

СИЙДИК ПУФАГИ ЛЕЙКОПЛАКИЯСИДА АНТИАПОПТОЗ ОҚСИЛ Bcl-2 НИНГ ЭКСПРЕССИЯЛАНИШ ДАРАЖАСИ

Сахаталиева Райхона Рафаэлевна

АДТИ Патологик анатомия ва суд тиббиёти кафедраси ассистенти

Исроилов Ражаббой Исроилович

Республика Патологик анатомия маркази директори, т.ф.д. профессор

Маматалиев Авазбек Рузиваевич

АДТИ Патологик анатомия ва суд тиббиёти кафедраси мудир, т.ф.н. доцент

АННОТАЦИЯ

Ушбу ишда сийдик пуфаги лейкоплакиясининг турли даврларида антиапоптоз оқсил Bcl-2 экспрессияланиши даражаси аниқланган. Натижалар шуни кўрсатдики, назорат гуруҳида сийдик пуфаги қопловчи эпителийсида бу оқсил фақат базал қаватида кам даражада экспрессияланиши аниқланди. Лейкоплакия ривожланишининг дастлабки I – даври, ўзгарувчан эпителийда метапластик жараённинг пайдо бўлиши даврида, эпителийнинг акантоз ривожланган базал қавати ҳужайраларида Bcl-2 оқсилнинг экспрессияланиши юқори даражага кўтарилгани кузатилди. Лейкоплакиянинг II – даврида эпителийнинг барча қават ҳужайралари метаплазияланиб, вертикал ҳолда жойлашганлиги, уларнинг базал ва оралиқ қаватлар ҳужайраларида Bcl-2 оқсилнинг нисбатан кўпроқ даражада экспрессияланиши, касалликнинг III – даврида бу оқсилнинг экспрессияланиши яна ҳам кучайганлиги кузатилади.

Калит сўзлар: сийдик пуфаги, цистит, лейкоплакия, иммуногистохимия, Bcl-2 оқсил.

ABSTRACT

In this study, the degree of expression of the antiapoptotic protein Bcl-2 at different stages of bladder leukoplakia was determined. The results showed that in the control group, in the urinary bladder epithelium, this protein was found to be less expressed only in the basal layer. In the first I-stage of leukoplakia development, during the onset of the metaplastic process in the variable epithelium, a high level of Bcl-2 protein expression was observed in the cells of the basal layer of the epithelium where acanthosis developed. In stage II of leukoplakia, all epithelial cells are metaplasia and located vertically, their basal and interstitial cells express relatively high levels of Bcl-2 protein, and in stage III of the disease, the expression of this protein is even higher.

Keywords: bladder, cystitis, leukoplakia, immunohistochemistry, Bcl-2 protein.

АННОТАЦИЯ

В данном исследовании определяли степень экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 на разных стадиях лейкоплакии мочевого пузыря. Результаты показали, что в контрольной группе в эпителии мочевого пузыря этот белок оказался менее экспрессированным только в базальном слое. На первой I стадии развития лейкоплакии, в период начала метапластического процесса в варибельном эпителии, наблюдался высокий уровень экспрессии белка Bcl-2 в клетках базального слоя эпителия, где развился акантоз. При II стадии лейкоплакии все эпителиоциты метаплазированы и расположены вертикально, их базальные и интерстициальные клетки экспрессируют относительно высокие уровни белка Bcl-2, а при III стадии заболевания экспрессия этого белка еще выше.

Ключевые слова: мочевого пузырь, цистит, лейкоплакия, иммуногистохимия, белок Bcl-2.

КИРИШ

Инсоннинг 18-хромосомада жойлашган, 16-та оксиллардан антиапоптоз хусусиятига эга бўлган Bcl-2 доменнинг б-оксил - апоптоз жараёнини секинлаштирадиган гомологик оксил ҳисобланади. Молекуляр вазни 22 кДадан иборат бу оксил ҳужайра ва ядро мембранаси, саркоплазма ва митохондрия мембранасида жойлашган [2, 4, 7]. Бу оксилнинг гиперэкспрессияси кальций ионлари чиқишини тўхтатади ва липоперексидацияни секинлаштириб, антиоксидантлик фаолиятни тўхтатади, ҳамда NO-синтетаза фаоллигини секинлаштиради. Bcl-2нинг асосий функцияси митохондрийлардаги антиапоптоз молекулалари бўлган цитохром C, AIF, АТФ-ларни пора тешиклари орқали чиқишларини тўхтатади. Bcl-2 митохондрийнинг мембранасига ёпишган ҳолда пора тешикларни ёпади, проапоптоз сигналларни тўхтатиб қўяди ва апоптоз ривожланмайди [1, 3, 8].

Сийдик пуфаги лейкоплакияси турли патологик омиллар таъсирида ривожланиши мумкин, натижада сийдик пуфагида ривожланган сурункали касалликларда қопловчи эпителийси дастурланган апоптоз жараёни оқибатида нодуд бўлиб туради. Лекин аксарият ҳолларда сурункали касалликлар оқибатида ҳужайраларнинг апоптоз жараёни секинлашиши ва тўхтаб қолиши мумкин. Шунинг учун, биз ўз тадқиқотимизда сийдик пуфаги лейкоплакиясида қопловчи эпителий ҳужайраларидаги антиапоптоз оксили Bcl-2ни ўрганишни мақсад қилиб олдик. Bcl-2 фаоллигининг ошиши сийдик пуфагининг бир қатор касалликларида, жумладан лейкоплакияда ҳам кузатилади. Сийдик пуфаги лейкоплакия касаллигида шиллиқ ости бириктирувчи тўқимали қаватида аксарият ҳолларда яллиғланиш, дисрегенератор жараёнлар ривожланганлиги оқибатида қопловчи эпителийсида ҳам ҳужайраларнинг дифференциалланиши бузилиб, кўпинча орқада қолиб, базал қават ҳужайраларининг пролифератив

фаоллиги ошади ва уларда антиапоптоз оқсил Bcl-2 фаоллашиши мумкин. [2, 5, 6].

АДАБИЁТЛАР ТАҲЛИЛИ ВА МЕТОДЛАР

Материал сифатида Фарғона водийсида яшовчи, анамнезида сурункали цистит (50,5%), сийдик пуфаги бўйни цистити (27,5,0%), интерстициал цистит (12,0%), цисталгия (10%) билан касалланган аёллардан цистоскопия усулида олинган сийдик пуфаги шиллиқ пардаси биопсияси олинди.

Касаллар ёши 20-дан 82 ёшгача бўлиб, ўртача ёши 41,3 ёш. Касалликларининг давомийлиги 6 ойдан 8 йил, ўртача $2,7 \pm 0,9$ ни ташкил қилди. Биопсия бўлакчалари 10% нейтралланган формалинда 48 соат қотирилди. Сувсизлантириш концентрацияси ошиб борувчи спиртларда ва хлороформда ўтказилди. Гистологик кесмалар дастлаб топографиясини аниқлаш учун гематоксилин ва эозинда бўялди. Кейин парафин ғиштчалардан олинган бир қатор кесмаларда депарафинизация, дегидротация, демаскировка ва антигенларда бўяшни махсус автоматлаштирилган Ventana Benchmark XT, Roche, Швейцария тизимида ўтказилди. Bcl2 антителалар ёрдамида аниқланди

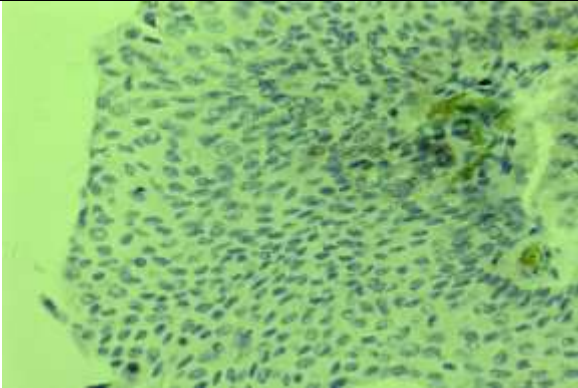
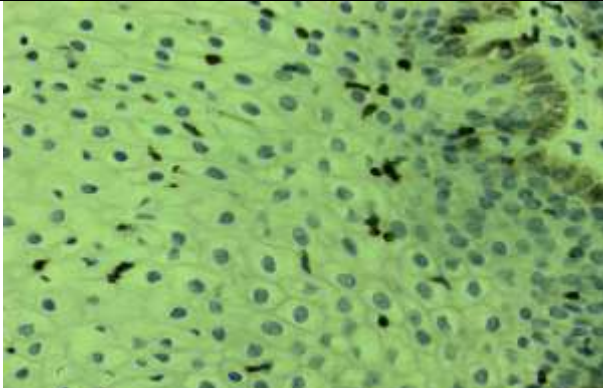
МУҲОКАМА ВА НАТИЖАЛАР

Сийдик пуфаги қопловчи эпителийсида юз берадиган патоморфологик ва иммуногистокимёвий ўзгаришларни аниқлаш учун, дастлаб назорат гуруҳи сифатида сийдик пуфагида ҳеч қандай патологияси йўқ инсонлардан олинган биопсия материали ўрганилди. Кейин, лейкоплакиянинг клиник-морфологик шакллари ва ривожланиш даврлари бўйича сийдик пуфаги шиллиқ пардаси ва қопловчи эпителийсидаги патоморфологик ва иммуногистокимёвий ўзгаришлар бир-бири билан солиштирилган ҳолда ўрганилди.

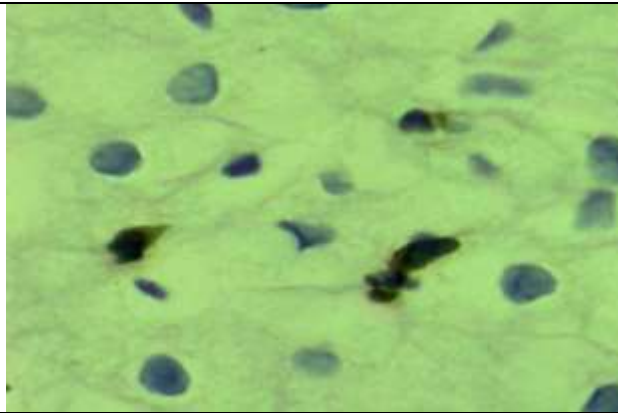
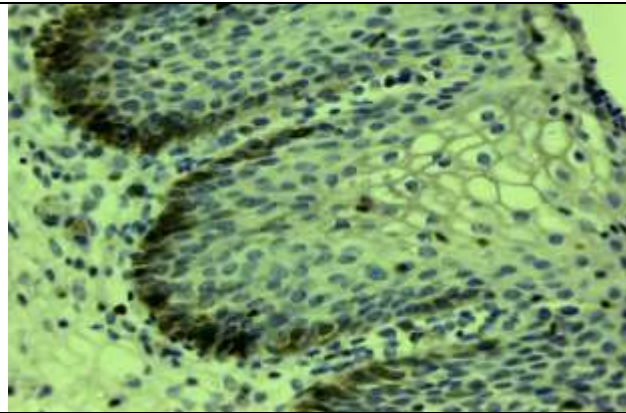
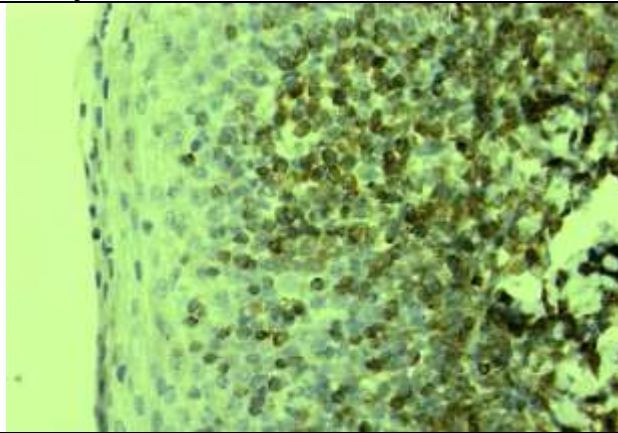
Назорат гуруҳ инсонлар сийдик пуфаги шиллиқ пардаси қопловчи эпителийси одатдагидай кўп қаватли ўзгарувчан эпителийдан иборатлиги ва унинг базал қаватда жойлашган эпителий хужайралари нисбатан йирик, гиперхромли, базал мембранага тизилиб жойлашганлиги, ядроларининг аксарияти авал ва чўзинчоқ шаклдалиги аниқланди. Кўп қаватли эпителийнинг юза қатламларида хужайралар нисбатан сийракланганлиги, ядролари ҳам ўлчамлари кичиклашганлиги, ҳам бўялиши очлашганлиги, жойланиши яссиланганлиги кузатилди. Эпителий хужайранинг антиапоптоз оқсилни аниқлаш бўйича ўтказилган иммуногистокимёвий текширув натижалари кўрсатишича назорат гуруҳида фақат базал мембранада жойлашган нисбатан ёш ва камбиал даражадаги айрим хужайралар цитоплазмасида жуда паст даражада бу оқсилнинг экспрессияланганлиги, бошқа оралиқ ва юза қаватлари хужайраларида экспрессияланиш йўқлиги кузатилди (1-расм).

Тадқиқотнинг навбатдаги вазифаси, лейкоплакиянинг турли даврларида эпителий хужайралари пролифератив фаоллиги ошган сари антиапоптоз оқсил Bcl-2-нинг экспрессияланиш даражаси ўрганилганда қуйидаги маълумотлар аниқланди. Лейкоплакия ривожланишининг дастлабки даври ўзгарувчан

эпителийда метапластик жараёнларнинг пайдо бўлиши билан белгиланади. Бунда кўп қаватли эпителий қатламлари сони ошади, юза қаватлар эпителийси яссиланиб, хужайралар цитоплазмасида гликоген ва прокератин миқдорининг кўпайиши ҳисобига пуфакчасимон кўринишга киради. Иммуногистокимёвий текшириш натижасида сийдик пуфаги шиллиқ пардаси кўп қаватли ўзгарувчан эпителийсининг пролифератив фаоллиги ошганлиги сабабли базал қисмида кучли акантоз ривожланиши, базал қават эпителийси остидаги бириктирувчи тўқимали қаватга тўплам-тўплам бўлиб ўсиб кирганлиги кузатилди.

	
1-расм. Сийдик пуфаги, меёр, Vcl-2 оксили базал қават айрим хужайраларида паст даражада экспрессияланган. Бўёқ: иммуногистохимия. Кат: 10x40.	2-расм. Сийдик пуфаги, лейкоплакия I-даража, Vcl-2 оксили базал қават ва оралиқ қават айрим хужайраларида эскрес-сияланган. Бўёқ: иммуногистохимия. Кат: 10x40.

Кўп қаватли ўзгарувчан эпителийни умумий ҳолда кўрилганда, базал қавати хужайраларининг 1-қаторида Vcl-2 паст даражада, оч жигар рангли цитоплазматик киритма кўринишида экспрессияланганлиги кузатилди (2-расм). Кўп қаватли эпителийнинг ўрта ва юза қатламлари хужайралари цитоплазмаси гидропик дистрофияга учраб, вакуоллашганлиги сабабли, уларнинг айримларида локал ҳолда Vcl-2 оксили экспрессияланиши бошлаганлиги кузатилди. Микроскопнинг катта объективида ўрганилганда сийдик пуфаги шиллиқ пардаси қапловчи эпителийси лейкоплакиясининг биринчи даврида базал қават эпителийсидан ташқари деярлик барча ўрта ва юзаки қаватлар эпителийси метаплазияга учраганлиги, яъни ҳам яссиланиб, ҳам гидропик дистрофияга учраб, вакуоллашганлиги аниқланди. Натижада бундай метаплазияланиб ўзгарган айрим хужайралар цитоплазмаси таркибида Vcl-2 ядро мембранасида пайдо бўлганлиги, жигар рангли киритма ядрога зич ҳолда аниқланди (3-расм). Бу морфологик ва иммуногистокимёвий ҳолат эпителий хужайраларининг пролиферацияланиб, антиапоптоз оксили пайдо бўлганлигини кўрсатди.

	
<p>3-расм. Сийдик пуфаги, лейкоплакия I-даража, Vcl-2 оксиди оралик қават эпителий хужайралари ядросига яқин экспрессияланган. Бўёқ: иммуногистохимия. Кат: 10x100.</p>	<p>4-расм. Сийдик пуфаги, лейкоплакия II-даража, Vcl-2 базал қавати 2-3 қаторида экспрессияланган. Бўёқ: иммуногистохимия. Кат: 10x40.</p>
	
<p>5-расм. Сийдик пуфаги, лейкоплакия III-даража, Vcl-2 базал ва оралик қаватларнинг аксарият хужайраларида экспрессияланган. Бўёқ: иммуногистохимия. Кат: 10x40.</p>	

Сийдик пуфаги шиллик пардаси қопловчи эпителийси лейкоплакиясининг II – даври, яъни эпителий хужайралари кўриниши ва шаклининг ўзгариши даврида ўзгарувчан эпителий кўп қаватли ясси эпителийга айланганлиги ва деярлик барча хужайраларининг вертикал ҳолда жойлашганлиги аниқланди. Базал қават хужайралари нисбатан майда ва тўқ бўялган эпителийдан иборатлиги, юза қатлам хужайралари нисбатан йирик ва цитоплазмасида кератогиалиннинг кўпайиши ҳисобига шишиб, йириклашганлиги кузатилди. Қасалликнинг ушбу II – давридаги иммуногистокимёвий текширув шуни кўрсатдики, I – даврдан фарқли ўлароқ, бу даврда базал қаватда жойлашган 2-3 қатор ва оралик қаватлар

хужайраларининг айримлари цитоплазмасида тўқ жигар рангли кўринишда Bcl-2 оксили экспрессияланганлиги аниқланди (4-расм). Бу ҳолат шундан далолат берадики, лейкоплакиянинг II – даврида базал ва оралик қаватлар эпителийсининг пролифератив фаоллиги ошганлиги, Bcl-2 оксил митохондрийнинг мембранасига ёпишган ҳолда пора тешикларни ёпганлиги, проапоптоз сигналларни узиб, апоптоз ривожланишини тўхтатганлигидан далолат берди. Юқори таъкидланганидек касалликнинг бу даврида кўп қаватли ўзгарувчан эпителий овал ва чўзинчоқ шаклда бўлиб, вертикал ҳолда жойлашган. Bcl-2 мусбат даражада экспрессияланган оралик қават хужайралар шакли ҳам чўзинчоқ бўлиб, цитоплазмаси нисбатан энсиз ва оч жигар рангли кўринишда бўлди.

Сийдик пуфаги шиллик парда қопловчи кўп қаватли ўзгарувчан эпителийнинг лейкоплакиясининг III - даври олдинги даврларидан фарқи, бунда эпителийнинг деярлик барча базал ва оралик қаторларида пролифератив фаоллик ва метаплазия жараёни ривожланганлиги аниқланди. Бу даврнинг яна бир ўзига хос белгиси, эпителий ости бириктирувчи тўқимали хусусий пластинкаси таркибида сурункали яллиғланиш инфилтрати, қон томирлари девори хужайраларининг ҳам пролиферацияланганлиги, уларда ҳам Bcl-2 оксили мусбат даражада экспрессияланганлиги аниқланади. Иммуногистохимёвий текширишнинг ҳам олдинги даврлардан фарқи борлиги кузатилди. Касалликнинг бу даврида Bcl-2 оксили эпителий хужайралар ядросига ёпишган ҳолда, цитоплазмаси ичида ва ташқи цитолеммасида жигарранг кўринишда экспрессияланганлиги кузатилди. Бу даврда оралик қаватлар таркибидаги айрим хужайралардан фақат ядро мембранасида, бошқа хужайраларда фақат ташқи цитолеммасида экспрессияланганлиги тасдиқланди.

ХУЛОСА

Сийдик пуфаги лейкоплакиясини иммуногистохимёвий усулда ўрганиш, яъни қопловчи кўп қаватли ўзгарувчан эпителийнинг қайси бир қатламларида антиапоптоз Bcl-2 оксил экспрессияланишини аниқлаш бу касаллик диагностикасида муҳим омил ҳисобланади.

Сийдик пуфагида ҳеч қандай касаллиги бўлмаган назорат гуруҳида Bcl-2 оксили фақат базал қаватида кам даражада экспрессияланиши, уларда апоптозланиш фаолияти сақланиб қолганлигини кўрсатади.

Лейкоплакия ривожланишининг дастлабки I – даври, ўзгарувчан эпителийда метапластик жараённинг пайдо бўлиш даврида, эпителийнинг акантоз ривожланган базал қавати хужайраларида Bcl-2 оксилнинг экспрессияланиши антиапоптоз геннинг фаоллашганлигини кўрсатади.

Лейкоплакиянинг II – даврида эпителийнинг барча қават хужайралари метаплазияланиб, вертикал ҳолда жойлашганлиги, уларнинг базал ва оралик қаватлар хужайраларида Bcl-2 оксили нисбатан кўпроқ даражада экспрессияланиши аниқланди.

Лейкоплакиянинг III – даврида эпителийнинг барча қаватлари ҳужайраларида пролифератив фаоллик ва метаплазия ривожланганлиги, хусусий пластинкасида яллиғланиш мавжудлиги, барча эпителий ҳужайраларида Bcl-2 оқсил юқори даражада экспрессияланганлиги кузатилади.

АДАБИЁТЛАР (REFERENCES)

1. Аль-Шукри, С.Х. Общие принципы лечения больных раком мочевого пузыря. Значение клинических, гистологических и биологических факторов прогноза для выбора лечения / С.Х. Аль-Шукри, И.А. Корнеев // Практическая онкология. 2004. - Т. 4. - № 4. - С. 204-211.
2. Заболотнева А.А., Гайфуллин Н.М., Буздин А.А., Алексеев Б.Я., Андреева Ю.Ю., Шегай П.В., Соков Д.Г., Русаков И.Г. Молекулярные маркеры рака мочевого пузыря от частного к целому. Онкоурология. 2011. N 3. С. 16-19
3. Магер, В.О. Прогностическое значение биологических маркеров у больных поверхностным и инвазивным раком мочевого пузыря / В.О. Магер, Н.В. Казанцева // Онкоурология.- 2006. - № 4. - С. 30-34.
4. Матвеев Б.П. Клиническая онкоурология Вердана. - М.- 2003.- С. 197-270.
5. Опухолевые маркеры при скрининге и мониторинге больных раком мочевого пузыря / С.П. Даренко, Д.В. Перлин, В.Н. Паршина, И.В. Черняев // Онкоурология. - 2005. - № 3. - С. 51-54.
6. Prognostic factor in transitional cell cancer of the bladder: an emerging role for bcl-2 and p53 / F. Ong, I.V. Moonen, M.P. Gallee et al. // Radioter Oncol. - 2001. - 61(2). - P. 169-175.
7. The role of bcl-2, p53 and Ki-67 index in predicting tumor recurrences for low grade superficial transitional cell bladder carcinoma / T.T. Wu, Y.H. Chen, Y.Y. Lee Y.R. Huang // Y. Urol. -200. - 163(3). - P. 758-760.
8. Keshtkar A., Salehnia Z., Keshtkar A., Shokouhi B. Bladder Cancer Detection Using Electrical Impedance Technique (Tabriz Mark 1)// Patholog Res Int. 2012;2012:470101.