

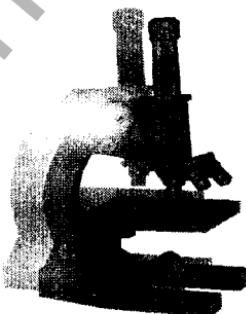
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

**УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
«ГОМЕЛЬСКОЕ ОБЛАСТНОЕ КЛИНИЧЕСКОЕ
ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКОЕ БЮРО»**

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ
МОРФОЛОГИИ**

**Материалы научно-практической конференции
с международным участием памяти профессора
Олега Анатольевича Голубева
(Гомель, 4–5 мая 2009 года)**



**Гомель
ГГМУ
2009**

Губернатор
Министр здравоохранения
с почетом
Олег Геннадьевич Голубев

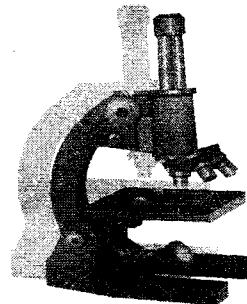
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
«ГОМЕЛЬСКОЕ ОБЛАСТНОЕ КЛИНИЧЕСКОЕ
ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКОЕ БЮРО»

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МОРФОЛОГИИ

Материалы научно-практической конференции
с международным участием памяти профессора
Олега Анатольевича Голубева
(Гомель, 4–5 мая 2009 года)



Гомель
ГГМУ
2009

УДК 616-091 : 576.3

Представлены материалы докладов научно-практической конференции с международным участием памяти профессора Олега Анатольевича Голубева.

Сборник посвящен актуальным вопросом экспериментальной и клинической морфологии.

Предназначен для врачей-патологоанатомов, судебных экспертов, онкологов, инфекционистов, невропатологов, терапевтов и врачей других специальностей, а также студентов медицинских вузов.

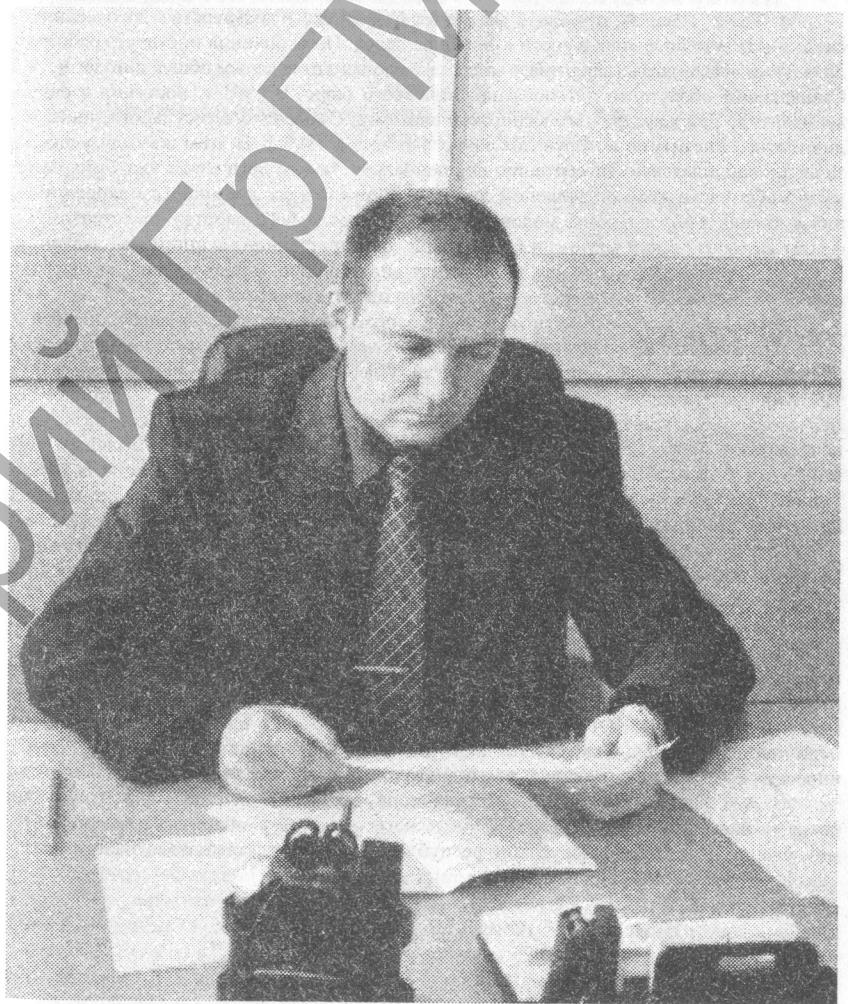
Редакционная коллегия: А. Н. Лызиков — доктор медицинских наук, профессор, ректор; В. П. Ситников — доктор медицинских наук, профессор, проректор по научной работе; А. Л. Калинин — д.м.н. доцент факультета медико-диагностического факультета; В. Я. Латышева — доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой неврологии, нейрохирургии и медицинской реабилитации и психиатрии; Е. И. Барановская — доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой акушерства и гинекологии; Э. С. Питкевич — доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии; Т. М. Шаршакова — доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой общественного здоровья и здравоохранения; С. Н. Бордак — кандидат филологических наук доцент, зав. кафедрой общественно-гуманитарных наук; В. Н. Бортновский — кандидат медицинских наук, доцент, зав. кафедрой общей гигиены, экологии и радиационной медицины; З. А. Дундаров — доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой хирургических болезней № 2 с курсом детской хирургии; И.А. Новикова — доктор медицинских наук доцент, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики; Т. С. Угольник — кандидат медицинских наук, доцент, зав. кафедрой патологической физиологии, Г. И. Вергейчик — кандидат медицинских наук, зав. отделом научно-медицинской информации.

Рецензенты: доктор медицинских наук, профессор А. И. Грицук, кандидат медицинских наук, доцент Л. А. Мартемьянова, кандидат медицинских наук, доцент Э. А. Надыров

УДК 616-091 : 576.3

© Учреждения образования
«Гомельский государственный
медицинский университет», 2009

Голубеву Олегу Анатольевичу
профессору, учителю, патологоанатому и Человеку посвящается



С уважением ученик О. А. Голубева
С. Н. Нимер

**Голубев Олег Анатольевич
(1965–2007)**

Доктор медицинских наук, профессор

В 1989 г. закончил лечебный факультет Смоленского государственного медицинского института по специальности «Лечебное дело». По окончании института работал в должности врача-патологоанатома, а затем заведующего отделением общей патологии № 2 Смоленского областного патологоанатомического бюро. В 1991 г. поступил в очную аспирантуру при кафедре патологической анатомии Смоленского государственного медицинского института, которую досрочно окончил в 1993 г. В этом же году успешно защитил кандидатскую диссертацию по специальности патологическая анатомия на тему «Особенности взаимоотношений сосудистого русла и его клеточного микроокружения в тканях фиброаденомы молочной железы», после чего работал ассистентом кафедры патологической анатомии Смоленской государственной медицинской академии. В 1994 г. назначен на должность заместителя директора по экспертизно-диагностической работе первого в СНГ Смоленского областного института патологии.

С 1995 г. — главный внештатный патологоанатом Управления здравоохранения г. Смоленска и главный внештатный детский патологоанатом Комитета по здравоохранению Администрации Смоленской области. Олег Анатольевич в 2001 г. избирается заведующим кафедрой патологической анатомии с курсом судебной медицины Гомельского государственного медицинского института. Одновременно его назначают начальником Гомельского областного патологоанатомического бюро и главным внештатным патологоанатомом Управления здравоохранения Гомельской области. В 2002 г. защитил докторскую диссертацию на тему «Взаимоотношения сосудистого компонента коммуникационных систем и внутритканевых регуляторов при раке молочной железы».

Под руководством О. А. Голубева открыта кафедра патологической анатомии в Гомельском государственном медицинском институте, создана независимая патологоанатомическая служба в Гомельской области.

О. А. Голубев являлся автором более 100 научных работ, посвященных онкоморфологии, патологической анатомии инфекционных и внутренних болезней, вопросам преподавания патологической анатомии, организации здравоохранения; имеет 1 патент на изобретение; автор ряда учебных пособий, ряда рационализаторских предложений. Под руководством О. А. Голубева защищены 4 диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, подготовлены 12 врачей-патологоанатомов, 3 клинических ординатора по специальности «патологическая анатомия».

О. А. Голубев являлся членом редакционной коллегии журнала «Проблемы здоровья и экологии», председателем Гомельского областного общества патологоанатомов, членом правления Белорусского республиканского общества патологоанатомов.

ЛИТЕРАТУРА

- Гусеева, В. И. Фармоктерапия первых болезней взрослых и детей / В. И. Гусеева, И. Б. Михайлов // ФОЛИАНТ. — 2002. — Т. 4. — С. 198–210.
- Причины смерти с ревматическими заболеваниями в Москве : А. Б. Деленина [и др] // Клиническая медицина. — 2005. — № 1. — С. 36–38.
- Задратьянц, О. В. Анализ смертности, летальности, числа аутопсий и качества клинической диагностики в Москве за последние десятилетия (1991–2000 гг.) / О. В. Задратьянц. — М.: ООО «Макс Пресс», 2002. — С. 18–20.
- Выраженность и прогностические факторы риска смерти при антифосфоилизмом синдроме: результаты 8-летнего наблюдения / Т. Н. Решник [и др]. // Терапевтический архив. — 2003. — № 5. — С. 46–51.

УДК 618.11-006.6-091.8

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ЦИКЛИНОВ B1 И D1 ПРИ СЕРОЗНОМ РАКЕ ЯИЧНИКОВ

Шульга А. В., Басинский В. А.

Учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет»
г. Гродно, Республика Беларусь

Введение

Рак яичников (РЯ) является одним из наиболее распространенных и неблагоприятно текущих опухолевых заболеваний у женщин, лидирующий по числу смертных случаев среди новообразований женских половых органов. Как известно, опухоли яичников характеризуется бессимптомным течением, в связи с чем их ранняя диагностика крайне затруднена. Так, от 65 до 75 % случаев РЯ диагностируется в поздних (III–IV) стадиях болезни. Известно, что злокачественные эпителиальные опухоли яичников гетерогенная группа заболеваний, включающая 4 основные гистологические типы, среди которых главенствующая роль принадлежит серозному раку. В Беларусь есть тенденция к увеличению частоты и «комоложению» гинекологического рака. Все это диктует необходимость поиска дополнительных прогностических факторов распространенных форм РЯ.

Регуляция клеточного цикла необходима для контроля пролиферации и дифференцировки клеток, а также сохранения целостности генома. Координация клеточного цикла через фазы роста и синтеза управляются событиями фосфорилирования/дефосфорилирования, которые промотируются регуляторными белками, называемыми циклинами, в соединении с катализитическими субъединицами, известными как циклин-ависимые киназы (Cdk). Циклин-ависимые киназы, активированные фосфорилированием Cdk-активирующей киназой (CAK), интегрируют митогенные и рост-ингибitorные сигналы и координируют клеточный цикл. Уровень циклинов направленно меняется в ходе клеточного цикла таким образом, что в каждой стадии цикла активен обычно только один определенный комплекс циклин–циклин-ависимой киназы. Прогрессию фаз G1→S регулируют циклины D-, E- и A-ависимые киназы, а фаз G2→M-циклин-B-ависимые. В нормальной клетке субъединицы присутствуют в четырехмерных комплексах, содержащих также ядерный антиген пролиферирующей клетки и член семейства малых ингибиторных молекул. Идентифицировано два семейства ингибиторов циклин-ависимых киназ: семейство INK4 и семейство CIP/KIP. Ассоциация соответствующего количества этих ингибиторных молекул с циклиновым комплексом ингибирует киназную активность.

Представляет несомненный интерес изучение роли циклинов D1 и B1 в прогнозе рака, так первый контролирует вход в синтетическую фазу клеточного цикла, а второй непосредственно переходит к митозу, считается, что образование комплекса циклин B-Cdk1 является «точкой безвозвратности митоза».

Публикации, посвященные изучению циклинов в раке яичников (РЯ), часто носят противоречивый характер. Большинство исследователей отмечают гиперэкспрессию

указанных маркеров в РЯ по сравнению с пограничными, доброкачественными опухолями и неизмененной тканью яичника [2]. В тоже время в других работах гиперэкспрессию циклина D1 связывают с благоприятным прогнозом, высокой степенью дифференцировки новообразования [5]. Противоречивые данные получены при сравнительном анализе влияния циклинов на выживаемость больных. Гиперэкспрессия циклина D1 является независимым прогностическим фактором спожжения безрецидивной выживаемости [3], в других исследованиях не находят связь данных маркеров с продолжительностью жизни у больных РЯ [4].

Цель исследования: иммуногистохимическое изучение особенностей экспрессии циклинов B1, D1 опухолевыми клетками в серозном РЯ III–IV клинической стадии для определения их прогностического значения.

Материал и методы

Исследование выполнено на гистологическом материале 37 больных, оперированных по поводу РЯ в ГООД (1999–2002 гг.). Анализ гистологических срезов, окрашенных гематоксилином и эозином, проводился согласно рекомендациям ВОЗ (2003). При этом в 4 случаях степень дифференцировки рака была отнесена к G1, в 20 — к G2, а в 13 — к G3. Третья стадия согласно классификации FIGO (1985) была установлена у 33 женщин, четвертая — у 4. Общая двухлетняя выживаемость в исследуемой группе составила 43,2 %, а безрецидивная — 29,7 %, пятилетняя безрецидивная выживаемость — 8,1 %, при этом средний срок наступления рецидива составил $20,9 \pm 3,2$ мес.

Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование материала проводили на парафиновых срезах по стандартной методике с использованием мышьных monoclonalных антител к циклину B1 (клон v152, разведение 1:50, «Dako») и циклину D1 (клон DCS-6, разведение 1:40, «Dako»). Негативный контроль во всех случаях проводили с использованием вместо первичных антител 1 % раствора бычьего сывороточного альбумина.

Оценка цитоплазматической и ядерной экспрессии циклинов B1 и D1 проводилась полу количественно в 6 случайных полях зрения, исходя из процента и интенсивности положительно окрашенных опухолевых клеток (позитивной считалась реакция при окраске более 10 % опухолевых клеток). Для оценки степени окрашивания использовалась программа Aperio Image Scope. Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программы «Statistica 6.0».

Результаты и обсуждение

Анализ данных ИГХ исследования показал, что в большинстве случаев наблюдалась положительная реакция с антителами к циклину B1, а продукты окрашивания имели в раковых клетках цитоплазматическую локализацию. Экспрессия циклина D1 характеризовалась преобладающим ядерно-цитоплазматическим типом и была выявлена в 25 случаях РЯ (таблица 1).

Таблица 1 — Характер экспрессии циклинов B1 и D1 в серозном раке яичников III–IV стадии (n = 37)

Гиперэкспрессия *	Цитоплазматическая	Ядерная	Смешанная	Отсутствие
Циклин D1	12 (32,4%)	0	13 (35,2%)	12 (32,4%)
Циклин B1	19 (51,4%)	0	14 (37,8%)	4 (10,8%)

* при наличии > 10 % позитивных клеток

Экспрессия циклинов B1 и D1 в большем числе случаев характеризовалась очаговым или диффузным умеренно выраженным окрашиванием, ядерная же локализация продуктов реакции с данными антителами чаще выявлялась в 10–30 % опухолевых клеток (таблица 2).

Таблица 2 — Уровень экспрессии циклинов B1 и D1 в серозном раке яичников

Моноклональные антитела	баллы	Цитоплазма						Ядро				
		0	1	2	3	4	5	6	0	1	2	3
Циклин D1	N = 37	0	5	7	12	12	0	1	24	10	3	0
Циклин B1		0	3	1	11	13	6	3	23	12	2	0

При анализе вариантов соотношения уровня экспрессии данных биомолекулярных маркеров в цитоплазме раковых клеток оказалось, что значительно чаще (62,1 % случаев) отмечалось превалирование экспрессии циклина B1 по сравнению с D1. В 24,3 % серозных раков она была одинаковой и только в 13,6 % наблюдений было преобладание циклина D1.

Не выявлено корреляционной зависимости между клинико-морфологическими характеристиками и степенью экспрессии циклинов в клетках РЯ, за исключением степени дифференцировки опухоли. Результаты теста Крускала-Уоллиса свидетельствовали о наличии статистически достоверной связи между экспрессией циклина B1 и степенью дифференцировки РЯ ($H = 5,9$, $p = 0,05$). Оказалось, что все высокодифференцированные серозные adenокарциномы III–IV стадии характеризовались величиной цитоплазматической экспрессии циклина B1 в 4 и более баллов, а в группе умеренно- и низкодифференцированных adenокарцином наблюдались различные варианты выраженности реакции с данными антителами. Это может свидетельствовать о высокой пролиферативной активности серозного рака яичников высокой степени дифференцировки при поздних клинических стадиях.

Исследование общей и безрецидивной выживаемости больных РЯ с помощью метода Каплана-Майера показало, что в группе пациентов с ядерной гиперэкспрессией циклина D1 отмечалось менее благоприятное течение заболевания, чем в группе с ее отсутствием ($p = 0,023$). Так двухлетняя общая выживаемость в группе опухолей с ядерной гиперэкспрессией циклина D1 составила меньше 30 %, а при ее отсутствии — 54,2 %, к тому же ни одна больная из первой группы не прожила более пяти лет.

На следующем этапе все анализируемые случаи распределены на группы в зависимости от наличия либо отсутствия соответствующего циклина в ядре или в цитоплазме. Оказалось, что в группе больных, которые характеризовались низкой продолжительностью жизни (умерли до года) в 80 % случаев определялась гиперэкспрессия циклина D1 в ядре, выраженность цитоплазматической реакции с данными антителами был от 1 до 6 баллов. При этом наблюдалась гиперэкспрессия циклина B1 в цитоплазме, а ее выраженность была более 4 баллов, к тому же в 40 % он определялся в ядре. В группе больных, которые прожили более 3-х лет, наблюдалось отсутствие циклина D1 в ядре, а в цитоплазме его уровень был до 4-х баллов, уровень циклина B1 в цитоплазме не превышал 5 баллов, при этом в ядре он отсутствовал.

Связь различных вариантов сочетаний наличия гиперэкспрессии, а также выраженности реакции с антителами к изучаемым маркерам с продолжительностью жизни больных РЯ очевидно объясняется тем, что скорость продукции и величина накопления этих циклинов отражает пролиферативную активность и антионкогенный потенциал опухолевой клетки.

Высокая экспрессия циклина B1 и D1 в цитоплазме и ядре (1-я группа), очевидно, свидетельствует о высокой пролиферативной и недостаточной антионкогенной активности и определяется в опухолевых клетках, обладающих высокой злокачественностью, поэтому данное сочетание является плохим прогностическим признаком в плане продолжительности жизни. Одновременно средняя и высокая цитоплазматическая экспрессия циклина B1 на фоне отсутствия ядерной гиперэкспрессии и низкой экспрессии циклина D1 (2-я группа) с большой вероятностью является свидетельством остановки клеточного цикла в контрольной точке G2. В этом случае циклин B1 не поступает в ядро. Секвестрирование комплекса циклин B-Cdc2 в цитоплазме может происходить под

влиянием продукта гена 14-3-3-δ, транскрипцию которого стимулирует продукт одного из важнейшего антионкогена — белок p53 [1].

Заключение

Анализ полученных данных свидетельствует об иммуногистохимической гетерогенности злокачественных новообразований яичников даже в пределах групп с одной гистологической структурой и клинической стадией. Вместе с тем уровень и характер экспрессии таких регуляторов клеточного цикла как циклины B1 и D1 в ряде случаев имеют самостоятельное прогностическое значение и могут служить дополнительными критериями злокачественности при оценке прогноза заболевания после хирургического лечения, а также при решении вопроса о необходимости коррекции и назначения дополнительной адъюvantной терапии больным генерализованными формами серозного рака яичников.

ЛИТЕРАТУРА

1. Котин, Б. П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза / Б. П. Котин // Биохимия. — 2000. — С. 5–33.
2. Cyclin D1 overexpression and p53 mutation status in epithelial ovarian cancer / K. Shigemasa [et al.] // Journal of the Society for Gynecologic Investigation. — 1999. — Vol. 6, № 2. — P. 102–108.
3. Cyclin D1, p53, and p21^{WAF1/CIP1} expression is predictive of poor clinical outcome in serous epithelial ovarian cancer/ A. Bali [et al.] // Clinical Cancer Research. — 2004. — Vol. 10. — P. 5168–5177.
4. Cyclin B1, D1 overexpression and its correlation with clinical prognostic factors in ovarian carcinoma / J. W. Kim [et al.] // Journal of Clinical Oncology. — 2006. — Vol. 24. — P. 150–167.
5. The concurrent expression of p27^{Kip1} and cyclin D1 in epithelial ovarian tumors / Li Sui [et al.] // Gynecol. Oncology. — 1999. — Vol. 73, № 2. — P. 202–209.