

провізорного клапана. Утворення клапанів відбувається завдяки процесу делямінації міокарда стінки шлуночків. На курячих ембріонах встановили основні етапи і механізми розвитку серцевої стінки в нормі та формування вад розвитку під дією гіпоксії. Під впливом гіпоксії спостерігали порушення у формуванні серцевої стінки ембріонів. Аномальний розвиток трабекул міокарда частіше спостерігався в середній третині шлуночків і майже зовсім не зустрічався в області верхівки серця. В середній третині шлуночків серця ми спостерігали в окремих випадках «двошаровий міокард», що явно свідчить про порушення механізмів утворення серцевої стінки під впливом гіпертермії. В стінці передсердь формуються аномальні трабекули з тонкою основою й масивними стовщеннями на кінцях, які містять численні судини (в нормі на даному етапі розвитку ми не зустрічали судин в стінці передсердь). В перспективі подальших досліджень цікавими виглядають моделювання пороків клапанного апарату та крупних судин серця.

ЛІТЕРАТУРА

1. Горелова Н.І., Сілкина Ю.В. Гістогенетичні процеси в ранньому кардіогенезі людини // Вісник проблем біології і медицини. – 2004. – №4. – С. 78-84.
2. Козлов В.А., Шаторная В.Ф., Довгаль Г.В., Крамар С.Б., Абдул-Оглы Л.В., Зозуля Е.С. Закладка папиллярных мышц и сухожильных нитей сердца в раннем эмбриогенезе // Матеріали першої всеукраїнської науково-практичної конференції «Україна наукова 2001». – Дніпропетровськ, 2001. – С. 17-18.
3. Экспериментальное моделирование врожденных пороков сердца и магистральных сосудов/ Под ред. Г.С.Кирьякулова.- Київ: «Вища школа»- 1994.- 158 с.
4. Anderson R.H., Wenink A.C. Thoughts on concepts of development of the heart in relation to the morphology of congenital malformation // *Experientia*. – 1988. – № 11. – P. 951-960.
5. Development of the papillary muscles of the mitral valve: morphogenetic background of parachute-like asymmetric mitral valves and other mitral valve anomalies / P.W. Oosthoek, A.C. Wenink, L.J. Wisse, A.C. Gittenberger-de Groot // *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery*. – 1998. – Vol. 116, № 1. – P. 36-46.
6. Khloponin P.A. Fluorescence and electron-microscopic analysis of differentiation of the myocytes of the ventricles and atria of the avian heart in ontogenesis // *Pflugers Arch*. – 1976. – Vol. 365, № 2-3. – P. 159-166.

Постолок І.Г.

СТАН РЕЦЕПТОРНОГО АПАРАТУ ДО СТЕРЕОЇДНИХ ГОРМОНІВ В МІОЕПІТЕЛІАЛЬНИХ ПУХЛИНАХ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К. Гусака АМН України, м. Донецьк

СТАН РЕЦЕПТОРНОГО АПАРАТУ ДО СТЕРЕОЇДНИХ ГОРМОНІВ В МІОЕПІТЕЛІАЛЬНИХ ПУХЛИНАХ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ – Робота базується на імуногістохімічному типуванні тканини інвазивних форм раку молочної залози 25 пацієнтів. Використовували мишачі моноклональні антитіла (МАТ) до панцитокератинів (клон АЕ1/АЕ3, DAKO), епітеліального мембранного антигену ЕМА (клон Е29, DAKO), виментину (клон Vim 3V4, DAKO), гладком'язового актину SMA (клон 1A4, DAKO), CD10 (клон 56C6, Novocastra), p63 (клон 4A4, DAKO) і поліклональні антитіла до протеїну S-100 (DAKO). Показано, що імуногістохімічне типування тканини пухлинного вузла дозволяє надійно діагностувати міоепітеліальний компонент пухлини, адекватно визначити ступінь її злоякісності і сприяє розкриттю біологічної сутності раку молочної залози. Імуногістохімічно міоепітеліальні карциноми характеризуються вираженою реактивністю витягнутих клітин для гладком'язового актину (SMA), CD10, p63 та цитокератину (АЕ1/АЕ3), помірною реактивністю до протеїну S-100 і дифузною реактивністю до виментину. Відмітною морфологічною характеристикою міоепітеліальних карцином є відсутність в рецепторах міоепітеліоцитів експресії стероїдних (ER- і PR-) гормонів.

СОСТОЯНИЕ РЕЦЕПТОРНОГО АППАРАТА К СТЕРЕОИДНЫМ ГОРМОНАМ В МИОЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ – Работа базируется на иммуногистохимическом типировании ткани инвазивных форм рака молочной железы 25 пациентов. Использовали мышинные моноклональные антитела (МАТ) к панцитокератинам (клон АЕ1/АЕ3, DAKO), эпителиальному мембранному антигену ЭМА (клон Е29, DAKO), виментину (клон Vim 3V4, DAKO), гладкомышечному актину SMA (клон 1A4, DAKO), CD10 (клон 56C6, Novocastra), p63 (клон 4A4, DAKO) и поликлональные антитела к протеину S-100 (DAKO). Показано, что иммуногистохимическое типирование ткани опухолевого узла позволяет надежно диагностировать миоепителиальный компонент опухоли, адекватно определить степень ее злокачественности и способствует раскрытию биологической сущности рака молочной железы. Иммуногистохимически миоепителиальные карциномы характеризуются выраженной реактивностью витянутых клеток для гладкомышечного актина (SMA), CD10, p63 и цитокератина (АЕ1/АЕ3), умеренной реактивностью к протеину S-100 и диффузной реактивностью к виментину. Отличительной морфологической характеристикой миоепителиальных карцином является отсутствие в рецепторах миоепителиоцитов экспрессии стероидных (ER- и PR-) гормонов.

CONDITION OF RECEPTOR APPARATUS TO STEROID HORMONES IN MYOEPITHELIAL CARCINOMAS OF BREAST – The work is based on immunohistochemical research of tissue of invasive breast tumors of 25 women. Mice immunohistochemical monoclonal antibodies (MAB) to pan-cytokeratins (clone АЕ1/АЕ3, DAKO), epithelial membrane antigen EMA (clone Е29, DAKO), vimentin (clone Vim 3V4, DAKO), smooth muscular actin SMA (clone 1A4,

DAKO), CD10 (clone 56C6, Novocastra), p63 (clone 4A4, DAKO) and polyclonal antibodies to protein S-100 (DAKO) were used. It was shown, that immunohistochemical research of tissue of the tumour allows to diagnose reliably myoepithelial component of tumour, to determine adequately a degree of its malignancy and promotes disclosure of biological essence of breast cancer. Immunohistochemistry of myoepithelial carcinomas is characterized by expressed response of cells for smooth muscular actin SMA, CD10, p63 and cytokeratin (АЕ1/АЕ3), moderate response to protein S-100 and diffuse response to vimentin. Distinctive morphological feature of myoepithelial carcinomas is the lack of myoepithelial cells of steroid expression in receptors (ER- and PR-) hormones.

Ключові слова: міоепітеліальні карциноми, рак молочної залози, імуногістохімія.

Ключевые слова: миоепителиальные карциномы, рак молочной железы, иммуногистохимия.

Key words: myoepithelial carcinomas, breast cancer, immunohistochemistry.

ВСТУП В останні роки в клінічній онкології активно вивчаються різноманітні молекулярно-біологічні чинники – маркери клітинного та іншого походження, які підпадають під зміни при виникненні і прогресії неоплазії [2]. Дослідження цих чинників дозволяє прогнозувати відповідь на хімотерапію та ендокринотерапію, перебіг хвороби і віддалені результати лікування. До них відносяться чинники, відповідальні за пухлинне диференціювання (HER-2/neu, p53 тощо), показники проліферативної активності (PCNA, Ki-67), апоптозу (Bcl-2), ангиогенезу (VEGF), а також експресію клітинами пухлинного вузла рецепторів до стероїдних гормонів – естрогенів і прогестерону.

На сьогодні гормонотерапія, поряд з хірургічним, променевим, хіміотерапевтичним та іншими відомими методами лікування раку молочної залози, є одним із ключових моментів у досягненні максимального ефекту комплексної терапії. Досить добре вивчені механізми дії гормональних препаратів. Виділено чинники прогнозу гормоночутливості, найважливішими з яких є вік хворої, її менструальний статус і рівень рецепторів стероїдних гормонів у клітинах пухлини [7]. Доведено, що висока кількість рецепторів естро-

генів (ER) і прогестерону (PR) є сприятливим прогностичним чинником перебігу раку молочної залози. У хворих з високою їх кількістю антиестрогенна терапія дозволяє вірогідно збільшити показники безрецидивного та загального виживання [1].

Доведено, що пухлини молочної залози, позитивні як за ER, так і за PR, як правило, реагують на ендокринну терапію краще, ніж пухлини, негативні за PR або за обидвома видами рецепторів. Визначення рецепторів стероїдних гормонів значною мірою полегшує підбір хворих для подальшої гормонотерапії. Прогностична значущість цього параметра зберігається незалежно від виду гормонотерапії. На сьогодні ER і PR є найважливішими параметрами, які характеризують гормоночутливість клітин раку молочної залози. За різними даними літератури, загальний відсоток позитивних пухлин молочної залози за обидвома видами рецепторів варіює від 49,8 до 82,3% [6]. Вивчення рецепторного статусу пухлини має першорядне значення в індивідуалізації програми адекватної гормонотерапії і формуванні прогностичних чинників перебігу пухлинного процесу [3].

В нечисленних роботах, присвячених даній проблемі в пухлинах молочної залози з міоепітеліальним диференціюванням, наводяться дані, які вказують на несприятливий перебіг і прогноз даних неоплазій [5]. При імуногістохімічному вивченні випадку раку молочної залози з міоепітеліальним компонентом встановлено, що клітини пухлинного вузла не експресували рецептори до естрогенів і прогестерону, а тому застосування гормонотерапії при даній неоплазії малоефективне і прогноз несприятливий [4].

Мета дослідження – установити стан рецепторного апарату до стероїдних гормонів у злоякісних новоутвореннях молочної залози з міоепітеліальним диференціюванням для визначення прогнозу і доцільності проведення гормонотерапії у даного контингенту хворих.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Матеріалом морфологічного дослідження послужив біопсійний матеріал інвазивних форм раку молочної залози з різним ступенем виразності міоепітеліального диференціювання 25 пацієнтів, які поступили на лікування в Донецький обласний протипухлинний центр. Біопсійний матеріал досліджували за допомогою рутинного методу забарвлення гематоксиліном та еозином. Для подальшого імуногістохімічного дослідження було відібрано 15 випадків з достатньою кількістю матеріалу у блоках. Біопсійний матеріал фіксували в нейтральному забуференому формаліні (рН 7,4) протягом 24 годин. Після дегідратації шматочки заливали у високоочищений парафін з полімерними добавками (Richard-Allan Scientific, США) при температурі не вище 60°C. Зрізи товщиною 5 мкм виконували на ротаційному мікромомі Microm HM325 з системою переносу зрізів STS (Carl Zeiss, Німеччина). Зрізи поміщували на покриті адгезивом скло Super Frost Plus (Menzel, Німеччина). Для «демаскування» антигенів регідратовані зрізи піддавали термічній обробці в розчині Target Retrieval Solution (DAKO, Данія) з використанням водяної випарної бані GFL1023. Після блокування неспецифічного зв'язування білків протеїновим блоком (DAKO) і ендогенної пероксидазної активності пероксидазним блоком (DAKO) наносили первинні антитіла. Використовували мишачі моноклональні антитіла (MAT) до панцитокератинів (клон AE1/AE3, DAKO), віментину (клон Vim 3V4, DAKO), гладком'язового актину SMA (клон 1A4, DAKO), p63 (клон 4A4, DAKO) і поліклональні антитіла до протеїну S-100 (DAKO), а також MAT до рецепторів естрогенів (клон 1D5, DAKO) та прогестерону (клон 1A6, DAKO). Візуалізацію первинних антитіл проводили за допомогою полімерної системи детекції DAKO EnVision+. У ролі субстрату для пероксидази хрому використовували DAB+ (DAKO). Препарати дозабарвлювали гематоксиліном Майєра. Далі забарвлені зрізи заключали в напівсинтетичне середовище Permanent Mounting Medium (DAKO).

Дослідження препаратів в прохідному світлі проводили на дослідницькому мікроскопі Olympus AX70 (Японія) з використанням програми AnalySIS Pro 3.2 (фірма SoftImaging, Німеччина) згідно із рекомендаціями виробника програмного забезпечення.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Пухлини з міоепітеліальним диференціюванням (25 випадків) гістологічно на всьому протязі або на обмежених ділянках були представлені гіперклітинними зонами різної протяжності з витягнутих клітин зі світлою цитоплазмою з помірним ядерним і клітинним поліморфізмом, а також розрізненими клітинами, розташованими серед фіброзованої стромы, веретеноподібної форми з високим ядерно-цитоплазматичним співвідношенням, неправильними ядрами і вираженими ядерцями. Мало місце помірне число фігур мітозу (3-5 на 10 полів зору при збільшенні x600). В інших ділянках мали місце залозистоподібні або папілярні структури, в яких окрім проліферації міоепітеліального компонента, спостерігалася проліферація протокового секретуючого епітелію.

Оскільки рецептори естрогенів (ER) і прогестерону (PR) виключно ядерні антигени, при оцінці імуноферментного забарвлення враховували тільки кольорові реакції (від жовтого до темно-коричневого забарвлення), розташовані в проекції ядер міоепітеліальних клітин пухлини. Неспецифічне зв'язування, яке виявлялося в стромі пухлини, зрідка в лімфоїдних клітинах, а також у цитоплазмі ракових клітин, не враховували. Облік позитивних реакцій проводили за кількістю відредагованих клітин (виражали у відсотках до загальної кількості злоякісно трансформованих клітин на площі гістологічного препарату), і за інтенсивністю їх імунозабарвлення. Досліджувану пухлину вважали негативною як за естрогеновими, так і за прогестероновими рецепторами при виявленні специфічного забарвлення менш ніж у 10 % позитивних клітин. Всі інші варіанти розглядалися як рецепторпозитивні. Імуногістохімічно була виражена реактивність витягнутих клітин для гладком'язового актину (SMA) і цитокератину (AE1/AE3), що визначало міоепітеліальну лінію клітин пухлини. Була також помірна реактивність для протеїну S-100 і дифузна реактивність для віментину. Якщо клітини пухлини були імунопозитивні при використанні міоепітеліальних маркерів, таких як віментин, гладком'язовий актин (SMA), протеїн S-100, CD10 та p63, у цих випадках такі клітини розцінювалися як міоепітеліальні.

Експресія рецепторів до стероїдних гормонів була проведена в 15 випадках інвазивних форм раку молочної залози з різним ступенем виразності міоепітеліального диференціювання. Дослідження було виконане на серійних зрізах і результати забарвлення оцінювалися виключно в міоепітеліальному компоненті пухлин. У більшості випадків (13 випадків) нами виявлена відсутність рецепторів до естрогенів і прогестерону (ER-PR-) в міоепітеліальному компоненті пухлин. Жодна з чисто міоепітеліальних карцином не експресувала рецептори до стероїдних гормонів. Експресія рецепторів естрогенів і прогестерону (ER+PR+) в міоепітеліальному компоненті інвазивної карциноми діагностована лише в одному випадку, ще в одному ми виявили експресію рецепторів естрогенів при відсутності рецепторів прогестерону (ER+PR-). Відсутність рецепторів статевих гормонів (ER-PR-) у клітинах пухлин молочної залози є одним з основних несприятливих прогностичних чинників у пацієнток будь-якої вікової групи внаслідок неможливості одержання відповіді на гормонотерапію. Лише рецептор-позитивний статус пухлин молочної залози надає адекватну відповідь на застосувану системну гормонотерапію, що свідчить про сприятливіший прогноз перебігу захворювання. При цьому інтенсивність забарвлення імунокомпетентних клітин у пухлинах молочної залози прямо пропорційна очікуваній відповіді на гормонотерапію.

При відсутності рецепторів стероїдних гормонів у клітинах раку молочної залози (ER-PR-) ендокринна терапія ефективна лише в 6-11 % випадків, а трирічне виживання у цій групі пацієнток складає 51,4 % (42,3 % < D < 60,3 %) [1]. Механізм втрати або зниження експресії ER в міоепітеліальних клітинах невідомий, але, на наш погляд, може бути результатом декількох причин. По-перше, ці клітини можуть бути в стані активної проліферації. Попередні імуногістохімічні дослідження тканини молочної залози показали, що ні один з епітеліоцитів з експресією ER та експресією PR не проліферував, і ні одна з проліферуючих клітин не показала експресію або ER, або PR [5]. По-друге, ER ген в цих клітинах міг би бути інактивованим метилюванням в процесі прогресії пухлини. Також попередні дослідження показали, що прогресія пухлин грудей йде паралельно до прогресії гормональної незалежності [4, 6, 7]. По-третє, ці клітини могли б експресувати різні типи ER, включаючи варіанти β -ER. Недавнє дослідження показало, що α -ER і β -ER окремо локалізовані в субпопуляціях пухлин молочної залози і, як вважається, мають різні функції. І зрештою, ці пухлини могли виникнути з вихідної клітини шляхом клональної швидкої проліферації і не є достатньо зрілими, щоб експресувати ER білок. Дослідження продемонстрували, що стан експресії ER пов'язаний з віком або станом диференційованих клітин [2, 3].

Застосування імуногістохімічних методів дослідження тканини пухлинного вузла, накопичення та інтеграція даних щодо імунодетекції різноманітних компонентів, які складають пухлинний вузол, зокрема виявлення міоепітеліального диференціювання у тканинах, що складають новоутворення, дозволяє не тільки адекватніше визначити ступінь його злякисності і прогноз життя пацієнток, але й повніше розкрити біологічну сутність і морфогенез раку молочної залози.

ВИСНОВКИ 1. Імуногістохімічно міоепітеліальні карциноми характеризуються вираженою реактивністю витягнутих клітин для гладком'язового актину (SMA), CD10, p63 та цитокератину (AE1/AE3), помірною реактивністю до протеїну S-100 і дифузною реактивністю до віментину. 2. Значною морфологічною характеристикою міоепітеліальних карцином є відсутність в рецепторах міоепітеліоцитів експресії стероїдних (ER- и PR-) гормонів. 3. Низькодиференційовані злякисні новоутворення з міоепітеліальним (саркоматозним) диференціюванням демонструють агресивнішу біологічну поведінку, ніж пухлини аденоматозної будови молочної залози. 4. Застосування гормонотерапії при міоепітеліальних карциномах малоєфективне і прогноз несприятливий.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бондар Г.В., Сєдаков І.Є., Шлопов В.Г. Первинно-неоперабельний рак молочної залози. – Донецьк: Каштан, 2005. – 346 с.
2. Chen C.M., Martin L.A., Johnston S.R., Ali S., Dowsett M. Molecular changes associated with the acquisition of oestrogen hypersensitivity in MCF-7 breast cancer cells on long-term oestrogen deprivation // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2002. – Vol. 81. – P. 333-341.
3. Clarke R., Brunner N., Katzenellenbogen B.S. Progression of human breast cancer cells from hormone-dependent to hormone-independent growth both in vitro and in vivo // Proc. Natl. Acad. Sci USA. – 1989. – Vol. 86. – P. 3649-3653.
4. Murphy L.C. Mechanism of hormone independence in human breast cancer // In Vivo. – 1998. – Vol. 2. – P. 95-106.
5. Russo J., Ao X., Grill C., Russo I.H. Pattern of distribution of cells positive for estrogen receptor alpha and progesterone receptor in relation to proliferating cells in the mammary gland // Breast Cancer Res. Treat. – 1999. – Vol. 53. – P. 217-227.
6. Schmitt F.C. Multistep progression from an oestrogen-dependent growth towards an autonomous growth in breast carcinogenesis // Eur. J. Cancer. – 1995. – Vol. 31A. – P. 2049-2052.
7. Sheikh M.S., Garcia M., Pujol P., Fontana J.A., Rochefort H. Why are estrogen receptor negative breast cancers more aggressive than the estrogen receptor positive breast cancers? // Invasion Metastasis. – 1994-95. – Vol. 14. – P. 329-336.

Климчук Л.Ф., Кузів О.Є., Левандовська К.В.
ВПЛИВ ЕНДОТОКСЕМІЇ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НЕЙТРОФІЛЬНИХ
ГРАНУЛОЦИТІВ КРОВІ ОПІКОВИХ ХВОРИХ

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

ВПЛИВ ЕНДОТОКСЕМІЇ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ КРОВІ ОПІКОВИХ ХВОРИХ – Вивчено ультраструктуру нейтрофільних гранулоцитів крові донорів і хворих з опіковою травмою середнього і важкого ступенів. Встановлено прямий кореляційний зв'язок між рівнем ендотоксемії та зміною мембранної активності нейтрофільних гранулоцитів крові опікових хворих. У відповідності до наростання ендотоксемії збільшується кількість клітин з помірно вираженою активністю та гіперактивністю мембран за рахунок різкого зменшення клітин без морфологічних ознак активності їх цитолем.

ВЛИЯНИЕ ЭНДОТОКСЕМИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ ОЖОГОВЫХ БОЛЬНЫХ – Изучена ультраструктура нейтрофильных гранулоцитов крови доноров и больных с ожоговой травмой средней и тяжелой степеней. Установлена прямая корреляционная связь между уровнем эндотоксемии и изменением мембранной активности нейтрофильных гранулоцитов крови ожоговых больных. Увеличение эндотоксемии вызывало нарастание количества клеток с умеренно выраженной активностью и гиперактивностью мембран за счет резкого уменьшения количества клеток без морфологических признаков активности их цитолем.

ENDOTOXEMY INFLUENCE ON THE MORPHOFUNCTIONAL CONDITION OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES OF BURNED PATIENTS – The ultrastructure of neutrophilic granulocytes of donors and patients with severe and moderate burn trauma was studied. It was determined direct correlative connection between endotoxemia level and burned patients neutrophilic granulocytes membrane activity changes. Amount of cells with membrane moderate activity and hyperactivity increases due to the increase of endotoxemia according to sharp decrease of cells without morphologic signs of their plasmalemmas activity.

Ключові слова: опіки, нейтрофільні гранулоцити, ультраструктура, ендотоксемія.

Ключевые слова: ожоги, нейтрофильные гранулоциты, ультраструктура, эндотоксемия.

Key words: burns, neutrophilic granulocytes, ultrastructure, endotoxemia.

ВСТУП Система крові є однією найбільш важливих інтегральних систем організму, високочутливою до дії різних фізіологічних і патологічних впливів. Особливості адаптації організму до дії різних чинників необхідно вивчати з позиції системного підходу, а тому надзвичайної актуальності і ваги набувають дослідження з виявлення особливостей реагування нейтрофільних гранулоцитів крові, як системи по забезпеченню неспецифічної резистентності організму [1]. Існують різні погляди на їх функціональний стан в кровотоці [2], намагаються вивести залежність між морфологією та морфометричними показниками нейтрофільних гранулоцитів крові [3, 4], проте в доступній літературі мало уваги приділено впливу ендотоксемії на морфофункціональний стан цих клітин, як вагомої складової клітинної ланки природної резистентності.

Мета роботи: виявити залежність між структурно-функціональною характеристикою нейтрофільних гранулоцитів та рівнем ендотоксемії крові хворих з опіковою хворобою.