

5. Fan J. C. Infectious endophthalmitis: clinical features, management and visual outcomes / J. C. Fan, R. L. Niederer, H von Lany, P. J Polkinghorne // Clin. Experiment Ophthalmol. — 2008. — V. 36. — P. 631–636.
6. Wong T. Y. The epidemiology of acute endophthalmitis after cataract surgery in an Asian population / T. Y Wong, S. P. Chee // Ophthalmology. — 2004. — V.111. — P. 699–705.
7. Yan H., Chen S., Zhang J. K., Yu J. G., Han J. D. Treatment of postoperative endophthalmitis following cataract surgery without intraocular lens removal / H. Yan, S. Chen, J. K. Zhang, J. G. Yu, J. D. Han // Zhonghua Yan Ke Za Zhi 2009. — V. 45. — P. 684–687.

Поступила 07.03.2012
Рецензент В. В. Савко

ELABORATION OF ENDOPHTHALMITIS OUTCOME PREDICTION SYSTEM
ON THE BASIS OF THE CLINICAL SIGNS

A. V. Zborovskaya
Odessa, Ukraine

We elaborated an endophthalmitis outcome prediction system based on the influence of different clinical signs on the disease outcome.



УДК 617.77–006.6–097–092.18

ЭКСПРЕССИЯ ОНКОБЕЛКОВ P53, BCL-2 И АНТИГЕНОВ CD95, ИПО38 У БОЛЬНЫХ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫМИ ОПУХОЛЯМИ ВЕК

И. А. Сафроненкова, ст. науч. сотр., канд. мед. наук

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины»

Досліджена експресія маркерних білків P53, Bcl-2 та антигенів CD95, ИПО38 у біоптатах 185 хворих на злоякісні епітеліальні пухлини (ЗЕП) повік. Встановлена кореляція експресії Bcl-2 зі стадією пухлинного процесу. Найчастіше позитивна реакція виявляється у T_{2a} стадії (79,4%). Коекспресія P53 і Bcl-2 при імунофенотипі P53 (+) / Bcl-2 (+) є важливим прогностичним маркером агресивної поведінки ЗЕП і може бути предиктором розвитку рецидивів. Висока можливість розвитку рецидивів залежить від характеру та рівня експресії P53 і CD95. При Bcl-2 >10% та негативній експресії CD95 в 98,9% випадках прогнозується рецидив пухлини.

Ключевые слова: злокачественные эпителиальные опухоли век, P53, Bcl-2, CD95, ИПО38, прогноз рецидивов

Ключові слова: злоякісні епітеліальні пухлини повік, P53, Bcl-2, CD95, ИПО38, прогноз рецидивів

Введение. Одним из возможных подходов к прогнозированию течения и оптимизации методов лечения злокачественных новообразований может рассматриваться изучение молекулярно-биологических маркеров опухоли, влияющих на ее биологические свойства [10]. Данные литературы свидетельствуют, что патогенез неоплазий связан с неспособностью опухолевых клеток подвергаться апоптозу. Одним из механизмов нарушения апоптоза являются мутации в генах, контролирующих этот процесс. Примерами подобных аномалий являются хорошо изученные гиперэкспрессия гена Bcl-2, тормозящего апоптоз, мутации в гене P53, препятствующие функционированию кодируемого им белка как индуктора апоптоза, и уменьшение экспрессии CD95 [3, 4].

Пролиферативная активность является ведущим фактором как в механизме злокачественной трансформации клеток, так и в биологическом поведении уже возникших опухолей. Представление о

кинетики пролиферативных процессов постоянно расширяется и уточняется. Исследование особенностей пролиферации опухолевых клеток у больных с различными новообразованиями используется для прогноза течения заболевания и коррекции схем лечения. Имеются работы, результаты которых свидетельствуют о наличии корреляции между интенсивностью пролиферативного процесса и течением заболевания, а также эффективностью проводимой лучевой терапии (ЛТ) [1, 2, 5, 6, 10]. Однако согласованного мнения о прогностическом значении экспрессии онкобелков P53 и Bcl-2 и антигенов CD95 и ИПО38 и сочетания этих факторов при злокачественных эпителиальных опухолях (ЗЭО) кожи век не имеется [3, 4, 7, 8, 9, 11, 12].

Цель исследования — изучение особенностей и прогностического значения экспрессии онкобел-

© И. А. Сафроненкова, 2012

ков P53 и Bcl-2 и антигенов CD95 и ИПО38 при ЗЭО век.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Исследован биопсийный материал от 185 пациентов ЗЭО век (81 мужчина и 104 женщины) в возрасте от 34 до 89 лет ($M=64,3$, $SD=11,1$) получавших комбинированное лечение (лучевая терапия+криодеструкция) в ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины» с 1998 по 2008 г. Стадию заболевания определяли по Международной классификации TNM (7-е издание, 2010 г.). С T_{2a} стадией было 34 больных, T_{2b} — 72, T_{3a} — 73, T_{3b} — 6. С базальноклеточным раком было 163 больных, плоскоклеточным — 21 и с раком мейбомиевых желез — 1. Рецидив развился у 34 больных в сроки от 1 до 6 лет.

Иммуногистохимические исследования проведены в ГУ «Институт патологии, онкологии и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины» (г. Киев) у 185 больных ЗЭО век до начала лечения. Применялись моноклональные антитела (МКАТ): Cytokeratin (clon MNF116), Bcl-2 (clon 124), p53 (clon DO-7), CD95/Fas (clon XD2) фирмы Dako Cytomation, Дания и ИПО-38 (ГУ Институт патологии, онкологии и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины).

Для иммуногистологического исследования использовались парафиновые срезы биоптатов ЗЭО век толщиной 4–6 мкм. Для визуализации комплекса антиген-антитело использовался непрямой иммунопероксидазный метод, где активность пероксидазы определялась при помощи 3,-диаминобензидин тетрахлорида (ДАБ) (Фирма DAKO, Дания). Срезы ткани опухоли докрашивали гематоксилином, помещали в бальзам и исследовали под световым микроскопом. В качестве отрицательного контроля использовался физиологический раствор, в качестве положительного — Cytokeratin.

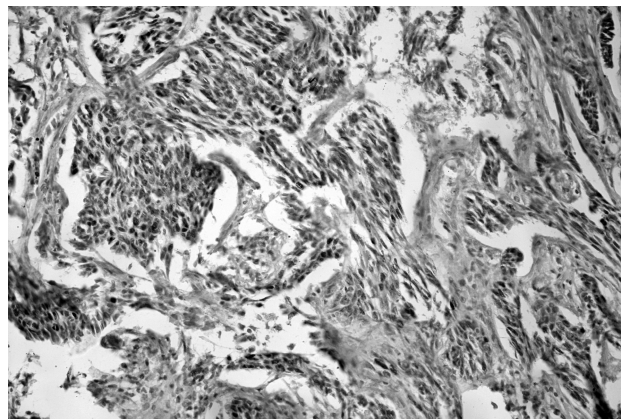
Положительным результатом считалось наличие специфического коричневого окрашивания цитоплазмы при выявлении экспрессии Cytokeratin и Bcl-2, ядра — при экспрессии p53 и ИПО38, поверхностной мембраны и цитоплазмы — при CD95/Fas. Степень экспрессии МКАТ оценивали полуквантитетным способом, учитывая долю окрашенных клеток и интенсивность окрашивания. Результаты интерпретировали по следующим критериям: (-) — реакция отсутствует (<10 %, а для p53 — <20 %), (+) — умеренная окраска незначительной части клеток (11–30 %), (++) — умеренное или сильное окрашивание 31–50 % клеток, (+++) — сильное окрашивание большинства опухолевых клеток (>51 %). Количественное содержание оценивали по процентному отношению числа позитивных клеток к общему количеству опухолевых клеток в поле зрения.

Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью программы «Statistica 9.0». Для их сравнения использовался t — критерий Стьюдента и критерий сопряженности χ^2 . Корреляционный анализ проведен с использованием коэффициента Пирсона (для параметрических данных) и коэффициента Спирмана (для непараметрических данных). Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

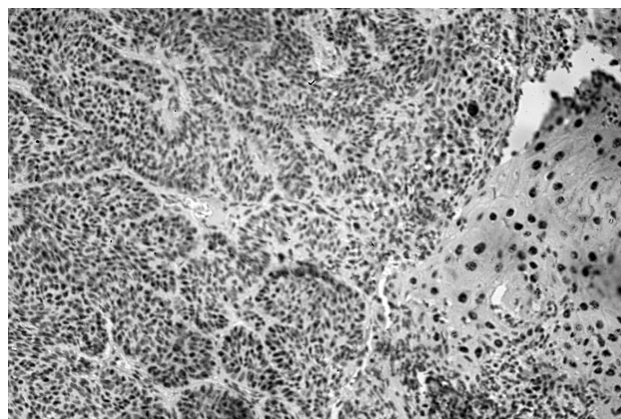
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Клеточная реакция P53 и ИПО38 наблюдалась в ядрах опухолевых клеток (рис. 1 а, в).

Для P53 окрашивание носило диффузный характер во всех островках опухоли. Окрашивание

для ИПО38 отличалось неравномерностью, с небольшим преобладанием пролиферирующих клеток по периферии новообразования, указывая тем самым, на различие в пролиферативной активности разных участков опухолевых клеток.



а)



б)

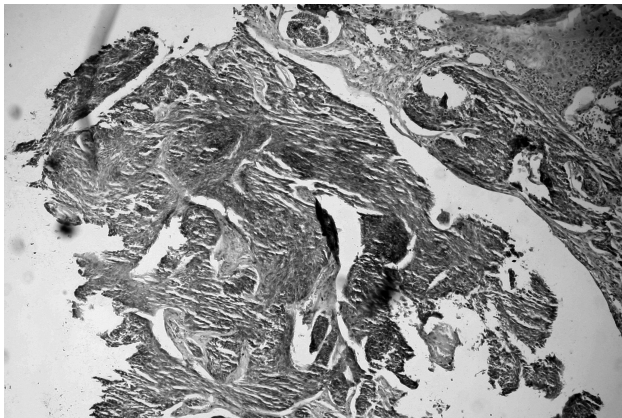
Рис. 1а, б. а — P53 — иммуногистология, БКР: интенсивное (+++) ядерное окрашивание 90 % опухолевых клеток независимо от их локализации. Клеточные элементы стромы не окрашиваются; б — ИПО — иммуногистология, БКР: интенсивная (+++) ядерная экспрессия клеток, формирующих часток. В центре комплексов опухолевых клеток экспрессируются единичные клетки

Bcl-2 реакция наблюдалась в цитоплазме опухолевых клеток, причем экспрессия белка распределялась диффузно с легкой акцентуацией периферийных клеток (рис. 2 а)

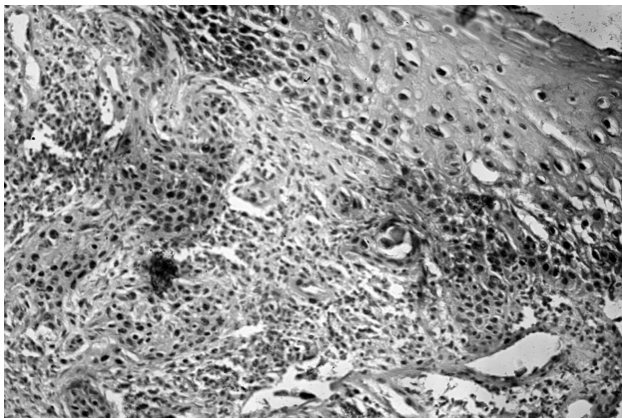
Экспрессия CD95 в опухолевых клетках характеризовалась окрашиванием и цитоплазмы и мембраны опухолевых клеток. Наблюдалась диффузная окраска опухолевых комплексов, в некоторых случаях определялось окрашивание базального слоя эпидермиса и стромы (рис. 2 в).

Положительная экспрессия P53 была выявлена в 105 (56,8 %) случаях. Уровень экспрессии был вариабелен: слабая, умеренная и выраженная экспрессия отмечалась соответственно в 27(25,7 %), 47 (44,8 %) и 31 (29,5 %) случаях. Bcl-2 позитив-

ная реакция обнаружена в 92 препаратах (49,7 %). При Vcl-2 (+) в 23 случаях (25,2 %) уровень экспрессии был слабым, в 33 (36,3 %) — умеренным и выраженным — в 35 (38,5 %). Позитивная экспрессия CD95 установлена в 95 (51,4 %) случаях, а ИПО38 — в 148 (80,5 %). Слабая, умеренная и выраженная экспрессия CD95 отмечались в 33 (34,7 %), 40 (42,1 %) и 22 (23,2 %) случаях, а экспрессия ИПО38 — в 25 (16,9 %), в 50 (33,8 %) и в 73 (49,3 %) соответственно.



а)



б)

Рис. 2 а, б. а — Vcl-2 — иммуногистология, БКР: интенсивная (+++) экспрессия в цитоплазме большей части (90 %) опухолевых клеток; б — CD95 — иммуногистология, БКР: интенсивная (+++) окраска цитоплазмы и мембраны опухолевых клеток. Окрашенные клетки распределяются диффузно с небольшим преимуществом вблизи стромы. Интенсивная реакция выявляется и в базальных клетках эпидермиса, погружающихся в строму.

Проведенный анализ показал, что характер экспрессии P53, Vcl-2, CD95 и ИПО38 в клетках ЗЭО век не зависит от того, была ли на момент начала лечения первичная опухоль или рецидив, а также от локализации, размера опухоли и от локального контроля.

Экспрессия протеина Vcl-2 статистически значимо связана со стадией процесса ($p=0,0009$), тогда как для P53, CD95 и ИПО38 эта связь отсутствует.

Наиболее часто экспрессия Vcl-2 наблюдалась в T2a стадии (79,4 %) и понижалась к T2в и T3a стадиям соответственно до 43,1 % и 45,2 %. В T3в стадии она составила лишь 16,7 %.

В исследуемой группе больных ЗЭО век ($n=185$) рецидивы заболевания наблюдались в 34 случаях. Из них в 31 (91,2 %) случае выявлены P53 — позитивные опухоли, в 33 (97,1 %) — Vcl-2 позитивные клетки. В 30 (88,2 %) случаях была положительная экспрессия ИПО38. Экспрессия CD95 была отрицательной во всех случаях рецидива ЗЭО век.

Таким образом, для рецидивов ЗЭО век характерна положительная экспрессия P53, Vcl-2 и отрицательная экспрессия CD95. Эта связь — статистически значима (соответственно $p=0,0000$, $0,0001$ и $0,0000$). Для характера экспрессии ИПО38 наличие статистически значимой связи не установлено.

Нами также исследована взаимосвязь P53 и Vcl-2 экспрессий и ее ассоциация с рецидивом. Данные о зависимости между коэкспрессией P53 и Vcl-2 и характером течения опухолевого процесса представлены в таблице 1.

Из данных, представленных в таблице 1, следует, что большинство рецидивов (64,7 %) возникло при иммунофенотипе P53 (+) / Vcl-2 (+), и, как показал анализ, это статистически значимо выше, чем при других фенотипах ($p<0,0003$).

Для оценки возможности прогноза рецидива ЗЭО век по уровню экспрессии Vcl-2, P53, CD95 и ИПО38 нами применен ROC-анализ (Receiver Operating Characteristic analysis) с построением ROC — кривых. ROC — кривая — это характеристическая кривая зависимости чувствительности от специфичности. Оптимальным является сочетание максимальных значений чувствительности и специфичности. В нашем случае Vcl-2, P53, CD95 и ИПО38 построены на основе относительных (%) показателей уровня экспрессии Vcl-2, P53, CD95 и ИПО38. Информативность теста определяется тем, насколько высоко лежит его характеристическая кривая, то есть, чем дальше находится кривая от диагонали, тем больше площадь под кривой и выше информативность.

Таблица 1

Коэкспрессия иммунофенотипов P53 и Vcl-2 при различном течении опухолевого процесса

Имунофенотип	Характер течения опухолевого процесса		Всего
	Без рецидива	Рецидив	
P53 (-) / Vcl-2 (-)	46 (30,5 %)	6 (17,6 %)	52 (28,1 %)
P53 (-) / Vcl-2 (+)	24 (15,9 %)	4 (11,8 %)	28 (15,1 %)
P53 (+) / Vcl-2 (-)	39 (25,8 %)	2 (5,9 %)	41 (22,2 %)
P53 (+) / Vcl-2 (+)	42 (27,8 %)	22 (64,7 %)	64 (34,6 %)
Всего	151 (100 %)	34 (100 %)	185 (100 %)

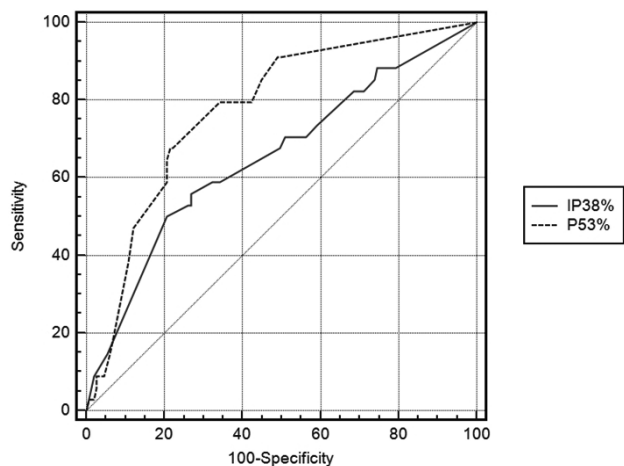


Рис. 3. ROC-кривые информативности экспрессии ИПО38 и P53 в клетках опухоли больных ЗЭО век с рецидивом и без рецидива

Как следует из рассмотрения рис. 3, при построении ROC — кривой для P53 была определена точка разделения позитивного теста (35 %). При уровне экспрессии P53 больше 35 % чувствительность теста составляет 67,7 %, а специфичность — 78,7 %. Площадь под ROC — кривой составляет 0,78 ($p=0,0001$). Площадь под ROC — кривой для ИПО38 составляет 0,66 %, а точка разделения позитивного теста равна 75 %. При уровне экспрессии ИПО38 > 75 %, чувствительность теста равна 50,0 %, а специфичность — 79,3 %.

Таким образом, при совместном использовании значений уровня экспрессии онкобелка P53 и антигена ИПО38, в случае отрицательной реакции (P53 >35 % и ИПО38 > 75 %) обеспечивается специфичность (отсутствие рецидива ЗЭО век) в 92,2 %.

Для Vcl-2 — площадь под ROC — кривой составляет 0,83 ($p=0,0001$). Точка разделения позитивного теста равна 10 %. Следовательно, при уровне экспрессии Vcl-2 >10 % чувствительность теста составляет 97,6 %, а специфичность — 66,2 %. Для CD95 площадь под ROC — кривой составляет 0,77 %. Точка разделения негативного теста ≤ 10 %. Следовательно, при уровне экспрессии CD95 ≤ 10 %, чувствительность теста составляет 99,9 %, а специфичность — всего 52,9 % (Рис. 4).

Следовательно, при совместном использовании значений уровня экспрессии онкобелка Vcl-2 и антигена CD95, в случае позитивной реакции Vcl-2 (>10 %) и негативной CD95 (≤10 %) обеспечивается чувствительность (вероятность рецидива ЗЭО век) в 98,8 %, что может служить прогностическим тестом развития рецидива.

ВЫВОДЫ

1. При ЗЭО век положительная экспрессия протеина Vcl-2 коррелирует со стадией опухолевого

процесса. Наиболее часто Vcl-2 позитивные клетки наблюдаются в T_{2a} стадии (79,4 %).

2. Коэкспрессия P53 и Vcl-2 при иммунофенотипе P53 (+) / Vcl-2 (+) является важным признаком развития рецидива ЗЭО век.

3. Высокая вероятность развития рецидива опухоли у больных ЗЭО век связана с характером и уровнем экспрессии P53 и CD95. При Vcl-2 >10 % и отрицательной экспрессии CD95 в 98,9 % случаев прогнозируется рецидив опухоли.

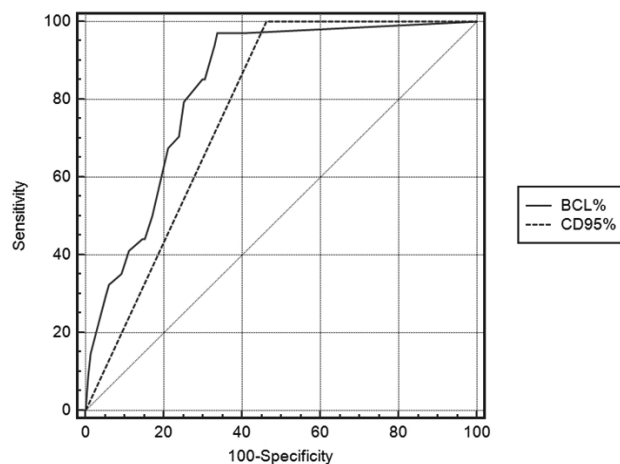


Рис. 4. ROC-кривые информативности экспрессии Vcl-2 и CD95 в клетках опухоли больных ЗЭО век с рецидивом и без рецидива

ЛИТЕРАТУРА

1. **Голдобенко Г. В.** Факторы прогноза и возможность индивидуализации лучевого лечения онкологических больных / Г. В. Голдобенко, С. В. Канав // Вопросы онкологии. — 2000. — Т.46. — № 3. — С.361–365.
2. **Горбань Н. А.** Экспрессия антигена Ki-67 и белка P53 как показателей агрессивности течения плоскоклеточного рака гортани / Н. А. Горбань, В. П. Тен, В. А. Панкратов // Вопросы онкологии. — 2007. — Т. 53. — № 6. — С.668–673.
3. **Канцерогенез: [Руководство] / Д. Г. Заридзе, Г. И. Алев, А. Д. Альштейн, Г. А. Белицкий // М.: Медицина, 2004. — 576 с.**
4. **Колесник А. П.** Молекулярные маркеры прогрессирования колоректального рака / А. П. Колесник, И. Д. Паламарчук, А. М. Сидоренко // Онкология. — 2006. — № 1. — С.13–17.
5. **Копнин Б. П.** Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза / Б. П. Копнин // Биохимия. — 2000. — Т.65. — Вып.1. — С.5–33.
6. **Пожариский К. М.** Значение иммуногистохимических методов для определения характера лечения и прогноза опухолевых заболеваний / К. М. Пожариский, Е. Е. Леенман // Арх. пат. — 2000. — № 5. — С.3–11.
7. **Characterization of p53 gene mutations in basal-cell carcinomas: comparison between sun-exposed and less-exposed skin areas / Y. Matsumura, C. Nishigori, T. Yagi [et al] // Int. J. Cancer. — 1996. — V.65. — P.778–780.**

8. Immunohistochemical nuclear staining for p53, PCNA and Ki-67 in different histologic variants of basal cell carcinoma / T. L. Barrett, K. J. Smith, J. J. Hodge [et al] // J. Am. Acad. Dermatol. — 1997. — V.37 — H.430–437.
9. Immunology and growth characteristics of ocular basal cell carcinoma / J. M. Rohbach, R. Stiemer, A. Mayer [et al] // Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. — 2001. — V.239. — P.35–40.
10. Molecular biomarkers and site of first recurrence after radiotherapy for head and neck cancer / O. U. Ataman, S. M. Bentzen, G. D. Wilson [et al] // Eur. J. Cancer. — 2004. — V.40. — P.2734–2741.
11. P53 gene mutations in human epithelial skin cancers / J-P Moles, C. Moyret, B. Guillot [et al] // Oncogene. — 1993. — V.8. — P.583–588.
12. P53 mutations and chromosome instability in basal cell carcinomas developed at an early or late stage / M. D'Errico, A. S. Calcagnile, R. Corona [et al] // Cancer. Res. — 1997. — V.57. — P.747–752.

Поступила 03.04.2012

Рецензент д.м.н., профессор В. В. Вит



УДК :617.711–036–07:616.72–002.77

УВЕИТ ПРИ АРТРИТАХ

К. П. Павлюченко, проф., **А. К. Павлюченко**, к. мед. н.,

О. В. Синяченко, член-корр. НАМН Украины, проф.

Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького

Увеїт розвивається на різних етапах у 32 % від числа хворих на реактивний хламідійний артрит, у 31 % на ювенільний ревматоїдний артрит, у 27 % на анкілозуючий спондилоартрит, у 20 % на псоріатичний артрит і у 14 % на ревматоїдний, причому тяжкість перебігу такої офтальмопатії, її поширеність й клінічний варіант залежать від нозологічної форми хронічних артритів, статі хворих, ступеня активності патологічного процесу, кістково-деструктивних змін з боку суглобів, темпів прогресування та екстраартикулярних ознак хвороби, що доводить спільність патогенетичних механізмів очної й артикулярної патології, дозволяє виділити прогностичні критерії.

Ключевые слова: увеит, артриты.

Ключові слова: увеїти, артрит.

Введение. Увеит относится к частым экстраартикулярным проявлениям серонегативных по ревматоидному фактору воспалительных болезней периферических суставов и позвоночника [4], в частности, анкилозирующего спондилоартрита (АС) [9, 12], псоріатического артрита (ПА) [16, 17], хламидийного реактивного артрита (РеА) [13, 19] и ювенильного ревматоидного артрита (ЮРА) [3, 15]. Считается, что увеит при таких болезнях опорно-двигательного аппарата развивается преимущественно у пациентов, являющихся носителями HLA-B*2704 [5]. Сравнительно редко увеит осложняет течение ревматоидного артрита (РА) [8] и в этих случаях обычно прямо коррелирует с развитием других экстраартикулярных признаков заболевания [11] у серопозитивных по ревматоидному фактору и HLA-DR4-позитивных больных [6]. Отметим, что увеит при РА, начавшемся в детском возрасте, чаще сопровождается повышением внутриглазного давления [10]. Высказывается мнение, что у больных РА поражение глаз в основном обусловлено формированием не увеитов, а кератитов вследствие возникновения латентно протекающего сухого синдрома Шегрена [14].

Развитие увеита при хронических воспалительных заболеваниях суставов существенно ухудшает качество жизни таких больных [18]. Было установлено, что 86 % больных ювенильным РА в течение трех лет после дебюта заболевания переносят увеит, зачастую вызывающий необратимую слепоту [2]. В случаях наследственно ассоциированного («семейного») АС увеит встречается чаще, чем у остальных пациентов (сказанное в первую очередь касается женщин), причем, имеют место гендерные особенности течения данной офтальмопатологии [1]. Установлено, что возникновение увеита у больных АС нередко ассоциируется с наличием энтезопатий [7], миозита и антител к протеогликанам суставного хряща в сыворотке крови [12].

В настоящее время не выяснен характер течения увеитов при отдельных артритах, связь тяжести данной офтальмопатологии с клиническими, лабораторными, рентгенологическими, сонографическими и денситометрическими признаками РА, ЮРА, РеА, ПА и АС. Это стало целью и задачами данного исследования.

© К. П. Павлюченко, А. К. Павлюченко, О. В. Синяченко, 2012