

## **ВИЗНАЧЕННЯ ПРОЛІФЕРАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ ЕПІТЕЛІЮ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ПРИ ХРОНІЧНОМУ АТРОФІЧНОМУ ГАСТРИТІ**

*Коленченко О.О., Тимошенко А.С., Курик О.Г., Фалалеєва Т.М.  
ННЦ «Інститут біології та медицини», Київський національний університет  
імені Т.Г. Шевченка*

**Актуальність.** Хронічний атрофічний гастрит (ХАГ) — найбільш актуальна проблема сучасної гастроентерології. На сьогоднішній день доведено, що можливе прогресування хронічного хелікобактерного гастриту з атрофією слизової оболонки шлунка (СОШ), розвитком метапластичних і диспластичних змін у рак шлунка [5,8,9]. Відомо, що персистенція *Helicobacter pylori* у СОШ викликає інтенсивну та тривалу запальну реакцію. Запалення СОШ, індуковане *H.pylori*, супроводжується підвищенням проліферативного потенціалу і апоптозу, у зв'язку з цим змінюється експресія білків — маркерів апоптозу та проліферації [7,9]. Важлива роль у прогресуванні порушень клітинного гомеостазу СОШ належить маркеру проліферуючих клітин Ki-67, білку Bcl-2, що виконує функцію захисту клітин від апоптозу, і білку p53, що стимулює апоптоз. В нормі індекс проліферації значно вищий за індекс апоптозу. За таких умов зберігається рівновага між новоутворенням і загибеллю клітин. Переважання апоптозу над мітозами призводить до атрофії; недостатність апоптозу може призводити до гіперплазії і злоякісного росту [7].

Порушення клітинного оновлення є одним з механізмів канцерогенезу, тому визначення процесів проліферації та апоптозу у СОШ при ХАГ, зокрема при кишковій метаплазії, є важливим в плані прогнозування можливої малігнізації [1,2,5].

Рутинні методи обстеження в більшості випадків не забезпечують ранню діагностику та виявлення передракових змін СОШ в повному обсязі, тому на даний момент пошук більш чутливих та високоспецифічних методів, що базуються на виявленні клітинних маркерів проліферації та апоптозу в СОШ є актуальною темою. Дослідження експресії маркерів Ki-67, Bcl-2, p53 представлено в ряді робіт вітчизняних [1-4] та зарубіжних авторів [6,7,10.11], однак ці дані не завжди співпадають, особливо це стосується маркера Bcl-2. У більшості робіт визначення показників проліферативної активності і апоптозу проводиться в слизовій антрального відділу шлунка, і лише в поодиноких роботах ці показники враховуються у слизовій фундального відділу [4,6].

**Мета** роботи — визначити морфологічні показники порушення клітинного оновлення епітелію СОШ при хронічному атрофічному хелікобактерному гастриті.

**Матеріали і методи.** Досліджували гастробіоптати 50 пацієнтів — 30 з ХАГ з кишковою метаплазією і 20 пацієнтів з хронічним неатрофічним гастритом. Для дослідження обирали пацієнтів з гастритом як антрального відділу, так і тіла шлунка. Пацієнти були віком від 27 до 56 років (середній вік  $42,36 \pm 4,18$  років). Гастробіоптати отримували в процесі фіброгастроскопії по 2 біоптати з антрального відділу і тіла шлунка та 1 з ділянки кута шлунка згідно вимог модифікованої Сіднейської системи. Біопсійний матеріал фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну. Для проводки матеріалу після фіксації використовували гістопроектор карусельного типу

STP-120, для заливки парафінових блоків станцію EC-350, для різання парафінових блоків — ротаційний мікромом серії HM — 340E (Microm, Hamburg, Germany). Зрізи товщиною 4-5 мкм зафарбовували гематоксиліном-еозином та за Романовським-Гімзою для виявлення *H. pylori*. Використовували мікроскоп Axioskop 40 з фотокамерою AxioCam MRc5 (CarlZeiss).

Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження виконували на парафінових зрізах; проводили визначення експресії маркерів проліферативної активності Ki-67 (DAKO, SP6) та інгібітора апоптозу Bcl-2 (BCL-2 alpha Ab -1), а також системи візуалізації EnVision FLEX (DAKO) з діамінобензидіном (ДАБ). Оцінку результатів проводили при 400-разовому збільшенні мікроскопа. Кількість Ki-67 і Bcl-2 імунопозитивних ядер клітин підраховували у 5 випадково обраних полях зору як відношення площі з імунопозитивними клітинами до загальної площі клітин в полі зору (у %).

**Результати дослідження.** При хронічному неатрофічному гастриті з 20 досліджених випадків в 10 (50,0%) відзначалася наявність лімфоїдних фолікулів в стромі слизової шлунка; в 6 (30,0%) випадках гастрит був активним (1ступінь активності запального процесу). У 12 пацієнтів (60,0%) був визначений слабкий ступінь колонізації, у 6 (30,0%) — середній і у 2 (10,0%) — високий ступінь колонізації *H. pylori*. У групі хронічного гастриту з метапластичною атрофією з 30 випадків в 16 (54,4%) визначалася повна (тонкокишкова) метаплазія епітелію, в 7 випадках (23,3%) — неповна (товстокишкова), в 7 випадках (23,3 %) визначалося поєднання повної та неповної кишкової метаплазії. Активними були 12 випадків (40,0%) хронічного атрофічного метапластичного гастриту. Лімфоїдні фолікули в стромі спостерігалися в 11 (36,7%) біоптатів. У 8 (26,7%) випадках був діагностований слабкий ступінь колонізації, в 12 (40,0%) середній і в 10 (33,3%) — високий ступінь колонізації *H. Pylori*.

Експресія Ki-67 виявлена в ділянках шлечних відділів шлункових залоз — проліферативного компартмента. При хронічному неатрофічному гастриті відсоток імунопозитивних клітин склав в антральному відділі  $28,8 \pm 7,2$ ; в ділянці кута —  $30,6 \pm 6,4$ ; в тілі шлунка —  $26,8 \pm 8,3$ . При ХАГ з кишковою метаплазією — в антральному відділі —  $48,6 \pm 8,4$ , в ділянці кута —  $44,8 \pm 7,6$ , в тілі —  $46,2 \pm 6,8$  ( $p < 0,05$ ). Отже, проліферативна активність епітелію СОШ за даними експресії Ki-67 вірогідно збільшується у пацієнтів з атрофічним метапластичним гастритом у порівнянні з неатрофічним гастритом, що співпадає з даними досліджень більшості авторів [1-4, 6,7,11].

Експресія Bcl-2 при хронічному неатрофічному гастриті становила  $2,15 \pm 0,22$ ; в ділянці кута —  $1,98 \pm 0,14$ ; в тілі шлунка —  $1,86 \pm 0,32$ . При ХАГ з кишковою метаплазією експресія Bcl-2 склала в антральному відділі —  $18,62 \pm 2,4$ , в ділянці кута —  $16,86 \pm 2,60$ , в тілі —  $16,28 \pm 1,8$  ( $p < 0,05$ ). Таким чином, при ХАГ відмічається вірогідне зростання експресії білка Bcl-2 в епітелії СОШ у порівнянні з показниками при хронічному не атрофічному гастриті.

Отримані результати співпадають з даними ряда авторів [4,6] і проірачіть даним авторів, які не спостерігали помітної активації антиапоптичних механізмів за експресією Bcl-2 в епітеліоцитах СОШ, що опосередковано може вказувати на відсутність посиленого апоптозу в СОШ [1,2]. Наші дані узгоджуються з даними авторів, які відмічають, що при захворюваннях шлунка, асоційованих з *H.pylori* відмічається значне збільшення вектора проліферативної і антиапоптозної активності [4].

**Висновки.** При ХАГ показники експресії маркерів проліферації Ki-67 і інгібітору апоптозу Bcl-2 вірогідно перевищували такі при хронічному

неатрофічному гастриті як в антральному, так і в фундальному відділах, що свідчить про наявність порушень процесів клітинного оновлення при ХАГ, які в подальшому можуть призводити до розвитку раку шлунка.

Отримані дані дають можливість використовувати ці маркери як показники ризику розвитку передракових змін СОШ у пацієнтів з ХАГ.

### Література

1. Вернигородський С. В. Клітинне оновлення в ділянках кишкової метаплазії слизової оболонки шлунка при передракових станах /С.В.Вернигородський, Л.В.Дегтярьова // Світ біології і медицини. -2012. — №4. — С. 64-70.
2. Вернигородський С. В. Проліфераційна активність шлункового епітелію при хронічному атрофічному гастриті /С.В.Вернигородський // Biomedical and Biosocial Anthropology. -2014. — №23. — С. 187-191.
3. Зак М. Ю. Клітинне оновлення у слизовій оболонці шлунка у хворих на хронічний атрофічний гастрит / М.Ю. Зак // Сучасна гастроентерологія. — 2011. — №2(58). — С. 27-31.
4. Осадчук, А. М. Роль маркеров клеточного обновления (BCL-2, KI-67) и апоптоза эпителиоцитов в возникновении опухолевых заболеваний желудка, ассоциированных с Helicobacter pylori / А. М. Осадчук, М. А. Осадчук, И. М. Кветной // Клиническая медицина. — 2008. — Т. 86, № 5. — С. 33-38.
5. Akiyama J. Intestinal metaplasia subtype and gastric cancer risk/ Akiyama J. // J. Gastroenterol. Hepatol. — 2009. — № 24 (1). — P. 4-6.
6. Erkan G. Evaluation of apoptosis along with BCL-2 and Ki-67 expression in patients with intestinal metaplasia / G. Erkan, I. Gonul, U. Kandilci, A. Dursun // Pathol. Res. Pract. — 2012. — Vol. 208. — P. 89-93.
7. Hegazi A. P53 protein and Ki-67 expression in chronic gastritis patients with positive Helicobacter pylori infection / A. Hegazi, E. Hassan, K.A. El-Atrebi, H.T. El-Bassyouni // J. Genetic Eng. Biotechnol. — 2011. — Vol. 9 (1). — P. 73-76
8. Konturek P.C. Helicobacter pylori infection in gastric cancerogenesis / P.C. Konturek, S.J. Konturek, T. Brzozowski // J. Physiol. Pharmacol. — 2009. — Vol. 60(3). — P. 3-21.
9. Penta R. Helicobacter pylori and gastric epithelial cells: from gastritis to cancer/ R. Penta , M. De Falco, G. Iaquinto, A. De Luca // J. Exp. Clin.Cancer Res. — 2005. — Vol. 24, № 3.- P. 337-345.
10. Petersson F. Characterization of the gastric cardia in volunteers from the general population. Type of mucosa, Helicobacter pylori infection, inflammation, mucosal proliferative activity, p53 and p21 expression, and relations to gastritis/ F. Petersson, L. E. Franzjн, K. Borch.// Dig Dis Sci. - 2010. — Vol. 55(1). — P. 46-53.
11. Saf C. Assessment of p21, p53 expression, and Ki-67 proliferative activities in the gastric mucosa of children with Helicobacter pylori gastritis / C. Saf , E.M. Gulcan, F. Ozkan // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. — 2015. — Vol. 27(2). — P. 155-161.