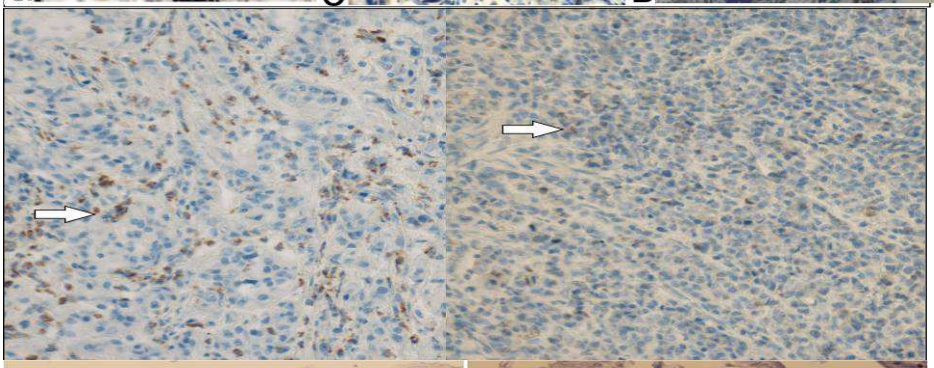

Рис. 2. Слабка експресія Ki-67 в ядрах клітин помірно диференційованої аденокарциноми (а, стрілка) та негативна – низькодиференційованої (б, стрілка). ІГХ-маркування Ki-67; а, б – х400.

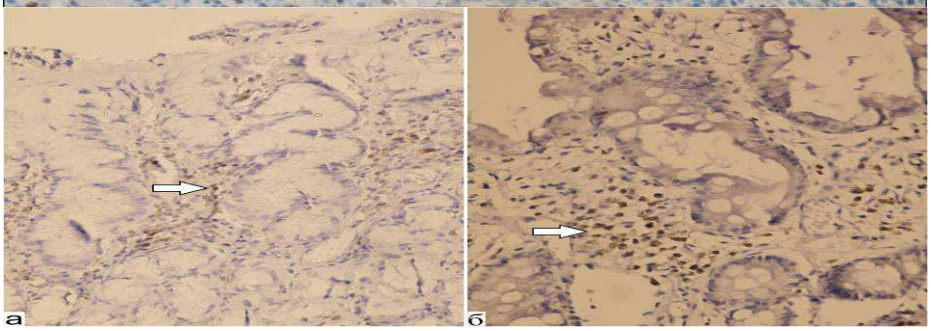

Рис. 3. Негативна експресія Bcl-2 в ядрах шлункових епітеліоцитів (а), абсорбційних та келихоподібних клітин в ділянках КМ (б) при ХАГ; слабка і помірна експресія в клітинах запального інфільтрату власної пластинки СОШ (а,б – стрілки). ІГХ-маркування Bcl-2; а – х200, б – х400.

У випадках з аденокарциномами спостерігали слабку експресію у помірно диференційованих пухлинах та помірну – в низькодиференційованих (рис. 8). У випадках же перснеподібного раку експресія CPP32 була негативною. Порівняльний аналіз наявності каспази-3 в ділянках ПКМ та НКМ свідчить про більшу афінність її маркера (CPP32) до абсорбційних ентероцитів при НКМ (табл. 2). Водночас, ПЯЕ прилеглих до КМ ділянок СОШ також помірно реагує з CPP32. Маркування інших епітеліальних клітин не має різниці при різновидах КМ.

Таблиця 2

Експресія рецепторів каспази-3 до CPP32 в епітеліоцитах СОШ хворих на ХАГ з КМ

Епітеліоцити / Тип КМ	ПЯЕ	ШМ	ГЕ	ПЕ	ПлЕ	КЕ	СЕПО
ПКМ	++	+	–	+	–	–	+
НКМ	++	+	–	+	–	–	++

Примітка: ПЯЕ – поверхневі епітеліоцити ямок та валиків, ШМ – шийкові мукоцити, ГЕ – головні екзокриноцити, ПЕ – парієтальні екзокриноцити, ПлЕ – пілорічні екзокриноцити, КЕ – келихоподібні екзокриноцити, СЕПО – стовпчасті епітеліоцити з посмугованою облямівкою (абсорбційні); експресія слабка – (+), помірна – (++), виражена – (+++), відсутня – (–).

Таким чином, в нашому дослідженні ми не спостерігали помітної активації протиапоптотичних механізмів (за експресією Bcl-2) в епітеліоцитах СОШ, що опосередковано може вказувати на відсутність посиленого апоптозу в СОШ, заявленого в роботах деяких авторів [10, 11]. Наші дані співпадають з такими van Grieken C.T. й інш., де відзначався досить низький рівень апоптозу у зонах КМ (або навіть його відсутність), попри високий – у суміжних з КМ ділянках СОШ [12]. Виявлена нами помірна експресія CPP32 (вказує на активність каспази-3 і неминучість апоптозу) в ПЯЕ, який межує із зонами КМ, свідчить про пошкодження

шлункового епітелію і загибель клітин без задіяння генетично детермінованого шляху активації останньої. Виникнення КМ є відповіддю на альтерацію.

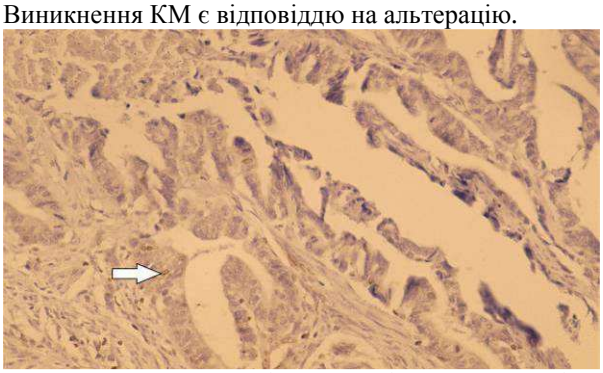

Рис. 4. Слабка експресія Bcl-2 (стрілка) в ядрах помірно диференційованої аденокарциноми. ІГХ-маркування Bcl-2; х400.

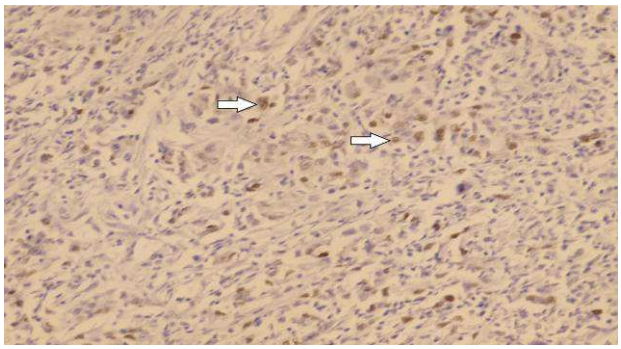

Рис. 6. Помірна експресія p53 (стрілки) в ядрах низькодиференційованої аденокарциноми. ІГХ-маркування p53; х400.

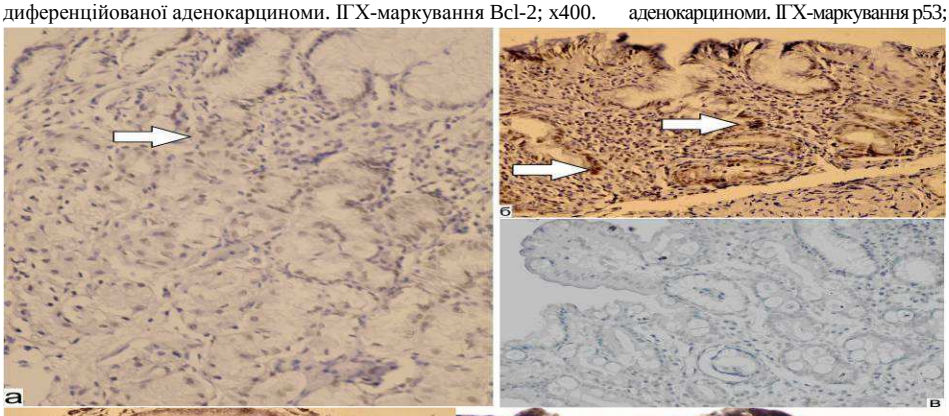

Рис. 5. Експресія p53 (стрілки) у СОШ при ХАГ з КМ: помірна – в ядрах стовпчастих епітеліоцитів ділянок НКМ (а) та клітин пілоричних залоз (б), негативна – в ділянках з ПКМ (в). ІГХ-маркування p53; а, в – х200, б – х100.

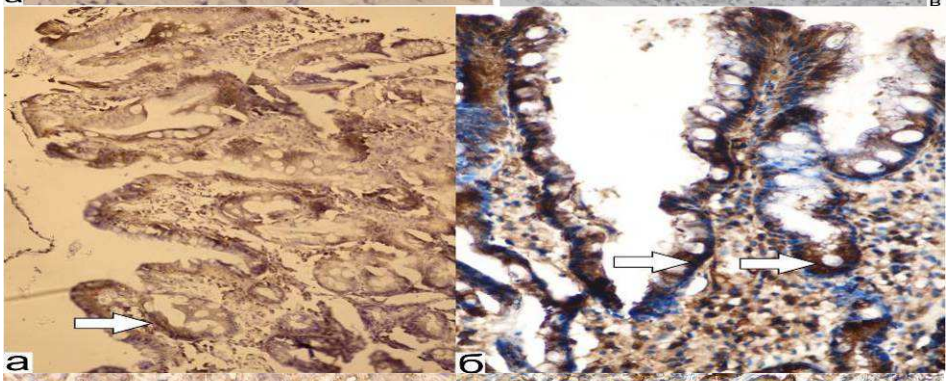

Рис. 7. Помірна експресія каспази-3 (стрілки) в ділянці НКМ у хворого на ХАГ. ІГХ-марк-ня CPP32; а – х100, б – х200.

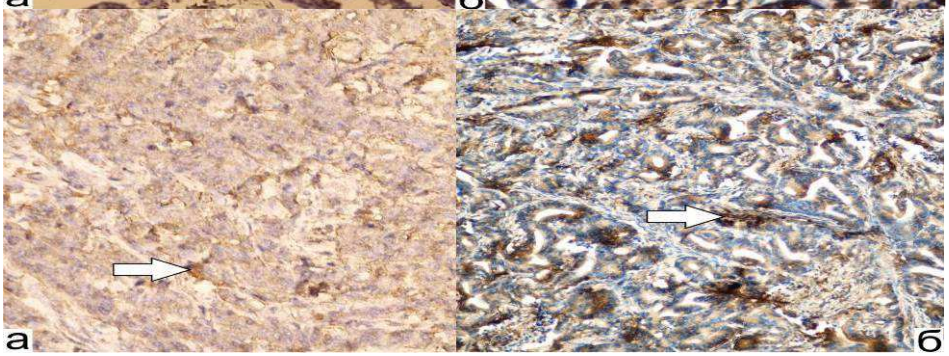

Рис. 8. Слабка (а, стрілка) та помірна (б, стрілка) експресія CPP32 в помірно (а) та низькодиференційованій (б) аденокарциномі. ІГХ-маркування CPP32; а – х200, б – х100.

У мононуклеарному запальному інфільтраті власної пластинки СОШ розподіл імуногістохімічних міток мав певні особливості. Персистенції його в антральному відділі очевидно сприяв невисокий рівень активації ефекторних каспаз апоптозу, (зокрема, каспази-3), низька та негативна експресієя Bcl-2 при мінімальній кількості Ki-67-позитивних клітин.

В лімфатичних фолікулах експресія Ki-67 і каспази-3 відзначалася переважно в клітинах світлого центра, а Bcl-2 – в маргінальній зоні фолікула.

В групі H.pylori+ хворих на ХАГ без КМ рівень маркування каспази-3 в запальному інфільтраті СОШ був достовірно ($p<0,01$) нижче, ніж у H.pylori–пацієнтів. Проте при ХАГ з НКМ він достовірно ($p<0,01$) підвищувався в ділянках СОШ, прилеглих до зон метаплазії та не змінювався навіть після успішної ерадікації інфекції. Рівень Bcl-2 в запальному інфільтраті залишався незмінним у всіх досліджених групах, що дає

підставу вважати, що експресія Bcl-2 у лімфоцитах підтримується на постійному рівні, забезпечуючи їх «виживання», і під дією антигенної стимуляції не змінюється.

Ефект ерадикації, оцінений з позицій імуногістохімічних змін у клітинах запального інфільтрату, відповідає уявленням про те, що персистенція останнього при відсутності інфекта триває ще до півроку і, навіть, більше [18]. Цей феномен «самостійного» існування запальної інфільтрації СОШ отримав назву ex-H.pylori-гастрит [21]. Саме з таким постерадикаційним станом пов'язаний прогноз захворювання [1].

Імовірно, тривала персистенція мононуклеарного запального інфільтрату при ХАГ з НКМ, яка постійно підтримується наявністю H.pylori, з часом призводить до істинної втрати залозистого епітелію і розвитку власне атрофії. При цьому, на певному етапі захворювання рекрутування мононуклеарів і їх локальна проліферація у власній пластинці стають відносно незалежними від безпосередньої присутності інфекта на поверхні СОШ і зберігаються навіть у разі його успішної ерадикації. Це забезпечується низьким рівнем експресії каспази-3 в клітинах мононуклеарного запального інфільтрата, який не змінюється і після ерадикації. Ймовірно також, що популяція лімфоцитів тривалий час може підтримуватися антигенним стимулом за рахунок можливої аберантної експресії антигенів H.pylori непрофесійними антигенпрезентуючими клітинами [1]. У вогнищах дисплазії та НКМ при атрофії СОШ реєструється поява p53, причому його рівень при III типі КМ достовірно вищий, ніж при II, що, можливо, відображає пухлинний потенціал першого.

Виявити зворотний розвиток атрофічних змін СОШ з відновленням обсягу залоз після успішної ерадикації H.pylori нам не вдалось, на відміну від van Grieken N.C. зі співавт. та Larkin C. J. зі співавт., які спостерігали зазначений ефект через 12 місяців після проведеної терапії [7, 19]. Очевидно, приблизно у такий термін відбувається регресія запального інфільтрату і значно зменшуються апоптозактивуючі сигнали. Таким чином, зворотний розвиток атрофічних змін у СОШ визначається не стільки ерадикацією інфекта, скільки часом постерадикаційного існування екс-гелікобактерного гастриту.

При поєднанні атрофії та КМ (метапластичній атрофії) виявлені найвираженіші порушення клітинного оновлення СОШ. Встановлено достовірне підвищення проліферації епітеліоцитів у ділянках НКМ щодо оточуючої неметаплазованої СОШ ($p<0,001$) і незалежно від різновиду (II чи III тип) НКМ, де цей показник практично не відрізнявся. Водночас, відзначали різке зниження та відсутність апоптозу та позитивну експресію p53 в ділянках НКМ. Вищий рівень апоптозу (за CPP32) у неметаплазованому епітелії є свідченням й одночасно причиною прогресії атрофії, тобто незворотної редукції клітин. Цей факт загальновідомий [7, 19]. Високий же рівень проліферації в осередках НКМ (як і ПКМ) пояснює розповсюдження метаплазії в СОШ при атрофії, причому для НКМ розповсюдженість має пряму кореляційну залежність від ступеня атрофії [6, 9].

Поява та збільшення експресії p53, як маркера генетичного пошкодження, в ділянках НКМ при низькому рівні апоптозу може свідчити як про ефективність систем репарації структури ДНК для збереження та існування клітини, так і про відхід клітин від апоптозу, що пов'язане насамперед з імовірною появою клону клітин з мутантним p53. Так, Shiao Y.H. зі співавт. виявили у вогнищах КМ, крім значної продукції p53, пошкоджені структури гена p53 у 37,5% випадків КМ [17].

Поява функціонально неактивного індуктора апоптозу p53 є значимою молекулярно-біологічною передумовою виникнення клона клітин із суттєвими генетичними пошкодженнями, які не підлягають апоптозу.

Позитивна експресія p53 та високий рівень проліферацийної активності епітелію в ділянках НКМ зі значним поліморфізмом келихоподібних екзокриноцитів (КЕ) та стовпчастих епітеліоцитів (СЕ), що добре визначається при світловій мікроскопії, уможливлює виокремлення атипового, т.зв. «гіперпроліферативного» типу КМ, який гістохімічно відповідає НКМ з дисплазією епітелію. Натомість простий тип КМ характеризується низьким рівнем проліферації епітеліоцитів, їх кишковим фенотипом і відсутністю дисплазії КЕ та СЕ. Отримані нами результати співпадають з даними Y. Zheng et al., які вперше запропонували виділення атипової КМ [8]. Цікаво, що рівень експресії p53 з урахуванням використаних нами антитіл до дикого і мутантного його варіантів може бути опосередкованим маркером, давності пошкодження ДНК: високий рівень експресії характерніший для довгоживучого мутантного варіанту (з великим періодом напіврозпаду щодо дикого), асоційованого з накопиченням мутацій і формуванням «стартової площадки» пухлинного росту. Проте, усі проаналізовані випадки атрофічного пангастриту оцінити як факультативний передрак не можна через високу неоднозначність показників клітинного оновлення епітелію СОШ. При атрофічному пангастриті виявляється високий рівень експресії не лише p53 і маркера проліферації Ki-67, але й каспази-3 – ефекторного ферменту апоптозу. Тож, імовірність «стартової площадки» для неоплазії можна передбачити при тих випадках атрофічного процесу, коли високий темп проліферації і наявність пошкоджень ДНК (експресія p53) супроводжуються порівняно низьким рівнем апоптозу метаплазованого епітелію.

Встановлена послідовність молекулярно-біологічних змін, що призводять до метаплазії свідчить про те, що атрофія СОШ тісно поєднана з метаплазією. При атрофічному мультифокальному гастриті з'являються вогнища проліферуючого метапластичного епітелію – «проліферативна» метапластична атрофія. При атрофічному пангастриті така метапластична атрофія домінує і поєднується з наростанням експресії p53 в метаплазованому епітелії. Імовірно, умови «стартової площадки» пухлинного росту при атрофічному пангастриті реалізовані тільки у тих випадках неповної кишкової метаплазії, в яких високі показники проліферації і пошкодження ДНК співпадають з низьким рівнем апоптозу.

Таким чином, біологія епітеліоцитів при КМ залежить не тільки від її типу, а й значно від характеру фонового процесу в СОШ. Виходячи з цього, диференційований підхід до феномену КМ, цікавий не просто з

наукової точки зору, а є фундаментальним щодо розробки методичних засад прогнозування та лікування хворих з КМ СОШ.

Висновки

1. При хронічному неатрофічному H.pylpori-асоційованому гастриті збільшується темп оновлення епітелію СОШ (збільшення експресії каспази-3 і маркера проліферації Ki-67) з розширенням проліферацийного компартмента і зон апоптозу. Ерадикація інфекції спричинює зниження проліферацийної активності й апоптозу епітеліоцитів СОШ. При атрофічному ж гастриті процеси апоптозу залишаються домінуючими і після видалення інфекту, а поява НКМ супроводжується активацією процесів розмноження епітелію.
2. При ПКМ, як правило, відмічається зміщення зони проліферації до дна залозистих структур, де розташовувалась більшість Ki-67-позитивних клітин. Це повністю відповідає переходу диференціювання епітелію на варіант, характерний для кишківника з розташуванням проліферацийного компартмента в крипті. При НКМ (і II, і III типів) виділити проліферацийну зону як чітко окреслену щодо мічених клітин неможливо, оскільки Ki-67-позитивні епітеліоцити зустрічалються в усіх відділах залоз.
3. Експресія Ki-67 та p53 КЕ та СЕ при НКМ була достовірно вищою, порівняно з абсорбційними епітеліоцитами при ПКМ в антральному відділі шлунка, при цьому між II і III типами НКМ відмінностей виявлено не було.
4. Після успішно проведеної ерадикаційної терапії атрофічні зміни СОШ не піддаються зворотному розвитку, а регресія мононуклеарного запального інфільтрату сповільнена, про що свідчать низький рівень каспази-3 і високий – Ki-67 в мононуклеарних клітинах.
5. Високий рівень Ki-67, експресія p53, значний поліморфізм КЕ та СЕ дозволяють виокремити атиповий «гіперпроліферативний» варіант КМ. В Міжнародній Падуанській класифікації гастроінтестинальних неоплазій (дисплазій) подібні зміни віднесені до категорії пограничних (варіант невизначеної неоплазії /дисплазії).
6. Тривала персистенція запалення з підтриманням апоптозу епітеліоцитів може бути однією з причин атрофії СОШ.
7. У зв'язку з формуванням уявлень про атрофію як процес зменшення кількості спеціалізованих клітин СОШ, що може бути внаслідок заміни їх метапластичним епітелієм, ми вважаємо за доцільне виділити поняття «метапластична атрофія».

Перспективи подальших досліджень. *Механізми, що перешкоджають зворотному розвитку атрофії СОШ, найімовірніше, зумовлені трансформацією фенотипу епітеліоцитів на такий, що менш спроможний до апоптозу. Вивчення патогенетичних ланок регресії атрофії, виділення важливих чинників впливу на неї потребують подальших досліджень. Внесення до класифікації ХАГ його метапластичного варіанту, атипової («гіперпроліферативної») форми КМ дозволить виділити групу ризику щодо хворих на ХАГ для подальшого спостереження і лікування з метою попередження неопластичної трансформації СОШ при прередракових станах.*

Література

1. Морфология поверхностного и атрофического гастрита В при эрадикации Helicobacter pylori / А.В. Кононов [и др.] // Архив патологии. – 2005. – Т. 67, №5. – С. 17-21.
2. Фадєєнко Г.Д. Атрофічний гастрит: механізми виникнення, окремі питання діагностики та оборотності розвитку / Г.Д. Фадєєнко, К.О. Просоленко, Т.А. Соломенцева // Сучасна гастроентерологія. – 2007. – № 2. – С. 8-13.
3. Acute measles gastric infection / M. Vieth [et al.] // Am. J. Surg. Pathol. – 2001. – V. 25(2). – P. 259-62.
4. Apoptosis and proliferation in Helicobacter pylori-associated gastric intestinal metaplasia / W. Leung, J.Yu., K.F.To [et al.] // Alimentary Pharmacology & Therapeutics. – 2001. – V. 15, № 9. – P. 1467-1472.
5. Cassaro M. 2000 Topographic patterns of intestinal metaplasia and gastric cancer / M. Cassaro [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2000. – V. 95, № 6. – P. 1431-8.
6. Cassaro M. Indefinite for non-invasive neoplasia lesions in gastric intestinal metaplasia: the immunophenotype / M. Cassaro, M. Rugge, C.Tieppo [et al.] // J. Clin. Pathol. – 2007. – V. 60. – P. 615-621.
7. Gastric corpus atrophy following eradication of Helicobacter pylori / C. J. Larkin [et al.] // European Journal of Gastroenterology & Hepatology – 2001. – V. 13(4) – P. 377-82.
8. Expression of p53, c-erbB-2 and Ki67 in intestinal metaplasia and gastric carcinoma / Zheng Y. // World J. Gastroenterol. – 2010. – V. 16. – P. 339-344
9. Guarner J. Gastric atrophy and extent of intestinal metaplasia in a cohort Helicobacter pyloriinfected patients / J. Guarner, R. Herrera-Goepfert, A. Mohar // Hum. Pathol. – 2001. – V.32. – P. 31-35.
10. Induction of gastric epithelial apoptosis by Helicobacter pylori / S.F. Moss [et al.] // Gut. – 1996. – V. 38. – P.498-501.
11. Involvement of the CD95 (APO-1/Fas) receptor and ligand system in Helicobacter pylori-induced gastric epithelial apoptosis / J. Rudi, D. Kuck, S. Strand, [et al.] // J. Clin. Invest. – 1998. – V.102. – P.1506-14.
12. Increased apoptosis in gastric mucosa adjacent to intestinal metaplasia / van Grieken C.T. [et al.] // J. Clin. Pathol. – 2003. – V.56. – P. 358-362.
13. Maeda S. Analysis of apoptotic and antiapoptotic signalling pathways induced by Helicobacter pylori / S. Maeda, H. Yoshida, Y. Mitsuno [et al.] // Mol. Pathol. – 2002. – V . 55 (2). – P. 286-293.
14. Malfertheiner P. Guidelines for the Management of Helicobacter Pylori Infection – Summary of the Maastricht-3 2005. Consensus Report / Malfertheiner P., Mégraud F., O'Morain C. // Business Briefing: European Gastroenterology Review. – 2005. – P. 59-62.
15. Molecular-pathological prognostic factors of gastric cancer: a review / W. Yasui [et al.] // Gastric. Cancer. – 2005. –V. 8. – P. 86-94.
16. Mitochondria primed by death signals determine cellular addiction to antiapoptotic BCL-2 family members / Michael Certo [et al.] // Cancer Cell. – 2006. – V. 9, Issue 5. – P. 351-365.
17. p53 alteration in gastric precancerous lesions / Y.H. Shiao [et al.] // Am. J. Pathol. – 1994. – V. 144(3). – P. 511-517.
18. Pre and post eradication gastric inflammation in Helicobacter pylori-associated duodenal ulcer / D. Kumar [et al.] // Indian J. Gastroenterol. – 2002. – V. 21(1). – P. 7-10.
19. Quantitative assessment of gastric antrum atrophy shows restitution to normal histology after Helicobacter pylori eradication /van Grieken N.C. [et al.] // Digestion. – 2004. – V. 69(1). – P. 27-33.

20. Sigal A. Oncogenic mutations of the p53 tumor suppressor: the demons of the guardian of the genome / A. Sigal, V. Rotter // Cancer Res.– 2000. – V. 60. – P. 6788-6793.
21. The Ki-67 protein interacts with members of the heterochromatin protein 1 (HP1) family: a potential role in the regulation of higher-order chromatin structure / T. Scholzen, E. Endl, C. Wohlenberg [at el.] // J. Pathol. – 2002. – V. 196. – P. 135-144.
22. Thomenius M.J. Distelhorst C.W. Bc12 on the endoplasmic reticulum protecting the mitochondria from a distance / M.J. Thomenius, C.W. Distelhorst // J. Cell. Sci. – 2003. – V. 116. – P. 4493-449.

Реферати

КЛЕТОЧНОЕ ОБНОВЛЕНИЕ В УЧАСТКАХ КИШЕЧНОЙ МЕТАПЛАЗИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА ПРИ ПРЕДРАКОВЫХ СОСТОЯНИЯХ

Вернигородский С.В., Дегтярева Л.В.

На основе иммуногистохимического анализа гастробиопсий при хроническом атрофическом гастрите установлены высокий уровень пролиферативной активности эпителия (Ki-67) и появление p53 в участках неполной кишечной метаплазии, что позволяет выделить атипичный («гиперпролиферативный») вариант кишечной метаплазии СОЖ. Предложено дальнейшее применение иммуногистохимических маркеров Ki-67 и p53 для скрининга больных с высоким риском неопластической трансформации СОЖ.

Ключевые слова: клеточное обновление, кишечная метаплазия, слизистая оболочка желудка.

CELL RENEWAL IN THE AREAS OF INTESTINAL METAPLASIA OF THE GASTRIC MUCOSA IN PRECANCEROUS CONDITIONS

Vernigorodskiy S.V., Degtyaryova L.V.

The high proliferative activity of the epithelium (Ki-67) and the appearance of p53 in the areas of incomplete intestinal metaplasia were established on the basis of immunohistochemical analysis of gastrobiopsies of patients with chronic atrophic gastritis, which allows to emphasize the atypical ("hyperproliferative") type of intestinal metaplasia of the gastric mucosa. The further using of immunohistochemical markers Ki-67 and p53 for screening patients with high risk of neoplastic transformation of gastric mucosa was proposed.

Key words: cell renewal, intestinal metaplasia, gastric mucosa.

Стаття надійшла 30.10.2012 р. Рецензент проф. Гасюк А.П.

УДК 611. 351

О.Я. Вітенок, Ю.Є. Роговий
Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

ОРГАНОМЕТРИЧНІ ПАРАМЕТРИ ПРЯМОЇ КИШКИ В ПЕРИНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ОНТОГЕНЕЗУ ЛЮДИНИ

Проведено морфометричне дослідження прямої кишки на 53 препаратах трупів 4-10-місячних плодів. Виявлено два періоди прискорення (на 5-му і 8-10-му місяцях) і два періоди відносного сповільнення (на 6-му і 7-му місяцях) у розвитку прямої кишки. У період сповільненого розвитку у 7-місячних плодів довжина і ширина надампулярної частини прямої кишки та тім'яно-п'яткова довжина зв'язані між собою вірогідною багатофакторною регресійною залежністю, що відображає синергізм біосинтетичних процесів між цими структурами.

Ключові слова: пряма кишка, морфометрія, плід, людина.

Робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи Буковинського державного медичного університету "Закономірності перинатальної анатомії та ембріотопографії. Визначення статево-вікових особливостей будови і топографоанатомічних взаємовідношень органів та структур в онтогенезі людини" (№ 01100003078).

За останні роки науковці світу почали зосереджувати увагу на питаннях хірургічної тактики при лікуванні природжених вад у новонароджених дітей. Особливу увагу приділяють своєчасній перинатальній діагностиці, яка дозволяє визначити тактику введення вагітності [6].

Частота аноректальних аномалій становить 1 на 3500 пологів, у половині випадків виявляються асоційовані вади розвитку [8-10]. Незважаючи на певні успіхи дитячої хірургії, процент незадовільних наслідків після хірургічного лікування аноректальних вад зберігається високим [11, 12]. Питання термінів хірургічного втручання та його техніки при різних формах природжених вад прямої кишки (ПК) дискутується й досі [4, 7].

З'ясування закономірностей органогенезу людини набуває на сьогоднішній день істотного клінічного значення, оскільки знання типової і варіантної анатомії органів або структур необхідні для інтерпретації норми і патології. Все це відіграє вирішальну роль у профілактиці перинатальної патології [1, 5]. Відомості про синтопічні кореляції між анатомічними частинами ПК та тім'яно-п'ятковою довжиною (ТПД) в перинатальному періоді онтогенезу людини сприятимуть розумінню механізмів їх нормального формоутворення і становлення топографії [2]. Для визначення особливостей процесів органогенезу ПК слід звернути особливу увагу на особливості органометричних параметрів у періоди її прискореного і сповільненого розвитку [3]. Водночас динаміка морфометричних змін між анатомічними частинами ПК та ТПД у перинатальному періоді досліджена недостатньо.

Метою роботи було встановлення хронологічної послідовності змін органометричних параметрів прямої кишки у плодів людини.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проведено на 53 препаратах трупів 4-10-місячних плодів. Поділ матеріалу на вікові групи проводили відповідно до класифікації періодів онтогенезу, ухваленої VII Всесоюзною конференцією з проблем вікової морфології, фізіології та біохімії (Москва, 1965), періодизації