

DOI: 10.31082/1728-452X-2019-200-2-8-12

УДК 616.33- 0066:575-07

ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ E-CADHERIN ПРИ НАСЛЕДСТВЕННОМ ДИФFUЗНОМ РАКЕ ЖЕЛУДКА

И.И. ШТЕФАНОВ¹, <https://orcid.org/0000-0001-6775-2993>,
 Г.Н. КУЛМАМБЕТОВА³, А.М. АЙТКУЛОВА³,
 Ж.Т. ЖЕКЕЕВА², <https://orcid.org/0000-0003-1134-1209>,
 Н.Д. БАКИРОВ⁴, О.Л. ПИРОЖЕНКО², Е.Б. ГУБСКАЯ², И.В. КОТОВ¹,
 А.А. ЖАКИПОВА¹, <https://orcid.org/0000-0002-2012-5754>,
 Э.П. МИРОЕДОВА¹, А.К. МАКИШЕВ¹

¹АО «Медицинский университет Астана», г. Астана, Республика Казахстан,

²Онкологический Центр, г. Астана, Республика Казахстан,

³Национальный центр биотехнологии, г. Астана, Республика Казахстан,

⁴Национальный Центр онкологии и гематологии Минздрава Киргизской Республики, г. Бишкек

Рак желудка (РЖ) занимает третье место по смертности в мире. По статистическим данным «Показатели онкологической службы Республики Казахстан» смертность от рака желудка в Республике Казахстан за 2017 г. составляет 9,5 случая на 100 тыс. населения, заболеваемость – 15,4 случая на 100 тыс. населения.

Диффузный рак желудка, согласно классификации Lauren от 1965 г., составляет 30% от всех видов злокачественных новообразований желудка (ЗНО). Данный вид ЗНО обладает выраженной способностью ко всем типам метастазирования.

Цель исследования. Провести ИГХ-исследование на предмет экспрессии E-cadherin у больных с предполагаемым наследственным диффузным раком желудка.

Материал и методы. Согласно обновленным в 2015 г. Международным Консорциумом по Раку Желудка (IGCLC) пересмотренным критериям тестирования CDH1 (с учетом первой степени и второй степени родства) в статье представлены 5 предполагаемых случаев семейного диффузного рака желудка пролеченных в период с 2016 по 2017 гг. в городском онкологическом центре г. Астана. Данным больным проведено иммуногистохимическое исследование на предмет экспрессии E-cadherin.

Результаты и обсуждение. Окрашивание у 5-ти больных с предполагаемым наследственным диффузным раком желудка оказалось слабым или отрицательным, что косвенно свидетельствует о наличии мутации гена CDH1. Степень экспрессии в других 28 случаев с интестинальным и диффузным раком желудка была вариабельной от сильно-позитивной до отрицательной.

Вывод. Иммуногистохимическое исследование на предмет экспрессии E-cadherin возможно использовать для предварительного определения наличия герминальных мутаций CDH1 гена.

Ключевые слова: наследственный диффузный рак желудка, герминальные мутации, E-кадгерин, ген CDH1, перстневидно-клеточная карцинома.

Для цитирования: Штефанов И.И., Кулмамбетова Г.Н., Айткулова А.М., Жекеева Ж.Т., Н.Д. Бакиров, Пироженко О.Л., Губская Е.Б., Котов И.В., Жакипова А.А., Мироедова Э.П., Макишева А.К. Значение экспрессии E-cadherin при наследственном диффузном раке желудка // Медицина (Алматы). - 2019. - №2 (200). - С. 8-12

Т Ъ Ж Ы Р Ы М

АСҚАЗАННЫҢ ТҰҚЫМ ҚУАЛАЙТЫН ДИФFUЗДЫ ОБЫРЫНДАҒЫ E-CADHERIN ЭКСПРЕССИЯСЫНЫҢ МӘНІ

И.И. ШТЕФАНОВ¹, <https://orcid.org/0000-0001-6775-2993>,
 Г.Н. ҚҰЛМАМБЕТОВА³, А.М. АЙТКУЛОВА³,
 Ж.Т. ЖЕКЕЕВА², <https://orcid.org/0000-0003-1134-1209>,
 Н.Д. БАКИРОВ⁴, О.Л. ПИРОЖЕНКО², Е.Б. ГУБСКАЯ², И.В. КОТОВ¹,
 А.А. ЖАКИПОВА¹, <https://orcid.org/0000-0002-2012-5754>,
 Э.П. МИРОЕДОВА¹, А.К. МАҚЫШЕВ¹.

¹Астана медицина университеті, Астана қ., Қазақстан Республикасы,

²Онкологиялық орталығы Астана қ., Қазақстан Республикасы,

³Ұлттық биотехнология орталығы, Астана қ., Қазақстан Республикасы

⁴Қырғызстан Республикасының Денсаулық сақтау министрлігінің онкология және гематология ұлттық орталығы, Бішкек қ.

Асқазан обыры әлемде өлім-жітім бойынша үшінші орында. "Қазақстан Республикасының онкологиялық қызметінің көрсеткіштері" статистикалық деректері бойынша Қазақстан Республикасында асқазан обырынан өлім – жітім 100 мың адамға шаққанда 9,5 оқиғаны, сырқаттану-100 мың адамға шаққанда 15,4 оқиғаны құрайды.

Асқазанның диффузды обыры, 1965 жылғы Lauren жіктемесіне сәйкес, асқазанның қатерлі ісіктерінің барлық түрлерінің 30% - ын құрайды. ЗНО бұл түрі метастазалаудың барлық түрлеріне айқын қабілетті.

Контакты: Штефанов Иван И., PhD-докторант III года обучения АО «Медицинский университет Астана», г. Астана, ул. Манаса 17, индекс 010000. E-mail: ivan_tem@mail.ru

Contacts: Ivan I Shtefanov, PhD-doctoral student of the III year of study JSC Astana Medical University, Astana c., st. Manasa 17, index 010000. E-mail: ivan_tem@mail.ru

Поступила 18.02.2019

Зерттеудің мақсаты. Асқазанның тұқым қуалайтын диффузды ісігі бар науқастарда E-cadherin экспрессиясы затына ИГХ-зерттеу жүргізу.

Материал және әдістері. 2015 ж. жаңартылған асқазан обыры бойынша Халықаралық консорциум (IGCLC) CDH1 тестілеудің қайта қаралған өлшемдеріне сәйкес (бірінші дәрежелі және екінші дәрежелі туыстықты ескере отырып) мақалада Астана қаласының қалалық Онкологиялық орталығында 2016 жылдан 2017 жылға дейінгі кезеңде емделіп шыққан асқазан обырының отбасылық диффузды 5 оқиғасы ұсынылған. Аталған науқастарға E-cadherin экспрессиясы бойынша иммуногистохимиялық зерттеу жүргізілді.

Нәтижелері және талқылауы. Асқазан қуалайтын диффузды обыры бар 5 науқаста бояу әлсіз немесе теріс болып шықты, бұл CDH1 генінің мутациясының болуын жанама түрде куәландырады. Асқазанның интестинальды және диффузды обыры бар басқа 28 жағдайларда экспрессия дәрежесі өте позитивті-теріс болған.

Қорытынды. E-cadherin экспрессиясы затына иммуногистохимиялық зерттеу CDH1 геннің герминдік мутацияларының болуын алдын ала анықтау үшін қолданылуы мүмкін.

Негізгі сөздер: асқазанның тұқым қуалайтын диффузды ісігі, герминальды мутациялар, E-кадгерин, ген CDH1, асқазан қатерлі ісігі.

SUMMARY

THE VALUE OF THE EXPRESSION E-CADHERIN IN HEREDITARY DIFFUSE GASTRIC CANCER

II SHTEFANOV¹ <https://orcid.org/0000-0001-6775-2993>,
GN KULMAMBETOVA³, AM AITKULOVA³,
ZhT ZHEKEYEVA², <https://orcid.org/0000-0003-1134-1209>,
ND BAKIROV⁴, OL PIROZHENKO², EB GUBSKAYA², IV KOTOV¹,
AA ZHAKIPOVA¹, <https://orcid.org/0000-0002-2012-5754>,
EP MIROEDOVA¹, AK MAKISHEV¹

¹AO "Astana Medical University", Astana c., Republic of Kazakhstan,

²Cancer Center Astana c., Republic of Kazakhstan,

³National Center for Biotechnology, Astana c., Republic of Kazakhstan,

⁴National Center of Oncology and Hematology, Bishkek, Kyrgyz Republic

Gastric cancer (GC) ranks the third mortality in the world. According to the statistics "Indicators of cancer service of the Republic of Kazakhstan" mortality from gastric cancer in the Republic of Kazakhstan for 2017 is 9.5 cases per 100 thousand population, morbidity – 15.4 cases per 100 thousand population.

Diffuse gastric cancer, according to the classification Lauren from 1965, is 30% of all types of malignant tumors of the stomach. This type of cancer has a pronounced ability to all types of metastasis.

Objective. To Conduct immunohistochemical research on the subject of expressii E-cadherin patients with presumed hereditary diffuse gastric cancer.

Material and methods. according to the revised criteria of testing CDH1 (taking into account the first degree and the second degree of kinship), updated in 2015 By the international Consortium for Gastric Cancer (IGCLC), the article presents 5 suspected cases of family diffuse gastric cancer treated in the period from 2016 to 2017 in the city cancer center of Astana. Data immunohistochemically patients underwent a study to determine the expression of E-cadherin.

Results and discussions. Staining in 5 patients with suspected hereditary diffuse gastric cancer was weak or negative, which indirectly indicates the presence of mutation of the gene CDH1. The degree of expression in the other 28 cases of intestinal and diffuse gastric cancer was variable from strongly positive to negative.

Conclusions. Immunohistochemical study to determine the expression of E-cadherin can be used for preliminary determination of the presence of germinal mutations of the gene CDH1.

Keywords: hereditary diffuse gastric cancer, germinal mutations, E-cadherin, CDH1 gene, intestinal stomach cancer.

For reference: Shtefanov II, Kulmambetova GN, Aitkulova AM, Zhekeyeva ZhT, Bakirov ND, Pirozhenko OL, Gubskaya EB, Kotov IV, Zhakipova AA, Miroedova EP, Makishev AK. THE VALUE OF THE EXPRESSION E-CADHERIN IN HEREDITARY DIFFUSE GASTRIC CANCER. *Meditina (Almaty) = Medicine (Almaty)*. 2019;2(200):8-12 (In Russ.). DOI: 10.31082/1728-452X-2019-200-2-8-12

Известно, что ген CDH1, кодирующий структуру белка E-кадгерина, локализуется на хромосоме 16q22.1 [1]. Одним из важных факторов межклеточной адгезии является молекулы семейства кадгеринов, структура которого кодируется геном CDH1. E-кадгерин – это гликопротеин, состоящий из экстрацеллюлярного домена, цитоплазматического домена и одного трансмембранного домена [2, 3]. Экстрацеллюлярный домен имеет сайт для связывания Ca²⁺ и выходит на клеточную поверхность для связывания с

кадгерином соседней клетки путем боковой димеризации [4]. Это приводит к кадгерин-кадгериновой связи и, в результате, к клетка-клеточной адгезии. В 1998 г. было продемонстрировано, что ген, кодирующий молекулу белка E-кадгерина (CDH1), является ответственным за высокую распространенность диффузного рака желудка (ДРЖ) во многих поколениях большой семьи маори из Новой Зеландии [5].

Выделение наследственного диффузного рака желудка (НДРЖ), ассоциированного с CDH1, привело в 1999

г. к формированию группы ученых разных специальностей, объединившихся в Международный консорциум (International Gastric Cancer Linkage Consortium – IGCLC) по разработке критериев наследственного РЖ. Задачей консорциума была также разработка рекомендаций по диагностике и медико-генетическому консультированию [6].

Каждой географической зоне с определенным составом населения характерны специфические мутации, соответствующие данной популяции. В Казахстане исследования на предмет мутаций гена CDH1 не проводились. В связи с этим первым этапом решено провести выявление случаев, соответствующих критериям наследственного диффузного рака желудка с последующим иммуногистохимическим исследованием экспрессии белка E-cadherin.

Цель исследования - изучить экспрессию белка E-кадгерина у больных диффузным и интестинальным раком желудка и оценить взаимосвязь между уровнем экспрессии и распространенностью заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Согласно обновленным в 2015 г. Международным Консорциумом по Раку Желудка (IGCLC) пересмотренным критериям тестирования CDH1 (с учетом первой степени и второй степени родства) к семейным случаям относятся:

- 1) семьи с двумя или больше пациентами с раком желудка в любом возрасте, один подтвержденный наследственный диффузный рак желудка;
- 2) лица с наследственным диффузным раком желудка в возрасте до 40 лет и 3) семьи с диагнозами наследственного диффузного рака желудка и лобулярного рака груди (один диагноз в возрасте до 50 лет). Кроме того, тестирование CDH1 необходимо у пациентов с двусторонним или семейным лобулярным раком груди в возрасте до 50 лет, пациентами с диффузным раком желудка и расщелиной губы или нёба и лица с предшественниками с перстневидно-клеточной карциномой [7].

Учитывая вышеуказанные критерии, в процессе клинической работы кафедры онкологии АО «Медицинский университет Астана» в рамках исследования «Наследственный диффузный рак желудка и меры его профилактики» выявлены следующие случаи семейного рака желудка.

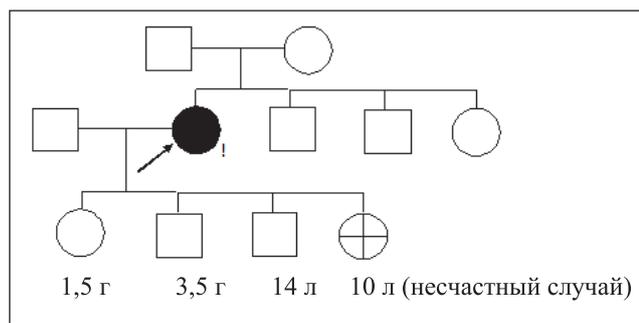


Рисунок 1 - Родословная пробанда А

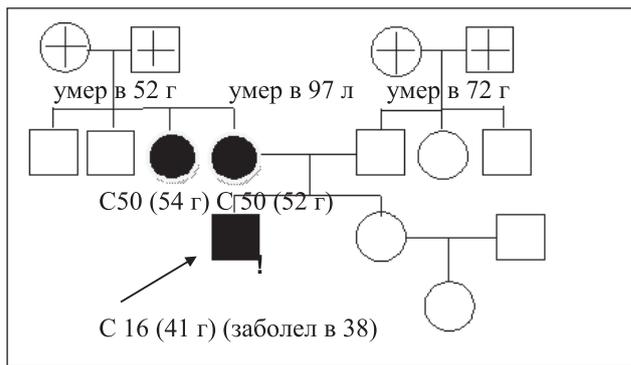


Рисунок 2 - Родословная пробанда S

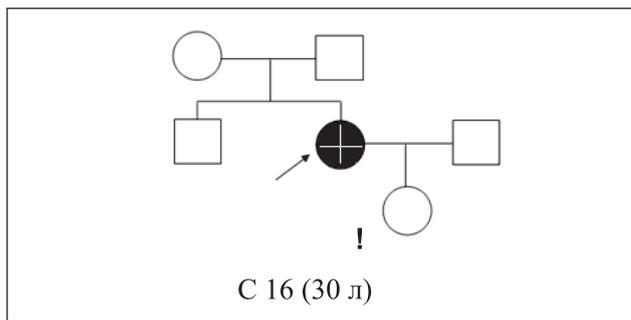


Рисунок 3 - Родословная пробанда U

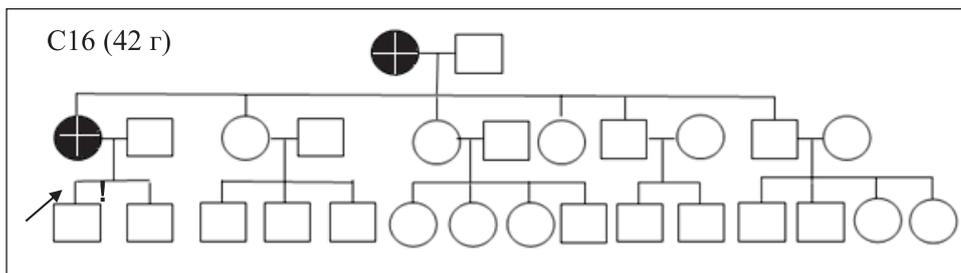


Рисунок 4 - Родословная пробанда M

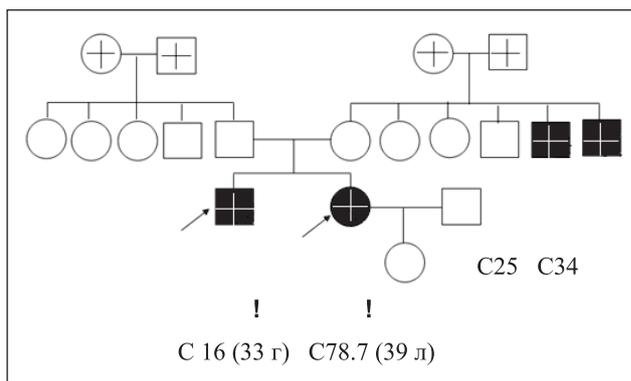


Рисунок 5 - Родословная пробанда J

Учитывая родословные вышеуказанных случаев, можно предположить наследственную природу злокачественных новообразований у исследуемых пациентов.

Проведено иммуногистохимическое исследование у 33 больных с диагнозом: рак желудка, после оперативного лечения в ГККП на ПХВ ГОЦ г. Астана за период с 13.04.16 г. по 23.12.17 г. Прорастание серозной оболочки или соседних

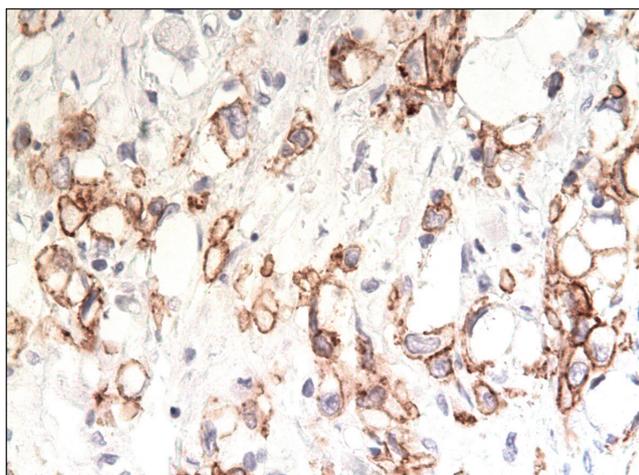


Рисунок 6 - Пробанд J. E-cadherin – слабое окрашивание мембраны опухолевых клеток. ИГХ-исследование с at-cadherin, x 400.

структур (Т3-4) выявлено у 22 больных (66,67%). Метастазы в региональных лимфатических узлах выявлены у 26 пациентов (78,79%). Иммуногистохимическое исследование проведено на серийных парафиновых срезах ткани первичной опухоли с помощью биотинстрептавидинового иммунопероксидазного метода с антителами к молекулам межклеточной адгезии: E-cadherin (Clone NCH-38, Ready-to-Use, Dako, разведение 1:250, Дания) по стандартной методике. Статистические параметры рассчитывались в программе R.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Повышенная экспрессия E-cadherin определялась в 23 наблюдениях (69,69%), из них 16 (48,48%) – интенсивность реакции была умеренной, у 7 (21,21%) больных отмечалось интенсивное полное окрашивание (сильнопозитивная реакция). Низкий уровень экспрессии E-cadherin выявлен в 10 случаях (30,3%). Из них слабое окрашивание отмечено в 8 случаях (24,24%) и отсутствие окрашивания – в 2-х случаях (6,06%). Слабопозитивная и негативные реакции преобладали у низкодифференцированных, недифференцированных и перстневидноклеточных гистологических форм рака желудка, что в большинстве случаев характеризовалось диффузным поражением желудка. Также следует отметить, что слабое окрашивание или отсутствие окрашивания наблюдалось у всех больных с предполагаемыми наследственными формами (5 случаев). Уменьшение экспрессии (слабое или отсутствие окрашивания) E-cadherin в первичных опухолях рака желудка статистически значимо коррелировало с положительным

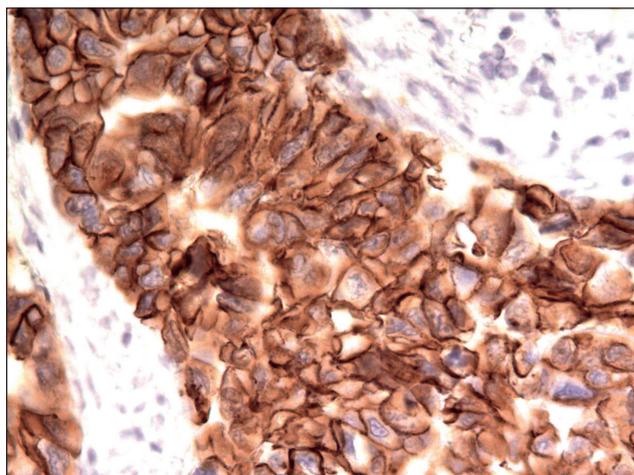


Рисунок 7 - Исследуемый №211. E-cadherin – + интенсивное, полное окрашивание мембраны опухолевых клеток. ИГХ-исследование с at-cadherin, x 400.

метастатическим статусом региональных лимфатических узлов (pN+) ($p=0,007$), что сопоставимо с результатами ранее проведенных исследований [8].

ВЫВОДЫ

Слабая экспрессия E-cadherin (полное или отсутствие окрашивания) потенцирует способность опухолевых клеток к лимфогенному метастазированию при раке желудка [8]. Отмечается слабая экспрессия E-cadherin (полное или отсутствие окрашивания) у предполагаемых наследственных форм диффузного рака желудка. Планируется проведение прямого секвенирования на предмет мутаций гена CDH1 у лиц с семейным типом рака желудка и сопоставление полученных данных с ИГХ-исследованием. Необходимо увеличение количества исследуемых семейных случаев диффузного рака желудка с целью повышения достоверности результатов исследования.

Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получили гонорар за статью.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1 Berx G., Staes K., van Hengel J. et al. Cloning and characterization of the human invasion suppressor gene E-cadherin (CDH1) // *Genomics*. - 1995. - Vol. 26. - P. 281–289. PMID:7601454. DOI:10.1016/0888-7543(95) 80212-5, [Indexed for MEDLINE]

2 Nollet F., Kools P., van Roy F. Phylogenetic analysis of the cadherin superfamily allows identification of six major subfamilies besides several solitary members // *J Mol Biol*. - 2000. - Vol. 299. - P. 551–572. PMID:10835267. DOI: 10.1006/jmbi.2000.3777, [Indexed for MEDLINE]

REFERENCES

2 Berx G, Staes K, van Hengel J, et al. Cloning and characterization of the human invasion suppressor gene E-cadherin (CDH1). *Genomics*. 1995;26:281–9. PMID:7601454. DOI:10.1016/0888-7543(95) 80212-5, [Indexed for MEDLINE].

2 Nollet F, Kools P, van Roy F. Phylogenetic analysis of the cadherin superfamily allows identification of six major subfamilies besides several solitary members. *J Mol Biol*. 2000; 299:551–72. PMID:10835267. DOI: 10.1006/jmbi.2000.3777, [Indexed for MEDLINE].

3 Blaschuk O.W., Sullivan R., David S. et al. Identification of a cadherin cell adhesion recognition sequence // *Dev Biol.* - 1990. - Vol. 139. - P. 227–229. PMID: 2328837 [Indexed for MEDLINE]

4 Shapiro L., Fannon A.M., Kwong P.D. et al. Structural basis of cell-cell adhesion by cadherins // *Nature.* - 1995. - Vol. 374. - P. 327–337. PMID: 7885471, DOI:10.1038/374327a0, [Indexed for MEDLINE]

5 Guilford P., Hopkins J., Harraway J., McLeod M., McLeod N., Harawira P., Taite H., Scoular R., Miller A., Reeve A.E. E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer // *Nature.* - 1998. - Vol. 392. - P. 402–405. PMID: 9537325, DOI: 10.1038/32918 [Indexed for MEDLINE]

6 Fitzgerald R.C., Hardwick R., Huntsman D., Carneiro F. et al. International Gastric Cancer Linkage Consortium; Hereditary diffuse gastric cancer: updated consensus guidelines for clinical management and directions for future research // *J Med Genet.* - 2010. - Vol. 47. - P. 436–444. PMID: 20591882 Free PMC Article. [Indexed for MEDLINE]

7 Van der Post R.S., Vogelaar I.P., Carneiro F., Guilford P., Huntsman D. et al. Hereditary diffuse gastric cancer: updated clinical guidelines with an emphasis on germline CDH1 mutation carriers // *J Med Genet.* - 2015. - Vol. 52. - P. 361–374. PMID: 25979631, PMCID: PMC4453626, DOI: 10.1136/jmedgenet-2015-103094, [Indexed for MEDLINE].

8 Зенюкова Т.В., Зенюков А.С. Материалы конференции // Сибирский онкологический журнал. Приложение № 1. С.55–56. Томск. http://onco.tnimc.ru/upload/zhurnal/soj_2011_pril1_55-56.pdf

3 Blaschuk OW, Sullivan R, David S, et al. Identification of a cadherin cell adhesion recognition sequence. *Dev Biol.* 1990;139:227–9. PMID: 2328837 [Indexed for MEDLINE]

4 Shapiro L, Fannon AM, Kwong PD, et al. Structural basis of cell-cell adhesion by cadherins. *Nature.* 1995;374:327–37. PMID: 7885471, DOI:10.1038/374327a0, [Indexed for MEDLINE]

5 Guilford P., Hopkins J., Harraway J., McLeod M., McLeod N., Harawira P., Taite H., Scoular R., Miller A., Reeve A.E. E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer. *Nature.* 1998;392:402–5. PMID: 9537325, DOI: 10.1038/32918 [Indexed for MEDLINE]

6 Fitzgerald RC, Hardwick R, Huntsman D, Carneiro F, et al. International Gastric Cancer Linkage Consortium; Hereditary diffuse gastric cancer: updated consensus guidelines for clinical management and directions for future research. *J Med Genet.* 2010;47:436–44. PMID: 20591882 Free PMC Article. [Indexed for MEDLINE]

7 Van der Post RS, Vogelaar IP, Carneiro F, Guilford P, Huntsma D, et al. Hereditary diffuse gastric cancer: updated clinical guidelines with an emphasis on germline CDH1 mutation carriers. *J Med Genet.* 2015;52:361–74. PMID: 25979631, PMCID: PMC4453626, DOI: 10.1136/jmedgenet-2015-103094, [Indexed for MEDLINE].

8 Senyukova TV, Senukov AS. Conference proceedings. *Sibirskiy onkologicheskiy zhurnal = Siberian journal of Oncology.* 1:55–6. Tomsk. http://onco.tnimc.ru/upload/zhurnal/soj_2011_pril1_55-56.pdf