

Ключевые слова: уротелий, канцерогенез, онкобелок E7 HPV16.

Г. М. Волгарева¹, Л. Э. Завалишина², Д. А. Головина¹, Ю. Ю. Андреева², В. Д. Ермилова¹, Н. Л. Чебан¹, Д. А. Куевда³, О. Б. Трофимова³, О. Ю. Шипулина³, Л. С. Павлова¹, А. Н. Петров², В. Б. Матвеев¹, А. А. Штиль¹, Г. А. Франк²

ОБНАРУЖЕНИЕ ОНКОБЕЛКА E7 HPV16 В РАКОВОМ И НОРМАЛЬНОМ УРОТЕЛИИ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

¹ГУ Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина РАМН, 115478, Москва; ²отделение патологической анатомии ФГУ Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П. А. Герцена Росмедтехнологии, 125284, Москва; ³ФГУ Центральный НИИ эпидемиологии, 111123, Москва

Рак мочевого пузыря (РМП) по состоянию на 2007 г. отнесен международной группой экспертов к числу онкозаболеваний, в возникновении которых участие вирусов папиллом человека (human papillomaviruses, HPV) остается неясным [6]. Трудность решения этого вопроса связана с крайней вариабельностью данных и ДНК-HPV-позитивности образцов РМП в сообщениях разных авторов. Это в свою очередь может отражать фактическую этногеографическую неоднородность РМП. Вместе с тем в работах, где частота обнаружения генетического материала HPV оказывалась сколько-нибудь значительной, не предпринимались попытки исследовать, работает ли вирусный геном в содержащих вирусную ДНК клетках РМП, а именно, содержат ли эти клетки также вирусспецифические мРНК и белки. Актуальность выяснения вопроса о роли HPV в этиологии РМП возрастает ввиду появления сообщений о большей тяжести клинического течения РМП в случае присутствия ДНК HPV в раковых клетках [1, 4].

Ранее, исследовав 2 группы российских больных РМП, мы сообщали об обнаружении ДНК HPV в ~50% образцов рака методами гибридизации *in situ* и полимеразной цепной реакции (ПЦР), а также об отдельных случаях выявления мРНК соответствующей вирусным онкогенам E6 и E7 (экспрессия которых необходима для того, чтобы в присутствии HPV из так называемых типов высокого риска нормальная клетка превратилась в злокачественную [9]) [2, 7, 8]. При этом, как правило, обнаруживали вирус 16-го типа, который чаще папилломавирусов других типов является этиологическим агентом рака шейки матки. Что касается онкобелков E6 и E7 HPV типов высокого риска, то они, взаимодействуя с важнейшими белками клетки, нарушают функционирование последних; так, белок E7 инактивирует белок ретинобластомы, в результате чего пролиферация клеток становится бесконтрольной [9].

Цель работы — изучить экспрессию онкобелка E7 HPV16 в образцах РМП, в которых ранее была обнаружена ДНК этого вируса [7].

Провели иммуногистохимическое исследование 24 фиксированных нейтральным формалином, заключенных в парафин операционных образцов переходноклеточного РМП. Группами сравнения послужили: 1) условно-нормальный эпителий мочевого пузыря от тех же больных РМП — 2 образца; 2) нормальный эпителий мочевого пузыря от неонкологических больных — 4 образца (диагнозы: ишемический инфаркт мозга, 2 случая; гипертоническая болезнь, 1 случай; атеросклероз, 1 случай); 3) рак предстательной железы — 2 образца.

Для иммуногистохимического исследования готовили серийные срезы толщиной 4–5 мкм, которые наносили на предметные стекла HistoBond с адгезивным покрытием ("SMT Geraetehandel GmbH", Германия). Первый из срезов окрашивали гематоксилином и эозином для традиционного патоморфологического исследования и подтверждения диагноза; диагноз верифицировали 2 независимых патоморфолога. Присутствие в образцах РМП ДНК HPV16 показано с помощью рестрикционного анализа ПЦР-продукта, получаемого с праймерами Mu09/11 или в ПЦР с типоспецифическими праймерами к рамкам E2, E6 и E7 HPV16 [8].

Иммуногистохимическое окрашивание проводили с помощью E7 HPV16-специфичной поликлональной антисыворотки [3]. Процедура окрашивания не отличалась от рекомендованной разработчиками антител. В качестве позитивного контроля в каждую группу препаратов, предназначенных для окрашивания, включали препарат рака шейки матки, в котором ранее было подтверждено присутствие ДНК HPV16 (см. рисунок, а, на вклейке). Негативным контролем служила культура клеток линии НСТ 116 рака толстой кишки человека (см. рисунок, в, на вклейке).

Изображение захватывали и анализировали с помощью анализатора изображения "Leica Q550 JW". Результаты учитывали с помощью полуколичественного метода, выделяя следующие варианты окрашивания: 1) образцы, в которых окраска отсутствовала полностью, т. е. не проявлялась ни в одной клетке (см. рисунок, б, на вклейке); 2) образцы, окрашенные фокально (окрашены группы клеток, в целом окрашенные клетки составляют менее 25% (см. рисунок, г, на вклейке)); 3) диффузно окрашенные образцы (окрашено не менее 25% клеток (см. рисунок, д, е, на вклейке). Окрашенными считали образцы, в которых E7 HPV16 выявлялся в ядре и/или в цитоплазме.

Результаты анализа препаратов, окрашенных антителами к E7 HPV16, представлены в таблице. Положительную реакцию зарегистрировали в 7 (29,2%) из 24 образцов РМП. В 2 случаях окрашивание было диффузным, в 5 — фокальным, в последнем случае отметили как ядерную, так и цитоплазматическую локализацию белка E7 (см. рисунок, г, на вклейке).

В 2 исследованных образцах условно-нормального уротелия иммуногистохимическая реакция оказалась негативной (как и в образцах РМП от тех же больных), однако в 3 из 4 образцов уротелия от

Результаты окрашивания образцов ракового и нормального уротелия мочевого пузыря антителами к E7 HPV16

| Материал | Количество образцов | Количество образцов, в которых наблюдалась положительная реакция с антителами к E7 HPV16 | | |
|--|---------------------|--|-----------|-------|
| | | диффузная | фокальная | всего |
| Уротелиальный РМП | 24 | 2 | 5 | 7 |
| Условно-нормальный уротелий мочевого пузыря больных РМП | 2 | 0 | 0 | 0 |
| Нормальный уротелий мочевого пузыря неонкологических больных | 4 | 3 | 0 | 3 |
| Референс-группа: рак предстательной железы | 2 | 0 | 0 | 0 |

неонкологических больных отметили диффузное окрашивание (см. рисунок, ж, на вклейке).

В обоих изученных образцах рака предстательной железы E7 HPV16 не экспрессировался.

Таким образом, обнаружено присутствие вирусного онкобелка E7 HPV16 в части ДНК HPV-положительных образцов РМП. Этот результат позволяет предположить, что РМП относится к числу форм рака, этиологически гетерогенных в плане участия в их возникновении HPV [5]. Однако остаются неясными как функция этого белка в тех случаях, когда он обнаруживается лишь в немногих клетках образца РМП, так и возможность его участия в уротелиальном канцерогенезе при исключительно цитоплазматической локализации этого онкобелка (как уже отмечалось, в инфицированных HPV клетках эпителия шейки матки белок E7 инактивирует ядерный белок ретинобластомы). Представляется целесообразным дальнейшее прояснение биологического смысла присутствия E7 HPV16 в морфологически нормальном уротелии неонкологических больных. Биология HPV в клетках уротелия может быть отлична от таковой в эпителии шейки матки; черты отличия нуждаются в дальнейшем исследовании.

Авторы признательны Ф. Л. Киселеву за предоставление антител к E7 HPV16.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант 07-04-00800-а.

© М. Г. РЫБАКОВА, Т. Б. КАПИТУЛЬСКАЯ, 2009

УДК 616.126-002-022-056.83-091.8

Ключевые слова: *инфекционный эндокардит, миокард, наркоманы.*

М. Г. Рыбакова, Т. Б. Капитульская

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИОКАРДА И ПОЧЕК ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ ЭНДОКАРДИТЕ У НАРКОМАНОВ

Кафедра патологической анатомии (зав. — проф. М. Г. Рыбакова) Санкт-Петербургского государственного университета им. акад. И. П. Павлова, 197089, Санкт-Петербург

Первое описание инфекционного эндокардита (ИЭ) относится к 1646 г., когда L. Riviere указал на повреждение эндокарда при злокачественной лихорадке. И к настоящему времени пробле-

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Ю. Ю., Завалишина Л. Э., Морозов А. А. и др. // Онкоурология. — 2008. — № 1. — С. 34–35.
2. Франк Г. А., Завалишина Л. Э., Андреева Ю. Ю. // Арх. пат. — 2002. — Вып. 6. — С. 16–18.
3. Fiedler M., Muller-Holzner E., Viertler H-P. et al. // FASEB J. — 2004. — Vol. 18, N 10. — P. 1120–1122. Available from: URL: <http://www.fasebj.org/cgi/reprint/03-1332fjevl>
4. De Gaetani C., Ferrari G., Righi E. et al. // J. Clin. Pathol. — 1999. — Vol. 52. — P. 103–106.
5. Gillison M. L., Shah K. V. // J. Natl. Cancer Inst. Monogr. — 2003. — Vol. 31. — P. 57–65.
6. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. — Vol. 90. Human Papillomaviruses. — Lyon, 2007. — P. 270–277.
7. Volgareva G. M., Zavalishina L. E., Golovina D. A. et al. // Tumor Markers Research Perspectives / Ed. G. A. Sinise. — New York, 2007. — P. 135–143.
8. Volgareva G. M., Kuevda D. A., Zavalishina L. E. et al. // World Cancer Congress: Abstracts of papers. Geneva, August, 2008.
9. zur Hausen H. // J. Natl. Cancer Inst. — 2000. — Vol. 92. — P. 690–698.

Поступила в редакцию 18.09.08

DETECTION OF ONCOPROTEIN E7 HPV16 IN THE CANCER AND NORMAL URINARY BLADDER UROTHELIUM

G. M. Volgareva¹, L. E. Zavalishina², D. A. Golovina¹, Yu. Yu. Andreyeva², V. D. Ermilova¹, N. L. Cheban¹, D. A. Kuevda¹, O. B. Trofimova¹, O. Yu. Shipulina¹, L. S. Pavlova¹, A. N. Petrov², V. B. Matveev³, A. A. Shtil¹, G. A. Frank²

¹N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, 115478 Moscow; ²Department of Human Pathology, P. A. Herzen Moscow Research Oncological Institute, 125284 Moscow; ³Central Research Institute of Epidemiology, 111123, Moscow

Summary — Oncoprotein E7 HPV16 was detected by immunohistochemical staining with specific polyclonal antiserum [Fiedler et al., 2004] in 7 out of the 24 (29.2%) studied bladder cancer specimens. The result is in good agreement with the hypothesis that HPVs take part in the carcinogenesis of the urothelium. However, some of the observations made seem rather hard to be interpreted at present. The latter include the detection of E7 HPV16 in a small number of cancer cells in a few bladder cancer specimens being examined; the presence of this protein in the cytoplasm, rather in the cancer cell nuclei, and its detection in some morphologically normal bladder urothelial specimens from non-cancer patients. Thus, the hypothesis that HPVs are implicated in the carcinogenesis of the bladder urothelium deserves further verification.

Ark. Path., 2009, No. 1, P. 29–30.

ма не потеряла своей актуальности. Это обусловлено неблагоприятным прогнозом ИЭ, распространенностью, а также высокой летальностью [1, 2, 4].