SUMMARY

CHEMOKINES IN SEMINAL PLASMA OF INHABITANTS OF POLLUTED BY RADIATION AREAS OF UKRAINE

A.V.Chernyshov, L.V.Gorban', S.M.Kanyuk, L.V.Stamboli, A.V.Klepko, B.V.Dons'koy, S.A.Pchelovs'ka, S.V.Andreychenko

Aim of the study: to measure levels of three chemokines – MCP-1, IL-8 и MIG in seminal plasma of donors - inhabitants of different areas of Ukraine and reveal connection of these levels with inflammation, age and radiation factor effect.

Materials and methods: In seminal plasma of 80 men donors of sperm who lived on polluted by radiation territory (n=27), pure territory (n=27) of Ukraine and Kiev (n=26) 27 years after Chernobyl disaster, chemokines MCP-1, IL-8 and MIG were measured by ELISA. Sperm leukocyte count and sperm quality were assessed also.

Results: It was found that IL-8 level positively correlated with sperm leukocyte count and was higher in group of age 34-55 than in 23-33 age group. MCP-1 level positively correlated with passport dose of internal irradiation in donors – inhabitants of polluted by radiation areas. It was found that main influence on this parameter makes level of pollution of milk by Sr90 in this area. Positive correlation between levels of two cytokines - MCP-1 and IL-8 in seminal fluid was found. Seminal concentration of the third chemokine - MIG (monokine induced by gamma-interferon), did not change neither upon radiation dose, nor upon age or leukocyte count in sperm.

Conclusions: Thus, it was found that level of chemokine MCP-1 in seminal plasma depends on irradiation level, level of IL-8 in sperm depends on inflammation and age, and level of MIG in seminal fluid does not depend of any of these factors.

Key words: seminal fluid, chemokines, MCP-1, IL-8, MIG, radiation, Chernobyl disaster

УДК 618.514:616-072.1

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ КРИТЕРІЇ ОЦІНКИ ПРОЛІФЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ЕНДОМЕТРІЮ У ЖІНОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ

ГОНЧАРЕНКО В.М., БЕНЮК В.О., КАЛЕНСЬКА О.В., СТРОКАНЬ А.М.

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця
Клінічна лікарня «Феофанія»

У останні десятиліття зберігається тенденція до зростання частоти гормонозалежних захворювань і пухлин органів репродуктивної системи, в структурі яких важливе місце займають гіперпластичні процеси ендометрію (ГПЕ). Висока поширеність і рецидивуючий перебіг ГПЕ, зв'язаність з матковими кровотечами і виникненням раку тіла матки визначають актуальність проблеми діагностики і підвищення ефективності лікування [2,4].

У останні десятиліття в науковій медичній літературі існує дискусія, яка присвячена труднощам, пов'язаним з відсутністю – єдиних критеріїв оцінки стану патологічних змін ендометрію та їх інтерпретації [1,3,6]. Разом з тим, завдяки втіленню імуногістохімічних технологій, відзначається прогрес у розумінні не тільки ланок патогенезу проліферативних уражень слизової тіла матки, а й канцерогенезу в ендометрії. Даний метод заснований на виявленні локалізації того або іншого клітинного або тканинного компонента (антигену) завдяки зв'язуванню його з міченими антитілами, що дозволяє точно встановити діагноз та охарактеризувати патологічний процес, надати прогноз та оптимальний лікувальний алгоритм.

Одним з важливих компонентів патоморфологічноїх оцінки ГПЕ є об'єктивна оцінка проліферативного потенціалу, що є суттєвим фактором ризику рецидиву та малігнізації процесу. Специфічним імуногістохімічним маркером проліферації є антиген Ki – 67, який являє собою димерну молекулу та має тісний зв'язок з 10-ою хромосомою. Експресія Ki - 67 дозволяє виділити клітини, що знаходяться в активній фазі клітинного циклу, на усьому його протязі (G1 -, S -, G2 - і M- фази), при цьому Ki - 67 відсутній тільки в G0- періоді.

Дослідження інтенсивності процесів проліферації в ендометрії дозволить визначити об'єктивні патоморфологічні критерії патологічних станів слизової матки, сприятиме поліпшенню результатів та термінів лікування, якості життя жінок з ГПЕ.

Мета дослідження. Визначення проліферативного потенціалу ендометрію у жінок репродуктивного віку шляхом імуногістохімічного вивчення протеіну Ki-67.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В дослідження включено 98 жінок, які знаходились на лікуванні у Центрі загальної гінекології клінічної лікарні «Феофанія». Вік жінок, які увійшли до групи спостереження коливався від 22 до 45 років і у середньому склав 38,6±7,3 років.

Згідно поставленої мети, хворі розділені на 6 груп, перша група – хворі з простою гіпеплазією ендометрія без атипії (ПГЕБА) - 22 (22,6%)

спостереження, другу групу склали хворі з комплексною гіперплазією ендометрія без атипії (КГЕБА) - 17 (17,4%) жінок, третя група представлена хворими з простою гіперплазією ендометрія з атипією (ПГЕЗА) - 14 (14,3%) спостережень, четверту групу склали 13(13,6%) жінок з комплексною (аденоматозною) гіперплазією ендометрія з атипією (КГЕЗА), п’ята група - 17 (17,3%) спостережень - жінки без патології ендометрія, яким проводилося обстеження ендометрію перед ЕКЗ, шоста група – 15 (24,4%) жінки з раком ендометрія.

Усім хворим проводили загальноклінічне обстеження згідно регламентуючих наказів МОЗ України. Діагностичний пошук проводився при використанні ультразвукового дослідження з подальшим виконанням гістерорезектоскопії. Отриманий матеріал піддавався гістологічному дослідженню і в залежності від результатів пацієнткам проводилися відповідні лікувальні заходи. Усім пацієнткам виконали гістероскопію з подальшим діагностичним вишкрібання стінок порожнини матки та цервікального каналу.

Імуногістохімічну діагностику маркера проліферації Ki-67 проводили на депарафінірованих зрізах товщиною 4–5 мкм, із попередньою демаскіровкою антигену у цитратному буфері (pH 6,0) у мікрохвильовій печі протягом 10 хв. Для візуалізації продуктів реакції застосовували UltraVision Quanto Detection System HRP Polymer фірми Thermo SCIENTIFIC. Оцінку експресії маркера проліферації Ki-67 проводили по кількості забарвлених ядер клітин залоз та строми. Мікроскопічно визначалося коричневе забарвлення ядер залозистого епітелію і клітин строми. Оцінка експресії Ki - 67 проводилася методом підрахунку кількості забарвлених ядер на 100 клітин в 3 полях зору, результат виражався у відсотках і оцінювався за прийнятою шкалою:

1) 0-20% - низька проліферативна активність,

2) 21-50% - помірна проліферативна активність,

3) 51-100% - висока проліферативна активність.

Статистичну обробку результатів проводили за загальноприйнятими методиками з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз отриманих даних визначив чітку тенденцію до зростання проліферативної активності від ПГЕБА до КГЕБА, ПГЕЗА, КГЕЗА та ЕА (табл. 1). Дослідження рівня експресії Ki-67 показав, що в залозах ендометрія в стадії проліферації у жінок контрольної групи даний показник склав - 58,3±6,5%, в стромальниму компоненті 9,7±1,7% (рис 1.0.1).

В групі жінок з ПГЕБА рівень експресії Ki-67 склав - 24,4±3,2%, в стромальному компоненті 11,2±1,1%, що вказує на зменшення інтенсивності проліферації більш ніж на 50% по відношенню до стадії проліферації (рис 1.0.2).

Таблиця 1

Експресія Ki-67 в ендометрії в нормі та при патології.

	Стадія проліферації Контрольна група	Група №1 ПГЕБА	Група №2 КГЕБА	Група №3 ПГЕЗА	Група №4 КГЕЗА	ЕА
Залози %	58,3±6,5	24,4±3,2	29,3±3,8	34,6±3,5	39,4±5,6	55,3±6,6
Строма %	9,7±1,7	11,2±1,1	14,3±2,1	15,1±3,2	16,3±4,7	26,1±3,4

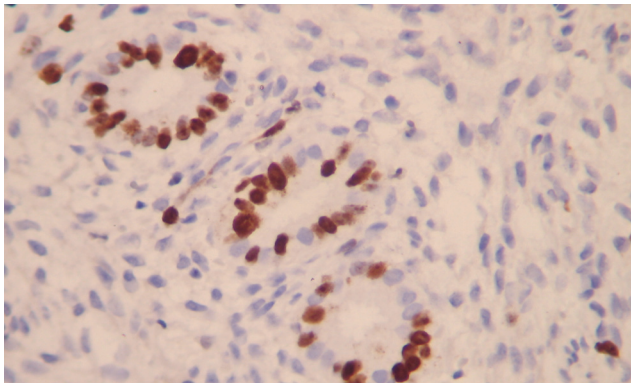

Рис. 1.0.1 Залози ендометрію у стадії проліферації. Забарвлення імуногістохімія Ki-67 (SP6). Зб. Ок.10 , Об.40.

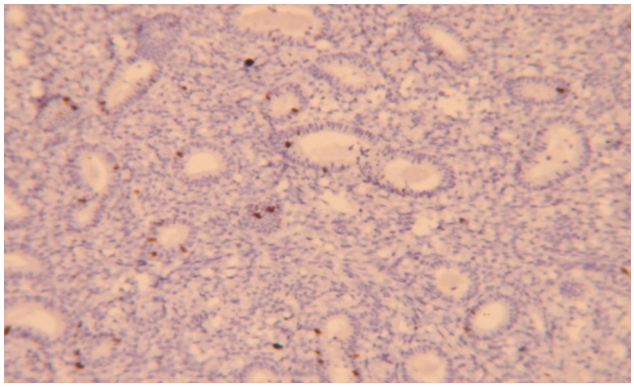

Рис. 1.0.2 Проста гіперплазія ендометрію без атипії. Забарвлення імуногістохімія Ki-67 (SP6). Зб. Ок.10 , Об.10.

Подібна тенденція спостерігалася і в групах з КГЕБА та ПГЕЗА де інтенсивність проліферації в епітелії залоз була менше в порівнянні з стадією проліферації в 2 та 1,7 рази відповідно (рис 1.0.3 та рис 1.0.4).

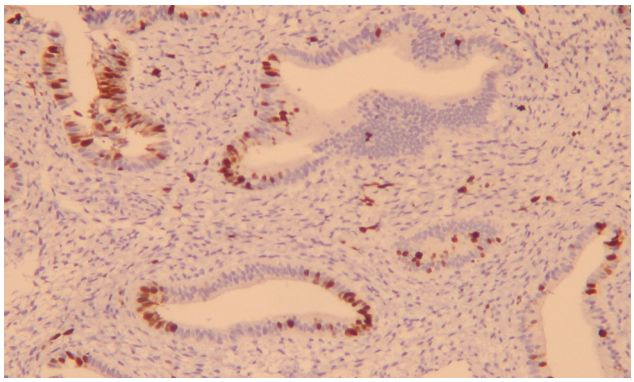

Рис. 1.0.3 Комплексна гіперплазія ендометрію без атипії. Забарвлення імуногістохімія Ki-67 (SP6). Зб. Ок.10 , Об.10.

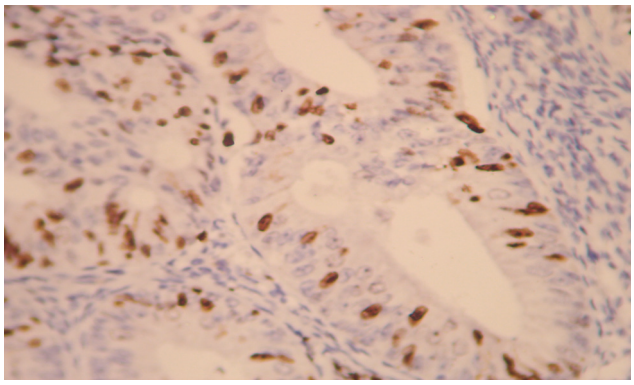

Рис. 1.0.4 Проста гіперплазія ендометрія з атипією. Забарвлення імуногістохімія Ki-67 (SP6). Зб. Ок.10 , Об.40.

Комплексна гіперплазія ендометрія з атипією характеризувалася збільшенням проліферативного потенціалу епітелію залоз ендометрію по відношенню до ПГЕБА, КГЕБА та ПГЕСА але цей показник був в 1,48 рази нижче по відношенню до показника стадії проліферації (рис 1.0.5).

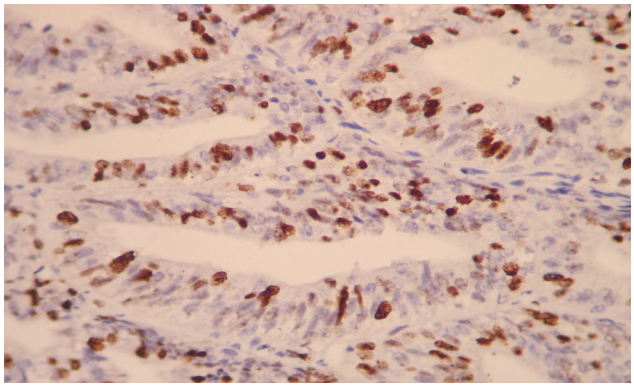

Рис. 1.0.5 Комплексна гіперплазія ендометрію з атипією. Забарвлення імуногістохімія Ki-67 (SP6). Зб. Ок.10 , Об.20.

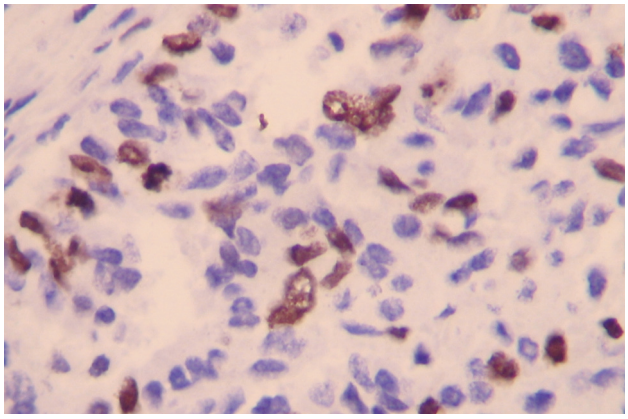

Рис. 1.0.6 Аденокарцинома ендометрію. Забарвлення імуногістохімія Ki-67 (SP6). Зб. Ок.10 , Об.40.

Аналіз рівня проліферативної активності в групі жінок з АЕ показав збільшення даного показника майже до рівня стадії проліферації - 55,3±6,6%, що має важливе значення при диференційній діагностиці і може бути застосовано як діагностична детермінанта при верифікації патології ендометрію.

Визначена низька інтенсивність проліферації в стромальному компоненті у пацієнтів з ПГЕБА - 11,2±1,1%, 14,3±2,1% при КГЕБА, 15,1±3,2% у жінок з ПГЕБА та у хворих з КГЕЗА - 16,3±4,7%. Спостерігалась чітка тенденція до збільшення зростання проліферативної активності строми від ПГЕБА до КГЕБА, ПГЕЗА, КГЕЗА, при цьому слід зазначити, що при розвитку ЕА встановили різке зростання рівня проліферації в стромі до 26,1±3,4%, що майже в 2,6 рази більше по відношенню до рівня стадії проліферації (рис 1.0.6).

Таким чином, кожний вид гіперплазії ендометрія та рак ендометрія мають свій власний проліферативний профіль, який визначається за допомогою дослідження інтенсивності експресії протеїну Ki-67.

ВИСНОВКИ

1. Ендометрій в стадії проліферації характеризується високим рівнем проліферації в епітелії залоз - 58,3% та низьким проліфератвиниим потенціалом в стромальному компоненті – 9,7%.
2. Розвиток злоякісного процесу в ендометрії характеризується високим проліферативним потенціалом як в епітелії залоз 55,3% так і в стромальному компоненті 26,1%.

3. Дослідження рівня протеїну Ki-67 з застосування вказує на наявність чіткої тенденції до зростання проліферативної активності від простої неатипові гіперплазії ендометрію до ендометріальної аденокарциноми, що може бути застосовано для верифікації патологічного стану ендометрію.

ЛІТЕРАТУРА

1. Запорожан В.Н. Современная диагностика и лечение гиперпластических процесов ендометрия / Запорожан В.Н., Татарчук Т.Ф., Дубинина В.Г., Косей Н.В. // Репродуктивная эндокринология. – 2012. –№ 1 (3). – С. 5-12.
2. Бенюк В.А. Внутриматочная патология / Бенюк В.А., Винярський Я.М., Гончаренко В.Н. Кувита Ю.В., Никонюк Т.В., Усевич И.А. // Справочник врача. «Гинеколог»–К. ООО Библиотека «Здоровье Украины», 2013. – № 6 (42). – 206 с.
3. Дубинина В.Г. Прогнозування і рання діагностика пухлинних захворювань ендометрія. / Дубинина В.Г. - /Автореферат на здобуття ступеня доктора мед наук.- Київ, 2007.
4. Дубинина В.Г. Спонтанная хромосомная нестабильность лимфоцитов периферической крови у больных раком эндометрия / Дубинина В.Г., Бубнов В.В., Боброва В.Н., Ануфриев М.Г. //Репродуктивное здоровье женщины. - 2005. - N 3. - С. 187-190.
5. Assessment of endometrial receptor systems for PPPM approach for endometrial hyperplasia in reproductive age women [електронний ресурс] // Vasyl A Beniuk, Yaroslav M Vyniarskyi, Sergiy M Bashynskyi and Rostyslav V Bubnov:. EPMA Journal 2014, 5 (Suppl-1): A40. Режим доступу до журн. http://www.epmajournal.com/content/5/S1/A39/abstract
6. Бенюк В.О. Діагностичний алгоритм втурішньоматкової патології із застосуванням гістероскопії у жінок репродуктивного віку / Бенюк В.О., Курочка В.В., Винярський Я.М., Гончаренко В.М. // Здоровье женщины. – 2009. – № 6 (42). – С. 54-56.
7. Ambros RA. Simple hyperplasia of endometrium. Estimation proliferative activity on level Ki-67. / Ambros RA. /Int J Gyn Path 2000; (19): 206–11.
8. Ioachim E p21(WAF1/Cip1) protein expression in normal, hyperplastic and malignant endometrium. Correlation with hormone receptor status, C-ERBB-2 oncoprotein, BCL-2 and other cell cycle related proteins (RB, P53, Ki-67, PCNA)./ Ioachim E, Kitsiou E, Mitselou A, et al. Experimental Oncology 2003; 25 (3): 200–5.

РЕЗЮМЕ

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ КРИТЕРІЇ ОЦІНКИ ПРОЛІФЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ЕНДОМЕТРІЯ У ЖІНОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ

Гончаренко В.М., Бенюк В.О., Каленська О.В., Строкань А.М.

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця
Клінічна лікарня «Феофанія»

За допомогою имуногістохімічного методу проведено дослідження рівня протеїну Ki - 67 в зразках ендометрія жінок з гіперпластичними процесами і раком ендометрія. Доведено, що рівень експресії Ki - 67 в епітелії залоз і стромі відображає рівень проліферативної активності клітин ендометрія, дозволяє визначити ознаки злоякісної трансформації.

Ключові слова: гіперпластичні процеси ендометрія, рак ендометрія, проліферація, Ki – 67.

РЕЗЮМЕ

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ ПРОЛИФЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЭНДОМЕТРИЯ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУТИВНОГО ВОЗРАСТА

Гончаренко В.Н., Бенюк В.А., Каленская О.В., Строкань А.Н.

Национальний медицинский университет
им. А.А.Богомольца, Клиническая больница «Феофания»

С помощью иммуногистохимического метода проведено исследование уровня протеина Ki-67 в образцах ендометрия женщин з гиперпластическими процессами и раком эндометрия. Доказано, что уровень экспрессии Ki-67 в эпителии желёз и строме отражает уровень пролиферативной активности клеток эндометрия, позволяет определить признаки злокачественной трансформации.

Ключевые слова: гиперпластические процессы эндометрия, рак эндометрия, пролиферация, Ki-67.

SUMMARY

IMMUNOHISTOCHEMICAL CRITERIA OF ENDOMETRIAL PROLIFERATIVE POTENTIAL IN WOMEN OF FERTILE AGE

Goncharenko V.N., Benyuk V.A., Strokan A.N., Kalenskaya O.V.

Bogomolets National Medical University
«Feofaniya» Clinical Hospital

The study of the Ki-67 protein level in the endomentium specimen was conducted on the basis of 98 women-subjects with the hyperplastic processes and endometrium cancer.

It is proved that each of the endometrium hyperplasia and endometrium cancer has its own proliferative profile defined with the help of the Ki-67 protein expression intensity study.

There all grounds to state that physiological endometrium in proliferation phase is characterized by the high level of proliferation in the glands' epithelium – 58,3% and the low proliferative potential in the stroma component – 9,7%. The simple non-atypical endometrium hyperplasia comes along with the Ki-67 expression in the glands'

epithelium – 24,4%, in the stroma component – 11,2%; the complex non-typical – 29,3% and 24,3% correspondingly. It is also proved that the simple atypical endometrium hyperplasia is characterized by the following Ki-67 expression – 34,6% for the glands' epithelium and 15,1% for the stroma component; the complex atypical endometrium hyperplasia – 39,4% and 16,3% correspondingly. The malignant process's development in endometrium comes along with the high proliferative potential both in the glands' epithelium (55,3%) and stroma component (26,1%).

Thus, the Ki-67 protein level study indicates the tendency towards the increase of the proliferative activity from the simple non-atypical endometrium hyperplasia to the endometrium adenocarcinoma, which may be used to verify the endometrium pathological state. The Ki-67 expression level in the glands' epithelium and stroma reflects the endometrium cells proliferation activity which provides one with the possibility to define the malignant transformation symptoms.

Key words: endometrium hyperplastic processes, endometrium cancer, proliferation, Ki-67.

УДК: 618,3+619.9]-06-07-084

ВНУТРІШНЬОУТРОБНІ ІНФЕКЦІЇ - СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

ГНАТКО О. П., СКУРЯТІНА Н.Г.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

У останні роки частота інфекційних ускладнень вагітності та пологів, а також пов'язані з ними захворювання і смертність у новонароджених не мають тенденції до зниження [3,7]. Інфікування під час вагітності є однією з важливих проблем сучасного акушерства і перинатології. Терміном внутрішньоутробна інфекція (ВУІ) прийнято визначати розвиток запального процесу в одному чи декількох органах плода, пов'язане з перинатальним зараженням інфекційним агентом [1,4,8].

За даними багатьох авторів ВУІ розвивається у 27,4-36.6% дітей народжених живими, а в структурі смертності новонароджених інфекційна патологія займає 1-3 місця, обумовлюючи від 11 до 45% загибелі дітей [5,8,9]. ВУІ є причиною численних ускладнень вагітності: самовільних викиднів, передчасних пологів, передчасного розриву плідних оболонок, хоріонамніоніту, передчасного відшарування плаценти, народження дітей із ЗВУР, антенатальної загибелі плоду, септичних станів у новонароджених тощо [7,8?10].

Сучасній медицині відомо більше 2500 різноманітних інфекцій і кожна з них теоретично може викликати акушерські та перинатальні ускладнення. В піхві жінок репродуктивного віку виявляються грампозитивні коки, коринебактерії, грамнегативні бактерії кишкової групи, дріжджові гриби, а також деякі види анаеробних бактерій. У вагітних в структурі геніальних інфекцій переважають порушення мікробіоцинозу піхви. Частота порушення біоценоза статевих шляхів та інфекцій, що передаються статевим шляхом (хламідії, уреаплазми, мікоплазми, віруси) під час вагітності у жінок групи ризику акушерської патології складає в середньому 40-65% і 12-22% відповідно[7,9]. При цьому вагітність є фактором ризику розвитку інфекцій, викликаних умовно-патогенними мікроорганізмами і мікроорганізмами із слабкою вірулентністю. Разом з тим у половини вагітних протягом вагітності виникає хоча б один епізод геніальної інфекції.

У більшості випадків внутрішньоутробні інфекції виникають при наявності порушень імунної системи, тому проблемі урогенітальних інфекцій приділяють особливу увагу. Зниженню резистентності до інфекцій сприяють фізіологічна імунодепресія гуморальної та клітинної ланок імунітету у вагітних, формування імунологічної толерантності як у матері так і плода. Більшість інфекційних захворювань у вагітних протікають важче ніж у невагітних жінок [5,7]. В теперішній час не викликає сумніву той факт, що нормальний перебіг вагітності забезпечується співвідношенням імуномоделюючих та імунодепресивних ефектів в організмі матері, в реалізації яких не останню роль відіграє система цитокінів.

У зв'язку з цим метою даного дослідження було комплексне вивчення системи цитокінів у вагітних з урогенітальною інфекцією для покращення діагностики і тактики лікування.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ.

Обстежено 95вагітних жінок віком від 18 до 39 років в III триместрі вагітності. 1 (основну) групу склали 65 вагітних, які входять до групи ризику по внутрішньоутробному інфікуванню. В 2 (контрольну) групу ввійшли 30 вагітних жінок з нормальним перебігом вагітності. 3 групу склали 25 здорових невагітних жінок.

Всім жінкам крім загально-клінічного проведено мікробіологічне, ультразвукове, імунологічне дослідження.

Мікробіологічне обстеження включало бактеріоскопічне та бактеріологічне дослідження вмісту цервікального каналу шийки матки, піхви