

В. А. Туманский, Т. А. Христенко

**Гиперпластические полипы желудка:  
иммуногистохимическая характеристика пролиферации и апоптоза**

Запорожский государственный медицинский университет

**Ключевые слова:** желудка болезни, полипы, пролиферация клеток, апоптоз.

С целью изучения процессов пролиферации и апоптоза проведено иммуногистохимическое исследование экспрессии Ki-67 и Casp-3 в биоптатах 42 гиперпластических полипов желудка. Установлено, что гиперпластические полипы желудка характеризуются средним уровнем экспрессии Ki-67 ( $2,4 \pm 0,09$  балла) и крайне низким уровнем экспрессии Casp-3 ( $13,6 \pm 0,392$  балла) в покровно-ямочном эпителии, а также низким уровнем экспрессии Ki-67 ( $0,7 \pm 0,04$  балла) и умеренным уровнем экспрессии Casp-3 ( $61,4 \pm 9,487$  балла) в клетках собственной пластинки. В гиперпластических полипах с умеренной и тяжелой дисплазией эпителия уровень экспрессии Ki-67 в эпителиоцитах и клетках собственной пластинки возрастает. Это свидетельствует о ведущей роли процессов пролиферации в прогрессировании гиперпластических полипов желудка.

**Гіперпластичні поліпи шлунка: імуногістохімічна характеристика проліферації та апоптозу**

В. О. Туманський, Т. О. Христенко

З метою дослідження процесів проліферації та апоптозу здійснили імуногістохімічне дослідження експресії Ki-67 та Casp-3 в біоптатах 42 гіперпластичних поліпів шлунка. Встановили, що гіперпластичні поліпи шлунка характеризуються помірним рівнем експресії Ki-67 ( $2,4 \pm 0,09$  бала) та вкрай низьким рівнем експресії Casp-3 ( $13,6 \pm 0,392$  бала) у покривно-ямковому епітелії, а також низьким рівнем експресії Ki-67 ( $0,7 \pm 0,04$  бала) та помірним рівнем експресії Casp-3 ( $61,4 \pm 9,487$  бала) у клітинах власної пластинки. У гіперпластичних поліпах із помірною та тяжкою дисплазією епітелію рівень експресії Ki-67 в епітеліоцитах і клітинах власної пластинки зростає. Це свідчить про провідну роль процесів проліферації в прогресуванні гіперпластичних поліпів шлунка.

**Ключові слова:** шлунка хвороби, поліпи, проліферація клітин, апоптоз.**Патологія.** – 2014. – №3 (32). – С. 96–99**Gastric hyperplastic polyps: immunohistochemical characteristic of proliferation and apoptosis**

V. A. Tumanskiy, T. A. Khrystenko

**Aim.** In order to research proliferation and apoptosis immunohistochemical study of expression of Ki-67 and Caspase-3 in biopsies of 42 gastric hyperplastic polyps was conducted.

**Methods and results.** It was found that gastric hyperplastic polyps are characterized by middle expression level of Ki-67 ( $2,4 \pm 0,09$  points) and extremely low expression level of Casp-3 ( $13,6 \pm 0,392$  points) in surface foveolar cells, and also low expression level of Ki-67 ( $0,7 \pm 0,04$  points) and middle expression level of Casp-3 ( $61,4 \pm 9,487$  points) in cells of lamina propria. In hyperplastic polyps with middle and high epithelial dysplasia expression level of Ki-67 in epithelial cells and cells of lamina propria increases.

**Conclusion.** These results demonstrate the leading role of cell proliferation in progression of gastric hyperplastic polyps.

**Key words:** Stomach Diseases, Polyps, Cell Proliferation, Apoptosis.**Pathologia.** 2014; №3 (32): 96–99

Гиперпластические полипы желудка (ГПЖ) являются распространенными доброкачественными новообразованиями желудка, составляют 2/3 всех эндоскопически выявляемых полипов [1]. Частота злокачественной трансформации ГПЖ, по данным разных авторов, колеблется от 0,6–2,1% [1–7] до 6,6% [8]. По мнению большинства исследователей, малигнизация развивается в очагах диспластически измененного эпителия [2,9], однако вопрос злокачественного потенциала ГПЖ остается открытым. Наиболее общими ранними механизмами канцерогенеза являются утрата контроля над своевременной элиминацией мутировавших клеток путем апоптоза и усиление их пролиферативной активности. Согласно литературным данным, оптимальным для практического применения маркером клеточной пролиферации является ядерный белок Ki-67 [10], а маркером апоптоза – экспрессия фермента апоптотиче-

ской деградации Caspase-3. Согласованного взгляда на прогностическую ценность уровня экспрессии указанных иммуногистохимических (ИГХ) маркеров для ГПЖ на данный момент нет, что и определяет актуальность данного исследования.

**Цель работы**

Имуногистохимическими методами определить уровень пролиферативной активности и апоптоза эпителия желез и клеток собственной пластинки гиперпластических полипов желудка.

**Материалы и методы исследования**

Проведено комплексное патоморфологическое исследование ГПЖ в гастробиоптатах 42 пациентов в возрасте 22–85 лет. В парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, оценивали структуру полипов, наличие дисплазии эпителия и ее степень в соответствии с международным консенсусом (Inter-

national Padova classification, 2000). Для выявления и оценки слизеобразования в эпителии применяли ШИК-реакцию.

В депарафинированных срезах (после температурной демаскировки и подавления активности эндогенной пероксидазы) проводили ИГХ исследование пролиферативной активности клеток с использованием моноклональных антител Мо а-Hu Ki-67 Antigen, Clone MIB-1, («ДАКО», Дания) и апоптоза клеток с использованием моноклональных антител Мо а-Hu Caspase Ab-3, Clone 3CSP03 («Thermo Fisher Scientific Inc.», США), а также системы визуализации DAKO EnVision+ System с диаминобензидином («ДАКО», Дания).

Результаты ИГХ реакции с Ki-67 оценивали в баллах путем подсчета процента клеток ГПЖ с иммунопозитивными ядрами в 5 полях зрения микроскопа Axioplan 2 («Carl Zeiss», ФРГ) при увеличении  $\times 200$ , используя градацию Risberg B. et al. (2002): 0 баллов = 0–5% клеток с позитивно окрашенными ядрами, 1 балл = 6–25%, 2 балла = 26–50%, 3 балла = 51–75%, 4 балла = 76–100% иммунопозитивных клеток. Низкий уровень экспрессии Ki-67 соответствовал 0 и 1 баллу, средний уровень экспрессии – 2 и 3 баллам, высокий уровень экспрессии Ki-67 соответствовал 4 баллам.

Уровень экспрессии Caspase-3 оценивали фотоцифровой морфометрией ИГХ микропрепаратов ГПЖ, которые фотографировали цифровой камерой «Olympus 3040» (Япония) в микроскопе Axioplan 2 («Carl Zeiss», ФРГ) при увеличении  $\times 200$  в 5 полях зрения и в дальнейшем анализировали с помощью программы обработки цифровых изображений ImageJ [Rasband W.S. (1997–2012)]. В плагине Colour Deconvolution этой программы во встроенной схеме анализа «Гематоксилин+DAB» по уровню окрашивания диаминобензидином определяли уровень экспрессии Casp-3, который по стандартной шкале яркости количественно градуировали в баллах (от 0 – белый до 255 – черный) и разбивали по A. Katauama et al. (2004) на 4 категории: негативная реакция – 0–20 баллов; низкий уровень экспрессии – 21–50 баллов; умеренный уровень экспрессии – 51–100 баллов; высокий уровень экспрессии – более 100 баллов.

Результаты обработаны на персональном компьютере с помощью лицензионной программы «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5). Вычисляли среднее значение (M), стандартную ошибку репрезентативности среднего значения (m), рассчитывали 95% доверительный интервал среднего значения.

### Результаты и их обсуждение

При микроскопическом исследовании ГПЖ установлено, что они сформированы удлинёнными, извитыми, разветвленными, часто расширенными ямками, выстланными высоким и светлым цилиндрическим покровно-ямочным эпителием, активно продуцирующим слизь. В собственной пластинке ГПЖ обнаружены многочисленные фибробласты, макрофаги, лимфоциты, плазмциты и лаброциты.

При ИГХ анализе мозаичная экспрессия маркера клеточной пролиферации Ki-67 выявлена в ядрах эпителия

шейки ямок и в нижерасположенных стенках ямок, а также в ядрах немногочисленных клеток собственной пластинки ГПЖ. Средний уровень экспрессии маркера Ki-67 в эпителиальных клетках ГПЖ составил  $2,4 \pm 0,09$  балла (рис. 1). Проллиферирующие эпителиальные клетки локализованы не только в шейках, но и в стенках разветвленных ямок полипов.

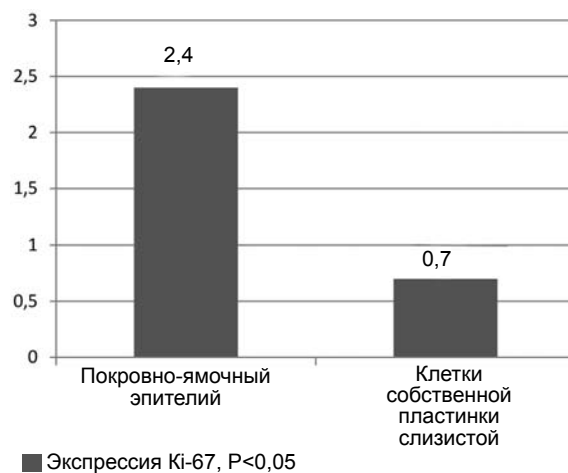


Рис. 1. Проллиферативная активность клеток покровно-ямочного эпителия и клеток собственной пластинки слизистой ГПЖ.

Низкий уровень экспрессии Ki-67 в покровно-ямочных эпителиоцитах, соответствовавший 0–1 баллам, обнаружен в 45,5% ГПЖ; средний уровень экспрессии Ki-67 в эпителиоцитах, равный 2–3 баллам, – в 36,4% полипов; высокий уровень экспрессии Ki-67 в эпителии, соответствовавший 4 баллам, – в 18,1% ГПЖ.

При ИГХ анализе уровня пролиферации клеток собственной пластинки ГПЖ получены следующие результаты. Средний уровень ядерной экспрессии маркера пролиферации Ki-67 клетками собственной пластинки ГПЖ составил  $0,7 \pm 0,04$  балла (рис. 1). В 81,8% ГПЖ выявлен низкий уровень экспрессии Ki-67 в клетках собственной пластинки, соответствовавший 0–1 баллу; в 18,2% ГПЖ с умеренной и тяжелой дисплазией эпителия имел место средний уровень экспрессии Ki-67 в клетках собственной пластинки, составивший 2 балла.

По данным разных авторов [1,5], в 1,9–19% ГПЖ обнаруживается дисплазия эпителия, риск ее развития возрастает по мере увеличения объема полипа [4]. Дисплазию покровно-ямочного эпителия мы установили в 14,2% ГПЖ: легкая дисплазия – в 50% наблюдений, умеренная дисплазия – в 33,3%, тяжелая дисплазия – в 16,7% полипов. Общепринято, что гиперпластические полипы желудка – это доброкачественные опухолеподобные образования, малигнизация возможна только в крупных полипах диаметром более 2 см. По данным разных авторов, злокачественная трансформация обнаруживается в 0,6–2,1% гиперпластических полипов [2–8]. В нашем исследовании развитие аденокарциномы диагностировали в одном крупном ГПЖ, что составило 2,4% всех наблюдений. Следует отметить, что высокий уровень экспрессии Ki-67 в покровно-ямочных эпителиоцитах наблюдали в ГПЖ с умеренной и тяжелой дисплазией эпителия и в малигнизированном полипе.

При анализе экспрессии маркера апоптотической деградации каспазы-3 установлено, что покровно-ямочный эпителий ГПЖ характеризуется крайне низкой цитоплазматической экспрессией Casp-3, средний уровень которой составил  $13,6 \pm 0,392$  балла. Более значительный уровень цитоплазматической экспрессии Casp-3 определен в клетках собственной пластинки ГПЖ, составивший в среднем  $61,4 \pm 9,487$  балла (рис. 2).

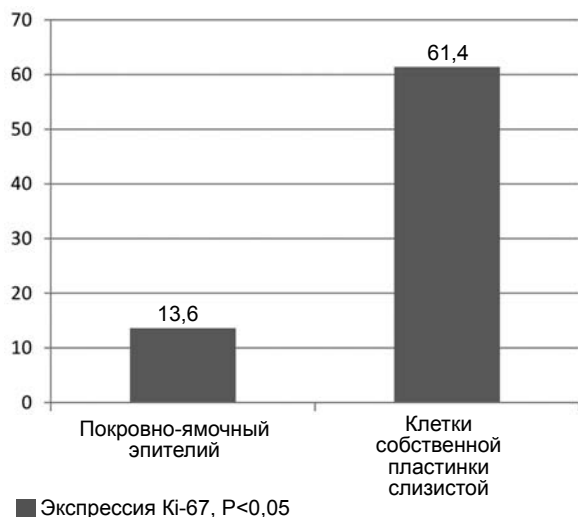


Рис. 2. Апоптотическая активность клеток покровно-ямочного эпителия и клеток собственной пластинки слизистой ГПЖ.

## Выводы

При иммуногистохимическом исследовании пролиферативной активности установлено, что в покровно-ямочном эпителии гиперпластических полипов желудка определяется средний уровень ядерной экспрессии маркера Ki-67 ( $M=2,4 \pm 0,09$  балла), в полипах с тяжелой дисплазией эпителия и малигнизацией уровень экспрессии Ki-67 достигает 4 баллов, что свидетельствует о высоком уровне пролиферации эпителиоцитов. Пролиферирующие клетки локализованы не только в шейках, но и в стенках разветвленных ямок полипов.

В клетках собственной пластинки гиперпластических полипов желудка выявлен низкий уровень ядерной экспрессии Ki-67 ( $M=0,7 \pm 0,04$  балла), в полипах с тяжелой дисплазией эпителия уровень экспрессии Ki-67 в клетках собственной пластинки возрастает до 2 баллов.

По данным иммуногистохимического анализа, покровно-ямочный эпителий гиперпластических полипов желудка отличается крайне низким уровнем апоптоза и практически негативной экспрессией каспазы-3 ( $M=13,6 \pm 0,392$  балла), а клетки собственной пластинки характеризуются умеренным уровнем апоптоза и экспрессии каспазы-3 ( $M=61,4 \pm 9,487$  балла).

Результаты иммуногистохимических исследований свидетельствуют о ведущей роли пролиферации покровно-ямочного эпителия и клеток собственной пластинки в прогрессировании гиперпластических полипов желудка.

## Список литературы

1. Баранніков К.В. Поліпи шлунка: сучасна класифікація, ендоскопічна діагностика, вибір тактики / К.В. Баранніков, Я.Б. Швидкий, І.М. Тумак, Н.О. Лукавецький // Львівський медичний часопис. – 2013. – Т. 19. – №4. – С. 67–75.
2. Пальцев М.А. Атлас патологии опухолей человека / М.А. Пальцев, Н.М. Аничков. – М.: Медицина, 2005. – 424 с.
3. The clinicopathological features of gastric hyperplastic polyps with neoplastic transformations: a suggestion of indication for endoscopic polypectomy / A.R. Han, C.O. Sung, K.M. Kim et al. // *Gut and Liver*. – 2009. – Vol. 3(4). – P. 271–275.
4. Evaluation of the oncogenic risk of diffuse gastric polyposis. A case report / E. Spaziani, M. Picchio, A. Filippo et al. // *Revista Espanola de Enfermedades Digestivas*. – 2012. – Vol. 104(9). – P. 493–496.
5. Goddard A.F. The management of gastric polyps / A.F. Goddard, R. Badreldin, D.M. Pritchard // *Gut*. – 2010. – Vol. 59. – P. 1270–1276.
6. A white opaque substance-positive gastric hyperplastic polyp with dysplasia / H. Ueyama, K. Matsumoto, A. Nagahara et al. // *World Journal of Gastroenterology*. – 2013. – Vol. 19(26). – P. 4262–4266.
7. Jung J.T. Gastric Polyps and Protruding Type Gastric Cancer / J.T. Jung // *Clinical Endoscopy*. – 2013. – Vol. 46(3). – P. 243–247.
8. Vieth M. Evaluated risk of gastric adenocarcinoma can be predicted from histomorphology / M. Vieth, M. Stolte // *World Journal of Gastroenterology*. – 2006. – Vol. 12(38). – P. 6109–6114.
9. Adenocarcinoma occurring in a gastric hyperplastic polyp treated with endoscopic submucosal dissection / H.W. Jang, H.Y. Jeong, S.H. Kim et al. // *Journal of Gastric Cancer*. – 2013. – Vol. 13(2). – P. 117–120.

10. Петров С.В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С.В. Петров, Н.Т. Райхлин. – Казань: Титул, 2012. – 624 с.

## References

1. Barannikov, K. V., Shvydkyi, Ya. B., Tumak, I. M., & Lukavetskyi, N. O. (2013) Polipy shlunka: suchasna klasyfikatsiia, endoskopichna diahnostryka, vybir taktyky [Gastric polyps: current classification, endoscopic diagnosis, choice of tactics]. *Lvivskyi medychnyi chasopys*, 19(4), 67–75. [in Ukrainian].
2. Pal'cev, M. A., & Anichkov, N. M. (2005) *Atlas patologii opukholej cheloveka* [Atlas of pathology of human tumors]. Moscow: Medicine. [in Russian].
3. Han, A. R., Sung, C. O., Kim, K. M., Park, C. K., Min, B. H., Lee, L. H., et al. (2009) The clinicopathological features of gastric hyperplastic polyps with neoplastic transformations: a suggestion of indication for endoscopic polypectomy. *Gut and Liver*, 3(4), 271–275. doi: 10.5009/gnl.2009.3.4.271.
4. Spaziani, E., Picchio, M., Filippo, A., Narilli, P., Pacini, L., Moretti, V., et al. (2012) Evaluation of the oncogenic risk of diffuse gastric polyposis. A case report. *Revista Espanola de Enfermedades Digestivas*, 104(9), 493–496.
5. Goddard, A. F., Badreldin, R., & Pritchard, D. M. (2010) The management of gastric polyps. *Gut*, 59, 1270–1276.
6. Ueyama, H., Matsumoto, K., Nagahara, A., Gushima, R., Hayashi, T., Yao, Y., & Watanabe, S. (2013) A white opaque substance-positive gastric hyperplastic polyp with dysplasia. *World Journal of Gastroenterology*, 19(26), 4262–4266. doi: 10.3748/wjg.v19.i26.4262.
7. Jung, J. T. (2013) Gastric Polyps and Protruding Type Gastric Cancer. *Clinical Endoscopy*, 46(3), 243–247. doi: 10.5946/ce.2013.46.3.243.

8. Vieth, M., & Stolte, M. (2006) Evaluated risk of gastric adenocarcinoma can be predicted from histomorphology. *World Journal of Gastroenterology*, 12(38), 6109–6114.
  9. Jang, H. W., Jeong, H. Y., Kim, S. H., Kang, S. H., Seong, J. K., Song, K. S., & Moon, H. S. (2013) Adenocarcinoma occurring in a gastric hyperplastic polyp treated with endoscopic submucosal dissection. *Journal of Gastric Cancer*, 13(2), 117–120. doi: 10.5230/jgc.2013.13.2.117.
  10. Petrov, S. V., & Rajkhlin, N. T. (2012) *Rukovodstvo po immunogisokhimicheskoj diagnostike opukholej cheloveka [Guidance on immunohistochemical diagnosis of human tumors]*. Kazan': Title. [in Russian].
- 

**Сведения об авторах:**

Туманский В.А., д. мед. н., профессор, зав. каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет.

Христенко Т.А., аспирант каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, E-mail: HristenkoTA@i.ua.

---

Надійшла в редакцію 10.11. 2014 р.