

## КЛІНІЧНІ ТА ГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПСЕВДОПОЛІПОЗУ ПРИ НЕСПЕЦИФІЧНОМУ ВИРАЗКОВОМУ КОЛІТІ І ХВОРОБІ КРОНА

<sup>1</sup> ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», Львів,

<sup>2</sup> Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,

<sup>3</sup> Обласна клінічна лікарня, Львів

### Вступ

Дві форми запальних захворювань товстої кишки (ЗЗТК) — хвороба Крона (ХК) і неспецифічний виразковий коліт (НВК) — характеризуються хронічним рецидивним запаленням кишечника, що призводить до деструктивних змін його стінки. Внаслідок виразково-некротичного процесу у кишкової стінці порушується всмоктування життєво важливих продуктів, наростає ендотоксикоз, відбуваються поліорганні розлади. Серед місцевих змін, які часто супроводжують ці захворювання, слід назвати псевдополіпоз [1]. Псевдополіпи (ПП) переважно мають циліндричну форму і бувають різні за розмірами — від малих множинних <5 мм до гігантських >15 мм. Вони виникають у результаті репараційних процесів, що призводить до утворення острівців грануляційної тканини навколо слизової оболонки з виразками. Псевдополіпи містять найбільш змінені епітеліальні базофільні клітини зі збільшеними ядрами. Вони вдвічі частіше виникають при НВК порівняно з ХК і рідко трапляються при тяжкому запаленні, зумовленому інфекцією чи ішемією. При НВК ПП переважно локалізуються у низхідній, попереочно-ободовій, а також у сигмоподібній кишці. При ХК їх інколи знаходять у стравоході, шлунку та тонкій кишці. Гігантські ПП

частіше трапляються при ХК, ніж при НВК. Як рідкісне ускладнення ЗЗТК вони можуть призводити до обструкції та кровотечі [2]. За результатами деяких досліджень, із ПП при ХК не розвивається карцинома [3], а згідно з іншими — наявність ПП є важливим фактором, асоційованим із раком товстої кишки (РТК) на ґрунті ЗЗТК (поряд з обтяженим РТК сімейним анамнезом). Високу ступінь достовірності цього твердження доведено також за допомогою метааналізу [4; 5]. Описано рідкісний випадок виникнення аденокарциноми з гігантського ПП [6]. Відмічено прямо пропорційну залежність частоти розвитку псевдополіпозу від тяжкості клінічного перебігу захворювання, що доводить зв'язок явища з більш деструктивними формами захворювання [1]. Один із молекулярних шляхів канцерогенезу на ґрунті ЗЗТК пов'язаний із хромосомною нестабільністю, що характеризується аномальною сегрегацією хромосом і виникненням анеуплоїдії [7]. Тому анеуплоїдію використовують серед інших тканинних молекулярних і цитогенетичних маркерів для виділення групи високого ризику виникнення раку, пов'язаного із ЗЗТК [8].

**Метою** роботи є вивчення клінічних особливостей псевдополіпозу й оцінка інформативності цитогенетичного аналізу біоптатів безпосередньо із ПП

товстої кишки для раннього виявлення ознак малігнізації при НВК і ХК.

### Матеріали та методи дослідження

Протягом 2001–2010 рр. було проведено клінічне обстеження, генеалогічний аналіз та опрацювання медичної документації 111 пацієнтів із ЗЗТК. Із них у 69 хворих було діагностовано НВК і у 42 — ХК; ПП виявлено у 26 хворих на НВК віком від 19 до 70 років та у 14 хворих на ХК віком від 20 до 72 років. Діагноз було підтверджено за допомогою таких методів дослідження: загальноклінічного, лабораторного, ендоскопічного, іригоскопії та комп'ютерної томографії.

Хромосомний аналіз ПП у пацієнтів із НВК і ХК проводили за авторським методом [9]. Зразки біоптатів було взято у 26 пацієнтів із ЗЗТК. Біоптат із ПП подрібнювали і поміщали в середовище Ігла з подвійним набором амінокислот для інкубації у термостаті при 37,0 °С із розчином колхіцину (концентрація 0,5 мкг/мл) протягом 2 год. Потім зразок переносили у розчин суміші хлористого калію (0,075 М) і 1%-го цитрату натрію у співвідношенні 2 : 1 та інкубували при 37,0 °С. Клітини фіксували в суміші етилового спирту та крижаної оцтової кислоти (3 : 1) при t = 5–8 °С. Мацерацію клітин проводили на на-

грітому предметному скельці. Препарати забарвлювали розчином барвника Романовського — Гімзи у фосфатному буфері (рН = 6,8) з додаванням трипсину. Аналізували 5–10 метафазних пластинок зі зразка.

Препарати метафазних хромосом отримано у 19 хворих: у 11 — з НВК у 8 — із ХК. У 7 осіб аналіз не вдалося виконати у зв'язку з низьким мітичним індексом або ж із неякісною морфологією хромосом.

### Результати дослідження та їх обговорення

Серед 111 обстежених хворих на ЗЗТК ПП було виявлено у 26 (37,6 %) пацієнтів із НВК та у 14 (33,3 %) — із ХК. У хворих на НВК ПП знаходилися у різних відділах товстої кишки з переважанням в ободовій кишці. В одного пацієнта з НВК спостерігали гігантські ПП прямої кишки. У 3 пацієнтів із ХК малі дифузно розміщені ПП виявили й у термінальному відділі тонкої кишки, яка була залучена у запальний процес.

Результати порівняльного дослідження псевдополіпозу у групі пацієнтів із НВК і ХК, не ускладнених РТК, наведено в табл. 1. На основі статистичних розрахунків (див. табл. 1) можемо стверджувати про відсутність достовірної різниці щодо кількості хворих із ПП при НВК і ХК.

У 5 (4,5 %) хворих розвинувся РТК: у 1 (1,4 %) — із НВК та у 4 (9,5 %) — із ХК. У хворого на НВК С. А. С. (табл. 2) виявлено ПП сигмоподібної кишки з ознаками дисплазії, аденоматозний поліп і діагностовано первинно-множинний РТК (сигмоподібної, ректосигмоїдного згину, прямої) — Т4N1M1G3R0. Це підтверджує літературні дані стосовно асоціації псевдополіпозу із РТК на ґрунті НВК [2; 4]. У хворого А. Б. Й. на пов'язаний із ХК спадковий РТК з легкою формою ХК у стадії загострення поряд з аденоматозним полі-

Таблиця 1  
Порівняння псевдополіпозу у пацієнтів із неспецифічним виразковим колітом і хворобою Крона, не ускладнених раком товстої кишки

ЗЗТК	Кількість хворих	Кількість хворих із ПП, абс. (%)	P
НВК	68	25 (36,8)	>0,05
ХК	38	13 (34,2)	

пом сигмоподібної кишки було виявлено синхронні новоутворення: рак селезінкового кута (Т4N0M0G3R0), сигмоподібної кишки (Т2N0M0G1R0) та ПП ободової кишки (див. табл. 2). У трьох інших хворих на пов'язаний із ХК РТК ПП на момент виникнення раку не було. Статистичні узагальнення стосовно виникнення ПП у хворих на асоційовані з РТК ЗЗТК неможливо було провести у зв'язку з невеликою групою уражених раком осіб. Для проведення таких досліджень найбільш коректним методом є метааналіз, з допомогою якого вдається порівняти великі групи хворих на РТК на ґрунті ЗЗТК.

Виявлення ділянки дисплазії при ЗЗТК становить певні труднощі. На відміну від спорадичного РТК, новоутворення на основі ЗЗТК можуть виникати з плоского диспластично зміненого епітелію, у якому вда-

ється виявити ознаки нестабільності геному. Зокрема, у результаті цитогенетичного аналізу зразків тканини слизової оболонки товстої кишки з ознаками дисплазії при НВК було виявлено анеуплоїдію і поліплоїдію у 77 % випадків, тимчасом як у не диспластичних тканинах вони становили 6 % [10]. У зв'язку з тим, що виникнення новоутворень часто супроводжують ПП, як свідчать літературні дані, ми провели аналіз препаратів хромосом безпосередньо у цих утворах. У групу для цитогенетичного аналізу брали зразки біоптатів від пацієнтів із множинними ПП, у тому числі з гігантськими.

Клінічну характеристику хворих на ЗЗТК та результати дослідження хромосом ПП пацієнтів із ЗЗТК, не ускладнених раком, наведено в табл. 3.

У пацієнтів із НВК і ХК, не ускладнених раком, у ПП переважали метафазні пластинки з мозаїчним каріотипом із 2 клонами клітин (див. табл. 3). Найчастіше втрачалися хромосоми груп А (1, 3) та D (15). Кількість анеуплоїдних клонів клітин у межах зразка була незначною, тому встановити закономірності втрат певних хромосом не вдалося. У 2 пацієнтів із НВК і ХК у метафазних пластинках було виявлено множинні хромосомні аберації. Зокрема, у пацієнта К. Б. П. (див. табл. 3) з ХК у ме-

Таблиця 2  
Особливості каріотипу псевдополіпів пацієнтів із запальними захворюваннями товстої кишки, ускладненими раком товстої кишки

Показники	Прізвище, ім'я та по батькові пацієнта	
	С. А. С.	А. Б. Й.
Вік, роки	35	63
Діагноз	НВК стадія ремісії, РТК	ХК, стадія загострення, РТК
Локалізація і розміри ПП	Тотальне ураження, малі множинні	Ободова, малі дифузно розміщені
Особливості хромосом ПП	46,XY [4]/3n±[4]/4n±[2]	46,XX [5]/3n±[2]
Наявність дисплазії	+	—

**Мозаїчність каріотипу псевдополіпів пацієнтів  
із запальними захворюваннями товстої кишки, не ускладненими раком**

Прізвище, ім'я та по батькові пацієнта	Вік, роки	Діагноз	Локалізація і розміри ПП	Особливості хромосом ПП	Наявність дисплазії
М. М. П.	63	НВК, стадія загострення	Сигмоподібна кишка, малі множинні	<46,XX [2]/46,XX [5]	—
С. Р. М.	43	НВК, стадія загострення	Пряма кишка, малі множинні	<46,XY [3]/46,XY [3]	—
П. Б. С.	54	НВК, стадія загострення	Пряма кишка, гігантські (> 1,5 см)	<46,XY [2]/47-56,XXY [6]/46,XY [2]	+
М. М. В.	39	НВК, стадія загострення	Пряма кишка, малі множинні	<46,XY [3]/46,XY [3]	—
П. В. Д.	45	НВК, стадія загострення	Пряма кишка, малі множинні	<46,XY [2]/46,XY [4] Множинні хромосомні аберації	—
Ч. І. М.	48	НВК, стадія загострення	Ободова кишка, малі дифузно розміщені	<46,XX [2]/46,XX [3]	—
Г. С. В.	73	НВК, стадія загострення	Пряма і сигмоподібна кишки, малі дифузно розміщені	<46,XY [3]/46,XY [4]	—
К. О. Л.	34	ХК, безперервний перебіг	Пряма кишка, малі множинні	<46 [2]/46,XX [4] Поодинокі хромосомні аберації	—
К. Б. П.	37	ХК, безперервний перебіг	Тотальне ураження, малі множинні	<46,XY [3]/46,XY [3] Множинні хромосомні аберації	—

жах метафази виявилася найбільша кількість — 11 хромосомних аберацій як хромосомного, так і хроматидного типів. Виникнення множинних хромосомних аберацій, що в 4 рази перевищує рівень норми у лімфоцитах периферійної крові, вказує на нестабільність геному у клітинах ПП, особливо при безперервному перебігу хвороби, що підтверджує можливість малігнізації ПП при ЗЗТК. Аналогічні множинні хромосомні дефекти виявляють у культурі лімфоцитів периферійної крові осіб, які піддавалися дії іонізуючого випромінювання або ж мутагенному впливу хімічних чинників, а також при деяких спадкових захворюваннях із високим ризиком злоякісного переродження, таких як хвороба Німейгена, атаксія-телеангіектазія та ін.

Хромосомну нестабільність у слизовій оболонці товстої

кишки виявляють при спорадичних новоутвореннях товстої кишки і РТК на ґрунті ЗЗТК у 80 % хворих [11]. Лише в одного хворого на НВК (див. табл. 3) з дисплазією у гігантському ПП було виявлено 3 клони клітин, з яких 2 були патологічними і містили додаткові копії хромосом 3, 6, 7, 16, 17, 22, X та неідентифіковані делетовані маркерні хромосоми (пацієнт П. Б. С.). Через рік після лікування у пацієнта настала ремісія, і під час повторної колоноскопії ПП не виявлено. У решти пацієнтів каріотип був нормальним. Деякі дослідники вважають, що при НВК анеуплоїдія у клітинах епітелію виявляється дифузно вздовж кишки і часто, однак не завжди, передую дисплазії або з'являється одночасно з нею [12]. При передракових станах, наприклад у коло ректальних аденомах з ознака-

ми дисплазії, частими хромосомними аномаліями є анеуплоїдії певних хромосом (+7, +13, +20, +16 та ін.) та клональна різноманітність [13].

У 2 пацієнтів із ЗЗТК, ускладнених РТК, каріотип ПП був мозаїчним із геномними мутаціями у патологічних клонів клітин (див. табл. 2). Домінування поліплоїдних клонів клітин (3n, 4n), у яких часто спостерігається вибіркова дуплікація певних хромосом з одночасною моносомією за іншими, є характерною ознакою аденокарцином товстої кишки [14]. Тому переважання у каріотипі ПП клонів клітин із геномними мутаціями є поганою прогностичною ознакою. У каріотипі ПП пацієнта із НВК С. А. С. (див. табл. 2) було виявлено клони клітин зі збільшеною плоідністю, а на незначній відстані від ПП (15–20 см) — злоякісні новоутворення. Це



вказує на те, що у клітинах ПП можуть відбуватися зміни на хромосомному рівні, подібні до перебудов, характерних для аденокарцином.

### Висновки

1. У хворих на НВК ПП виявляли у різних відділах товстої кишки з переважанням в ободовій кишці, а при ХК — й у термінальному відділі тонкої кишки. У хворих на НВК не виявлено достовірної різниці щодо кількості ПП порівняно з ХК.

2. У 40 % пацієнтів із ЗЗТК, у яких розвинувся РТК, було виявлено ПП товстої кишки.

3. Каріотип ПП при ЗЗТК, ускладнених раком, був мозаїчним із геномними мутаціями у патологічних клонах клітин. Виникнення клітин зі зміненою плоідністю в ПП при ЗЗТК потребує ретельного огляду слизової оболонки товстої кишки для виявлення ділянок дисплазії.

4. У каріотипі ПП при НВК і ХК, не ускладнених РТК, траплялися множинні хромосомні аберації, а у мозаїчних клонах переважали анеуплоїдні (гіпоплоїдні) метафазні пластинки.

5. За допомогою цитогенетичного аналізу зразків біопта-

тів ПП можна виявити хромосомні перебудови, які мають різне діагностичне значення.

### ЛІТЕРАТУРА

1. *Наврузов С. Н.* Неспецифический язвенный колит / С. Н. Наврузов, Б. С. Наврузов. – Ташкент : Шарк, 2008. – 464 с.

2. *Obstructing giant post-inflammatory polyposis in ulcerative colitis: case report and review of the literature* / J. R. L. Maggs, L. C. Browning, B. F. Warren, S. P. L. Travis // *J. Crohn's Colitis*. – 2008. – Vol. 2 (2). – P. 170–180.

3. *Katz S.* Giant pseudopolyps in Crohn's colitis / S. Katz // *Amer. J. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 76 (3). – P. 267–271.

4. *Predictive and protective factors associated with colorectal cancer in ulcerative colitis: a case-control study* / F. S. Velayos, E. V. Loftus, T. Jess [et al.] // *Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 130. – P. 1941–1949.

5. *Metaanalysis: cancer risk of low grade dysplasia in chronic ulcerative colitis* / T. Thomas, K. A. Abrams, R. J. Robinson, J. F. Mayberry // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2007. – Vol. 25. – P. 657–668.

6. *Occult cancer in localized giant pseudopolyposis* / M. Kusunoki, T. Nishigami, H. Yanagi [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* – 1992. – Vol. 87. – P. 379–381.

7. *Lakatos P.* Risk for colorectal cancer in ulcerative colitis: changes, causes and management strategies / P. Lakatos, L. Lakatos // *World J. Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 14 (25). – P. 3937–3947.

8. *A high degree of aneuploidy, loss of p53 gene, and low soluble p53 protein serum levels are detected in ulcerative colitis patients* / M. Rosman-Urbach, Y. Niv, Y. Birk [et al.] // *Dis. Colon Rectum*. – 2004. – Vol. 47 (3). – P. 304–313.

9. *Пам. на корисну модель № 22280.* Україна. Спосіб приготування препаратів метафазних хромосом із псевдополіпів при запальних захворюваннях товстої кишки для визначення генетичних критеріїв злоякісного переродження / М. Р. Лозинська, Ю. С. Лозинський. – 2007.

10. *Carcinoma and DNA aneuploidy in Crohn's colitis* / R. Lofberg, O. Brostrom, P. Karlen [et al.] // *Gut*. – 1991. – Vol. 32. – P. 900–904.

11. *Genomic instability is an early event during the progression pathway of ulcerative-colitis-related neoplasia* / R. F. Willenbacher, D. E. Aust, G. G. Chang [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 1999. – Vol. 154. – P. 1825–1830.

12. *Sipos J.* The pathogenesis of ulcerative colitis-associated CRC / J. Sipos // *Magy Oncol.* – 2004. – Vol. 48 (1). – P. 35–43.

13. *Cytogenetic analysis of intestinal polyps in polyposis syndromes: comparison with sporadic colorectal adenomas* / C. A. Griffin, S. Lazar, S. R. Hamilton [et al.] // *Cancer Genet Cytogenet.* – 1993. – Vol. 67 (1). – P. 14–20.

14. *Lozynska M.* The prognostic value of cytogenetic markers for early diagnosis of colorectal cancer / M. Lozynska // *Exp. Oncol.* – 2009. – Vol. 31 (4). – P. 237–241.

УДК 616.345-006:575.1

М. Р. Лозинська, Ю. С. Лозинський, О. О. Менько  
КЛІНІЧНІ ТА ГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПСЕВДОПОЛІПОЗУ ПРИ НЕСПЕЦИФІЧНОМУ ВИРАЗКОВОМУ КОЛІТІ І ХВОРОБИ КРОНА

У роботі наведено результати клінічного дослідження та цитогенетичного аналізу псевдополіпів (ПП) хворих на запальні захворювання товстої кишки (ЗЗТК) на основі авторського методу. При неспецифічному виразковому коліті (НВК) ПП виявляли у різних відділах товстої кишки з переважанням в ободовій кишці, а при хворобі Крона (ХК) — і у термінальному відділі тонкої кишки. Не було встановлено достовірної різниці щодо кількості ПП при НВК порівняно з ХК. У 40 % пацієнтів із ЗЗТК, у яких розвинувся рак товстої кишки (РТК), виявляли ПП товстої кишки. Каріотип ПП при ЗЗТК, ускладнених раком, був мозаїчним із геномними мутаціями у патологічних клонах клітин. Виникнення клітин зі зміненою плоідністю в ПП при ЗЗТК потребує ретельного огляду слизової оболонки товстої кишки для виявлення ділянок дисплазії. У каріотипі ПП при НВК і ХК, не ускладнених РТК, траплялися множинні хромосомні аберації, а у мозаїчних клонах переважали анеуплоїдні (гіпоплоїдні) клітини.

**Ключові слова:** псевдополіпи, хромосоми, неспецифічний виразковий коліт, хвороба Крона, рак товстої кишки.

UDC 616.345-006:575.1

М. R. Lozynska, Yu. S. Lozynskyy, O. O. Monko  
CLINICAL AND THE GENETICAL FEATURES OF PSEUDOPOLYPOSIS IN PATIENTS WITH ULCERATIVE COLITIS AND CROHN'S DISEASE

The results of the clinical and the cytogenetical analysis of pseudopolyps (PP) in patients with inflammatory bowel diseases (IBD) are given in this work. In ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD) the PP were found in different parts of the large bowel and in CD the PP are also located in terminal part of the colon. The results of our study showed not significant differences in quantity of PP in patients with UC and CD. PP of large bowel were identified in 40% of patients with IBD, who developed cancer. The karyotype of PP in the cases of IBD-related cancer were mosaical with the genomic mutation in the pathologic clones of the cells. The metaphasal plates with polyploid cell's clones, which are found in PP, require accurate examination of the large bowel mucous for the detection of dysplasia and malignization area in patients with IBD. In the karyotype of PP in patients with IBD without cancer were found the multiply chromosome aberrations. Aneuploid (hypoploid) karyotypes prevailed in the mosaical clones of these patients.

**Key words:** pseudopolyps, chromosomes, ulcerative colitis, Crohn's disease, colorectal cancer.