

сивність проявлений судорожного синдрому як в умовах розвиваючого кіндлінга, так і при розвиваючому кіндлінгу, а також збільшує латентний період проявлення перших судорог (в порівнянні з референтними препаратами – карбамазепіном, вальпроєвою кислотою і левітірацетамом), вираженість яких залежить від дози.

Summary

INFLUENCE OF NEW XYLARATE GERMANIUM COMPLEXE (IV) WITH POTASSIUM ON CHRONIC SEIZURE INTENSITY IN KINDLING MODEL IN MICE

Varbanets O.I.

Key words: xygerm-3, seizures, kindling.

The purpose of our work was to estimate anticonvulsive activity of new xylarate-3 germanium complex under different kindling models of chronic seizure activity (electrostimulating and drug-induced kindling). It has been found out the bis(μ -xylarato) dihydrogermanate (IV) with potassium (xygerm-3) reliably diminishes the frequency of occurrence and intensity of seizure syndrome under these conditions and increases the duration of the latent period of the first seizures (by comparison to drug-references as carbamazepin, valproic acid and levetiracetam), which intensity depends on a dose.

УДК: 616.22-006.6+575

Гасюк Ю.А.

ЦИТОГЕНЕТИКА ПЛОСКОКЛІТИННИХ КАРЦИНОМ ГОРТАНІ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

За результатами цитогенетичних досліджень визначено, що в комплексах плоскоклітинної карциноми гортані із зрговінням часто спостерігається патологія профазі мітозу у вигляді кон'югації хромосом, яка на стадії метафазі та анафазі дає початок багатополосному мітозу. В подальшому в результаті патології телофазі утворюються поліплоїдні багатоядерні клітини. В комплексах плоскоклітинної карциноми гортані без зрговіння внаслідок фрагментації гетерохроматину в профазу, конденсації гетерохроматину в метафазу та формуванню мікроядер в анафазу відбувається поетапна трансформація клітин в поліплоїдні або анеуплоїдні. Крім того, в результаті інших цитогенетичних змін, а саме кон'югації хромосом в профазу, комкуватості метафазі та появи в цитоплазмі апоптозних ядерних тілець, в окремих ділянках пухлинних комплексів виникають явища паракератозу. В комплексах базальноклітинної карциноми гортані часто визначається кон'югація хромосом в профазу із наступним нерівномірним розташуванням хромосом на метафазних пластинках. При подальшому нерівномірному розходженні хромосом в анафазу виникають трьохполосні та багатополосні мітози, в результаті яких утворюються анеуплоїдні клітини, що містять мікроядра.

Ключові слова: плоскоклітинна карцинома гортані, цитогенетика.

Публікація є фрагментом планової науково-дослідної роботи ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» «Розробка нових медичних технологій в діагностиці та лікуванні патології верхніх дихальних шляхів», номер держреєстрації: 0111U006761.

Вступ

Злоякісні новоутворення виникають в результаті необмеженої проліферації клітинного клону, яка забезпечується певними особливостями неопластичних клітин, а саме самодостатністю в проліферативних сигналах, зниженням чутливості до ріст-інгібуючих сигналів та відсутністю реплікативного старіння (іморталізації) [6; 7].

Висока проліферативна активність клітин при неопластичних процесах супроводжується частими патологічними мітозами, які складають 30-46% та виникають внаслідок порушення функції пухлинних супресорів та протоонкогенів, що регулюють клітинний цикл. Патологія мітотичного поділу обумовлює генетичну нестабільність неопластичних клітин, яка в свою чергу виникає внаслідок: зниження точності реплікації ДНК та сегрегації хромосом під час мітозу, порушень в системах репарації пошкоджень ДНК, послаблення функцій чекпойнтів клітинного циклу, що активується у відповідь на пошкодження геному,

а також послаблення індукції апоптозу. Таким чином, генетична нестабільність дозволяє закріпити в наступних рядах клітинних генерацій різноманітні зміни геному неопластичних клітин [6; 9; 10; 13; 15; 16].

Отже, в результаті генетичної мінливості та селекції, яка виникає в ході пухлинної прогресії, в популяції клітинного клону постійно виникають та відбираються все більш автономні та агресивні субклони [6; 7; 14; 16; 18].

В залежності від наслідків всі форми патологічних мітозів умовно розподіляють на три групи: поліплоїдні, анеуплоїдні та мітози, які викликають апоптоз [3; 5; 8].

Плоїдність хромосомного набору в ракових клітинах являє собою надважливу прогностичну ознаку, яка корелює із агресивністю пухлинного процесу, чутливістю карциноми до опромінення та хіміотерапії, частотою виникнення рецидивів, а також виживанням хворих [1; 4; 11; 12; 17].

В зв'язку з цим, важливе прогностичне зна-

чення патології мітотичного поділу ракових клітин спонукає до подальших досліджень цитогенетики плоскоклітинних карцином гортані.

Мета дослідження

Мета дослідження – визначення цитогенетичних змін, які виникають при плоскоклітинних карциномах гортані.

Об'єкт та методи дослідження

Дослідження проводились на підставі ретроспективного аналізу клініко-анатомічного матеріалу, який отримали під час діагностичних біопсій, взятих у 124 хворих на I - II стадіях раку гортані складової локалізації. За результатами дослідження біоптатів ідентифіковані наступні гістологічні різновиди плоскоклітинної карциноми: плоскоклітинний рак із зроговінням – 76 випадків (61,3%), плоскоклітинний рак без зроговіння – 44 випадки (35,5%) та базальноклітинна карцинома – 4 випадки (3,2%).

Із отриманого матеріалу за загальноприйнятою методикою виготовляли гістологічні препарати, які фарбували гематоксилін-еозином. Цитогенетичні дослідження препаратів проводились на імерсійному збільшенні цифрового світлового мікроскопу фірми «Olympus BX-41» із використанням об'єктиву $\times 100$, а їх фотозйомка – на цифрову фотокамеру фірми «Olympus C 4040». В процесі досліджень спочатку проводився підрахунок проліферативної активності ракових клітин в промілях (кількість мітозів на 1000 інтерфазних клітин), згідно існуючих рекомендацій [2]. В подальшому від загальної кількості мітозів визначали відсоток патологічних мітозів.

Згідно рекомендаціям [3; 5; 8], в залежності від наслідків, всі форми патологічних мітозів умовно розподілялись на три групи: поліплоїдні, анеуплоїдні та мітози, які викликають апоптоз. Так фрагментація (пульверизація) хромосом, моноцентричний мітоз та нерівномірне розходження хромосом в анафазу («мости») викликає поліплоїдію клітин. Анеуплоїдія, як наслідок патології мітозів, виникає при наступних формах: асиметричний мітоз, трьох- або багатополіусний мітоз, а також при відставанні хромосом або їх фрагментів в метафазу, анафазу або телофазу. Апоптоз клітин викликають патологічні мітози коліцинового типу, а саме К-мітоз із злипанням хромосом, К-мітоз із розсіюванням хромосом, а також пола метафаза.

Результати дослідження та обговорення

За результатами проведених досліджень встановлено, що поряд із зонами початкової або ранньої інвазії карциноми визначаються ділянки дисплазії багатополіусного плоского епітелію, а також ділянки «раку на місці», які характеризуються нечітким розмежуванням.

Власні цитогенетичні дослідження свідчать, що в ділянках дисплазії багатополіусного плоского епітелію третього ступеня спостерігається високий рівень мітотичної активності епітеліоцитів. При цьому, поряд із типовими мітозами, визначаються різні форми патологічних мітозів. Останні представлені переважно багатополіусними мітозами, а також конденсацією гетерохроматину в метафазу. Очевидно, що внаслідок таких форм патології мітозів в ділянках дисплазії епітелію виникає виражений клітинний та ядерний поліморфізм.

В інвазивних комплексах плоскоклітинної карциноми із зроговінням спостерігається значно більша кількість патологічних мітозів. При багатополіусних мітозах на стадії метафази в цитоплазмі клітин визначається базофільний гетерохроматин, представлений у вигляді декількох глибок. В результаті такої форми патології мітозів утворюється три, або навіть більше клітини, що й обумовлює чисельне збільшення клітинної популяції в комплексах карциноми.

В інших ракових клітинах визначається патологія профази, метафази та телофази мітотичного поділу. Внаслідок патології телофази мітотичного поділу в єдиній цитоплазмі клітини визначається одразу декілька ядер, які не розійшлися під час її поділу. Очевидно, що патологія профази у вигляді кон'югації хромосом на стадії метафази та анафази дає початок багатополіусному мітозу. В подальшому в результаті патології телофази утворюється багатоядерна клітина (рис. 1).

В пухлинних комплексах плоскоклітинної карциноми без зроговіння також спостерігається велика кількість патологічних мітозів, які умовно можна розділити на дві групи.

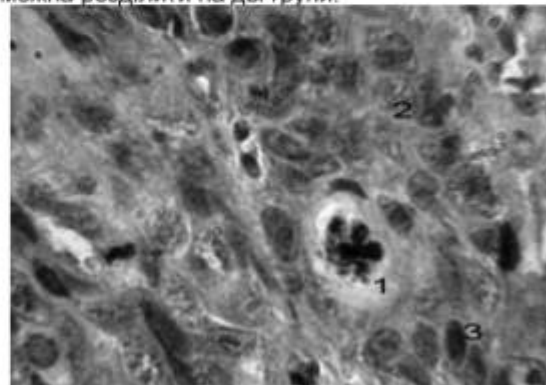


Рис. 1. Патологічні мітози в комплексі плоскоклітинної карциноми гортані із зроговінням: 1. – багатополіусний мітоз; 2. – профаза із кон'югацією хромосом; 3. – інтерфазна клітина. Заб. гематоксилін-еозином. Імерсійне зб. 100×10 .

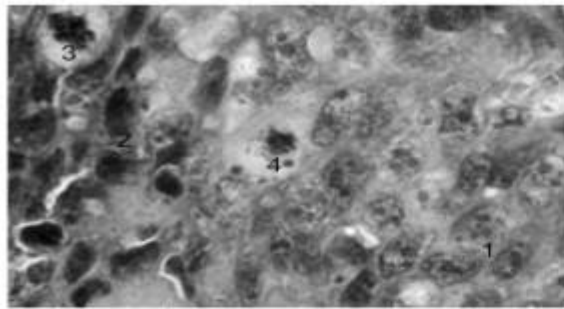


Рис. 2. Патологічні мітози в комплексі плоскоклітинної карциноми гортані без зроговіння: 1. – інтерфазні клітини; 2. – фрагментація гетерохроматину в профазу; 3. – конденсація гетерохроматину в метафазу; 4. – формування мікроядра. Заб. гематоксилін-еозином. Імерсійне зб. 100×10.

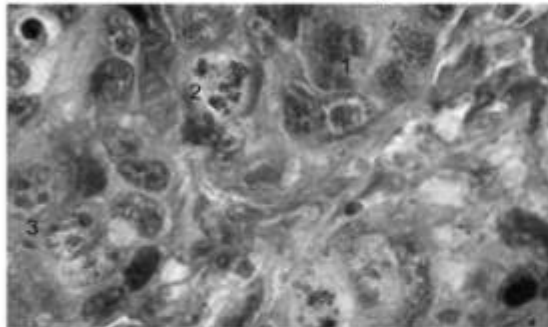


Рис. 3. Патологічні мітози в комплексі базальноклітинної карциноми гортані:

1. – кон'югація хромосом в профазу; 2. – багатополіусний мітоз в анафазу; 3. – поліморфноядерні інтерфазні клітини. Заб. гематоксилін-еозином. Імерсійне зб. 100×10.

До першої групи можна віднести наступні форми патології мітотичного поділу: фрагментація гетерохроматину в профазу, яка проявляється гіперхромією ядер, а також конденсація гетерохроматину в метафазу із формуванням в цитоплазмі клітин окремих мікроядер. Такі форми патологічних мітозів визначаються на фоні інтерфазних поліморфноядерних клітин, які мають крупнобрильчасту або середньобрильчасту ступінь конденсації гетерохроматину (рис. 2).

Разом з тим, в ракових клітинах спостерігаються також інші цитогенетичні зміни, а саме: кон'югація хромосом в профазу, комкувата метафаза та поява апоптозних ядерних тілець в цитоплазмі. Такі форми патологічних мітозів переважно визначаються на фоні інтерфазних клітин, які мають середньобрильчасту або дрібнобрильчасту ступінь конденсації гетерохроматину.

Таким чином, на підставі власних цитогенетичних досліджень можна припустити, що в інвазивних комплексах плоскоклітинної карциноми без зроговіння відбувається два взаємно протилежних процеси. Перший процес характеризується поступовою трансформацією ракових клітин, які мають крупнобрильчасту ступінь конденсації гетерохроматину, в поліплоїдні або анаеуплоїдні. Він відбувається поетапно внаслідок фрагментації гетерохроматину в профазу, конденсації гетерохроматину в метафазу та формуванню мікроядер в анафазу. Очевидно, що

саме таким чином в комплексах плоскоклітинної карциноми без зроговіння виникає виражений клітинний та ядерний поліморфізм. Разом з тим, зовсім інший процес відбувається в інтерфазних ракових клітинах, які мають дрібнобрильчасту ступінь конденсації гетерохроматину. Патологія мітотичного поділу останніх проявляється кон'югацією хромосом в профазу, комкуватою метафазою та появою в цитоплазмі апоптозних ядерних тілець. Очевидно, що в результаті таких цитогенетичних змін в окремих ділянках інвазивних комплексів плоскоклітинної карциноми без зроговіння виникають явища паракератозу.

В інвазивних комплексах базальноклітинної карциноми спостерігається особливо велика кількість патологічних мітозів. При цьому досить часто визначається патологія мітотичного поділу ракових клітин у вигляді кон'югації хромосом в профазу. Внаслідок цього на метафазних пластинках хромосоми розташовуються нерівномірно: на одному із полюсів вони більш кон'юговані, а на іншому – більш рихлі. В подальшому нерівномірне розходження хромосом в анафазу обумовлює виникнення трьохполюсних та багатополіусних мітозів. В результаті анеуплоїдії формуються мікроядра із неповним набором хромосом. Очевидно, що саме такі цитогенетичні зміни викликають виражений ядерний та клітинний поліморфізм в комплексах базальноклітинної карциноми (рис. 3).

Висновки

1. В комплексах плоскоклітинної карциноми гортані із зроговінням досить часто спостерігається патологія профазу мітозу у вигляді кон'югації хромосом, яка на стадії метафазу та анафазу дає початок багатополіусному мітозу. В подальшому в результаті патології телофазу утворюються поліплоїдні багатоядерні клітини.

2. В комплексах плоскоклітинної карциноми гортані без зроговіння внаслідок фрагментації гетерохроматину в профазу, конденсації гетерохроматину в метафазу та формуванню мікроядер в анафазу відбувається поетапна трансформація клітин в поліплоїдні або анеуплоїдні. Разом з тим, в результаті інших цитогенетичних змін, а саме кон'югації хромосом в профазу, комкуватої метафазу та появи в цитоплазмі апоптозних ядерних тілець, в окремих ділянках пухлинних комплексів виникають явища паракератозу.

3. В комплексах базальноклітинної карциноми гортані спостерігається особливо велика кількість патологічних мітозів, серед яких досить часто визначається кон'югація хромосом в профазу із наступним нерівномірним розташуванням хромосом на метафазних пластинках. При подальшому нерівномірному розходженні хромосом в анафазу виникають трьохполюсні та багатополіусні мітози, в результаті яких утворюються анеуплоїдні клітини, що містять мікроядра.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження цитогенетичних змін дозволить оптимізувати діагностику та прогнозування плоскоклітинних карцином гортані.

Література

1. Автандилов Г. Г. Пloidометрия в повышении качества патогистологической диагностики / Г. Г. Автандилов, К. Б. Саняев // Архив патологии. – 2002. – №3. – С.31-35.
2. Алов И. А. Определение митотического режима ткани в патогистологической диагностике предраковых процессов и рака (методические указания) / Алов И. А., Аспиз М. Е., Казанцева И. А. – М.: Медицина, 1973. – 37 с.
3. Алов И. А. Цитофизиология и патология митоза / Алов И. А. – М.: Медицина, 1972. – 263 с.
4. Ахундов А. А. Клиническое значение пloidности ДНК при плоскоклеточных раках слизистой оболочки полости рта и гортани: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук: спец. 14.00.15 «Патологическая анатомия» / Ахундов А. А. – М., 2001. – 24 с.
5. Ганина К. П. Цитогенетическая диагностика в онкопатологии / Ганина К. П. – К.: Наукова думка, 1980. – 175 с.
6. Заридзе Д. Г. Канцерогенез / Заридзе Д. Г. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.
7. Имянитов Е. Н. Современные представления о злокачественной трансформации / Е. Н. Имянитов, К. П. Хансон // Практическая онкология. – 2005. – Т. 6, № 1. – С.7-12.
8. Казанцева И. А. Патология митоза в опухолях человека / Казанцева И. А. – М.: Медицина, 1981. – 260 с.
9. Коган Е. А. Патология митоза и апоптоза при опухолевом росте / Е. А. Коган, С. В. Демур, М. А. Пальцев // Врач – 2001. – № 9. – С. 16-19.
10. Колпін Б. П. Мишені дії онкогенів і онкопептидів супресорів: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза / Б. П. Колпін // Биохимия. – 2000. – Т. 65. – С.5-33.
11. Краевский Н. А. Исследование патологии митоза в клинической онкоморфологии / Н. А. Краевский, И. А. Казанцева, И. Г. Ольховская // Архив патологии. – 1984. – № 1. – С. 16-21.
12. Николаева Т. Г. Метод проточной ДНК-цитометрии в прогнозировании клинического течения рака слизистой оболочки полости рта и гортани / Т. Г. Николаева, А. А. Ахундов, С. О. Подвязников, Я. В. Добрынин // Современная онкология. – 2002. – Т. 4, № 3. – С. 28-35.
13. Evan G. I. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer / G. I. Evan, K. N. Vousden // Nature. – 2001. – V. 411. – P. 342-348.
14. Foulds L. Neoplastic development / Foulds L. – London-N.Y.: Churchill Livingstone, 1969. – 401 p.
15. Gleich L. L. Molecular genetics of head and neck cancer / L. L. Gleich, F. N. Salamone // Cancer Control. – 2002. – V. 9, № 5. – P. 369-378.
16. Ponder B. A. Cancer genetics / B. A. Ponder // Nature. – 2001. – V. 411. – P. 336-341.
17. Valle-Zapico A. D. Prognostic Value of Histopathologic Parameters and DNA Flow Cytometry in Squamous Cell Carcinoma of the Pyriform Sinus / A. D. Valle-Zapico, F. F. Fernandez, A. R. Suarez. [et al.] // Laryngoscope. – 1998. – V. 108. – P. 269-272.
18. Barnes Eds. L. World Health Organization of Tumor's Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours / Eds. L. Barnes, J. Eveson, P. Richard, D. Sidransky. – Lyon: IARC Press, 2005. – 430 p.

Реферат

ЦИТОГЕНЕТИКА ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ КАРЦИНОМ ГОРТАНИ

Гасюк Ю.А.

Ключевые слова: плоскоклеточная карцинома гортани, цитогенетика.

В результате цитогенетических исследований установлено, что в комплексах плоскоклеточной карциномы гортани с ороговением часто наблюдается патология профазы митоза в виде конъюгации хромосом, которая на стадии метафазы и анафазы дает начало многополюсному митозу. В дальнейшем в результате патологии телофазы образуются полиплоидные многоядерные клетки. В комплексах плоскоклеточной карциномы гортани без ороговения вследствие фрагментации гетерохроматина в профазу, конденсации гетерохроматина в метафазу и формирования микроядер в анафазу происходит поэтапная трансформация клеток в полиплоидные или анеуплоидные. Кроме того, в результате других цитогенетических изменений, а именно конъюгации хромосом в профазу, комковатой метафазы и появления в цитоплазме апоптозных ядерных телец, в отдельных участках опухолевых комплексов возникают явления паракератоза. В комплексах базальноклеточной карциномы гортани часто определяется конъюгация хромосом в профазу с последующим неравномерным расположением хромосом на метафазных пластинках. При дальнейшем неравномерном расхождении хромосом в анафазу возникают трех полюсные и многополюсные митозы, в результате которых образуются анеуплоидные клетки, содержащие микроядра.

Summary

CYTOGENETIC OF LARYNGEAL SQUAMOUS CELL CARCINOMAS

Gasyuk Yu.A.

Keywords: laryngeal squamous cell carcinoma, cytogenetic.

Cytogenetic researches have demonstrated in the complexes of laryngeal squamous cell carcinoma with cornification the pathology of mitosis prophase in the form of chromosomes conjugation is often observed, which on the stage of metaphase and anaphase gives rise to multi-polar mitosis. Subsequently due to the pathology of telophase the polyploid multi-nuclear cells are formed. In the complexes of laryngeal squamous cell carcinoma without cornification due to the fragmentation of heterochromatin in prophase, condensation of heterochromatin in metaphase and the formation of micronuclei in anaphase the step-by-step transformation of cells into polyploid or aneuploid is observed. Moreover, as a result of other cytogenetic changes, such as chromosome conjugation in prophase, clotted metaphase and appearance of apoptotic nuclear bodies in the cytoplasm in some areas of tumor complex the phenomenon of parakeratosis may be seen. In the complexes of laryngeal basal-cell carcinoma the chromosomes conjugation in prophase is commonly observed with following irregular arrangement of chromosomes in the metaphase plates. Under further irregular separation of the chromosomes in anaphase the three-polar and multi-polar mitosis appear and as their result the aneuploid cells containing micronuclei are formed.