

І.К. Хархаліс¹
І.С. Шпонька²
О.В. Пославська²

¹ Ужгородський національний університет, Ужгород

² Дніпровський державний медичний університет, Дніпро, Україна

Надійшла: 24.09.2022

Прийнята: 14.10.2022

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.3.110-117>

УДК: 616-006.04-076-097.3-079.4

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ КИШКОВОГО МУЦИНУ MUC-2 ТА МАРКЕРУ ПРОЛІФЕРАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ KI-67 В КОЛОРЕКТАЛЬНИХ КАРЦИНОМАХ

Kharkhalis I.K., Shponka I.S., Poslavska O.V. Study of the expression of intestinal mucin MUC-2 and the marker of proliferative activity Ki-67 in colorectal carcinomas.

Uzhhorod National University, Uzhhorod, Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.

ABSTRACT. Introduction. Colorectal carcinomas (CRCs), as defined by WHO, are malignant epithelial tumors originating in the large intestine, showing glandular or mucinous features of differentiation. The development of CRC demonstrates a complex pathogenesis due to a violation of the intestinal mucosal barrier. Goblet cells are thought to secrete mucin, which forms a mucosal barrier and maintains intestinal integrity. Mucin type 2 (MUC-2) is mainly expressed in the small and large intestine, and disturbances in its production are associated with various inflammatory diseases and carcinomas. Chronic inflammation leads to cell damage that transforms the inflamed epithelium into low-grade dysplasia, high-grade dysplasia, and further into CRC. Also, the literature emphasizes the importance of studying MUC-2 in individual histological types of CRC, which have a different course and prognosis for patient survival. **The aim** of the study was to evaluate the prognostic significance of the expression of intestinal mucin MUC-2 depending on the clinical and morphological characteristics and proliferative activity of colorectal carcinomas. **Methods.** The work examined the clinical and anatomical material of CRC of 37 patients (15 women and 22 men), which was obtained during operations (right hemicolectomy, resection of the sigmoid colon, Hartmann's operation, resection of the transverse colon, resection of the ileum); all of them were treated in the 2nd surgical department of the Dnipropetrovsk Regional Clinical Hospital in the period from 2019 to 2021. The age of the patients ranged from 27 to 82 years; the average age was 61.43±14.90 years. Primary monoclonal antibodies to Ki-67 (sp6, 1:250), MUC2 (sp1, RTU) and UltraVision Quanto imaging system, LabVision) were used for immunohistochemical examination. **Results.** The average intensity of MUC-2 staining showed a significant difference in individual histological types of CRC (the darkest staining was found in mucinous and ring-shaped cell carcinomas, the lightest in micropapillary adenocarcinoma, p<0.05); and also, in subgroups with different proliferative potential according to Ki-67 (a decrease in the intensity of MUC-2 expression was accompanied by an increase in the proliferation index, p<0.05). The distribution of MUC-2 expression variants – typical (membrane diffuse or membrane focal) or aberrant (cytoplasmic, cytoplasmic-nuclear dot like) showed a significant difference in the age group (with increasing age, the relative number of aberrant MUC-2 expression increased, p<0.05); and also, in the group with G2, the relative number of aberrant MUC-2 expression was significantly higher compared to G3 (p<0.05). The absolute absence of an aberrant MUC-2 expression variant was noted in the group of CRC with metastases, compared to the group without metastases, where they were found in 50.00% (10 out of 20); in the group of CRC with a low proliferation index, compared to the groups of moderate and high proliferation, where they were found in 46.15% (6 out of 13) and 28.57% (4 out of 14), respectively; in certain histological types of CRC, namely, mucinous, ring-shaped cell and adenocarcinoma of the adenoma-like type. The largest number of aberrant variants of MUC-2 expression was observed in such histological types of CRC as medullary carcinoma 66.67% (2 of 3), micropapillary carcinoma 33.33% (1 of 3) and adenocarcinoma NOS 31.58% (6 of 19).

Key words: colorectal cancer, digital morphometry, MUC-2, Ki-67.


Citation:

Kharkhalis IK, Shponka IS, Poslavska OV. [Study of the expression of intestinal mucin MUC-2 and the marker of proliferative activity Ki-67 in colorectal carcinomas]. *Morphologia*. 2022;16(3):110-7. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.3.110-117>

 **Kharkhalis I.K. 0000-0001-9487-4785**

 **Shponka I.S. 0000-0002-7561-6489**

 **Poslavska O.V. 0000-0002-3133-8413**

✉ ihorkharkhalis@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Колоректальні карциноми (КРК), за визначенням ВООЗ, це злоякісні епітеліальні пухлини, що походять із товстого кишечника, демонструючи залозисті або муцинозні ознаки диференціації [1]. До факторів ризику КРК належать дієта із збільшенням споживання продуктів тваринного походження, малорухливий спосіб життя, що призводять до метаболічного синдрому, зловживання алкоголем, куріння, надмірне споживання червоного і/або обробленого м'яса, кукурудзяного сиропу з високим вмістом фруктози, стрес, антибіотики, синтетичні харчові барвники, глутамат натрію, діоксид титану, тоді як добавки кальцію та достатнє споживання цільного зерна, клітковини й молочних продуктів знижують цей ризик [2-5]. Колоректальний рак (C18-C20), за оцінками International Agency for Research on Cancer, на 2020 рік мав понад 1,88 мільйона нових випадків (colon (C18), rectum (C19-C20)) і 915 880 смертей, що посіло для чоловіків 3 місце за показником захворюваності і 2 місце за показником смертності, а для жінок 3 місце за обома показниками серед усіх онкологічних захворювань [1]. Така ж сама тенденція спостерігається і для України [6].

Для практичних цілей КРК поділяються на три групи за локалізацією: карциноми правого або проксимального відділу товстої кишки (включаючи рак сліпої кишки, висхідної кишки та поперечної ободової кишки), лівобічні КРК (розташовані в будь-якому місці від селезінкового вигину до сигмоподібної кишки) і карциноми прямої кишки. Більшість КРК є лівосторонніми або ректальними. Спостерігається відносне зниження частоти лівосторонніх КРК, ймовірно, через збільшення застосування ендоскопії, аналіз фекалій на приховану кров також виявився більш чутливим до лівосторонніх КРК [7-10].

Розвиток КРК демонструє складний патогенез через порушення кишкового слизового бар'єру. Вважається, що келихоподібні клітини виділяють муцин, який утворює бар'єр слизової оболонки та підтримує цілісність кишечника. У тонкій і товстій кишці основним експресується муцин 2 типу (MUC-2), і порушення його продукції пов'язують з різними запальними захворюваннями і карциномами. А саме, слиз товстої кишки має два шари: внутрішній шар слизу, що прикріплений до поверхні епітелію, є компактним і позбавленим бактерій, на відміну від нього зовнішній шар слизу вільний і рідкий завдяки дії ендогенних протеаз, що дозволяє потрапляти туди кишковим бактеріям. Таким чином, внутрішній слизовий шар непроникний для бактерій і забезпечує захисний бар'єр для епітелію товстої кишки. Зниження експресії муцину 2 усуває цей захисний слизовий бар'єр, створюючи умови, в яких бактерії активують запальну реакцію при

контакті з епітелієм. Хронічне запалення призводить до пошкодження клітин, які перетворюють запалений епітелій у дисплазію низького ступеня, дисплазію високого ступеня і далі у КРК. Також, в літературі підкреслюють важливість дослідження MUC-2 в окремих гістологічних типах КРК, які мають різний перебіг і прогноз для виживання пацієнтів [11-12].

Метою дослідження було оцінити прогностичну значущість експресії кишкового муцину MUC-2 в залежності від клініко-морфологічних характеристик та проліферативної активності колоректальних карцином.

Матеріали та методи

В роботі досліджено клініко-анатомічний матеріал КРК 37 пацієнтів (15 жінок і 22 чоловіків), що був отриманий під час операцій (правобічна геміколектомія, резекція сигмоподібної кишки, операція Гартмана, резекція ободової кишки, резекція клубової кишки); всі вони проходили лікування в 2 хірургічному відділенні Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І.І. Мечникова м. Дніпра в період з 2019 по 2021 рр. Вік пацієнтів коливався в діапазоні 27 – 82 років, середній вік склав $61,43 \pm 14,90$ років.

За гістологічною будовою всі спостереження були представлені колоректальною карциномою (КРК) помірного (31 випадок) та низького (6 випадків) ступеня диференціювання. Гістопатологічні підтипи включали: аденокарциному (АК) NOS 19 випадків, зубчасту АК 7 випадків, мікропапілярну АК 3 випадки, медулярну АК 3 випадки, муцинозна АК 2 випадки, перстнеподібноклітинна АК 2 випадки та 1 АК типу like-adenoma.

Із них з локалізацією у висхідній частині ободової кишки 5 випадків, у печінковому куті 9 випадків, у поперечно-ободовій кишці 6 випадків, у селезінковому куті 1 випадок, у ректосигмоїдному сполученні 5 випадків, у сигмоподібній кишці 10 випадків та у прямій кишці 1 випадок. Таким чином всі спостереження КРК розділились на правобічні КРК (20 випадків) і лівобічні КРК – 17 спостережень. Також весь матеріал був розподілений на дві групи в залежності від наявності метастазів: без метастазів 30 КРК, та з метастазами – 7 спостережень (6 – у лімфатичних вузлах черевної порожнини і 1 – в печінці).

Морфологічний метод дослідження. Зразки пухлин КРК фіксованих у формаліні і залиті парафіном були взяті з архіву КЗ «Дніпровського обласного патологоанатомічного бюро». Парафінові зрізи 4-5мкм були отримані на мікромомі Microm HM-340 і забарвлених за стандартною методикою гематоксиліном й еозином (Г-Е). Два патологоанатома незалежно один від одного перевіряли скельця на точність діагнозу та наявність артефактів. Мікроскопія проводилась за

допомогою світлового мікроскопу ZEISS "Primo Star" (об'єктиви $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$)

Імуногістохімічний метод дослідження. Парафінові зрізи наносили на адгезивні предметні скельця SuperFrost Plus. Після депарафінізації, регідратації, температурного демаскування антигенів та пригнічення активності ендогенної пероксидази, проводили інкубацію зрізів з первинними антитілами у вологих камерах при температурі 23 – 25°C на протязі 30 хвилин. Використовувалися первинні моноклональні антитіла до Ki-67 (sp6, 1:250), MUC2 (sp1, RTU) та система візуалізації UltraVision Quanto, LabVision) у вологих камерах біля 30 хвилин при кімнатній температурі. Для ідентифікації реакції наносився розчин хромогену 3-діамінобензидин тетрахлориду (ДАБ) (Quanto, LabVision) під контролем мікроскопу протягом від 20 секунд до 3 хвилин, з проявом у вигляді коричневого забарвлення, далі додатково забарвлювали гематоксиліном Майєра протягом 1-3 хвилини. Наступна дегідратація і включення у бальзам здійснювалися згідно розповсюдженим методикам.

Для цифрової морфометрії використовувалась камера мікроскопу Zeiss Primo Star - AxioCam ERC 5s з ліцензованим програмним забезпеченням ZEN 2 blue edition. Сфотографовані поля зору були збережені в форматі .jpg і оброблені в платформи Fіjі з визначенням інтенсивності забарвлення MUC-2 завдяки вбудованій гіс-

тограмі, та розрахунком відсотків Ki-67-позитивних інтрануклерних реакцій плагіном ImmunoRatio [13-15].

За рекомендаціями Melling N. із співавт. (2016) для статистичного аналізу результати фарбування маркером Ki-67 були розподілені на три групи (слабка, помірна, висока) за відсотком Ki-67-позитивних пухлинних клітин: низький Ki-67: 0%-10%; помірний Ki-67: з 10% до 25%; висока Ki-67: 25% і більше [8].

Статистичний аналіз даних проводили в програмному середовищі R version 3.4.1 (2017-06-30) -- "Single Candle" Copyright (C) 2017; The R Foundation for Statistical Computing Platform: x86_64-w64-mingw32/x64 (64-bit), що поширюється безкоштовно за ліцензією GNU General Public License.

У випадку відмінності розподілу від нормального, для перевірки відмінності середніх значень використовувався непараметричний U-критерій Манна-Уїтні. Для вибірок з нормальним розподілом, для порівняння середніх значень використовували t-критерій Стюдента. Встановлення достовірності міжгрупових зв'язків за кількісним розподілом проводилось за допомогою точного тесту Фішера. Для всіх критеріїв відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$. Дані в таблицях представлені як $M \pm SD$ (середнє значення \pm стандартне відхилення).

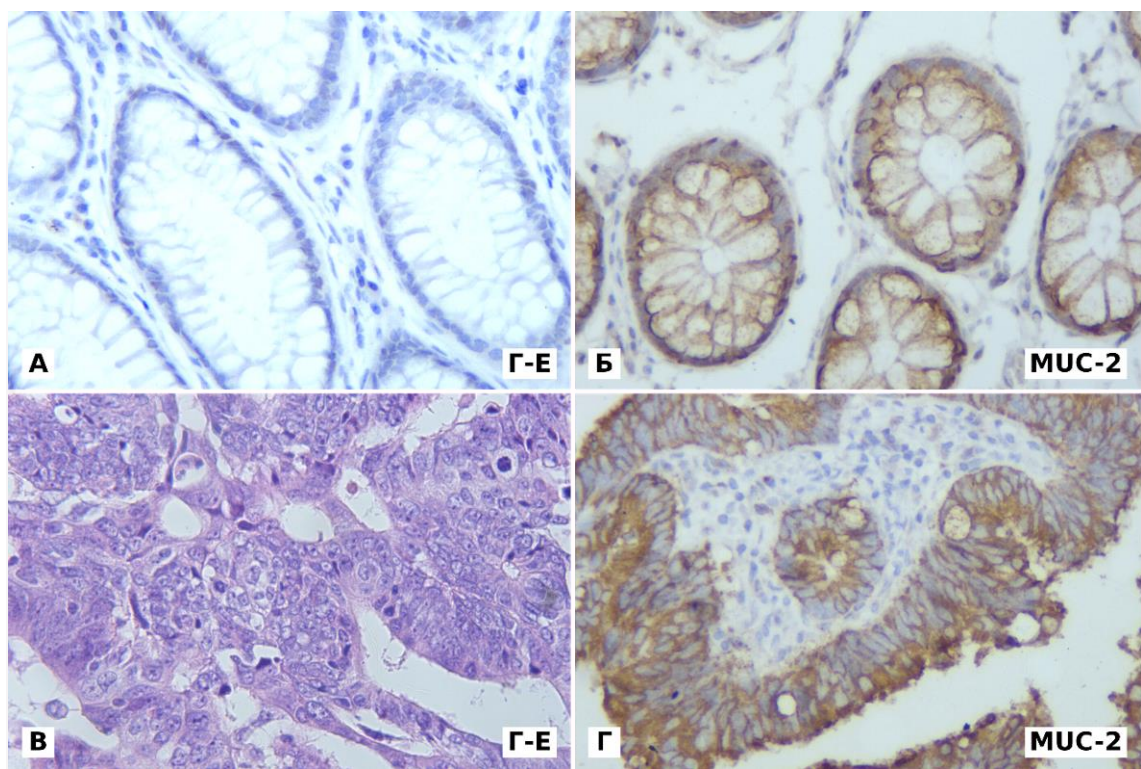


Рис. 1. А-Б. Внутрішній контроль (слизова товстої кишки без пухлинного росту). А. Г-Е ($\times 400$). Б. Мембранна дифузна експресія MUC-2, ІГХ з гематоксиліном Майєра ($\times 400$). В-Г. Аденокарцинома NOS печінкового кута. В. Г-Е ($\times 400$). Г. Мембранна дифузна експресія MUC-2, ІГХ з гематоксиліном Майєра ($\times 400$).

Результати та їх обговорення

Дослідження особливостей експресії маркеру MUC-2 виявило типовий варіант експресії: (1) мембранний дифузний, подібний до нормальної експресії в тканині внутрішнього контролю (рис.

1) та (2) мембранний фокальний (рис. 2 А, Б) з частковою втратою; а також більш рідкий – аберантний варіант експресії – (3) цитоплазматичний з dot-like нуклеарним компонентом (рис. 2 В, Г).

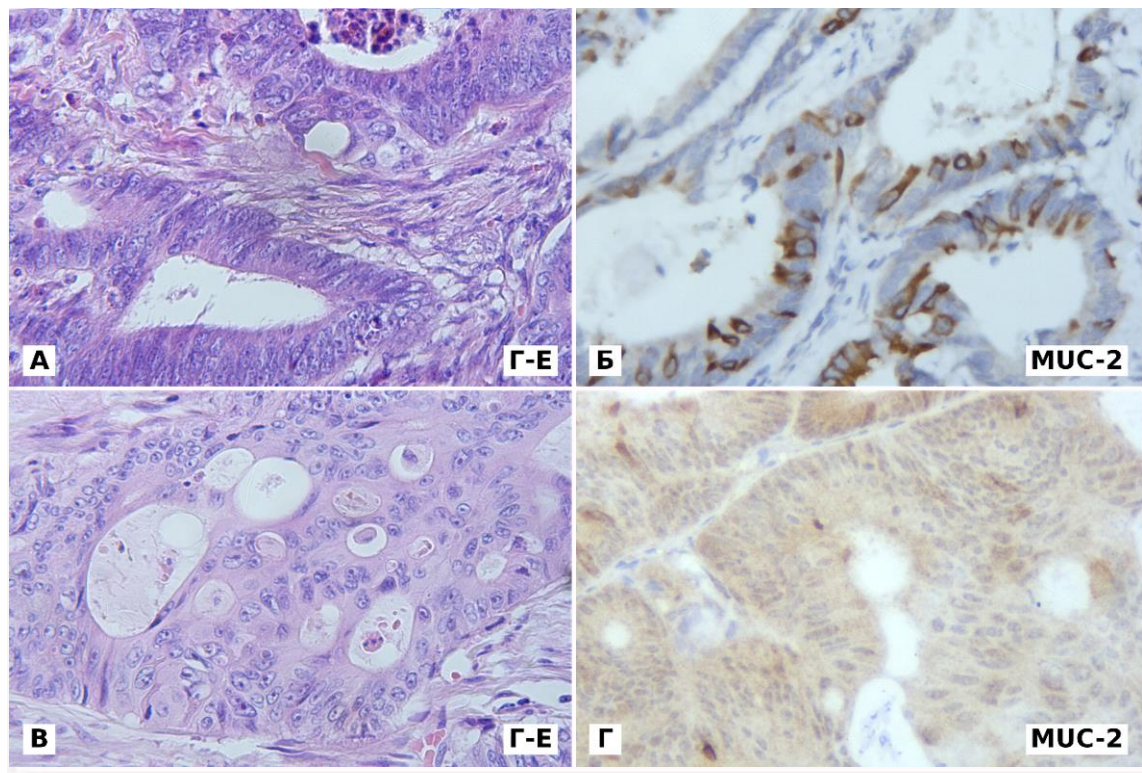


Рис. 2. А-Б. Зубчаста аденокарцинома поперечно-ободової кишки. А. Г-Е ($\times 400$). Б. Мембранна фокальна експресія MUC-2, ІГХ з гематоксиліном Майєра ($\times 400$). В-Г. Аденокарцинома NOS сигмоподібної кишки. В. Г-Е ($\times 400$). Г. Цитоплазматична dot-like експресія MUC-2, ІГХ з гематоксиліном Майєра ($\times 400$).

Мембранний дифузний тип експресії маркеру MUC-2, як у внутрішньому контролі, вважали збереженням експресії, інші варіанти розцінювали як втрату. Треба також відзначити, що гістологічні типи КРК, що характеризувались наявністю позаклітинного муцину, такі як перстеноподібноклітинні карциноми та муцинозні карциноми, демонстрували експресію MUC-2 дуже високої інтенсивності, здебільшого мембранну дифузну, але інколи із цитоплазматичним компонентом (рис. 3).

Окрім локалізації експресії MUC-2, важливою характеристикою ми вважали інтенсивність забарвлення, що була оцінена напівкількісним методом в балах яскравості. Для відокремлення саме коричневого забарвлення DAB від синього гематоксиліну Майєра забарвлені ІГХ методом з маркером MUC-2 в платформи Fijі ми спочатку використовували процедуру Colour Deconvolution, а вже потім інтенсивність DAB-забарвлення оцінювали завдяки вбудованій гістограмі (рис. 4).

Рівень проліферації в КРК за маркером Ki-67 був розрахований плагіном *ImmunoRatio* в

платформа Fijі. Розподіл варіантів та значень середньої інтенсивності експресії MUC-2 за клініко-морфологічними характеристиками КРК та Ki-67 були занесені в таблицю 1.

Висновки

1. Середня інтенсивність забарвлення MUC-2 показала достовірну різницю в окремих гістологічних типах КРК (найтемніше забарвлення виявилось в муцинозній та перстеноподібноклітинній карциномах, найсвітліше – в мікропапілярній аденокарциномі, $p < 0,05$); а також в підгрупах з різним проліферативним потенціалом за Ki-67 (падіння рівня інтенсивності експресії MUC-2 супроводжувалось збільшенням індексу проліферації, $p < 0,05$).

2. Розподіл варіантів експресії MUC-2 – типова (мембранна дифузна або мембранна фокальна) або аберантна (цитоплазматична, цитоплазматично-ядерна dot like) показала достовірну різницю в групі за віком (із збільшенням віку, відносна кількість аберантних експресії MUC-2 збільшувалась, $p < 0,05$); а також в групі з G2 відносна кількість аберантних експресії MUC-2 була достовірно більшою, порівняно з G3 ($p < 0,05$).

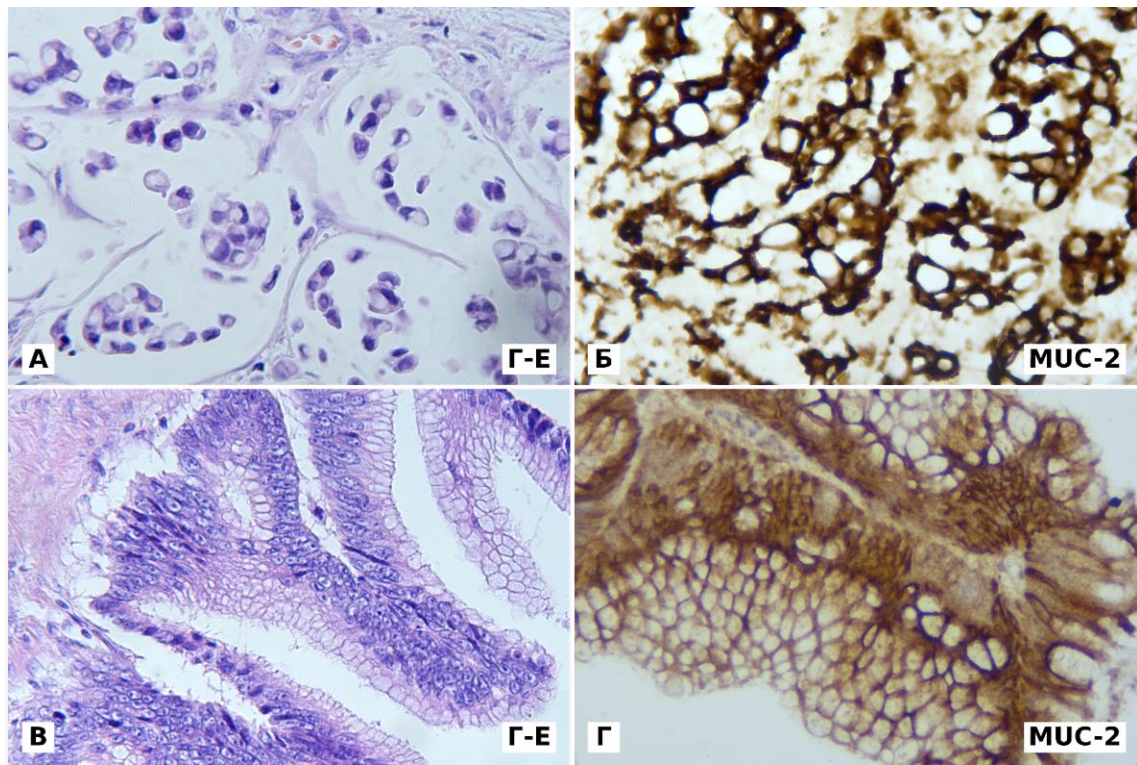


Рис. 3. А-Б. Перстено-подібноклітинна карцинома прямої кишки. А. Г-Е ($\times 400$). Б. Мембранна дифузна експресія MUC-2 високої інтенсивності, ІГХ з гематоксином Майєра ($\times 400$). В-Г. Муцинозна аденокарцинома ректосигми. В. Г-Е ($\times 400$). Г. Мембранна дифузна експресія MUC-2 високої інтенсивності з цитоплазматичним компонентом, ІГХ з гематоксином Майєра ($\times 400$).

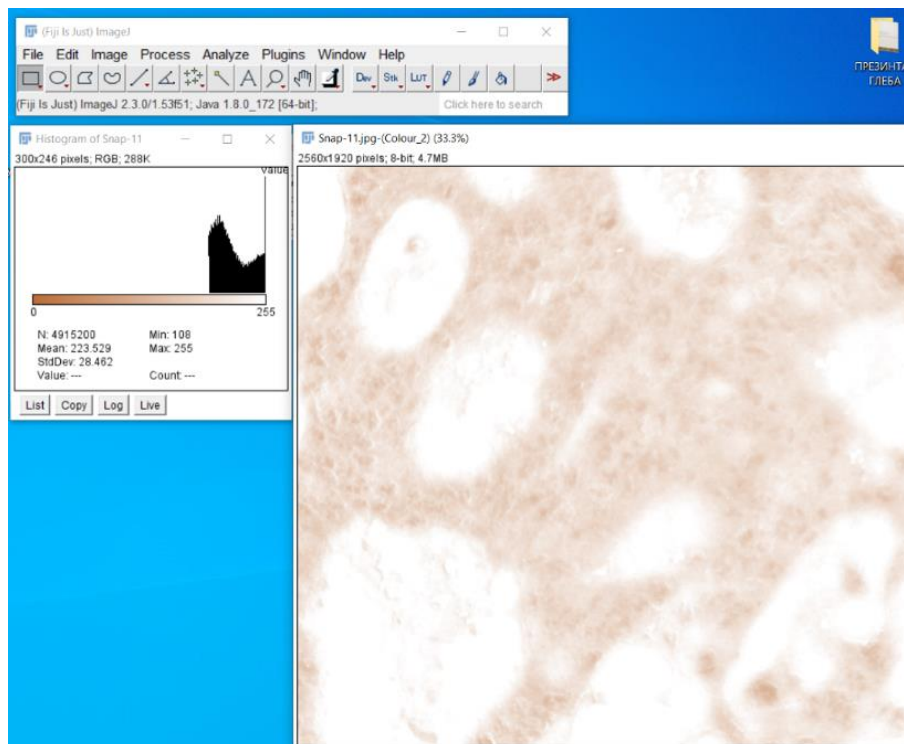


Рис. 4. Аналіз інтенсивності експресії маркера MUC-2 напівкількісним методом в балах яскравості: платформа Fiji має процедуру Colour Deconvolution для відокремлення структур забарвлених хромоном DAB: *Image>Color>Colour Deconvoluton>Vectors> H&DAB*; потім інтенсивність експресії оцінили за допомогою вбудованої гістограми *Analyze>Histogram*.

Розподіл варіантів та інтенсивності експресії MUC-2 за клініко-морфологічними характеристиками коло-ректальних карцином

Клініко-морфологічна характеристика КРК	n (%) n=37	Варіант експресії MUC-2		Середня інтенсивність забарвлення (M±SD)
		Типова (m-дифузна, m-фокальна)	Аберантна (c, c-n dot like)	
Чоловіки	22 (59,46)	16	6	215,21±20,62
Жінки	15 (40,54)	11	4	194,87±29,66
	p	p>0,05		p>0,05
Вік <49	8 (21,62)	6	2	214,87±24,13
50-75	23 (62,16)	17	6	205,51±27,06
>75	6 (16,22)	4	2	200,44±28,42
	p	p<0,05		p>0,05
Правобічні	20 (54,05)	14	6	210,77±26,13
Лівобічні	17 (45,95)	13	4	202,49±26,62
	p	p>0,05		p>0,05
АК NOS	19 (51,35)	13	6	214,38 ±23,90
Зубчаста АК	7 (18,91)	6	1	207,27 ±10,77
Мікропапілярна АК	3 (8,10)	2	1	218,25 ±32,98
Медулярна АК	3 (8,10)	1	2	213,85 ±23,53
Муцинозна АК Перст-неподіб. АК	2 (5,40)	2	0	155,86 ±5,58
АК like-аденома	2 (5,40)	2	0	163,73±5,77
	p	p*		p<0,05
G2	31 (83,78)	23	8	197,06±29,90
G3	6 (16,22)	4	2	208,88±25,67
	p	p<0,05		p>0,05
Без метастазів	30 (81,08)	20	10	208,15±27,96
З метастазами	7 (18,92)	7	0	201,89±18,50
	p	p*		p>0,05
Ki-67 <10 %	6 (16,22)	5	0	180,33±29,82
10-25 %	13 (35,13)	7	6	215,58±25,17
>25 %	18 (48,65)	14	4	204,61±20,31
	p	p*		p<0,05

Примітка. АК NOS – аденокарцинома неспецифікована, M±SD – середнє±стандартне відхилення, m-мембранна, c-цитоплазматична, n-нуклеарна (ядерна), p* - статистичний аналіз був неможливий через відсутність значень в деяких підгрупах.

3. Абсолютна відсутність аберантного варіанту експресії MUC-2 відмічалась в групі КРК з метастазами, порівняно з групою без метастазів, де їх виявилось 50,00% (10 з 20); в групі КРК з низьким індексом проліферації, порівняно з групами помірної та високої проліферації, де їх виявилось 46,15% (6 з 13) та 28,57% (4 з 14) відповідно; в окремих гістологічних типах КРК, а саме - муцинозній, перстнеподібно-клітинній та аденокарциномі типу like-аденома.

4. Найбільша кількість аберантних варіантів експресії MUC-2 відмічалась в таких гістоло-

гічних типах КРК, як медулярна карцинома 66,67% (2 з 3), мікропапілярна карцинома 33,33% (1 з 3) та аденокарцинома NOS 31,58% (6 з 19).

Перспективи подальших досліджень

Планується дослідити особливості експресії онкопротеїну p53 в залежності від клініко-морфологічних характеристик та проліферативної активності колоректальних карцином.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Літературні джерела References

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. Scientific Reports. 2020;71(3):209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>.

2. Heather NM, Ward A, Jenab M, et al. Heterogeneity of Colorectal Cancer Risk Factors by Anatomical Subsite in 10 European Countries: A Multinational Cohort Study. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2019;17(7):1323-1331.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.07.030>.
3. Hofseth LJ, Hebert JR, Chanda A, et al. Early-onset colorectal cancer: initial clues and current views. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* volume. 2020;17:352-364. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0253-4>.
4. Graff RE, Möller S, Passarelli MN, et al. Familial Risk and Heritability of Colorectal Cancer in the Nordic Twin Study of Cancer. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2017;15(8):1256-1264. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2016.12.041>.
5. Johnson CM, Wei C, Ensor JE, et al. Meta-analyses of colorectal cancer risk factors. *Cancer Causes Control*. 2013;24:1207-1222. <https://doi.org/10.1007/s10552-013-0201-5>.
6. Fedorenko ZP, Hulak LO, Mykhailovych YuY, et al. [Cancer in Ukraine, 2019-2020. Morbidity, mortality, performance indicators of the oncology service]. *Bulletin of the National Chancery Register of Ukraine*. 2021;22. Ukrainian. http://www.ncru.inf.ua/publications/BUL_L_22/.
7. Zhang Q, Wu J, Bai X, Liang T. Evaluation of Intra-Tumoral Vascularization in Hepatocellular Carcinomas. *Front. Med*. 2020;7:584250. doi: 10.3389/fmed.2020.584250.
8. Melling N, Kowitz CM, Simon R, et al. High Ki67 expression is an independent good prognostic marker in colorectal cancer. *J Clin Pathol*. 2016;69:209-214. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2015-202985>.
9. Poslavska OV, Shponka IC, Hrytsenko PO. [Characteristics of the colorectal phenotype of carcinomas of unknown primary localization]. *Journal of the Ukrainian Medical Stomatological Academy "Actual problems of pediatric medicine"*. 2018;18(3):111-115. Ukrainian.
10. Ma YL, Peng JY, Zhang P, et al. Immunohistochemical analysis revealed CD34 and Ki67 protein expression as significant prognostic factors in colorectal cancer. *Med Oncol*. 2010; 27:304-309. <https://doi.org/10.1007/s12032-009-9210-3>.
11. Gundamaraju R, Chong WC. Consequence of distinctive expression of MUC2 in colorectal cancers: How much is actually bad? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*. 2021;1876(1):188579. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2021.188579>.
12. Chao L, Didi Z, Libin Y, et al. Prognostic Value of MUC2 Expression in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology Research and Practice*. 2018;2018:12. <https://doi.org/10.1155/2018/6986870>.
13. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*. 2012;9(7):676-682. doi:10.1038/nmeth.2019.
14. Poslavska OV. [The methodology of using software for the analysis of digital photomicrographs based on the course of pathomorphology in order to improve the professional level of students and scientists]. *Morphology*. 2015;9(3):122-126. Ukrainian.
15. Poslavska OV. [Determining the linear dimensions and areas of individual morphological objects on photomicrographs using the ImageJ program. *Morphology*]. 2016;10(3):377-381. Ukrainian.

Хархаліс І.К., Шпонька І.С., Пославська О.В. Дослідження експресії кишкового муцину MUC-2 та маркеру проліферативної активності Ki-67 в колоректальних карциномах.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Колоректальні карциноми (КРК), за визначенням ВООЗ, це злоякісні епітеліальні пухлини, що походять із товстого кишечника, демонструючи залозисті або муцинозні ознаки диференціації. Розвиток КРК демонструє складний патогенез через порушення кишкового слизового бар'єру. Вважається, що келихоподібні клітини виділяють муцин, який утворює бар'єр слизової оболонки та підтримує цілісність кишечника. У тонкій і товстій кишці основним експресується муцин 2 типу (MUC-2), і порушення його продукції пов'язують з різними запальними захворюваннями і карциномами. Хронічне запалення призводить до пошкодження клітин, які перетворюють запалений епітелій у дисплазію низького ступеня, дисплазію високого ступеня і далі у КРК. Також, в літературі підкреслюють важливість дослідження MUC-2 в окремих гістологічних типах КРК, які мають різний перебіг і прогноз для виживання пацієнтів. **Метою** дослідження було оцінити прогностичну значущість експресії кишкового муцину MUC-2 в залежності від клініко-морфологічних характеристик та проліферативної активності колоректальних карцином. **Методи.** В роботі досліджено клініко-анатомічний матеріал КРК 37 пацієнтів (15 жінок і 22 чоловіків), що був отриманий під час операцій (правобічна геміколектомія, резекція сигмоподібної кишки, операція Гартмана, резекція поперечно-ободової кишки, резекція клубової кишки); всі вони проходили лікування в 2 хірургічному відділенні Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І.І. Мечникова м. Дніпра в період з 2019 по 2021 рр. Вік пацієнтів коливався в діапазоні 27 – 82 років, середній вік склав 61,43±14,90 років. Для імуногістохімічного дослідження використовувалися первинні

моноклональні антитіла до Ki-67 (sp6, 1:250), MUC2 (sp1, RTU) та система візуалізації UltraVision Quanto, LabVision). Сфотографовані поля зору були оброблені в платформи Fiji з визначенням інтенсивності забарвлення MUC-2 завдяки процедурі Colour Deconvolution та розрахунком відсотків Ki-67-позитивних інтрануклерних реакцій плагіном ImmunoRatio. **Результати.** Середня інтенсивність забарвлення MUC-2 показала достовірну різницю в окремих гістологічних типах КРК (найтемніше забарвлення виявилось в муцинозній та перстнеподібно-клітинній карциномах, найсвітліше – в мікропапілярній аденокарциномі, $p < 0,05$); а також в підгрупах з різним проліферативним потенціалом за Ki-67 (падіння рівня інтенсивності експресії MUC-2 супроводжувалось збільшенням індексу проліферації, $p < 0,05$). Розподіл варіантів експресії MUC-2 – типова (мембранна дифузна або мембранна фокальна) або аберантна (цитоплазматична, цитоплазматично-ядерна dot like) показала достовірну різницю в групі за віком (із збільшенням віку, відносна кількість аберантних експресії MUC-2 збільшувалась, $p < 0,05$); а також в групі з G2 відносна кількість аберантних експресії MUC-2 була достовірно більшою, порівняно з G3 ($p < 0,05$). Абсолютна відсутність аберантного варіанту експресії MUC-2 відмічалась в групі КРК з метастазами, порівняно з групою без метастазів, де їх виявилось 50,00% (10 з 20); в групі КРК з низьким індексом проліферації, порівняно з групами помірної та високої проліферації, де їх виявилось 46,15% (6 з 13) та 28,57% (4 з 14) відповідно; в окремих гістологічних типах КРК, а саме - муцинозній, перстнеподібно-клітинній та аденокарциномі типу like-аденома. Найбільша кількість аберантних варіантів експресії MUC-2 відмічалась в таких гістологічних типах КРК, як медулярна карцинома 66,67% (2 з 3), мікропапілярна карцинома 33,33% (1 з 3) та аденокарцинома NOS 31,58% (6 з 19).

Ключові слова: колоректальна карцинома, цифрова морфометрія, MUC-2, Ki-67.