

УДК: 616.831-006:577.21:611-018

РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ И ИММУНОГИСТОХИМИИ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА В НЕЙРОХИРУРГИИ

Ж.Р. Ашрапов, У.М. Асадуллаев, Н.Б. Тулаев.

Республиканский специализированный научно-практический центр нейрохирургии, Мирзо-Улугбекский район, массив Хумоюн, дом 40, Ташкент. E-mail: dr_jamshid@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Современные успехи биотехнологии последних лет позволили изучить патоморфологические и молекулярно-генетические особенности глиальных опухолей головного мозга. Гистологических особенности опухолей головного мозга не отражает молекулярные различия подтипов. В данном обзоре мы рассматриваем основные генетические изменения, имеющие клиническое значение, среди

которых такие маркеры, как пролиферации Ki-67, гена-супрессора TP53, антиапоптотических белков bcl-2. Данные маркеры могут быть включены в более точную классификацию для клинической оценки заболевания и подбора терапии. Адекватный молекулярно-генетический диагноз дает возможность рекомендовать лечение в соответствии с установленной нозологической единицей.

Ключевые слова: молекулярно-генетические маркеры, глиомы, ЦНС, детский возраст.

THE ROLE OF MOLECULAR GENETIC MARKERS AND IMMUNOHISTOCHEMISTRY OF GLIAL BRAIN TUMORS IN NEUROSURGERY

Zh.R. Ashrapov, U.M. Asadullaev, N.B. Tulaev.

Republican specialized scientific and practical center of neurosurgery, Mirzo-Ulugbek district, Humoyun, 40, Tashkent. E-mail: dr_jamshid@mail.ru

RESUME

Recent advances in biotechnology have made it possible to study the pathomorphological and molecular genetic characteristics of glial brain tumors. The histological features of brain tumors do not reflect the molecular subtype differences. In this review, we consider the main genetic changes of clinical significance, including such markers as proliferation of Ki-67, the TP53 suppressor gene, and anti-apoptotic proteins bcl-2. These markers can be included in a more accurate classification for the clinical assessment of the disease and the selection of therapy. Adequate molecular genetic diagnosis makes it possible to recommend treatment in accordance with the established nosological unit.

Keywords: molecular genetic markers, gliomas, CNS, children's age.

Актуальность. Глиома – опухоль, входящая в гетерогенную группу и имеющая нейроэпителиальное происхождение. Глиома – самая распространенная первичная опухоль головного мозга. Глиомы различаются по степени злокачественности, гистологическим признакам, возрастом мани-

фестации, способности к инвазии и опухолевому прогрессу.

У детей новообразования головного мозга составляют 15-20% всей онкологической заболеваемости, занимают первое место по частоте среди солидных злокачественных опухолей и стоят на втором месте среди причин смертности от всех опухолей детского возраста, что во многом определяет социальное значение детской нейроонкологии. Частота первичных опухолей центральной нервной системы в различных странах по данным эпидемиологических исследований составляет от 5 до 13,9 на 100 000 населения, а особенности детского возраста обуславливают повышенную склонность к развитию опухолей мозга по сравнению с другими органами детского организма [4]. В США ежегодно выявляют 1700 заболевших детей [9].

ДИАГНОСТИКА

Исследования молекулярно-генетических особенностей опухолей головного мозга идентифицировали определенные общие патологические изменения и сигнальные пути, свойственные нескольким типам глиом.

К общим путям патогенеза, для отдельных видов глиом были идентифицированы специфические изменения, некоторые из которых имеют терапевтическое значение. Разделение глиом на астроцитомы, эпендимомы и олигодендроглиомы на основании гистологического исследования, однако тестирование молекулярных и цитогенетических особенностей помогает в классификации и предоставляет дополнительную информацию пациентам и лечащим врачам [4].

Астроцитомы I степени являются относительно доброкачественными опухолями чаще всего поражающими детей и подростков, не имеют мутаций, которые наблюдаются при диффузных глиомах, но практически все опухоли такого типа имеют активирующие мутации в гене BRAF [5, 10].

Наиболее часто встречающимся генетическим изменением при ПА (>70%) является соматическая fusion-мутация - генов KIAA1549-BRAF, -которая обычно происходит в результате 2Mb-тандемной дупликации на хромосоме 7q34 и иногда сопровождается другой мутацией - приобретением полной хромосомы 7, WC7, что ассоциировано с повышенной вероятностью рецидивов опухоли [22]. Следует отметить, что мутация KIAA1549-BRAF очень распространена при опухоли в мозжечке (>90%), и менее распространена при супратенториальных новообразованиях [6].

Анапластические астроцитомы, характеризуются ускоренной клеточной пролиферацией и поэтому содержат больше клеток. Среди генетических изменений, ассоциированных с переходом глиомы низкой степени злокачественности в анапластическую астроцитому - утрата плеч хромосом 9p, 11p, 13q, 19q, а также мутации в гене ретинобластомы (Rb), расположенного на хромосоме 13q14, наблюдаемые в 40% случаев [27]. При анапластических астроцитомах достаточно часто обнаруживаются делеции, в т.ч. биаллельные, гена ингибитора циклинзависимой киназы 2A CDKN2A (9p21), кодирующего два белка - p16INK4a и p14ARF, и/или моносомия хромосомы 10. Делеция CDKN2A связана с худшим прогнозом вследствие специфической роли этого гена в регуляции клеточного цикла [16].

В течение последних десятилетий для исследования глиальных новообразований широко используются иммуногистохимические методики (Coons et al., 1941, 1945), что подтверждается значительным количеством публикаций по различным аспектам данной проблемы. Иммуногистохимия (ИГХ) (иммуноцитохимия) - это один из методов окраски биологических объектов, изучаемых под микроскопом. Их суть заключается в определении локализации антигенов в определенных компонентах тканей, типах клеток и клеточных структурах с помощью специфических антител; то есть имму-

нологические реакции «перенесены» на предметное стекло морфолога [1, 25].

Иммуногистохимическое изучение диффузной астроцитомы (протоплазматической) выявило яркую равномерную реакцию антител на кислый глиальный фибриллярный белок (КГФБ), являющийся маркером клеток нейроглии. Зафиксирован низкий уровень пролиферации по Ki-67. ИГХ-реакция на белок p53 (верифицирует сверхэкспрессию мутированного гена-супрессора P53) была неяркой позитивной. В диффузной астроцитоме констатировано наличие умеренного количества тонкостенных кровеносных сосудов без активации эндотелия, цитоспецифичным маркером которого служит CD34 [2].

Также с помощью иммуногистохимии удалось выяснить, почему гемистоцитарные астроцитомы быстрее остальных прогрессируют в глиобластомы. Оказалось, что в гемистоцитах помимо инактивации p53 наблюдается гиперэкспрессия антиапоптотических белков семейства bcl-2. Длительное нахождение в фазе G0 клеточного цикла поддерживает уровень дифференцировки гемистоцитов и одновременно инициирует мутации в других астроцитарных клетках [17, 18]. Иммунореактивность многочисленных антиапоптотических белков bcl-2 отмечена также в остальных астроцитомах, но только в олигодендроглиомах (Gr II-III) уровень bcl-2 и проапоптотического белка *vac* коррелирует со степенью их злокачественности [15].

Малая изученность случаев рецидивирования, а также перспективность исследований в данном направлении для разработки более эффективных тактик лечения и привела к проведению работы, направленной именно на изучение молекулярно-биологических особенностей рецидивов диффузных астроцитарных опухолей высокой степени злокачественности.

Melguizo-Gavilanes и соавторы в своем исследовании продемонстрировали, что только в 32% случаев отмечалось совпадение диагноза псевдопрогрессии, установленного на МРТ и при гистологическом исследовании [12]. Однако для дальнейшего лечения пациента такие различия принципиальны, так как влияют на тактику лечения. В случае истинной прогрессии назначают новые курсы лучевой и химиотерапии, в то время как в случаях псевдопрогрессии их не назначают, и лечение направлено на купирование клинической симптоматики [12], как, например, назначение кортикостероидов для борьбы с отеком вещества мозга.

С целью верификации астроцитарной неоплазмы для подтверждения её глиального происхождения следует проводить реакции на КГФБ, белок S100 и виментин, которые должны быть равномерно позитивными.

Для установления степени анаплазии бластомы необходимо изучать экспрессию маркера пролиферации Ki-67 и белка-супрессора p53. Пограничным значением индекса Ki-67 в доброкачественной глиоме считается 5% (если индекс Ki-67 больше, то это указывает на анапластическую астроцитому или глиобластому). ИГХ-реакция на протеин p53 высоко позитивна в глиобластоме, вследствие суперэкспрессии данного белка мутантным геном. Также глиобластома показывает равномерную слабую положительную реакцию на цитокератины (ЦКР) клона «пан» [2].

ЛЕЧЕНИЕ, ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ И ИСХОДЫ ЛЕЧЕНИЯ ГЛИОМ У ДЕТЕЙ

Кроме величины резекции глиомы, к прогностическим факторам относятся возраст на момент постановки диагноза, общее состояние больного, также определенные генетические факторы риска [6]. Низкая эффективность при лечении глиом объясняется, прежде всего, высокой гетерогенностью клеток опухоли и инвазивностью, а также часто встречающейся на практике поздней постановкой диагноза, когда появляются явно выраженные симптомы заболевания. В подавляющем большинстве случаев данные опухоли неизлечимы: глиомы низкой степени злокачественности прогрессируют в глиомы высокой степени злокачественности; даже глиомы низкой степени злокачественности часто диагностируют тогда, когда процесс распространился за пределы возможности эффективной хирургической резекции. Вследствие этого, проблема ранней диагностики глиом и скрининга молекулярных мишеней с целью терапии является весьма актуальной [13, 14].

Сейчас в нейроонкологии предпринимаются серьезные попытки, направленные на выявление предиктивных маркеров противоопухолевой терапии, но они пока находятся на стадии экспериментальных исследований. Реальные результаты получены пока только у больных с общепатологической патологией [10].

Анапластические астроцитомы (Grade III) и глиобластомы (Grade IV) относятся к одним из самых злокачественных опухолей головного мозга [17]. Анапластическая астроцитомы прогрессирует в глиобластому, как правило, за 2 года [26]. Глиобластома, в свою очередь, является самой распространенной злокачественной опухолью головного мозга [7, 26]. Несмотря на прогресс в современных методах лечения, все диффузные астроцитомы III–IV степени злокачественности рецидивируют [26]. Поэтому на сегодняшний день изучение случаев рецидивирования этих опухолей важно для полного понимания их патоморфоза, оценки эффектив-

ности проведенной терапии и разработки более индивидуализированных методов лечения, которые бы учитывали не только гистотип опухоли, но и ее пролиферативный потенциал, особенности ангиогенеза, уровень инфильтрации иммунными клетками и молекулярно-генетические особенности. Однако случаи рецидивирования все еще мало изучены, что связано как с тем, что хирургическое вмешательство не всегда проводится в случаях рецидивирования [8], так и с тем, что средняя продолжительность жизни пациентов с анапластическими астроцитомами составляет 2–3 года [23], а с глиобластомами -15 мес [21, 23]. Следовательно, не все пациенты доживают до оперативного лечения рецидива.

В оценке ключевых особенностей опухолей кроме рутинной гистологии незаменимыми являются иммуногистохимический и молекулярно-генетический метод [26]. Так, для оценки эффективности проведенной терапии в случае рецидивов важным является определение пролиферативного потенциала опухоли (оценка экспрессии ядерного маркера Ki-67 и ее способности к активной инвазии (оценка экспрессии MMP-9). Перспективными для подбора более индивидуального терапевтического подхода является оценка экспрессии рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). А для назначения препарата важным является оценка активности ангиогенеза [8]. Активно ведутся исследования, направленные на разработку эффективной иммунотерапии глиом [27], поэтому уже сейчас важно понимать, какие звенья иммунной системы задействованы в опухолевой прогрессии [13, 14], а какие способствуют более благоприятному течению злокачественных диффузных астроцитом [11].

Повышение экспрессии Ki-67 в ткани опухоли отмечалось в 14 случаях ранних рецидивов. Согласно данным ВОЗ, такое повышение характерно для случаев рецидивирования и свидетельствует о неэффективности терапии [26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день настоящее время молекулярно-генетический анализ глиальной опухоли головного мозга для ее точной диагностики встает на первый план и дополняются новыми диагностическими маркерами.

Различия иммуногистохимических характеристик увеличивают точность патоморфологической диагностики глиом и их гистобиологических свойств. Всё это в свою очередь играют при прогнозе заболевания церебральной опухоли.

Успехи лечения опухолей центральной нервной системы настоящая время полностью зависят от достижений молекулярной генетики и знаний о

молекулярно-генетических механизмах канцерогенеза доказывает необходимость индивидуально-

го подхода к лечению онкологических заболеваний головного мозга.

Литература/References

1. Иммуногистохимический анализ глиофибрилярного кислого белка в оценке астроглиальной реакции при экспериментальной глиоме. С6 / Г. М. Юсубалиева [и др.] // *Клеточные технологии в биологии и медицине*. - 2010. - № 1. - С. 17 - 22.
2. Иммуногистохимические особенности глиальных опухолей головного мозга. К.А. Колотов, О.В. Машковцев, Б.Н. Бейн. № 4 (23) сентябрь 2012 *Медицинский альманах*. - С66-69.
3. Роль морфо-молекулярной диагностики для выбора лекарственной терапии опухолей головного мозга. М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, Е.Н. Имянитов, В.Е. Олюшин, А.Ю. Улитин, А.Г. Иевлева // *Журнал «Злокачественные опухоли»* - 2016. С. 99-102.
4. Саймонтон, К. *Психотерапия рака*. // Санкт-Петербург: Питер, 2001. С. 288.
5. Appin C.L., Brat D.J. Biomarker-driven diagnosis of diffuse gliomas. *Mol. Aspects Med.* 2015; 45: 87 - 96.
6. Collins V.P., Jones D.T.W., Giannini C. Pilocytic astrocytoma: pathology, molecular mechanisms and markers. *Acta Neuropathol.* 2015; 129: 775 - 88.
7. CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2010-2014. / [Q.T. Ostrom, H. Gittleman, P. Liao et al.] // *Neuro-oncology*. - 2017. - № 19. - P. 1 - 88.
8. Ellis L. VEGF-targeted therapy: mechanisms of antitumor activity / L. Ellis, D. Hicklin // *Nature Reviews Cancer*. - 2008. - № 8. - P. 579 - 591.
9. Hargrave D. Paediatric high and low grade glioma: the impact of tumor biology on current and future therapy. // *Br J Neurosurg*. 2009 Aug; 23(4):351-63.
10. Hess K.R., Broglio K.R., Bondy M.L. Adult glioma incidence trends in the United States, 1977 - 2000. *Cancer*. 2004; 101: 2293 - 9.
11. Haouraa Mostafa. Immune phenotypes predict survival in patients with glioblastoma multiforme. [Электронный ресурс] / Haouraa Mostafa, Andrej Pala, Josef Högel // *Journal of Hematology & Oncology*. - 2016. - Режим доступа к ресурсу: DOI 10.1186/s13045-016-0272-3.
12. Characterization of pseudoprogression in patients with glioblastoma: is histology the gold standard? / [I. Melguizo-Gavilanes, J. Bruner, N. Guha-Thakurta et al.] // *J Neurooncol*. - 2015. - № 123. - P. 141 - 150.
13. Gomez G.G. Mechanisms of malignant glioma immune resistance and sources of immunosuppression / G.G. Gomez, C.A. Kruse // *Gene Ther. Mol. Biol.* - 2006. - № 10. - P. 133 - 146.
14. Kelly P.J. Gliomas: Survival, origin and early detection. *Surg. Neurol. Int.* 2010; 1: 96.
15. Konstantinidou A.E., Korkolopoulou P., Patsouris E. // *J. Neuro-Oncology*. -2005. -N72. -P.151 - 156.
16. Kramar F., Zemanova Z., Michalova K., Babicka L., Ransdorfova S., Hrabal P., Kozler P. Cytogenetic analyses in 81 patients with brain gliomas: correlation with clinical outcome and morphological data. *J Neurooncol.* 2007; 84: 201-211.
17. Kros J., Waarsenburg N., Hayes D. et al: // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* -2000. -N59. -P.679 - 686.
18. Martins D.C., Malheiros S.M., Santiago L.H. et al. // *J. Neurooncol.* -2006. -N80. -P.49 - 55.
19. Nana A.W. Overview of transforming growth factor β superfamily involvement in glioblastoma initiation and progression/ A.W. Nana, P.M. Yang, H.Y. Lin // *Asian Pac J Cancer Prev*. -2015. -№ 16. -P. 6813-23.
20. Neill S.G., Fisher K.E. Section III: Molecular diagnostics in neurooncology. *Curr. Probl. Cancer*. 2014; 38: 175 - 179.
21. Ohgaki H. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas / H. Ohgaki, P. Kleihues. // *J Neuropathol Exp Neurol.* -2005. -№ 64. -P. 479 - 489.
22. Roth J.J., Fierst T.M., Waanders A.J., Yimei L., Biegel J.A., Santi M Whole chromosome 7 gain predicts higher risk of recurrence in pediatric pilocytic astrocytomas independently from KIAA1549-BRAF fusion status. *J Neuropathol. Exp. Neurol.* 2016; 75: 306 - 15.
23. Survival and Prognostic Factors of Anaplastic Gliomas / [M. Nuño, K. Birch, D. Mukherjee et al.] // *Neurosurgery*. -2013. -№ 73. -P. 458 - 465.
24. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary / [D. Louis, A. Perry, G. Reifenberger et al.] // *Neuropathologica*. -2016. -№ 131. -P. 803-820.
25. Torp S. H. Diagnostic and prognostic role of Ki-67 immunostaining in human astrocytomas using

- four different antibodies / S. H. Torp // *Clin. Neuropathol.* -2002. -Vol. 21 (6). -P. 252–257.
26. *WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System* / [D.N. Louis, H. Ohgaki, O.D. Wiestler et al.] -Lyon: IARC, 2007. -312 p.
27. Zhu Y., Parada L.F. *The molecular and genetic basis of neurological tumors. Nat. Rev. Cancer.* 2002; 2: 616 - 626.

УДК: 616.311:616.523-618.3-07

ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ И ПРОЯВЛЕНИЙ ГЕРПЕС ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В ПОЛОСТИ РТА У БЕРЕМЕННЫХ

Н.А. Юлдашева, М.А. Рахимова.

Кафедра госпитальной терапевтической стоматологии ТГСИ, Яшнабадский район, улица Махтумкули, 103, 100047, Ташкент, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1689-4443>.

РЕЗЮМЕ

Проблемам диагностики и лечения герпес вирусной инфекции посвящено большое количество публикаций, что позволяет считать ее достаточно изученной.

Таким образом, несмотря на определенные успехи в изучении этиологии и патогенеза герпетической инфекции в полости рта, сведения у беременных с герпетическим стоматитом малочисленны. В связи с этим проведение исследований по этой проблеме является актуальным.

Эффективность терапии простого герпеса зависит как от эффективности используемых специ-

фических противовирусных препаратов, так и от конечного иммунокорректирующего эффекта, что с одной стороны, вызвало необходимость исследования иммунного статуса пациентов, страдающих данным заболеванием, с другой – разработку различных схем комбинированного лечения с использованием различных специфических противовирусных препаратов и иммуномодуляторов, причем включение физиотерапевтических методов считается наиболее безопасным в данный период.

Ключевые слова: Вирус простого герпеса ВПГ-1, беременность, иммуноферментный анализ (ИФА), генитальный герпес (инфекция генитальной или анальной области), гингивостоматит.

FEATURES OF DIAGNOSIS AND MANIFESTATIONS OF HERPES VIRUS INFECTION IN THE ORAL CAVITY IN PREGNANT WOMEN

N.A. Yuldasheva, M.A. Rakhimova

Department of hospital therapeutic dentistry of TSDI, Yashnabad district, Makhtumkuli street, 103, 100047, Tashkent, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1689-4443>.

ABSTRACT

A large number of publications are devoted to the problems of diagnosis and treatment of herpes viral infection, which makes it possible to consider it sufficiently studied.

Thus, despite certain advances in the study of the etiology and pathogenesis of herpes infection in the oral cavity, information in pregnant women with herpetic stomatitis is scarce. In this regard, research on this problem is relevant.

The effectiveness of herpes simplex therapy depends both on the effectiveness of the specific antiviral drugs used and on the final immune corrective effect, which, on the one hand, necessitated the study of the immune status of patients suffering from this disease, on the other hand, the development of various schemes of combined treatment using various specific antiviral drugs and immune modulators, and the inclusion of

physiotherapeutic methods is considered the safest in this period.

Key words: Herpes simplex virus HSV-1, pregnancy, enzyme-linked immune sorbent assay (ELISA), genital herpes (an infection in the genital or anal area), gingivostomatitis.

RELEVANCE OF THE TOPIC

Currently, there is an increasing interest in the problem of herpes simplex (HS) on the part of clinicians of various specialties, which is associated with a number of objective points: there is an increase in the infection of the population and a significant increase in the frequency of clinical manifestations of viral infections; heterogeneity of the mechanisms of the formation of immune disorders, which underlie both relapses of the viral process and leading to the development of HSV-associated diseases [1];