

І.В.Грицина¹
В.П.Сулима²

¹ Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

² Дніпропетровська державна медична академія

Ключові слова: обґрунтування, диференціація, міні-γ-квантове опромінення.

Надійшла: 29.04.2008

Прийнята: 12.06.2008

УДК 616.352-06-085.847.8

МОРФОЛОГІЧНЕ ПІДГРУНТЯ МЕТОДУ МІНІ-ГАММА-КВАНТОВОГО ОПРОМІНЕННЯ ТКАНИН

Дослідження проведено у рамках науково-дослідної роботи «Організаційні та клінічні особливості покращення якості надання хірургічної допомоги хворим із застосуванням нових та мініінвазивних медичних технологій», Грант Фонду «Антикологостома».

Резюме. Нормальний ріст тканин характеризується двома головними рисами: 1) сталістю клітинної популяції, що досягається балансом між проліферацією та смертю клітин; 2) повним дозріванням та диференціюванням клітин після проліферації. Внаслідок сублетального пошкодження генетичного матеріалу клітини порушуються обидва фундаментальні закони нормального тканинного росту. Пропонується експрес-метод, що дозволяє диференціювати пухлинні та непухлинні процеси безпосередньо під час виконання оперативного втручання. При використанні енергії γ-квантів 59,6 кеВ коефіцієнт поглинання складав: тканинами з хронічною анальною тріщиною – до 21, вільозної аденоми – 26 і аденокарциноми кишки – 31. Різниця складу імпульсів для різних патологічних процесів становила 30%, що підтверджує можливість диференціювання доброякісних, злоякісних пухлин і запальних процесів прямої кишки із залученням цієї енергії при часі вимірювання 60 с.

Морфологія.- 2008.- Т.П, №3.- С.25-28.

© І.В.Грицина, В.П.Сулима, 2008

Hritsyna I.V., Sulyma V.P. Morphological substantiation of the method of the mini-gamma-quantum irradiation.

Summary. The normal tissue growth are characterized by two major features: 1) cells stability with the proliferation-death balance 2) complete cell maturation.

We propose an express method for the differentiation tumor and non-tumor processes in tissues during the operation. The coefficient of absorption of the tissues with chronic of anal fissure was below 21, adenomas – 26 and adenocarcinoma – 31 on application of γ-quantum radiation 59,6 keV. So, the difference of impulses composition for pathological process was 30%. We suggest that 60 seconds γ-quantum radiation is a new possibility for differential diagnosis of non-malignant, malignant tumors and inflammation process in rectum.

Key words: grounds, differentiation, mini-γ-quantum irradiation.

Вступ

Сучасний стан диференціювання патологічних змін в тканинах, а тим більше в пухлинах, потребує застосування не тільки знань, вмінь та навичок лікаря-патологоанатома, але й використання значно інформативніших молекулярно-генетичних методик (Копнин Б.П., 2002). Однак, терміни виконання як традиційних, так і сучасних методик вивчення патологічно змінених тканин дуже значні (від 1 до 7 діб), що є особливо небажаним для хворих зі злоякісними пухлинами при виконанні сфінктерозберігаючих оперативних втручань на прямій та ободовій кишках, які повинні закінчуватись формуванням анастомозу. Зазвичай оцінка стану кінців кишки, що з'єднуються, на предмет наявності частин пухлини проводиться хірургом лише візуально та пальпаторно, і тільки через 5-7 діб можливо отримати гістологічний висновок про стан кінців видаленого препарату. Іноді, на жаль,

можлива наявність ракових клітин, що призводить до великої ймовірності розвитку рецидиву пухлини в сформованому анастомозі (Sulyma V. et al., 2007; Сулима В.П. и соавт., 2008).

Ріст тканин в нормі характеризується двома основними рисами: сталістю клітинної популяції (досягається балансом між проліферацією та смертю клітин) та повним дозріванням і диференціюванням клітин після проліферації (Копнин Б.П., 2002).

При сублетальному пошкодженні генетичного матеріалу клітини будуть порушені обидва фундаментальні закони нормального тканинного росту. Найчастіші типи мутацій – транслокація, ампліфікація, делеція і точкові мутації, внаслідок чого експресія генів та їх продуктів може бути надмірною (гіперекспресія) або пригніченою (супресія). Закінчується цей нерегульований ріст розширенням популяції (клітинна експансія) та недостатнім диференціюванням клітин (Kazmin

S.D., Smirnova I.A., 1989).

Мета дослідження

Важливою є розробка та впровадження нового інструментального методу диференціювання, що не тільки прискорить терміни отримання результатів, але й підвищить їх об'єктивність та достовірність на підставі доказовості та фіксації фізичних одиниць. Для такого методу повинно бути морфологічне підґрунтя.

Матеріали та методи

Одним з головних завдань хірурга є визначення обсягу оперативного втручання при лікуванні колоректального раку. Вибір обсягу операції – резекція кишки без відновлення прохідності кишки з формуванням постійної колостоми або сфінктерзберігаюча операція з відновленням прохідності товстокишкового анастомозу – залежить від ступеня інвазії і пухлинної дисемінації. Оскільки визначення кордонів пухлинного поля та ступеня ракової дисемінації з карциномом лімфатичних і кровоносних судин лежить поза інтраопераційними можливостями лікаря, він покладається виключно на власний досвід, інтуїцію, операційні знахідки та результати передопераційних досліджень. Для радикального хірургічного лікування і для запобігання післяопераційних ускладнень та ранніх рецидивів хірург повинен бути впевнений, що лінія резекції кишки не ушкоджена неопластичним процесом. Найпоширенішим і високоінформативним діагностичним методом є інтраопераційна експрес-біопсія тканини кишки, взятої із лінії резекції. При виявленні у лінії резекції пухлинних комплексів хірург може розширити чи змінити обсяг оперативного втручання. На жаль, у більшості лікарень метод інтраопераційної експрес-біопсії є неможливим та й навіть при його застосуванні експрес-дослідженням вивчаються не повністю края видаленої кишки, а тільки декілька її кусочків, аналіз яких не буде давати відповіді про стан кінців препарату. Як правило, операційний матеріал досліджується лише після закінчення операції і лікар отримує висновок мінімум через добу, або навіть через 5-7 днів після операції.

Пропонується сучасний експрес-метод, що дозволяє визначати ступінь поширення новоутворення на сусідні тканини й диференціювати пухлинні та непухлинні процеси шляхом опромінення гамма-квантами та завдяки залишковому вимірюванню видалених під час операції зразків (Sulyma V. et al., 2007). Позитивні досягнення методу полягають у розширенні інтраопераційних можливостей хірурга по визначенню виду та обсягу операції, що у кінцевому випадку нап'ямую пов'язано із покращенням якості життя оперованого хворого.

Метод базується на різниці концентрацій внутрішньоклітинних мікроелементів у пухлинах та незмінених тканинах кишки з викорис-

танням явища фотоелектричного ефекту. Опромінення примірників міні-γ-квантами зумовлює втрату негативного заряду клітинами, викликаючи фотоелектричний ефект, який є суворо індивідуальним для нормальних, реактивно та неплас-тично трансформованих тканин. Для диференціювання різних за якістю патологічних процесів вимірюють та порівнюють інтенсивність поглинання клітинами міні-гама-квантів, а також характеристичне випромінювання мікроелементів, що містяться у тканинах. Розрахунок величини характеристичного випромінювання мікроелементів здійснювали за формулою:

$$J_1 = J_0^{-kL},$$

де J_1 – інтенсивність гама-квантів після зразку, Гц; J_0 – інтенсивність гама-квантів перед зразком, Гц; k – коефіцієнт поглинання, 1/см; L – товщина зразку, см.

Результати та їх обговорення

Біохімічні дослідження пухлин виявили, що злоякісні клітини мають іншу концентрацію внутрішньоклітинних іонів Na^+ , K^+ , та Cl^- у порівнянні з нормальними клітинами. Так, концентрація внутрішньоклітинного натрію збільшена, тоді як рівень іонів калію знижений. Співвідношення іонів Na^+/K^+ у пухлинних клітинах вище у п'ять разів у порівнянні зі звичайними. Одним з можливих пояснень порушеного іонного гомеостазу пухлинних клітин є аномальна активність Na^+/K^+ -АТФ-ази та змінене функціонування ко-транспортних систем для іонів Na^+ , K^+ , Cl^- , коли у злоякісній клітині не тільки спостерігається зсув співвідношення $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Ca}^{++}$, але й можливий вплив їх на аномалію форми клітини, її рухливість і клітинні взаємодії (Latzkovits L. et al., 1983; Mtskhvetadze A.V. et al., 1987; McConkey D.J. et al., 2000).

Результати досліджень свідчать, що фермент Na^+/K^+ -АТФ-аза (натрієвий насос) окрім іонного транспорту входить до складу білкового комплексу, що передає сигнали росту від екстрацелюлярного середовища до внутрішньоклітинного шляху проведення реплікативного сигналу. Натрієвий насос виступає в якості трансмембранного рецептора для факторів росту та залучений до механізму тканинного росту, де Na^+/K^+ -АТФ-аза регулює вміст внутрішньоклітинного кальцію (Kaplan J.H., 2005).

Зміни у метаболізмі та взаємодії з Na^+/K^+ -АТФ-азою можуть бути пов'язані із розвитком злоякісних пухлин. Це пояснюється аномальною активністю Na^+/K^+ -АТФ-ази та її чутливістю у неопластичних клітинах, високою концентрацією у плазмі хворих на рак. Зменшується експресія α_1 -ізоформи Na^+/K^+ -АТФ-ази та посилюється експресія α_3 -ізоформи у всіх зразках тканин раку товстої кишки у порівнянні із незміненою слизо-

вою оболонкою кишки, а малодиференційовані карциноми товстої кишки мають знижену β_1 -субодиниці Na^+/K^+ -АТФ-ази (Espineda C. E. et al., 2003; Espineda C.E. et al., 2004).

Ці порушення можуть пояснити зміни рівня Na^+ та K^+ у цитоплазмі передпухлинних та пухлинних епітеліальних клітин слизової оболонки

товстої кишки (Kometiani P. et al., 2005).

Визначення та фіксація різниці концентрації мікроелементів у тканинах товстої кишки дозволяє диференціювати її стани: від нормального до ушкодженого пухлинним процесом (схема вимірювань представлена на рис. 1).

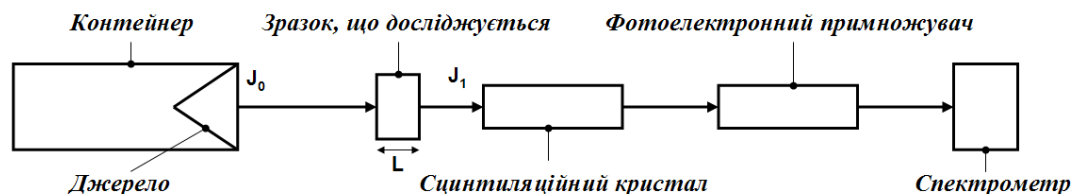


Рис. 1. Схема вимірювань характеристичного випромінювання мікроелементів.

При використанні енергії γ -квантів 59,6 кеВ коефіцієнт поглинання складав: тканинами з хронічною анальною тріщиною – до 21, вільозної аденоми – 26 та аденокарциноми кишки – 31. Різниця складу імпульсів для різних патологічних процесів становила 30%, що підтверджує

можливість диференціювання доброякісних, злоякісних пухлин і запальних процесів прямої кишки із залученням цієї енергії при часі вимірювання 60 с (Сулима В.П. и соавт., 2008) (результати вимірювань представлені в таблиці 1).

Результати вимірювань характеристичного випромінювання мікроелементів

Таблиця 1

Показники	Анальна тріщина	Доброякісна пухлина	Злоякісна пухлина	Контрастність
Енергія, кеВ	Коефіцієнт поглинання "к", см^{-1}	Коефіцієнт поглинання "к", см^{-1}	Коефіцієнт поглинання "к", см^{-1}	%
59,6	0,20	0,21	0,22	4,76
17	1,7	1,9	2,1	10,5
5,9	21,0	26,0	31,0	19,23

Висновки

Принципом представленого методу є визначення та фіксація різної концентрації мікроелементів у неопластично трансформованих та непухлинних тканинах за допомогою міні- γ -випромінювання.

Трансформація клітини з нормальної в злоякісну супроводжується зміненою експресією ферменту Na^+/K^+ -АТФ-аза, що є наслідком як генетичної дисрегуляції натрієвої помпи, так і зміненою концентрацією ендогенних посередників, до яких цей фермент є чутливим. Насосна функція його знижується, що проявляється дисбалансом іонного вмісту клітини – концентрація іонів натрію і кальцію зростає, в той час як рівень калію зменшується.

Запропонований метод може бути використаний в диференційній експрес-діагностиці при оперативних втручаннях з приводу колоректального раку.

Висловлюється подяка Фонду «Антиколостома» за допомогу при виконанні частини викладених досліджень.

Перспективи подальших розробок

В подальшому застосування запропонованого методу може об'єктивізувати та прискорити диференційну діагностику пухлин кишечника, а глибоке вивчення новоутворень інших органів і тканин може бути підставою для створення нового напрямку інструментальної діагностики в хірургії та онкології.

Літературні джерела

Копнин Б. П. Неопластическая клетка: ос-

новные свойства и механизмы их возникновения /

Б. П. Копнин // Практическая онкология. – 2002. – Т. 3, № 4. – С. 229-235.

Міні-γ-квантове випромінювання в хірургії та онкології / В. П. Сулима, В. В. Гапонов, В. В. Кравченко, Л. Г. Мещеряков // 6-а конф. по фізиці високих енергій, ядерній фізиці та прискорювачам : зб. тез. - Х., 2008. – С. 42.

Analysis of the Na, K ATPase alpha- and beta-subunit expression profiles of bladder cancer using tissue microarrays / C. Espineda, D. B. Seligson, W. Ball, James [et al.] // Cancer. – 2003. – Vol. 97, № 8. – P. 1859-1868.

Cardiac glycosides stimulate Ca²⁺ increases and apoptosis in androgen-independent, metastatic human prostate adenocarcinoma cells. / D. J. McConkey, Y. Lin, L. K. Nutt [et al.] // Cancer res. – 2000. – Vol. 60, № 14. – P. 3807-3812.

Kaplan J. H. A moving new role for the sodium pump in epithelial cells and carcinomas / J. H. Kaplan // Sci STKE. – 2005. – № 289. – P. 31.

Kaz'min S. D. Cationic control of gene transcription in Tumour cells / S. D. Kaz'min, I. A. Smirnova // Folia biol (Praha). – 1989. – Vol. 35, № 3. – P. 143-151.

Kometiani P. Digitalis-induced signalling by Na⁺/K⁺ ATPase in human breast cancer cells / P. Kometiani, L. Liu, A. Askari // Mol. pharmacol. – 2005. – Vol. 67, № 3. – P. 929-936.

Manifestation of K⁺ Transport alterations in cultured tumour cells of mice. / L. Latzkovits, C. Torday, T. Janossy, E. Erdos // Acta chir. hung. – 1983. – Vol. 24, № 4. – P. 287-294.

Mtskhvetadze A. V. Transmembrane transfer of sodium ions in cell membranes of normal and tumor cells. / A. V. Mtskhvetadze, A. O. Chillingarov, D. I. Tushishvili // Biofizika. – 1987. – Vol. 32, № 4. – P. 634-637.

Repression of Na, K-ATPase beta1-subunit by the transcription factor snail in carcinoma / C. E. Espineda, J. H. Chang, J. Twiss [et al.] // Mol. biol. cell. – 2004. – Vol. 15, № 3. – P. 1364-1373.

The method of differentiation with using mini-γ-quantum irradiation as part of Programme for prevention of permanent colostomy : [Book of Abstract] / V. Sulyma, V. Gaponov, D. Bespyatyj, O. Zelenuk. - Krakow, Poland, 2007. – 62 p. – (Electron Microscopy & Microanalysis Conference).

Грицына И.В., Сулима В.Ф. Морфологическая основа метода мини-гамма-квантового облучения тканей.

Резюме. Нормальный рост тканей характеризуется двумя главными особенностями: 1) постоянством клеточной популяции, благодаря сбалансированности процессов пролиферации и смерти клеток; 2) полным созреванием и дифференцированием клеток после пролиферации.

В результате сублетального повреждения генетического материала клетки нарушаются оба фундаментальных закона нормального роста тканей. Предложен экспресс-метод, позволяющий дифференцировать опухолевые и неопухолевые процессы непосредственно во время выполнения оперативного вмешательства. При использовании энергии γ-квантов 59,6 кеВ коэффициент поглощения составил: тканями с хронической анальной трещиной – до 21, вилезной аденомы – 26 и аденокарциномы кишки – 31. Разница состава импульсов для различных патологических процессов составила 30%, что подтверждает возможность дифференцирования доброкачественных, злокачественных опухолей и воспалительных процессов прямой кишки с использованием этой энергии при времени измерения 60 сек.

Ключевые слова: обоснование, дифференциация, мини-γ-квантовое облучение.