

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.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Робота ґрунтується на обстеженні 60 осіб віком від 20 до 50 років, серед них 39 чоловіків і 21 жінка. Першу групу склали 31 пацієнт із опіковою травмою середнього ступеня тяжкості – індекс тяжкості ураження (ІТУ) – 60 од. при наявності глибоких опіків IIIA-IIIБ ступенів до 15 %. Другу групу – 29 потерпілих з опіками тяжкого ступеня – ІТУ – 61-90 од. при наявності глибоких опіків IIIA-IIIБ та IV ступенів площею 20-35 %. Групою порівняння були 20 практично здорових осіб (первинні донори крові). Дослідження проведено на 4, 14 і 24 добу перебування хворих у стаціонарі.

Важкість ендогенної інтоксикації оцінювали за вмістом молекул середньої маси їх низько- і високомолекулярних фракцій шляхом прямої спектрофотометрії.

Лейкоцитарну плівку для електронно-мікроскопічних досліджень фіксували в 2,5 % розчині глутаральдегіду на фосфатному буфері з наступною дофіксацією у 1 % розчині чотириокису осмію, дегідрували в спиртах і ацетоні, контрастували ураніацетатом і заливали в епоксидні смоли. Із залитих в епонові смоли зразків виготовляли ультратонкі зрізи, які контрастували за Рейнольдсом і вивчали в електронному мікроскопі ЕМВ-100В.

Статистичну обробку отриманих даних проведено з використанням програми табличного процесора Microsoft Excel на мікропроцесорі Celeron-333.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ При електронно-мікроскопічному дослідженні крові донорів виділили нейтрофільні гранулоцити за ступенем активності мембран: неактивні, помірно активні та гіперактивні. У їхній крові домінували клітини без морфологічних ознак мембранної активності. Такі клітини мали округлу форму без цитоплазматичних виростів, добре контурова-

лись численні первинні і вторинні гранули з чіткими мембранами, значною кількістю зерен глікогену. Ядро мало, як правило, 3-4 сегменти, обмежених добре вираженою дво-контурною мембраною. При підрахунку на 100 нейтрофілів їх кількість складала 76,0±1,3 %.

До групи нейтрофільних гранулоцитів з помірно вираженою мембранною активністю віднесли клітини, які зберігали чіткість цитолемі з множинними короткими псевдоподіями або ті, які мали поодинокі або численні лобоподії. В добре збереженій цитоплазмі чітко контурувались мембрани гранул, які за своїм вмістом були різними: так матрикс одних із них був різко осміофільним, в інших – лише частково виповнював зерна і було серед них немало таких, які були цілком порожніми. В одних фагоцитах збережені гранули локалізувались у одному із полюсів клітини, а в інших – рівномірно по всій цитоплазмі. Частка таких нейтрофілів складала 20,0±1,7 %.

Нейтрофільні гранулоцити з гіперактивністю мембран втрачали округлу форму за рахунок нерівних контурів з численними лобоподіями та псевдоподіями. Цитоплазматичні та ядерні мембрани чіткі, численність гранул зменшена, більша частина із них дегранульована, їхні мембрани нечіткі, що супроводжується ділянками дезінтеграції цитоплазми. Зерен глікогену мало. Частка таких нейтрофільних граулоцитів складала 4,0±0,5 %. Такий розподіл нейтрофільних лейкоцитів у кровотоці відбувається за концентрацією середніх молекул (ум. од.) 0,438±0,015.

Проведеними дослідженнями встановлено підвищення токсичних властивостей сироватки крові у хворих з опіками середнього ступеня тяжкості. Так, на 4 добу після опікової травми рівень середньомолекулярних пептидів зріс на 41,3 % проти норми (табл. 1).

Таблиця 1. Концентрація молекул середньої маси в плазмі хворих з опіками середнього ступеня тяжкості (M±m)

Показник	Здорові особи	Період дослідження, доба		
		4	14	24
Середні молекули (ум. од.)	0,438±0,015	0,627±0,018*	0,600±0,009*	0,529±0,009*
Низькомолекулярна фракція середніх молекул (ум. од.)	0,435±0,012	0,514±0,006*	0,510±0,011*	0,482±0,008*
Високомолекулярна фракція середніх молекул (ум. од.)	0,0030±0,0002	0,113±0,001*	0,090±0,001*	0,047±0,004*

Примітка. * – P<0,05 проти показників здорових осіб.

У цей термін спостереження виявляли нейтрофільні гранулоцити без морфологічних ознак мембранної активності і їх кількість складала 30,0±2,1 %. Клітини з порушенням ультраструктури плазматичних, ядерних і органоїдних мембран були об'єктивним морфологічним відображенням наростання неспецифічної токсичності плазми крові опечених. Такі клітини мали цитоплазматичні вирости типу лобоподій – широкі округлі крилоподібні утвори, в межах яких вільно розміщувались органели клітини або без них. Контури лобоподій рівні. Гранули нейтрофільних гранулоцитів у лобоподіях розміщувались групами по периферії, більшість із яких дегранульована. Мембрани окремих гранул зливаються з мембранами фагосом. Клітин в стані помірно вираженої мембранної активності було 51,0±1,3 %, з гіперактивністю мембран їх було – 19,0±1,0 %.

На 14 добу після термічної травми токсичність плазми крові хворих була істотно вищою проти норми: концентрація середньомолекулярних пептидів була вищою в 1,47 раза; високомолекулярна фракція – вище проти норми у 30,0 разів, низькомолекулярна – в 1,2 раза (див. табл. 1). Аналіз ультраструктурних особливостей нейтрофільних лейкоцитів з урахуванням відомих морфологічних критеріїв показав, що у хворих переважали клітини з помірною (59,0±2,0 %) і підвищеною мембранною

активністю та незавершеним фагоцитозом, таких клітин було 12,0±1,1 %. Нейтрофільних гранулоцитів без морфологічних ознак мембранної активності було лише 29,0±1,5 %.

Про виражену токсичність плазми крові на 24 добу після опікової травми свідчать субмікроскопічні зміни нейтрофільних гранулоцитів. 49,0±1,0 % клітин має електронно-мікроскопічні ознаки помірно підвищеної мембранної активності. Має місце виражена дегрануляція, дестабілізація плазматичних, ядерних та органоїдних мембран. Спостерігається вихід вмісту гранул в цитоплазму, що приводило до дрібноосередкового лізису, хоч вони були меншими за об'ємом, порівняно із стадією токсемії. В нейтрофільних гранулоцитах з гіперактивністю мембран (11,0±0,3 %) у цитоплазмі появляються вакуолі, іноді досить великих розмірів. Пошкодження мембран гранул, що супроводжується виходом їхнього вмісту у навколишню цитоплазму з вогнищевим лізисом і утворенням великих фагосом, є одним із механізмів розвитку функціональної неповноцінності нейтрофільних гранулоцитів. Нейтрофільних гранулоцитів крові без морфологічних ознак мембранної активності було 40,0±1,3 %.

У тяжкоопечених токсичність плазми крові на 4 добу спостереження була високою і рівень середніх молекул збільшувався на 68,0 % проти норми (табл. 2).

Таблиця 2. Концентрація молекул середньої маси в плазмі хворих з опіками тяжкого ступеня (M±m)

Показник	Здорові особи	Період дослідження, доба		
		4	14	24
Середні молекули, ум. од.	0,438±0,015	0,736±0,011*	0,661±0,007*	0,619±0,003*
Низькомолекулярна фракція середніх молекул, ум. од.	0,435±0,012	0,611±0,010*	0,561±0,005*	0,558±0,001*
Високомолекулярна фракція середніх молекул, ум. од.	0,0030±0,0002	0,125±0,001*	0,110±0,004*	0,061±0,005*

Примітка. * - P<0,05 проти показників здорових осіб.

Проведені електронно-мікроскопічні дослідження показали, що в тяжкоопечених на 4 добу після травми у крові нейтрофілів без морфологічних ознак мембранної активності було лише 10,0±2,0 %, з ознаками помірної мембранної активності – 63,0±1,2 %, із гіперактивністю мембран – 27,0±2,2 %.

На 14 добу після тяжкої термічної травми в крові хворих спостерігалось деяке зменшення токсичності плазми крові (див. табл. 2). У цей термін спостереження встановлено різке зниження клітин без ознак мембранної активності до 17,0±2,1 %, нейтрофільних гранулоцитів із помірно вираженою активністю було 60,0±2,5 %. Вміст клітин з гіперактивністю мембран зростав і складав 23,0±1,0 %. Гіперактивність мембран нейтрофільних гранулоцитів поєднувалась із вираженою дегрануляцією цитоплазми і дестабілізацією мембран, що приводило до виникнення дезінтеграції та локального аутолізу їх цитоплазми.

На 24 добу після тяжкої опікової травми в крові потерпілих мала місце тенденція до зниження токсичності плазми крові (див. табл. 2). При вивченні зрізів в електронному мікроскопі вміст нейтрофільних гранулоцитів без морфологічних ознак мембранної активності зріс до 20,0±1,0 %, клітин помірно активних було 60,0±3,1 % та з гіперактивністю мембран складала 20,0±1,8 %. Гіперактивність мембран призводила до виснаження мембраносинтетичних ресурсів, деструкції мембран та руйнування власних ультраструктур нейтрофільних гранулоцитів, що викликає функціональну недостатність цих клітин.

ВИСНОВКИ 1. Нейтрофільних гранулоцитів у крові донорів без морфологічних ознак мембранної активності було

76,2±1,3%, з помірно вираженою активністю мембран – 20,0±1,7 %, з гіперактивністю мембран – 4,0±0,5 %, що вказує на виконання останніми функції фагоцитозу уже в кровотоці здорових осіб. 2. Виявлено прямий кореляційний зв'язок між рівнем ендотоксемії та часткою нейтрофільних гранулоцитів з ознаками мембранної активності. Пропорційно до наростання ендотоксемії збільшується кількість клітин з помірно вираженою активністю до 51,0 % та з гіперактивністю мембран до 19 % при опіковій травмі середнього ступеня тяжкості, відповідно до 63,0 % і 27,0 % за опікової травми тяжкого ступеня, за рахунок різкого зменшення клітин без морфологічних ознак активності цитолем.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку Наступні дослідження будуть спрямовані на розробку ефективних методів корекції структурних змін нейтрофільних гранулоцитів крові, обумовлених ендотоксемією.

ЛІТЕРАТУРА

- Лысов П.К., Петрухин В.Г. Цитохимические показатели лимфоцитов крови в оценке и прогнозе функциональной активности спортсмена // Морфология. – 2000. – Т. 117, №4. – С. 70-80.
- Сапрыкин В.П., Кузнецов С.Л. Морфологические варианты нейтрофильных гранулоцитов крови практически здоровых людей // Морфология. – 2001. – Т. 120, №6. – С. 37-41.
- Гомоляко І.В., Тумасова К.П. Ультраструктурна та морфометрична характеристика нейтрофільних гранулоцитів крові // Цитология и генетика. – 2001. – Т.35, №5. – С. 44-48.
- Матюшичев В.Б., Шамралова В.Г., Музафарова Д.А. Зависимость размера лейкоцитов от их относительного содержания в крови человека / / Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2001. - №9. – С. 1178-1183.

Гончарук С.Ф., Павлова О.С., Насібулін Б.А., Бахолдина О.І., Касьяненко Г.В. МОРФОЛОГІЧНИЙ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ТИМУСА ЩУРІВ В УМОВАХ БЕНЗОЛОВОЇ МОДЕЛІ ІМУНОДЕФІЦИТУ

Український НДІ медичної реабілітації та курортології, Одеський державний медичний університет

МОРФОЛОГІЧНИЙ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ТИМУСА ЩУРІВ В УМОВАХ БЕНЗОЛОВОЇ МОДЕЛІ ІМУНОДЕФІЦИТУ – Морфологічний та функціональний стан тимуса щурів в умовах бензолової моделі імунодефіциту. В експериментальних дослідженнях на 58 білих щурах лінії Вістар встановлено, що модель імунодефіциту (повторні ін'єкції бензолу) призводить до суттєвого пригнічення функційної активності тимуса (істотне зниження щільності клітинних елементів в кірковому шарі, активація процесів склерозування, зменшення вмісту всіх субпопуляцій тимоцитів, дисбаланс активності ферментів обміну аденозину). Результати досліджень можуть бути використані для експериментального вивчення імуномодельюючої дії лікарських препаратів та лікувальних фізичних чинників.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТИМУСА КРЫС В УСЛОВИЯХ БЕНЗОЛОВОЙ МОДЕЛИ ИММУНОДЕФИЦИТА – В экспериментальных исследованиях на 58 белых крысах линии Вистар установлено, что модель иммунодефицита (повторные инъекции бензола) приводит к существенному угнетению функциональной активности тимуса (значительное снижение плотности клеточных элементов в корковом слое, активация процессов склерозирования, уменьшение содержания всех популяций тимоцитов, дисбаланс ферментов аденозинового

обмена). Результаты исследований могут быть использованы для экспериментального изучения иммуномоделирующего действия лекарственных препаратов и лечебных физических факторов.

MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL STATE OF RATS THYMUS IN THE CONDITIONS OF BENZOL MODEL OF IMMUNODEFICIT – In experimental researches on 58 white rats of Wistar line was revealed, that the model of immunodeficit (repeated injections of benzol) leads to substantial oppressing of functional activity of thymus (marked decreasing of density of cell elements in cortex layer, activation of sclerosis processes, diminishing of maintenance of all thymocytes subpopulations, disbalance of adenosine exchange enzymes). Results of researches can be used for experimental study of immunomodulating action of medicinal preparations and medical physical factors.

Ключові слова: модель імунодефіциту, бензол, білі щурі лінії Вістар, тимус.

Ключевые слова: модель иммунодефицита, бензол, белые крысы линии Вистар, тимус.

Key words: model of immunodeficiency, benzol, white rats of Wistar line, thymus.