

MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2: характеристика иммуногистохимической экспрессии в полипах и аденокарциноме дистальных отделов толстого кишечника

М. А. Шишкин

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

Цель работы – изучить особенности иммуногистохимической экспрессии MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2 в полипах и аденокарциноме дистальных отделов толстого кишечника.

Материалы и методы. Проведено патоморфологическое и иммуногистохимическое исследование биопсийного материала 30 пациентов, прошедших колоноскопию с полипэктомией, а также операционного материала 30 больных, прооперированных по поводу аденокарциномы дистальных отделов толстого кишечника.

Результаты. Установлено, что полипы дистальных отделов толстого кишечника отличаются повышенной экспрессией MUC-1 в сравнении с неизменной слизистой оболочкой. Максимальные показатели экспрессии маркера отмечены в зубчатых аденомах, которые характеризуются высоким уровнем экспрессии MUC-1. Медиана экспрессии MUC-1 в аденокарциноме больше таковой в неизменной слизистой, однако меньше таковой в полипах. Сравнительный анализ данных, полученных при изучении экспрессии MUC2, указывает, что максимальные показатели экспрессии маркера характерны для неизменной слизистой оболочки. Полипы отличаются меньшими показателями экспрессии MUC2, среди них наибольшие показатели экспрессии отмечены в гиперпластических полипах, меньшие – в зубчатых аденомах и аденомах. Карцинома дистальных отделов отличается крайне низкой медианой экспрессии MUC2. Наибольшие показатели экспрессии MUC4 установлены в гиперпластических полипах, несколько меньшие – в неизменной слизистой оболочке. Зубчатые аденомы, аденомы и аденокарцинома отличаются меньшими показателями экспрессии MUC4. Минимальный уровень экспрессии маркера наблюдали в зубчатых аденомах. В полипах показатели экспрессии MUC5AC больше, чем в аденокарциноме. В неизменной слизистой оболочке экспрессия данного маркера не обнаружена. Максимальная медиана экспрессии MUC5AC установлена в зубчатых аденомах, которые характеризуются высоким уровнем экспрессии маркера, несколько меньшая – в аденомах, еще меньшая – в гиперпластических полипах. Высокий уровень экспрессии Cdx-2 характеризует зубчатые аденомы и аденокарциному. Средний уровень экспрессии Cdx-2 – аденоматозные полипы, гиперпластические полипы и неизменную слизистую оболочку, и экспрессия маркера снижается в указанной последовательности.

Выводы. Полипы дистальных отделов толстого кишечника характеризуются повышением уровней экспрессии MUC1 и Cdx-2 при параллельном снижении экспрессии MUC2 и aberrантной экспрессии MUC5AC. Зубчатые аденомы отличаются наибольшими отклонениями показателей экспрессии изученных маркеров от таковых для неизменной слизистой. Аденокарцинома дистальных отделов толстого кишечника в сравнении с полипами характеризуется снижением уровней экспрессии MUC1, MUC2 и MUC5AC.

Ключевые слова: новообразования кишечника, полипы, колоректальный рак, муцины, Cdx-2.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 73–80

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.1.166313

E-mail: Shishkin.stomat@gmail.com

MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2: характеристика імуногістохімічної експресії в поліпах та аденокарциномі дистальних відділів товстої кишки

М. А. Шишкін

Мета роботи – вивчити особливості імуногістохімічної експресії MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2 в поліпах та аденокарциномі дистальних відділів товстої кишки.

Матеріали та методи. Виконали патоморфологічне та імуногістохімічне дослідження біопсійного матеріалу 30 пацієнтів, які пройшли колоноскопію з поліпектомією, а також операційного матеріалу 30 хворих, яких прооперували з приводу аденокарциноми дистальних відділів товстої кишки.

Результати. Встановили, що поліпи дистальних відділів товстого кишечника відрізняються підвищеною експресією MUC-1 порівняно з незмінною слизовою оболочкою. Максимальні показники експресії маркера визначили в зубчастих аденомах, що характеризуються високим рівнем експресії MUC-1. Медиана експресії MUC-1 в аденокарциномі більше такої в незмінній слизовій, однак менше такої в поліпах. Порівняльний аналіз даних, що отримані під час вивчення експресії MUC2, вказує: максимальні показники експресії маркера характерні для незмінної слизової оболонки. Полипы відрізняються меншими показниками експресії MUC2, серед них найбільші показники експресії спостерігали в гіперпластичних поліпах, менші – в зубчастих аденомах та аденомах. Карцинома дистальних відділів відрізняється вкрай низькою медіаною експресії MUC2. Найбільші показники експресії MUC4 виявили в гіперпластичних поліпах, дещо менші – в незмінній слизовій оболонці. Зубчасті аденоми, аденоми й аденокарцинома відрізняються меншими показниками експресії MUC4. Мінімальний рівень експресії маркера встановили в зубчастих аденомах. У поліпах показники експресії MUC5AC більші, ніж в аденокарциномі. У незмінній слизовій оболонці експресія цього маркера не виявлена. Максимальну медіану експресії MUC5AC спостерігали в зубчастих аденомах, що характеризуються високим рівнем експресії маркера, дещо меншу – в аденомах, ще меншу – в гіперпластичних поліпах. Високий рівень експресії Cdx-2 характеризує зубчасті аденоми й аденокарциному. Середній рівень експресії Cdx-2 – аденоматозні поліпи, гіперпластичні поліпи та незмінну слизову оболонку, причому експресія маркера знижується в наведеній послідовності.

Ключові слова: новоутворення кишечника, поліпи, колоректальний рак, муцини, Cdx-2.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 73–80

Висновки. Поліпи дистальних відділів товстого кишечника характеризуються підвищенням рівнів експресії MUC1 і Cdx-2 при паралельному зниженні експресії MUC2 й аберантній експресії MUC5AC. Зубчасті аденоми відрізняються найбільшими відхиленнями показників експресії маркерів, які вивчили, від таких для незміненої слизової. Аденокарцинома дистальних відділів товстого кишечника порівняно з поліпами характеризується зниженням рівнів експресії MUC1, MUC2 і MUC5AC.

Key words:
intestinal
neoplasms, polyps,
colorectal cancer,
Mucins, CDX2
Transcription Factor.

Pathologia
2019; 16 (1), 73–80

MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2: immunohistochemical characteristics in polyps and adenocarcinoma of distal colon

M. A. Shyshkin

Aim – to study MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2 immunohistochemical expression in polyps and adenocarcinoma of distal colon.

Materials and methods. Pathomorphological and immunohistochemical studies of biopsies from 30 patients, which underwent colonoscopy with polypectomy, and surgical material from 30 patients, which underwent surgery for colorectal adenocarcinoma, were carried out.

Results. Distal colonic polyps are different from unchanged mucosa by increased MUC-1 expression. Maximum expression levels of the marker are observed in serrated adenomas, which are characterized by high MUC-1 expression level. Median of MUC-1 expression in adenocarcinoma is greater than that in unchanged mucosa, however, less than in polyps. Comparative analysis of data of the study of MUC2 expression indicates that the maximum expression of the marker is characteristic of unchanged mucous membrane. Polyps are distinguished by lower MUC2 expression levels; among them, highest expression levels are observed in hyperplastic polyps, lesser – in serrated adenomas and adenomas. Distal colonic carcinoma has extremely low median of MUC2 expression. The highest levels of MUC4 expression are observed in adenomatous polyps, somewhat lower – in unchanged mucosa. Serrated adenomas, adenomas and adenocarcinomas differs by lower MUC4 expression levels. The minimum level of the marker expression is observed in serrated adenomas. In polyps MUC5AC expression levels are greater than in adenocarcinoma. Expression of this marker is not detected in unchanged mucosa. The maximum median of MUC5AC expression is observed in serrated adenomas, which are characterized by high level of the marker expression, somewhat lower – in adenomas, and more lower in hyperplastic polyps. High Cdx-2 expression level characterizes serrated adenomas and adenocarcinoma. The average Cdx-2 expression level is observed in adenomatous polyps, hyperplastic polyps, and unchanged mucosa, with the medians of the marked expression decreasing in that sequence.

Conclusions. Distal colon polyps are characterized by increased MUC1 and Cdx-2 expression levels, with parallel decrease of MUC2 expression level and aberrant MUC5AC expression. At the same time, serrated adenomas are distinguished by the greatest deviations of the studied markers expression levels. Adenocarcinoma of the distal colon, compared with polyps, is characterized by decrease of MUC1, MUC2 and MUC5AC expression levels.

Колоректальний рак (КРР) кожного року діагностують у 1,3 млн чоловік, і відзначають стійку тенденцію до зростання показателя захворюваності. Згідно сучасним уявленням про етіологію КРР, всі випадки захворювання розділяють на спорадическі (70 %), успадковані (25 %) і вроджені (3–5 %) [1]. Розвитку спорадического КРР в більшості випадків передують доброякісні поліпи, які можуть зазнати злоякісної трансформації по аденоматозному або зубчатому шляху малигнізації [2].

Аденома передують КРР в 60–70 % випадків захворювання. Аденоми характеризуються диспластическими змінами епітелію, а також особливостями гістоархітектури, ґрунтуючись на яких виділяють тубулярні, вилязні і тубуло-вилязні аденоматозні поліпи. Надійсно відомо, що аденоматозний шлях малигнізації реалізується за рахунок мутацій гена *APC* в комбінації з мутаціями генів *KRAS*, *PIK3CA*, рідше інших генів, що призводить до надмірної стимуляції *Wnt/β-катенинового* сигнального шляху [3].

Приблизно 30–40 % випадків КРР передують зубчатим поліпам. Згідно актуальним даним, термін «зубчатий поліп» об'єднує гіперпластическі поліпи (ГП), традиційну зубчасту аденому (ТЗА) і сидячу зубчасту аденому (СЗА). Загальна риса для них – характерна зазубреність кишечних крипти,

в деяких випадках і епітеліальної вистилки. При цьому для ГП не характерні диспластическі зміни епітелію, які традиційно виявляють в ТЗА і СЗА. Однак, ГП, раніше вважалися потенційно не онкогенними, в нинішнє час також розцінюють як передшественники зубчатого шляху малигнізації. Найбільш характерною молекулярно-генетическою аномалією, що проявляється в ході зубчатого шляху, слугують мутації гена *BRAF* і/або *KRAS*, які призводять до постійної активації *MAPK*-сигнального каскаду. Мутації гена *BRAF* виявляють в 70–100 % малигнізованих зубчатих поліпів товстого кишечника [2,3].

Серед молекулярних альтерацій, спостережуваних в КРР, помітні якіснісні і кількіснісні зміни муцинів (MUCs) – високомолекулярні глікопротеїни, синтезовані багатьма епітеліоцитами. В траварильному тракті MUCs формують слизистий бар'єр, який захищає епітеліальний покрив від зовнішніх агресивних впливів (алкоголь, курення, гостра їжа і т. д.), впливу ферментів, патогенних мікроорганізмів і інших несприятливих факторів [4]. Серед відомих на сьогодні 21 MUCs виділяють мембранно-асоційовані (MUC1, MUC4, MUC17), які крім протективної функції виконують також функцію передачі сигналів внутріклеточно, і секреторні

(MUC2, MUC5B, MUC5AC, and MUC6) муцины, формирующие основу полимерного геля, покрывающего слизистые оболочки [5].

Известно, что канцерогенез ассоциируется с изменением муцинового профиля данной локализации. То есть, возможна утрата экспрессии MUCs, характерных для органа, в котором локализуется первичная опухоль, а также экспрессия MUCs, которые в норме в данном органе не обнаруживают [6]. Кроме того, в недавних исследованиях приведены данные, указывающие на немаловажную роль MUCs в онкогенезе. По данным S. Nath, P. Mukherjee (2014), структурные изменения, которые претерпевают молекулы MUC1 в ходе опухолевого роста, приводят к перманентной активации MAPK, PI3K/Akt и Wnt-сигнальных путей [7]. В работе R. H. Fernandez, K. S. Lindén (2017) описана взаимосвязь между экспрессией MUC1 и эпителиально-мезенхимальным переходом [8]. Однако данные научной литературы, четко описывающие работу подобных механизмов в KPP, найдены не были. В ряде работ описано снижение экспрессии кишечного муцина MUC2 в KPP, а также ассоциация снижения экспрессии данного маркера с прогрессивными стадиями болезни и ухудшением прогноза для жизни пациентов. При этом механизмы этих ассоциаций до сих пор не известны [9,10]. MUC 4 предложен K. Shiv Ram et al. (2016) как маркер для выделения среди пациентов с полипами группы риска в отношении малигнизации [5]. Экспрессия MUC5AC характерна для слизистой оболочки желудка, и в условиях нормы не обнаруживается в слизистой кишечника. KPP отличается высокими показателями экспрессии данного маркера, что служит ярким примером смены муцинового профиля в ходе опухолевой прогрессии [12].

Cdx2 – кишечный фактор транскрипции, который в норме экспрессируется энтероцитами. Это еще один фенотипический маркер, который, как правило, включают в панель для изучения муцинового профиля неоплазий пищеварительного тракта [13]. В ряде работ показано, что Cdx-2 обладает опухолевыми свойствами: Cdx-2 связывается с β -катенином в ядре, разрушая β -катенин-TCF-протеиновые комплексы, что приводит к инактивации Wnt/ β -катенинового сигнального пути; Cdx-2 способен стабилизировать p27Kip1, блокируя убиквитинирование данного протеина, ингибируя тем самым cyclinE и «останавливая» раковые клетки в G0 фазе [14]. KPP отличаются высокими уровнями экспрессии маркера Cdx-2 [13–16], что входит в резонанс с приведенными данными.

Таким образом, существует множество нерешенных вопросов касательно характеристик и роли иммуногистохимической экспрессии MUCs и Cdx-2 в KPP. Значительный интерес вызывает возможность выделения потенциально онкогенных полипов толстого кишечника с использованием данных маркеров.

Цель работы

Изучить особенности иммуногистохимической экспрессии MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2 в полипах и аденокарциноме дистальных отделов толстого кишечника.

Материалы и методы исследования

Проведено патоморфологическое и иммуногистохимическое исследование биопсийного материала 30 пациентов, прошедших колоноскопию с полипэктомией, а также операционного материала 30 больных, прооперированных по поводу аденокарциномы дистальных отделов толстого кишечника. В группе исследования полипов выделили: аденоматозные (10 случаев), гиперпластические полипы (15 случаев) и зубчатые аденомы (5 случаев). Группу контроля сформировали 10 образцов неизменной слизистой оболочки толстого кишечника.

Микроструктуру образований оценивали в парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, а также при помощи ШИК-реакции. В депарафинированных срезах после температурной демаскировки и подавления активности эндогенной пероксидазы по стандартной методике проводили иммуногистохимическое (ИГХ) исследование с использованием поликлональных антител MUC1 (Thermo Lab, USA), MUC4 (Thermo Lab, USA), моноклональных антител MUC2, Clone M53 (Thermo Lab, USA), MUC5AC, Clone 45M1 (Thermo Lab, USA), Cdx-2, Clone DAK-CKX2 (DAKO, USA), а также системы визуализации EnVision FLEX с диаминобензидином (DAKO, USA). Результаты ИГХ-исследования оценивали в микроскопе Axioplan-2 (Carl Zeiss, Germany) при увеличении $\times 200$. В каждом случае в 5 полях зрения определяли паттерн экспрессии маркеров, а также оценивали уровень их экспрессии методом фотоцифровой морфометрии [17]. Уровень экспрессии ИГХ-маркеров выражали в условных единицах оптической плотности (УЕОП) и градуировали: 0–20 УЕОП – негативная реакция, 21–50 УЕОП – низкий уровень экспрессии, 51–100 УЕОП – умеренный уровень экспрессии, более 100 УЕОП – высокий уровень экспрессии.

Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ804I382130ARCN10-J). Вычисляли медиану (Me), нижний и верхний квартили (Q_1 ; Q_3); данные представляли в виде Me (Q_1 ; Q_3); сравнительный анализ проводили при помощи критерия Краскела–Уоллиса (сравнение результатов, полученных в 3 и более группах наблюдений). Результаты считали статистически значимыми на уровне 95 % ($p < 0,05$).

Результаты

Неизменная слизистая оболочка дистальных отделов толстого кишечника характеризуется низким уровнем экспрессии мембранно-ассоциированного муцина первого типа MUC1 [32,92 (31,28; 38,11) УЕОП], средним уровнем экспрессии секреторного кишечного муцина второго типа MUC2 [80,10 (78,62; 82,48) УЕОП], средним уровнем мембранно-ассоциированного муцина четвертого типа MUC4 [62,24 (50,28; 65,23) УЕОП], отсутствием экспрессии секреторного желудочного муцина пятого типа MUC5AC, а также средним уровнем ядерной экспрессии кишечного фактора транскрипции Cdx-2 [59,64 (57,12; 61,14) УЕОП].

Гиперпластические полипы дистальных отделов толстого кишечника характеризуются средними уров-

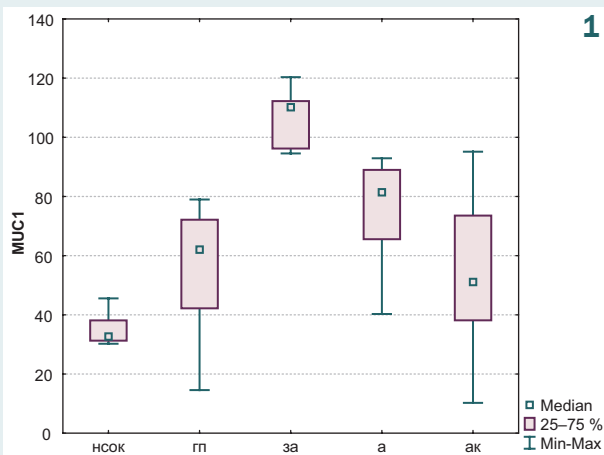


Рис. 1. Показатели экспрессии MUC1 в неизменной слизистой оболочке толстого кишечника (нсок), гиперпластических полипах (гп), зубчатых аденомах (за), аденомах (а), а также аденокарциноме (ак) дистальных отделов толстого кишечника ($p < 0,05$).

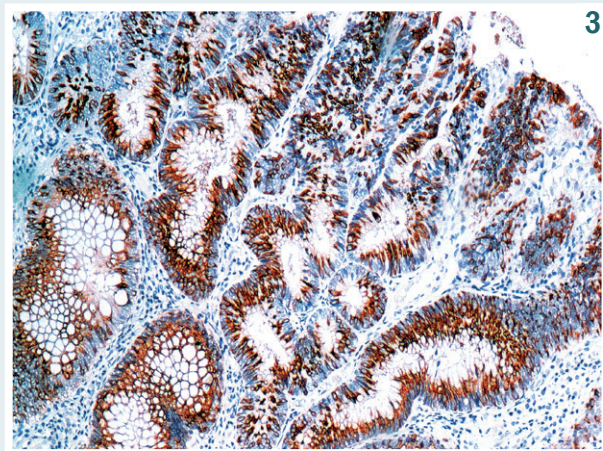


Рис. 3. Экспрессия MUC2 в гиперпластическом полипе. *Mo a Hu Mucin 2 (MUC2) Ab-2, Clone M53*. Ув. $\times 100$.

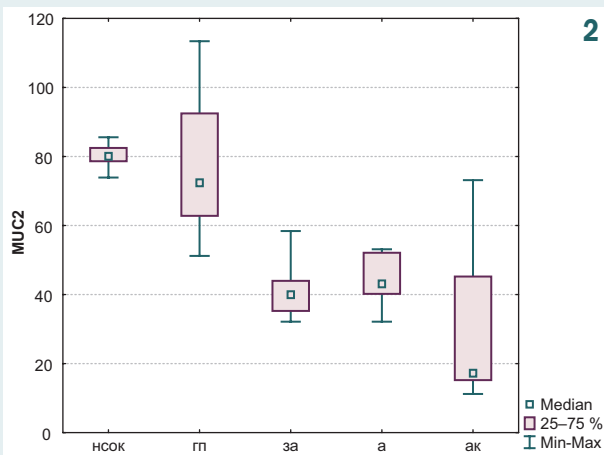


Рис. 2. Показатели экспрессии MUC2 в неизменной слизистой оболочке толстого кишечника (нсок), гиперпластических полипах (гп), зубчатых аденомах (за), аденомах (а), а также аденокарциноме (ак) дистальных отделов толстого кишечника ($p < 0,05$).

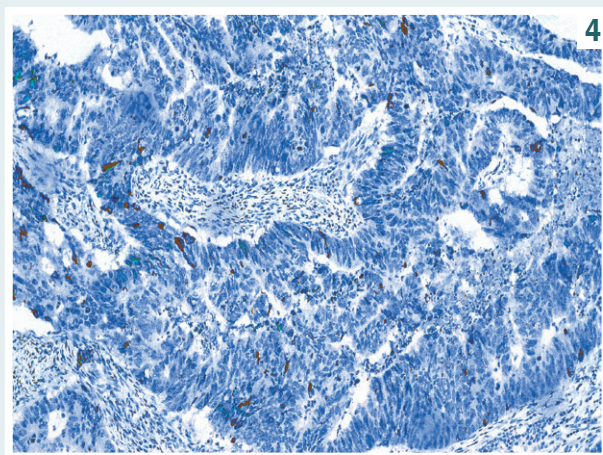


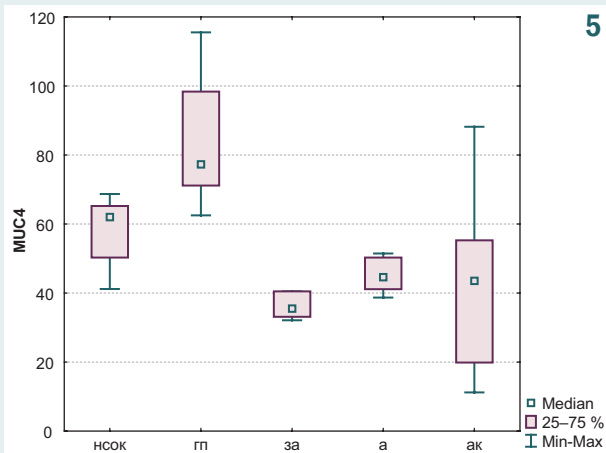
Рис. 4. Экспрессия MUC2 в карциноме. *Mo a Hu Mucin 2 (MUC2) Ab-2, Clone M53*. Ув. $\times 100$.

нями экспрессии MUC1 [62,13 (42,19; 72,15) УЕОП], MUC2 [72,63 (62,80; 92,48) УЕОП], MUC4 [77,52 (71,15; 98,37) УЕОП], MUC5AC [73,14 (65,19; 90,21) УЕОП] и Cdx-2 [71,81 (62,36; 77,77) УЕОП]. Зубчатые аденомы характеризуются высокими уровнями экспрессии MUC1 [110,24 (96,22; 112,24) УЕОП], MUC5AC [110,05 (98,17; 110,05) УЕОП] и Cdx-2 [105,22 (104,24; 110,41) УЕОП], а также низкими уровнями экспрессии MUC2 [40,21 (35,25; 43,98) УЕОП] и MUC4 [35,54 (33,12; 40,48) УЕОП]. Аденомы (тубулярные, ворсинчатые, тубуло-ворсинчатые) характеризуются средними уровнями экспрессии MUC1 [81,73 (65,56; 88,98) УЕОП], MUC4 [44,75 (41,12; 50,28) УЕОП], MUC5AC [91,68 (82,15; 98,27) УЕОП] и Cdx-2 [94,82 (90,32; 105,22) УЕОП], низким уровнем экспрессии MUC2 [43,18 (40,21; 52,12) УЕОП]. Сравнительный анализ с применением критерия Краскела–Уоллиса указывает на наличие статистически достоверной разницы ($p < 0,05$) между результатами, полученными для каждого из маркеров в подгруппах исследования.

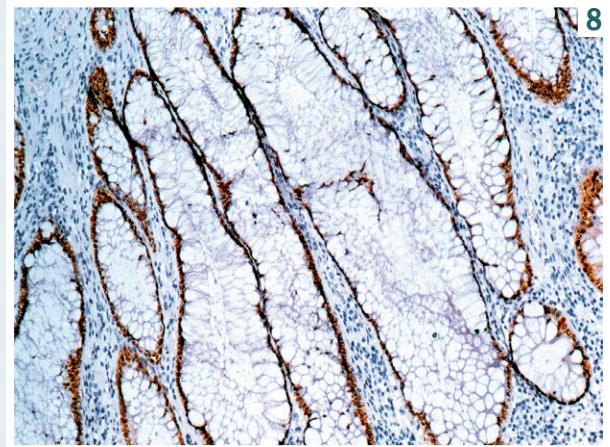
Аденокарцинома дистальных отделов толстого кишечника характеризуется средним уровнем экс-

прессии MUC1 [51,20 (38,14; 73,54)], крайне низким уровнем экспрессии MUC2 [17,32 (15,21; 45,22)], низкими уровнями экспрессии MUC4 [43,61 (19,87; 55,28)] и MUC5AC [42,22 (25,82; 57,27)], а также высоким уровнем экспрессии Cdx-2 [101,86 (88,54; 110,21)].

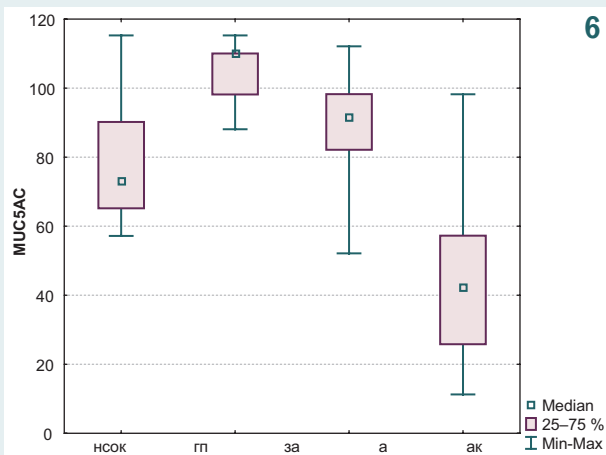
Проведено сравнение данных, полученных для каждого маркера при исследовании неизменной слизистой, гиперпластических полипов, зубчатых аденом, аденоматозных полипов, а также карциномы дистальных отделов толстого кишечника. Установлено, что полипы дистальных отделов толстого кишечника отличаются более высокими показателями экспрессии MUC-1 в сравнении с неизменной слизистой оболочкой. Максимальные показатели экспрессии маркера отмечены в зубчатых аденомах, которые характеризуются высоким уровнем экспрессии MUC-1 (для других групп наблюдения установлен средний уровень экспрессии маркера). Медиана экспрессии MUC-1 в аденокарциноме больше таковой в неизменной слизистой, однако меньше таковой в полипах дистальных отделов (рис. 1).



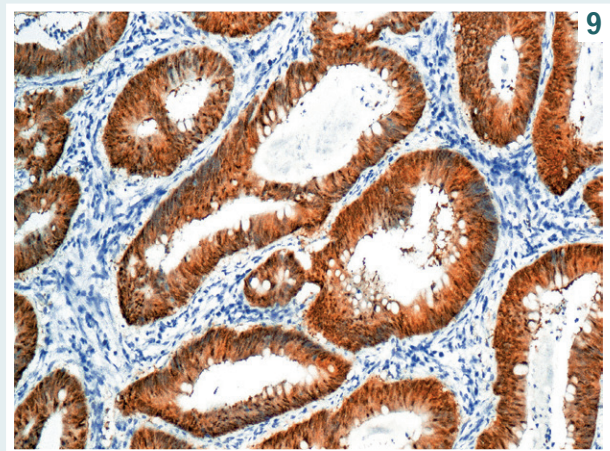
5



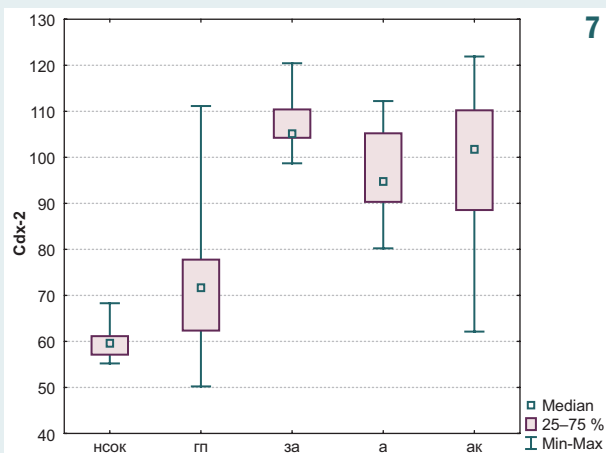
8



6



9



7

Рис. 5. Показатели экспрессии MUC4 в неизменной слизистой оболочке толстого кишечника (нсок), гиперпластических полипах (гп), зубчатых аденомах (за), аденомах (а), а также аденокарциноме (ак) дистальных отделов толстого кишечника ($p < 0,05$).

Рис. 6. Показатели экспрессии MUC5AC в неизменной слизистой оболочке толстого кишечника (нсок), гиперпластических полипах (гп), зубчатых аденомах (за), аденомах (а), а также аденокарциноме (ак) дистальных отделов толстого кишечника ($p < 0,05$).

Рис. 7. Показатели экспрессии Cdx-2 в неизменной слизистой оболочке толстого кишечника (нсок), гиперпластических полипах (гп), зубчатых аденомах (за), аденомах (а), а также аденокарциноме (ак) дистальных отделов толстого кишечника ($p < 0,05$).

Рис. 8. Экспрессия Cdx-2 в гиперпластическом полипе. *Mo a Hu CDX2, Clone DAK-CKX2*. Ув. $\times 100$.

Рис. 9. Экспрессия Cdx-2 в карциноме. *Mo a Hu CDX2, Clone DAK-CKX2*. Ув. $\times 100$.

Сравнительный анализ данных, полученных при изучении экспрессии MUC2 (рис. 2), указывает, что максимальные показатели экспрессии маркера характерны для неизменной слизистой оболочки. Полипы отличаются меньшими показателями экспрессии MUC2, среди них наибольшие показатели экспрессии отмечены в гиперпластических полипах (рис. 3), значительно меньше – в зубчатых аденомах и аденоматозных полипах. Установлено также, что карцинома дистальных отделов отличается крайне низкой медианой экспрессии MUC2 (рис. 4), которая,

согласно используемой градации, расценивается как негативное иммуноокрашивание (рис. 2).

Наибольшие показатели экспрессии MUC4 установлены в гиперпластических полипах, несколько меньше – в неизменной слизистой оболочке дистальных отделов толстого кишечника. Зубчатые аденомы, аденомы и аденокарцинома отличаются значительно меньшими показателями экспрессии MUC4. Минимальный уровень экспрессии маркера отмечен в зубчатых аденомах (рис. 5).

В полипах показатели экспрессии MUC5AC больше, чем в аденокарциноме дистальных отделов тол-

стого кишечника. В неизменной слизистой оболочке толстого кишечника экспрессию данного маркера не обнаружили. Максимальная медиана экспрессии MUC5AC установлена в зубчатых аденомах, которые характеризуются высоким уровнем экспрессии маркера, несколько меньшая – в аденомах (средний уровень экспрессии), еще меньшая – в гиперпластических полипах (средний уровень экспрессии) (рис. 6).

Высокий уровень экспрессии Cdx-2 характеризует зубчатые аденомы и аденокарциному дистальных отделов толстого кишечника. Средний уровень экспрессии Cdx-2 – аденоматозные полипы, гиперпластические полипы и неизменную слизистую оболочку; медианы экспрессии маркера снижаются в указанной последовательности (рис. 7–9).

Обсуждение

MUC1 – трансмембранный гликопротеин, состоящий из двух доменов. Экстрацеллюлярный домен MUC1 выполняет протективную функцию, защищая эпителиоциты от внешних негативных воздействий (кислоты, щелочи, бактерии и др.). Интрацеллюлярный домен обеспечивает передачу сигналов извне к ядру клеток. Уровни экспрессии данного муцина в пищеварительном тракте варьируют: для слизистой желудка характерны высокие уровни экспрессии MUC1, для слизистой кишечника – низкие и средние [7]. Согласно полученным результатам, неизменная слизистая дистальных отделов толстого кишечника характеризуется низким уровнем экспрессии MUC1, что согласуется с данными специализированной литературы.

Кроме того, по данным научной литературы, экспрессия MUC1 в слизистой кишечника возрастает при хронических воспалительных заболеваниях, в полипах и КРР. При этом данные об уровнях экспрессии MUC1 в полипах и КРР варьируют в широком диапазоне: высокий уровень экспрессии определен в 19–76 % аденом, в 30–100 % карцином данной локализации [4–10]. В ряде работ показано, что высокий уровень экспрессии MUC1 в КРР напрямую коррелирует с глубиной инвазии опухоли, наличием метастазов, а также ухудшением прогноза для жизни пациентов [9].

Согласно полученным данным, уровень экспрессии MUC1 в полипах превышает таковой в неизменной слизистой. При этом максимальные его значения характеризуют зубчатые аденомы. Известно, что интрацеллюлярный домен MUC1 обладает способностью связываться с белком hsp90 в структуре митохондриальных мембран. Это запускает фосфорилирование цитоплазматического хвоста MUC1 и блокирует митохондриальные пути апоптоза [5]. Можно предположить, что экспрессия MUC1 в полипах ассоциируется с угнетением апоптоза эпителиоцитов и избыточной их пролиферацией, создавая тем самым условия для прогрессии неоплазии. Согласно полученным данным, медиана экспрессии MUC1 в карциноме меньше таковой в полипах, однако больше таковой в неизменной слизистой. Вероятно, угнетение апоптоза имеет меньшую значимость при прогрессии карциномы, когда большую роль приобретают другие механизмы. В

научной литературе описана перманентная активация Wnt/ β -катенинового сигнального каскада, обусловленная посттрансляционной модификацией экстрацеллюлярного домена MUC1 в раке молочной железы, а также в протоковой карциноме поджелудочной железы. Структурные изменения экстрацеллюлярного домена MUC1 делают возможным его взаимодействие с Fz-рецепторами, запускающими Wnt-сигнальный каскад [7]. Для решения вопроса о работе данного механизма в КРР необходимы дальнейшие молекулярно-генетические исследования.

MUC2 – секреторный муцин, экспрессия которого в норме характеризует слизистую оболочку толстого кишечника. MUC2 синтезируется колоноцитами и бокаловидными клетками, формируя основу слизистого слоя [4]. Согласно полученным результатам, неизменная слизистая дистальных отделов толстого кишечника характеризуется средним уровнем экспрессии MUC2, что согласуется с данными научной литературы.

Известно, что экспрессия MUC2 снижается в последовательности «аденома – карцинома» колоректальной локализации [5]. В исследовании S. R. Krishn et al. (2017) показано, что уровень экспрессии MUC2 вместе с уровнями экспрессии ряда других фенотипических маркеров может быть использован для дифференциальной диагностики зубчатых аденом и аденоматозных полипов [11]. По данным M. V. Kesari et al. (2015), MUC2 может быть использован для выделения полипов с большим риском малигнизации [9]. В этих работах показано, что снижение экспрессии MUC2 неблагоприятно в прогностическом плане. Согласно результатам проведенного исследования, экспрессия MUC2 снижается в последовательности «неизменная слизистая – гиперпластический полип – аденома – зубчатая аденома», что согласуется с литературными данными.

Установлено, что медиана экспрессии MUC2 в колоректальной карциноме меньше таковой для полипов, а также неизменной слизистой. В специализированной литературе описаны случаи как снижения, так и повышения уровня экспрессии MUC2 в КРР; и большинство авторов указывают, что для данной карциномы характерен низкий уровень экспрессии MUC2 [4–6, 10–11, 13]. По данным J. Betge et al. (2016), снижение уровня экспрессии MUC2 в КРР ассоциировано с мутациями генов *CIMP*, *V600E* и *BRAF* [6]. Среди изученных полипов наименьшие показатели экспрессии MUC2 установлены в зубчатых аденомах, в 40–60 % которых обнаруживают мутации гена *BRAF* [2,3]. По данным A. Kasprzak et al. (2018), снижение экспрессии MUC2 в КРР прямо коррелирует со снижением экспрессии мРНК одноименного гена, что указывает на «поломку» на уровне транскрипции, либо же на структурные аномалии кодирующего гена [10].

MUC4 – трансмембранный гликопротеин, секретруемый энтероцитами в норме [5]. Согласно полученным данным, неизменная слизистая оболочка дистальных отделов толстой кишки характеризуется средним уровнем экспрессии MUC4.

По данным S. R. Krishn et al. (2016), экспрессия MUC4 снижается в гиперпластических полипах, в еще большей мере – в зубчатых аденомах. Авто-

ры предложили использовать данный маркер для дифференциальной диагностики этих полипов [5]. В дальнейшей работе S. R. Krishn et al. (2017) предложили использовать MUC4 в комплексе с другими маркерами: снижение экспрессии MUC4, ассоциированное с увеличением экспрессии MUC5AC и MUC17, позволяет выделить полипы с повышенным риском малигнизации [11]. Согласно полученным данным, экспрессия MUC4 в гиперпластических полипах достоверно больше таковой в неизменной слизистой, а в зубчатых аденомах и аденоматозных полипах – значимо меньше таковой в неизменной слизистой. Эти данные указывают на значимо меньший злокачественный потенциал гиперпластических полипов в сравнении с аденоматозными полипами и зубчатыми аденомами. Известно также, что экспрессия MUC4 снижается в последовательности «аденома – карцинома» колоректальной локализации [11]. Согласно полученным данным, медиана экспрессии MUC4 в KPP меньше таковой в полипах, а также неизменной слизистой. При этом молекулярные основы снижения экспрессии этого маркера в полипах и KPP остаются не изученными, требуют дальнейших молекулярно-генетических исследований. Крайне противоречивы результаты, касающиеся прогностической ценности данного маркера для больных KPP [4–5,11].

MUC5AC – секреторный муцин, который в норме не синтезируется энтероцитами. В нормальных условиях его экспрессию обнаруживают в слизистой оболочке дыхательных путей, желудка, а также репродуктивных органов [12]. Согласно полученным данным, экспрессия MUC5AC в неизменной слизистой оболочке кишечника не отмечена.

Дисрегуляция MUC5AC описана для ряда патологий, включая хронические воспалительные заболевания и неоплазии кишечника, – в условиях патологического процесса устанавливают экспрессию MUC5AC [9]. Согласно полученным данным, гиперпластические и аденоматозные полипы характеризуют средний уровень экспрессии MUC5AC, зубчатые аденомы – высокий уровень экспрессии маркера. По данным M. Khaidakov et al. (2016), гиперэкспрессия MUC5AC в полипах толстого кишечника обусловлена гипометилированием промотора кодирующего гена, которое, в свою очередь, ассоциировано с мутациями гена *BRAF* (ранее уже отмечена высокая частота их встречаемости в зубчатых аденомах), а также с микросателлитной нестабильностью [12].

Установлено, что KPP характеризуется средним уровнем экспрессии MUC5AC. Медиана экспрессии MUC5AC в карциноме достоверно ниже таковой в полипах. По данным научной литературы, экспрессия этого маркера в KPP обусловлена перманентной активацией MAPK-сигнального каскада, в результате которой активируется функция ряда факторов транскрипции. Среди последних – E2F/DP – фактор, регулирующий транскрипцию ряда генов, среди которых и MUC5AC [13].

Cdx-2 – фактор транскрипции, регулирующий пролиферацию и дифференцировку энтероцитов. Экспрессируется клетками слизистой оболочки кишечника на всем протяжении – от двенадцатиперстной

до прямой кишки. Это высокоспецифичный маркер кишечной дифференцировки эпителиоцитов, который используют для верификации толстокишечного происхождения метастатических карцином [18].

Установлено, что неизменная слизистая оболочка характеризуется средним уровнем экспрессии Cdx-2. Средний уровень экспрессии маркера также характеризует гиперпластические и аденоматозные полипы, высокий – зубчатые полипы и KPP. Ранее уже приведены данные о том, что Cdx-2 обладает опухолю-супрессивными свойствами – возрастающая активность этого фактора транскрипции может приводить к инактивации Wnt/ β -катенинового сигнального пути, а также «останавливать» раковые клетки в G0 фазе [14]. Данные работ, в которых была изучена прогностическая ценность Cdx-2, указывают, что высокие уровни экспрессии маркера ассоциированы с риском малигнизации полипов, а также со снижением выживаемости больных KPP [14–16,18]. Таким образом, открытым остается вопрос о том, почему экспрессия протеина, обладающего опухолю-супрессорными свойствами, возрастает в полипах с риском малигнизации, в еще большей мере – в карциноме. Возможно, функции Cdx-2 искажаются в ходе онкогенеза или экспрессия Cdx-2 возрастает в ответ на малигнизацию, не справляясь при этом с задачей угнетения опухолевого роста, что может быть обусловлено другими, более «мощными» молекулярно-генетическими аномалиями.

Выводы

1. Полипы дистальных отделов толстого кишечника в сравнении с неизменной слизистой оболочкой характеризуются повышением уровней экспрессии трансмембранного муцина 1 типа MUC1 и кишечного фактора транскрипции Cdx-2 при параллельном снижении экспрессии секреторного муцина 2 типа MUC2, а также аберрантной экспрессии секреторного муцина 5 типа MUC5AC. Кроме того, отмечают повышение экспрессии MUC4 в гиперпластических полипах, а также снижение экспрессии данного маркера в зубчатых аденомах и аденомах относительно неизменной слизистой.

2. Зубчатые аденомы отличаются наибольшими отклонениями показателей экспрессии изученных маркеров от таковых для неизменной слизистой: характерны высокие уровни экспрессии MUC1, MUC5AC и Cdx-2, а также низкие уровни экспрессии MUC2 и MUC4. Эти наблюдения позволяют сделать вывод, что зубчатые аденомы накапливают наибольшее количество молекулярно-генетических аномалий, меняющих их фенотип, в сравнении с другими изученными полипами.

3. Аденокарцинома дистальных отделов толстого кишечника в сравнении с полипами характеризуется снижением уровней экспрессии MUC1, MUC2 и MUC5AC. Наблюдают также снижение уровня экспрессии MUC4 относительно гиперпластических и аденоматозных полипов при повышении экспрессии этого маркера относительно зубчатых аденом, а также повышение уровня экспрессии Cdx-2 относительно гиперпластических и аденоматозных полипов при снижении экспрессии данного маркера относительно зубчатых аденом.

Финансирование

Исследование проведено в рамках НИР Запорожского государственного медицинского университета «Раннее молекулярно-генетическое и иммуногистохимическое прогнозирование склонности к прогрессии рака легких и органов пищеварения» № госрегистрации 0117U002580 (2017–2019).

Конфликт интересов: отсутствует.

Conflicts of interest: author has no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 15.01.2019

Після доопрацювання / Revised: 25.02.2019

Прийнято до друку / Accepted: 06.03.2019

Сведения об авторе:

Шишкин М. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Відомості про автора:

Шишкин М. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Information about author:

Shyshkin M. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список литературы

- [1] Colorectal Carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer / I. Mármol, C. Sánchez-de-Diego, A. Pradilla Dieste, et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2017. – Vol. 18. – Issue 1. – E197.
- [2] Colorectal serrated pathway cancers and precursors / M.J. O'Brien, Q. Zhao, S. Yang // *Histopathology*. – 2015. – Vol. 66. – Issue 1. – P. 49–65.
- [3] Demographic and histopathological characteristics of colorectal polyps: a descriptive study based on samples obtained from symptomatic patients / G. Cekodhima, A. Cekodhima, A. Beqiri, et al. // *Zdravstveno varstvo*. – 2016. – Vol. 55. – Issue 2. – P. 108–113.
- [4] Mucin expression patterns in histological grades of colonic cancers in Ghanaian population / K.O. Danquah, E. Adjei, S. Ouayson, et al. // *PanAfrican Medical Journal*. – 2017. – Vol. 27. – P. 267–272.
- [5] Mucins and associated glycan signatures in colon adenoma-carcinoma sequence: prospective pathological implication(s) for early diagnosis of colon cancer / S.R. Krishn, S. Kaur, L.M. Smith, et al. // *Cancer Letters*. – 2016. – Vol. 374. – Issue 2. – P. 304–314.
- [6] MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 in colorectal cancer: expression profiles and clinical significance / J. Betge, N.I. Schneider, L. Harbaum, et al. // *Virchows Archiv: an international journal of pathology*. – 2016. – Vol. 469. – Issue 3. – P. 255–265.
- [7] Nath S. MUC1: a multifaceted oncoprotein with a key role in cancer progression / S. Nath, P. Mukherjee // *Trends in Molecular Medicine*. – 2014. – Vol. 20. – Issue 6. – P. 332–342.
- [8] Fernandez H.R. The aspirin metabolite salicylate inhibits lysine acetyltransferases and MUC1 induced epithelial to mesenchymal transition / H.R. Fernandez, S.K. Linden // *Nature*. – 2017. – Vol. 7. – Issue 1. – P. 5626–5638.
- [9] Immunohistochemical study of MUC1, MUC2 and MUC5AC in colorectal carcinoma and review of literature / M.V. Kesari, V.L. Gaopande, A.R. Joshi, et al. // *Indian Journal of Gastroenterology*. – 2015. – Vol. 34. – Issue 1. – P. 63–67.
- [10] Kasprzak A. Differential expression of mucin 1 and mucin 2 in colorectal cancer / A. Kasprzak, E. Siodla, M. Andrzejewska // *World Journal of Gastroenterology*. – 2018. – Vol. 24. – Issue 36. – P. 4164–4177.
- [11] Mucins and associated O-glycans based immunoprofile for stratification of colorectal polyps: clinical implication for improved colon surveillance / S.R. Krishn, S. Kaur, Y.M. Sheinin, et al. // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8. – P. 7025–7038.
- [12] Gastric Proteins MUC5AC and TFF1 as Potential Diagnostic Markers of Colonic Sessile Serrated Adenomas/Polyps / M. Khaidakov, K.K. Lai, D. Roudachevski, et al. // *American Journal of Clinical Pathology*. – 2016. – Vol. 146. – Issue 5. – P. 530–537.
- [13] Predictive Gene Signatures: Molecular Markers Distinguishing Colon Adenomatous Polyp and Carcinoma / J.E. Drew, A.J. Farquharson, C.D. Mayer, et al. // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9. – Issue 11. – e113071.
- [14] Cdx1 and Cdx2 Function as Tumor Suppressors / A. Hryniuk, S. Grainger, J.G.A. Savury, D. Lohnes // *Journal of Biological Chemistry*. – 2014. – Vol. 289. – Issue 48. – P. 33343–33354.

- [15] Loss of CDX2 expression is associated with poor prognosis in colorectal cancer patients / J.M. Bae, T.H. Lee, N.Y. Cho, et al. // *World Journal of Gastroenterology*. – 2015. – Vol. 21. – Issue 5. – P. 1457–1467.
- [16] CDX2 as a Prognostic Biomarker in Stage II and Stage III Colon Cancer / P. Dalerba, D. Sahoo, S. Paik, et al. // *The New England Journal of Medicine*. – 2016. – Vol. 374. – Issue 3. – P. 211–222.
- [17] Патент 99314 Україна, МПК 2015.01 G01N 21/00 G06K 9/00 Спосіб фотоцифрової морфометрії імуногістохімічних препаратів / В.О. Туманський, А.В. Євсєєв, І.С. Коваленко, М.Д. Зубко; заявник і патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т; заявл. 29.12.14.; опубл. 25.05.15 // *Бюлетень*. – 2015. – №10.
- [18] Expression of CDX-2 and Ki-67 in different grades of colorectal adenocarcinomas / A. Sen, S. Mitra, R.N. Das, et al. // *Indian Journal of Pathology and Microbiology*. – 2015. – Vol. 58. – Issue 2. – P. 158–162.

References

- [1] Mármol, I., Sánchez-de-Diego, C., Pradilla Dieste, A., Cerrada, E., & Rodríguez Yoldi, M. J. (2017) Colorectal Carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), E197. doi: 10.3390/ijms18010197
- [2] O'Brien, M. J., Zhao, Q., & Yang, S. (2015) Colorectal serrated pathway cancers and precursors. *Histopathology*, 66(1), 49–65. doi: 10.1111/his.12564
- [3] Cekodhima, G., Cekodhima, A., Beqiri, A., Alimehmeti, M., & Sulo, G. (2016) Demographic and histopathological characteristics of colorectal polyps: a descriptive study based on samples obtained from symptomatic patients. *Zdravstveno varstvo*, 55(2), 118–123. doi: 10.1515/sjph-2016-0016
- [4] Danquah, K. O., Adjei, E., Ouayson, S., Adankwah, E., Gyamfi, D., Sam-pene Ossei, P. P., et al. (2017) Mucin expression patterns in histological grades of colonic cancers in Ghanaian population. *PanAfrican Medical Journal*, 27, 267–272. doi: 10.11604/pamj.2017.27.267.9793
- [5] Krishn, S. R., Kaur, S., Smith, L. M., Johansson, S. L., Jain, M., Patel, A., et al. (2016) Mucins and associated glycan signatures in colon adenoma-carcinoma sequence: prospective pathological implication(s) for early diagnosis of colon cancer. *Cancer Letters*, 374(2), 304–14. doi: 10.1016/j.canlet.2016.02.016
- [6] Betge, J., Schneider, N. I., Harbaum, L., Pollheimer, M. J., Lindtner, R. A., Komprat, P., et al. (2016) MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 in colorectal cancer: expression profiles and clinical significance. *Virchows Archiv: an international journal of pathology*, 469(3), 255–65. doi: 10.1007/s00428-016-1970-5
- [7] Nath, S., & Mukherjee, P. (2014) MUC1: a multifaceted oncoprotein with a key role in cancer progression. *Trends in Molecular Medicine*, 20(6), 332–42. doi: 10.1016/j.molmed.2014.02.007
- [8] Fernandez, H. R., & Linden, S. K. (2017) The aspirin metabolite salicylate inhibits lysine acetyltransferases and MUC1 induced epithelial to mesenchymal transition. *Nature*, 7(1), 5626–5638. doi: 10.1038/s41598-017-06149-4
- [9] Kesari, M. V., Gaopande, V. L., Joshi, A. R., Babanagare, S. V., Gogate, B. P., & Khadilkar, A. V. (2015) Immunohistochemical study of MUC1, MUC2 and MUC5AC in colorectal carcinoma and review of literature. *Indian Journal of Gastroenterology*, 34(1), 63–7. doi: 10.1007/s12664-015-0534-y
- [10] Kasprzak, A., Siodla, E., Andrzejewska, M., Szmeja, J., Seraszek-Jaros, A., Cofta, S., & Szafarski W. (2018) Differential expression of mucin 1 and mucin 2 in colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 24(36), 4164–4177. doi: 10.3748/wjg.v24.i36.4164
- [11] Krishn, S. R., Kaur, S., Sheinin, Y. M., Smith, L. M., Gautam, S. K., Patel, A., et al. (2017) Mucins and associated O-glycans based immunoprofile for stratification of colorectal polyps: clinical implication for improved colon surveillance. *Oncotarget*, 8(4), 7025–7038. doi: 10.18632/oncotarget.12347
- [12] Khaidakov, M., Lai, K. K., Roudachevski, D., Sargsyan, J., Goyné, H. E., Pai, R. K., et al. (2016) Gastric Proteins MUC5AC and TFF1 as Potential Diagnostic Markers of Colonic Sessile Serrated Adenomas/Polyps. *American Journal of Clinical Pathology*, 146(5), 530–537. doi: 10.1093/ajcp/aqw142
- [13] Drew, J. E., Farquharson, A. J., Mayer, C. D., Vase, H. F., Coates, P. J., Steele, R. J., & Carey, F. A. (2014) Predictive Gene Signatures: Molecular Markers Distinguishing Colon Adenomatous Polyp and Carcinoma. *PLoS One*, 9(11), e113071. doi: 10.1371/journal.pone.0113071
- [14] Hryniuk, A., Grainger, S., Savury, J. G. A., & Lohnes, D. Cdx1 and Cdx2 Function as Tumor Suppressors. *Journal of Biological Chemistry*, 289(48), 33343–54. doi: 10.1074/jbc.M114.583823
- [15] Bae, J. M., Lee, T. H., & Cho, N. Y. (2015) Loss of CDX2 expression is associated with poor prognosis in colorectal cancer patients. *World Journal of Gastroenterology*, 21(5), 1457–1467. doi: 10.3748/wjg.v21.i5.1457
- [16] Dalerba, P., Sahoo, D., Paik, S., Guo, X., Yothers, G., Song, N., et al. (2016) CDX2 as a Prognostic Biomarker in Stage II and Stage III Colon Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 374(3), 211–222. doi: 10.1056/NEJMoA1506597
- [17] Tumanyskyi, V. O., Yevsieiev, A. V., Kovalenko, I. S., & Zubko, M. D. (patentee) (2015) Patent 99314 Україна, МПК 2015.01 G01N 21/00 G06K 9/00 Спосіб фотоцифрової морфометрії імуногістохімічних препаратів [Patent of Ukraine 99314, IPC 2015.01 G01N 21/00 G06K 9/00 The technique of digital morphometry of immunohistochemical slides]. *Biuletyn*, 10. [in Ukrainian].
- [18] Sen, A., Mitra, S., Das, R. N., Dasgupta, S., Saha, K., Chatterjee, U., et al. (2015) Expression of CDX-2 and Ki-67 in different grades of colorectal adenocarcinomas. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 58(2), 158–62. doi: 10.4103/0377-4929.155304