



ЭКСПРЕССИЯ BCL 2 ПРИ НЕФРОБЛАСТОМАХ

Матрасулов Р.С.¹, Нишанов Д.А.², Аvezов А.У.³

Ташкентская медицинская академия¹, Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр онкологии и радиологии², Ургенчский филиал Ташкентской медицинской академии³

✓ Резюме

Нефробластома - высоко злокачественная эмбриональная опухоль, происходящая из развивающихся тканей почек. Это самое распространённое злокачественное новообразование мочеполового тракта у детей. Наиболее часто встречается в возрасте до 5 лет с одинаковой частотой у мальчиков и девочек, связь между возрастом матери и вероятностью родить ребенка с нефробластомой Вильмса, часто сочетается с врожденными аномалиями.

Ключевые слова: BCL 2 маркер; нефробластома; иммуногистхимия, нефробластома, нефробластома у детей, иммуногистохимия нефробластомы

EXPRESSION OF BCL 2 IN NEPHROBLASTOMAS

Matrasulov R.S.¹, Nishanov D.A.², Avezov A.U.³

Tashkent Medical Academy¹, Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Oncology and Radiology², Urgench branch of the Tashkent Medical Academy³

✓ Resume

Nephroblastoma is a highly malignant embryonic tumor originating from the developing tissues of the kidneys. It is the most common malignant neoplasm of the urinary tract in children. Most common before the age of 5 years with equal frequency in boys and girls, the relationship between maternal age and the likelihood of having a child with Wilms nephroblastoma is often associated with congenital anomalies.

Keywords: BCL 2 marker; nephroblastoma; immunohistochemistry, nephroblastoma, nephroblastoma in children, immunohistochemistry of nephroblastoma

NEFROBLASTOMALARDA BCL 2 EXPRESSIYASI

Matrasulov R.S.¹, Nishonov D.A.², Avezov A.U.³

Toshkent tibbiyot akademiyasi¹, Respublika ixtisoslashtirilgan onkologiya va radiologiya ilmiy-amaliy tibbiyot markazi², Toshkent tibbiyot akademiyasi Urganch filiali³

✓ Rezyume

Nefroblastoma - buyraklarning rivojlanayotgan to'qimalaridan kelib chiqadigan o'ta xavfli embrional o'smadir. Bu bolalarda siydik yo'llarining eng keng tarqalgan xavfli o'sma hisoblanadi. Ko'pincha 5 yoshgacha bo'lgan o'g'il va qiz bolalarda teng chastotada bolib, onaning yoshi va Wilms nefroblastomasi bilan bola tug'ilish ehtimoli o'rtasidagi bog'liqlik ko'pincha tug'ma anomaliyalar bilan bog'liq bo'ladi.

Kalit so'zlar: BCL 2 marker; nefroblastoma; immunohistokimyo, nefroblastoma, bolalarda nefroblastoma, nefroblastomaning immunohistokimyosi

Актуальность

Как свидетельствуют исследования последних лет, нефробластома является гетерогенным опухолевым заболеванием [2, 3]. Выявление всех новых и новых молекулярно-генетических и иммуногистохимических маркеров и их корреляций позволяет индивидуализировать тактику лечения больных [1]. Ключевыми белками, участвующими в управлении апоптозом, являются белки семейства BCL-2. Частота встречаемости экспрессии BCL2 составляет, по данным разных авторов, от 54,1 % до 75,7 % [9,10]. Некоторыми авторами проведены исследования по ассоциации BCL2+ с тем или иным молекулярно-биологическим подтипом нефробластомы. По данным у 70 % больных выявлено отсутствие экспрессии BCL2 (BCL2-), что коррелировало с высокой пролиферативной активностью опухоли [4]. Эти данные о достаточно низкой экспрессии BCL2 подтверждены и в других исследованиях, где, помимо низкого уровня экспрессии BCL2, [8,11]. Клинико-морфологическое исследование на материале 61 пациента выявило, что BCL2+ ассоциировано со возрастом, эпителиальным подтипом опухоли. При этом средний возраст больных BCL2+ достоверно выше, чем больных BCL2- [5]. Таким образом, данные литературы по частоте встречаемости и корреляции экспрессии BCL2 молекулярно-биологическими подтипами нефробластомы носят разрозненный характер [6,7].

Цель исследования: Проведение ретроспективных анализов и сопоставление накопленных за период работы лабораторных данных, полученных в результате иммуногистохимического исследования больных с нефробластомой.

Материал и методы

Всего в наше исследование было включено 123 случая нефробластомы. Во всех случаях проводили иммуногистохимию для оценки уровней экспрессии белков BCL 2.

Была изучена экспрессия маркеров BCL 2 в клетках нефробластомы у 82 пациента с различными молекулярно-биологическими подтипами с помощью иммуногистохимического метода. Иммуногисто-химическое исследование проводили на срезах с парафиновых блоков опухолей, предназначенных для стандартного морфологического исследования.

Парафинные срезы депарафинированы и регидратированы по стандартной методике. Демаскировку антигенов проводили в PT-Link Thermo. Протокол включал в себя предварительный нагрев до 65⁰ С, восстановление антигена в течение 20 минут при температуре 97⁰ С и дальнейшее охлаждение до 65⁰ С. Затем стекла промывались в течение 1–3 минут TBS-буфером (Dako) и помещались в автостейнер Thermo Scientific для окрашивания в автоматическом режиме. Для визуализации иммуногистохимической реакции использовали систему детекции Reveal Polyvalent HRP-DAB Detection System. Срезы докрашивали гематоксилином Майера, для заключения использовали бальзам Bio-Mount. Оценку результатов окрашивания проводили с применением светового микроскопа «Leica» (Германия) под увеличением x10, x20, x40. В исследовании применяли следующие критерии оценки маркеров: 1) опухоль считали отрицательной по BCL 2, если в ткани опухоли отсутствовала ядерная реакция с антителами или количество окрашенных клеток было менее 20 %, и положительной по BCL 2, если было окрашено более 20 % ядер опухолевых клеток. 2) опухоль считали отрицательной по BCL 2, если в ткани опухоли отсутствовала цитоплазматическая реактивность с антителами или количество окрашенных клеток было менее 23 %, и положительной по BCL 2, если было окрашено более 23 % опухолевых клеток. Распределение больных по биологическим подтипам осуществлялось на основании рекомендаций Панели экспертов St.Gallen (2013) и практических рекомендаций RUSSCO (2013). Статистический анализ результатов исследования проводился с помощью программы STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., США).

Результат и обсуждение

Из 82 пациентов у 38 (46,3%) был определен эпителиальный подтип, у 21 (25,6 %) – мезенхимальным подтип, у 23 – смешанный (28,1 %). Данные по экспрессии BCL 2 представлены в табл. 2.

Таблица 2

Экспрессия VCL 2 у больных с различными молекулярно-биологическими подтипами нефробластомы

	Эпителиальный (n = 38)	Мезенхимальный (n = 21)	Смешанный (n = 23)
экспрессия VCL 2	17 (44,7%) ¹	10 (47,6 %)* ¹	13 (56,5 %)*

Примечания:

* – различия достоверны в отношении эпителиального подтипа нефробластомы ($p \leq 0,05$)

¹ – различия достоверны в отношении мезенхимального подтипа ($p \leq 0,05$)

В каждом из исследованных случаев отмечалось положительное окрашивание антителами к VCL 2 инфильтрирующей опухоли, что являлось для нас внутренним положительным контролем. Среднее содержание опухолевых клеток, положительных по экспрессии VCL 2, в опухолях с эпителиальным подтипом составило $82,8 \pm 7,8$ %, где разброс находился в пределах от 60 % до 95 %. При мезенхимальном подтипе среднее содержание VCL 2 положительных опухолевых клеток составило $72,5 \pm 2,7$ %, где разброс находился от 60 % до 84 % клеток. Экспрессия VCL 2 отмечена в 61,9% случаев соответственно, у половины больных количество опухолевых клеток, окрашенных антителами к VCL 2, не превышало 30 %, у оставшихся больных в среднем составило 70 %. Обнаружены некоторые различия и в интенсивности окрашивания цитоплазмы опухолевых клеток в зависимости от молекулярного подтипа нефробластомы. Так, при эпителиальном подтипе, как правило, цитоплазма имела яркую или среднюю интенсивность окрашивания, при мезенхимальном подтипе у 12 из 21 позитивных случаев имели среднюю интенсивность окрашивания, у 4 – слабую и у 5 – цитоплазма была ярко окрашена антителами к VCL 2, при смешанном одинаково часто была отмечена интенсивность окрашивания слабая и средняя.

Таким образом, проведенное исследование экспрессии VCL 2 выявило закономерность снижения частоты позитивных случаев окрашивания цитоплазмы опухолевых клеток с изменением рецепторного статуса опухоли, а именно, снижение в несколько раз числа позитивных случаев при эпителиальных и смешанных подтипах нефробластомы.

Рассмотрев соотношение числа положительных случаев по экспрессии VCL 2 к случаям положительной экспрессии VCL 2, выявлено, что наименьшее соотношение (0,25) отмечено при эпителиальном молекулярном подтипе, когда при повышении доли опухолей положительных по экспрессии VCL 2 отмечено снижение числа опухолей, позитивно окрашенных антителами к VCL 2. Несколько выше этот показатель отмечен при смешанном и мезенхимальном подтипе, составив 0,44 и 0,62 соответственно.

Заключение

Таким образом, проведенное исследование подтвердило различие в уровне экспрессии рецепторов белков, участвующих в процессе апоптоза: VCL 2. Полученные результаты в большинстве своем не противоречат данным литературы. Однако, по нашим данным, уровень экспрессии VCL 2 при подтипах нефробластомы различен. Если при мезенхимальном подтипе он традиционно низкий, то при эпителиальном подтипе, наоборот, высокий. На наш взгляд, это объясняется прежде всего неоднородностью эпителиального подтипа. Высокий уровень экспрессии VCL 2 объясняет его снижение при смешанном. Этот же факт неоднородности мезенхимального подтипа объясняет и достоверное снижение экспрессии bcl-2 в эпителиальных опухолях по сравнению с мезенхимальным подтипом. Следовательно, полученные результаты предполагают дальнейшие исследования в этом направлении, с целью выявить более специфические различия в молекулярном портрете нефробластомы.

Пациенты с дополнительными копиями генов VCL 2 могут иметь тенденцию к неблагоприятному прогнозу, а обнаружение дополнительных копий VCL 2 может заслуживать большего внимания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Абрамов И.В., Фильченков А.А. Оценка параметров апоптоза в диагностике онкологических заболеваний, их прогнозе и оптимизации схем терапии. // *Вопр онкол* 2003;49:21–30.
2. Винокуров В.Л., Пожариский К.М., Жаринов Г.М. и соавт. Иммуногистохимические маркеры в качестве прогностических критериев в онкогинекологии. // *Вопр онкол* 2008; 4:463–470.
3. Гранов А.М., Винокуров В.Л. Лучевая терапия в онкогинекологии и онкоурологии. / СПб., 2002. 349 с.
4. Карамышева А.Ф. Ангиогенез опухоли: механизмы, новые подходы к терапии. Канцерогенез. Под ред. Д.Г. Заридзе. / М.: Медицина, 2004. С. 429–48.
5. Копнин Б.П. Опухолевые супрессоры и мутаторные гены. Канцерогенез. Под ред. Д.Г. Заридзе. / М.: Медицина, 2004. С. 125–56.
6. Петров С.В., Райхман Н.Г. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. Казань, 2000. 287 с.
7. Пожариский К.М., Леенман Е.Е. Значение иммуногистохимических методик для определения характера лечения и прогноза опухолевых заболеваний. // *Архив патол* 2000; 5:3–11.
8. Hale A.J., Smith C.A., Sutherland L.C. et al. Apoptosis: molecular regulation of cell death. // *Eur J Biochem* 1996;236(1):26.
9. Kokawa K., Shikone T., Otani T., Nakano R. Apoptosis and the expression of Bax and Bcl-2 in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the uterine cervix. // *Cancer* 1999; 85(8):1799–809.
10. Parkin D.M., Bray F., Ferlay J., Pisani P. Global Cancer Statistics 2002. // *CA Cancer J Clin* 2005; 55:74–108.
11. Prognostic Factors in Cancer. Edited by P. Hermanek, M.K. Gospodarowicz, D.E. Henson et al. Факторы прогноза в онкологии. Пер. с англ. под ред. В.Е. Кратенка. Минск: Белорусский центр научной медицинской информации, 1999. 332 с.

Поступила 09.08.2022

