

Summary

RESEARCH OF HYDROGEN SULFIDE AND SULFUR-CONTAINING AMINO ACIDS IN REGULATION OF RENAL ARTERIES TONE AND FILTRATION

Melnik A.V.

Key words: homocysteine, cysteine, hydrogen sulfide, kidney, filtration, renal arteries.

Filtration processes in kidneys of rats under administration of homocysteine thiolactone (HcT) (200 mg/kg), L- cysteine (250 mg/kg) and the hydrogen sulfide donor $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (12 mg/kg), have been investigated as well as the effect of these compounds in a range of concentration 10^{-6} - 10^{-2} M on the regulation of the isolated renal arteries tone. It has been established, that HcT administration is accompanied by reduction of glomerular filtration, while the administration of cysteine and $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$, on the contrary, causes the increase in the filtration function of kidneys. In researches in vitro it has been revealed the hydrogen sulfide donor and cysteine in concentrations of 10^{-6} - 10^{-2} M causes dose-dependent vasodilation of renal arteries previously reduced by phenylephrine. Unlike it, HcT in a range of concentrations 10^{-4} - 10^{-2} M reduces endothelium sensitivity to vasodilatory action of acetylcholine.

УДК: 618.19-006-071

КРИБРОЗНА ФОРМА ВНУТРІШНЬОПРОТОКОВОГО РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ У ЗІВСТАВЛЕННІ З ЇЇ ОНТОГЕНЕЗОМ

Ніколенко Д.Є.

Вищий державний навчальний заклад України "Українська медична стоматологічна академія", м. Полтава

За результатами проведених комплексних морфологічних та морфометричних (каріометрія) досліджень внутрішньопроктового раку молочної залози, її криброзного варіанту, встановлено, що діагностичними іммуногістохімічними маркерами є р63 та α -sma. За вказаними ознаками даний тип росту раку корелює з етапами онтогенезу молочної залози та являє собою відображення катаплазії.

Ключові слова: онтогенез, молочна залоза, внутрішньопроктовий рак, криброзна форма.

Проблема діагностики раку молочної залози (РМЗ) у жінок в останнє десятиріччя набула особливої актуальності у зв'язку із щорічним приростом захворювання у більшості країн світу, а також в Україні і в Полтавському регіоні [5,6,14,15,18].

Провідну роль в діагностиці РМЗ і виборі методу лікування відіграє лікар-патологоанатом, однак суттєвою проблемою для нього є певні труднощі в патоморфологічній диференційній діагностиці між внутрішньопроктовим проліферативним фіброаденоматозом і внутрішньопроктовим раком молочної залози (ВПРМЗ) [1,3,4,7,11,14].

На теперішній час із морфологічного дослідження ВПРМЗ – криброзного варіанту росту відомо, що він має синонім циліндрома, аденоїдно-кістозний рак. При цьому, вважається характерною гістологічною будовою цього варіанту раку утворення в канцеризованій протоці залози структур, подібних до солідних, але з наявністю вторинних отворів, з чіткими контурами, що утворюються при загибелі частини клітин, або в результаті секреції в товщу епітеліального пласта [2,4,5,11,16,19]. Проте залишається недостатньо вирішеним питання визначення ступеню катаплазії атипичних паренхіматозних елементів ВПРМЗ у порівнянні з проліферативним доброякісним процесом гормонального ґенезу в протоковій частині молочної залози.

Мета дослідження: з'ясувати гістохімічні, ка-

ріометричні та іммуногістохімічні особливості криброзного варіанту неінвазивного внутрішньопроктового РМЗ у порівнянні із зародком молочної залози в онтогенезі.

Матеріали і методи дослідження

Вивченню підлягали 12 випадків захворювань на ВПРМЗ (36 шматочків пухлини) із верифікованим патогістологічно криброзним типом раку (операційний та біопсійний матеріал Полтавського обласного патологоанатомічного бюро). Парафінові гістологічні зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином, за ван-Гізон + Харт, гістохімічним комбінованим барвником – Бергман+ШИК-реакція+альціановий синій [8]. Матеріал раннього ембріогенезу МЗ і її гермінативної зони в постнатальнім періоді, описаний нами раніше [8,9,10].

Іммуногістохімічне дослідження проведено в сертифікованій іммуногістохімічній лабораторії патологоанатомічного бюро (м. Дніпропетровськ). При цьому шматочки тканини пухлини фіксували 10% забуференим формаліном впродовж 22 годин, виконували прискорене зневоднення у спиртах висхідної концентрації, заливали в парафін при $t + 58^\circ\text{C}$ і виготовляли зрізи товщиною 5 мкм. Іммуногістохімічні реакції проводили з використанням моноклональних антитіл: р63 (клон 4A4, DakoCytomation), онкопротеїну р53 (клон DO-7, DakoCytomation), α -sma (DakoCytomation) [12].

Фотозйомка мікропрепаратів проводилась цифровою фотокамерою мікроскопу «Olympus».

Результати дослідження та їх обговорення

Гістологічно, при забарвленні гематоксиліном та еозином тканини кріброзного варіанту ВПРМЗ, виявлена атипова клітинна популяція, що заповнює просвіт канцеризованої протоки. При цьому клітинні елементи останньої, поряд з безладним тангенціальним розташуванням, мали і більш упорядковане - радіальне скупчення клітин, що утворюють чіткі округлі вторинні просвіти (кріброзні структури) в протоці.

Морфологічною ознакою клітин, що мали тангенціальне розташування в канцеризованій протоці, було частіше велике ядро із звивистою каріолею. Воно містить переважно світло забарвлений еухроматин, який подекуди набуває крупно-брильчастого характеру, а також одне або декілька гіпертрофованих ядерців. Ядро оточене широким обідком цитоплазми з еозинофільною зернистістю. Тобто визначається клітинний і ядерний атипизм. Виявлені клітини елементи мали також ознаки функційної активності, що не залежали від зв'язку із базальною мембраною протоки.

Базальні відділи канцеризованої протоки при забарвленні за ван-Гізон та за способом Харта мали червонуватий колір потовщених колагенових волокон та переривчастий характер еластичних волокон, забарвлених у коричневий колір. Навколо останньої виявлені фіброласти видоуженої форми з овальним ядром жовто-зеленого кольору [8].

Підтвердженням поліморфізму атипових клітин протоки стало каріометричне обчислення ядер з визначенням десятинного логарифму об'єму за формулою для обертаючого овоїда за Хеснім [17], при цьому виявлено 4 модальних ядерних класи з LgV 1,05; 1,2; 1,45; 0,75.

Морфологічними особливостями наступних клітин, що розташовані радіально до дрібних просвітів в пухлині, була їх витягнута форма, подекуди тісне розташування одна до одної. Ядра даних клітин зміщені до протилежного краю цитоплазми відносно її апікальної частини. Цитоплазма, при комбінованому забарвленні Бергман+ШИК+альціановий синій, містить ШИК-та альціан-позитивні включення. Останні визначались на апікальній поверхні клітин та входили до складу секрету у кріброзних ділянках. Крім того, виявлені прилеглі до кріброзних структур клітини з темнотемним ядром та вузьким обідком цитоплазми. Каріометрично виявлені ядерні класи були наступними: з LgV 0,75 та 1,05.

Разом із тим, комбіноване гістохімічне забарвлення виявило навколо кріброзних структур клітини вуглуватої форми з темним ядром, вузьким обідком цитоплазми з ШИК-позитивною речовиною. Каріометрично, модальний ядерний клас даних клітин складав LgV 0,65.

Зіставлення паренхіматозних елементів кріброзного варіанту ВПРМЗ за каріометричними та гістохімічними ознаками з дослідженою нами раніше протоковою системою молочної залози у спокої [10] виявило ідентичний модальний ядерний клас з LgV 0,75, який був ідентифікований, як епітелій резервного типу. Даний ядерний клас епітелію був присутнім і в ростковій зоні молочної залози, описаний нами раніше як генеративна зона, що локалізується в дистальних відділах термінальних молочних ходів. Ідентичний ядерний клас епітелію за морфологічними ознаками визначений нами і в зародку молочної залози – молочної точці грудного відділу тулуба ембріона раннього гестаційного віку та в перидермальному епітелії [9].

Найбільш поширений ядерний клас епітелію кріброзного варіанту ВПРМЗ з LgV 1,05 був присутнім в генеративній зоні молочної залози у спокої та мав велику частку відносно максимального ядерного класу серед клітинної популяції зародку залози – молочної точці та епітелії перидерми.

Ядерний клас з LgV 1,2 в кріброзному типі ВПРМЗ мав теж значний відсоток від максимального класу. Проте він був відсутній в протоковій частині паренхіми молочної залози у спокої [10], займав домінуючу частину у зародку залози – молочної точці.

Разом з тим останній виявлений ядерний клас з LgV 1,4 при кріброзній формі ВПРМЗ не мав аналогів ані в паренхіматозних структурах молочної залози у спокої, ані в її зачатку.

Для верифікації морфологічної будови кріброзних структур ВПРМЗ нами використаний сучасний метод морфологічного дослідження з застосуванням імунних сироваток до внутрішньоклітинних білків [12].

Встановлено, що пухлинні клітини в канцеризованій протоці мають негативну експресію на p-53. Хоча в поодиноких ракових клітинах, які знаходяться на стадії предмітозу, спостерігається слабка експресія, що свідчить про його мутантну форму.

Проведене дослідження клітинної популяції кріброзного варіанту ВПРМЗ з використанням моноклональної сироватки до білка p63, відомого з даних літератури як маркера стовбурових клітин в ембріогенезі та малодиференційованих клітин в дорослому організмі [12], виявило виражену (+++) внутрішньоядерну експресію даного маркера не лише в базально-розташованих клітинах периферійних відділів канцеризованої протоки, що виявило також і переривчастий характер їх будови, а й в центральних відділах протоки - біля базальних відділів клітин, що оточували кріброзні отвори (рис.1). Ядра даних клітин мали здебільш поліморфну форму. За каріометричними показниками належали до модального ядерного класу з LgV 0,75, визначеного нами раніше, як резервний епітелій. Інші клітини, що утворювали кріброзні структури та со-

лідні поля, мали негативну експресію рb3. Тобто, незважаючи на ознаки тканинного атипізму, клітинного та ядерного поліморфізму, ракова пухлина мала деякі ознаки диференціації, на що вказувала апокринова секреція у просвіт криброзних структур.

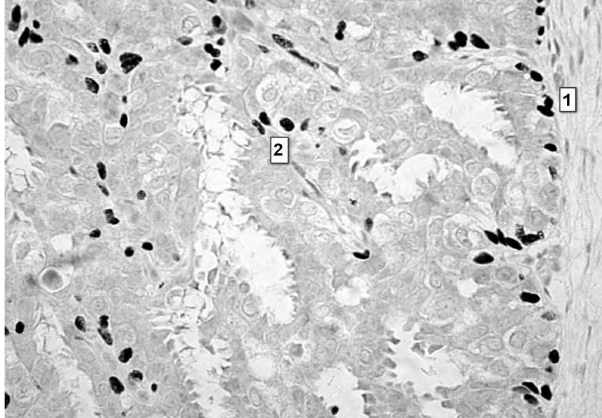


Рис. 1 Внутрішньоядерна експресія рb3 в паренхімі криброзних структур канцеризованої протоки молочної залози.

1. Експресія маркера в атипичних клітинах базальних відділів протоки.
2. Експресія маркера навколо криброзних структур. ІГХ 3б. х 400

При дослідженні реакції епітелію криброзного варіанту ВПРМЗ з моноклональною сироваткою до гладко-м'язового актину – α -sma, виявлена виражена (++++) його внутрішньоцитоплазматична експресія як в епітелії, розташованому на базальній мембрані канцеризованої протоки, так і серед епітелію навколо криброзних структур (рис.2), котрий за даними літератури має назву міоепітелій.

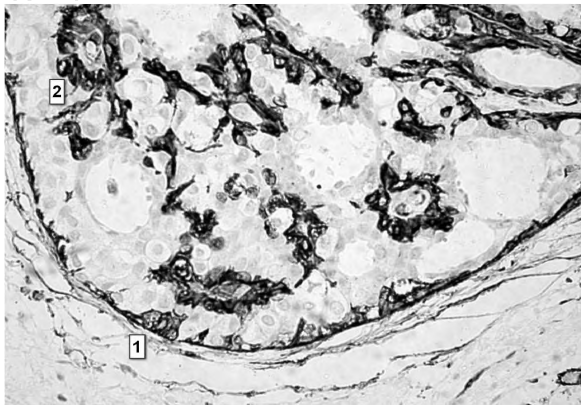


Рис. 2 Цитоплазматична експресія α -sma в клітинах криброзних структур внутрішньопротокового раку молочної залози.

1. Експресія маркера клітинами базальних відділів протоки.
2. Експресія маркера чисельними клітинами навколо криброзних структур. ІГХ метод 3б. х 400

Таким чином, на підставі проведеного гістологічного та кариометричного дослідження паренхіматозних елементів криброзного варіанту ВПРМЗ з іммуногістохімічною верифікацією мо-

жна зробити наступні висновки:

1. Морфологічно та гістохімічно криброзний варіант росту внутрішньопротокового раку молочної залози нагадує клітинні елементи зародка молочної залози в її ранньому онтогенезі та гермінативну зону залози у спокої, що свідчить про процес катаплазії.
2. Іммуногістохімічні маркери ступеню катаплазії пухлинних клітин – рb3 та α -sma дозволяють диференціювати ВПРМЗ.

Література

1. Автандилов Г.Г. Патогистохимическая диагностика предопухолевих процессов и опухолей молочной железы / Г.Г. Автандилов, Ю.А. Перов, С.Г. Григорьева [та ін.] // Арх.патологии. - 2001. - №2. - С.26-30.
2. Волченко Н.Н. Внутрипротоковый рак молочной железы / Н.Н. Волченко// Арх.патол. - 2000. - №2. - С.22-26.
3. Головин Д.И. Ошибки и трудности гистологической диагностики опухолей: руководство для врачей /Д.И. Головин. - Л. : Медицина, 1982. - С.182-200.
4. Єрмилова В.Д. Опухоли и опухолеподобные процессы молочных желез // Патологоанатомическая диагностика опухолей человека: Рук-во в 2 томах / Под ред. Н.А. Краевского, А.В. Смольяникова, Д.С. Саркисова. - 4-е изд., перераб. и доп. -Т.2. - М. : Медицина, 1993.-С.162-197.
5. Захарцева М.М. Современные аспекты диагностики рака молочной железы. Прогностическое значение гистологических вариантов //Л.М. Захарцева, М.В. Дятел, К.А. Пекур // Патологоанатомічна діагностика хвороб людини: здобутки, проблеми, перспективи: Всеукраїнська науково-практична конференція, присв.100-річчю з дня народження професора Н.М. Шінкаренка : мат. конф. - Чернівці, 2007.-С.96-101.
6. Зотов А.С. Мастопатія і рак молочної залози / А.С. Зотов, Е.О. Белих. - М. : Медпресс-информ, 2005. - 111 с.
7. Казанцева И.А. Болезни молочных желез // Патология: руководство / Под ред. М.А. Пальцева, В.С. Паукова, Э.Т. Улумбекова.- М. : ГЭОТАР - Мед., 2002.-С.520-528.
8. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. - М. : Мир, 1969. - С.645.
9. Ніколенко Д.Є. Зародок молочної залози, як прототип її гермінативної зони у жінки репродуктивного віку / Д.Є. Ніколенко // Світ медицини та біології – 2008. Ч.ІІ.-№2.-С.78-82.
10. Ніколенко Д.Є. Морфологія молочної залози жінки репродуктивного віку / Д.Є. Ніколенко // Актуальні проблеми сучасної медицини. - 2007. - Т.7, Вип. 4 (20). - С.275-278.
11. Пальцев М.А. Атлас патологии опухолей человека / М.А. Пальцев, Н.М.Аничков. - М. : ОАО Изд-во Медицина, 2005. - С.266-284.
12. Петров С.В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С.В. Петров , Н.Т. Райхлин. - Казань, 2000. - 288 с.
13. Романюк А.М. математичне моделювання діагностичного процесу пухлинних захворювань молочної залози [А.М. Романюк, А.С. Довбиш, Л.І. Карпенко, та інш.] // Світ медицини та біології.-2008.-№2, Ч.І.-С.56-57.
14. Романюк А.М. Морфологічні та епідеміологічні особливості раку молочної залози у Сумській об-

- ласті / А.М. Романюк, В.І. Конанихін, В.В. Андрущенко [та інш.] // Вісник СумДУ.-2004.-№2.
15. Тарутинов В.И. Молочная железа: рак и предраковые заболевания / В.И. Тарутинов. – К : Полиграфист, 2006. - 415с.
16. Филатов А.В. Определение степени злокачественности рака молочной железы / А.В. Филатов // Арх. патологии. - 2009. - №1. - С.53-56.
17. Хесин Я.Е. Размеры ядер и функциональное состояние клетки. / Я.Е. Хесин. -М. : Медицина, 1967. - С.10-12.
18. Crum C.P., Lester S.C., Cotran R.S. The Female Genital System and Breast. // Robbins Basic Pathology /Eds V.Kumar, R.S. Cotran, S.L. Robbins.- Philadelphia, L., Toronto, Montreal, Sydney, Tokio : Saunders.- 2003.- P.679-718.
19. Tumor of the Breast and female genital organs. World Health Organization Classification of Tumors / edit. By F.A. Tavassoli, P. Devi Lee, Lyon : JARC Press, 2003.- P.432.

Реферат

КРИБРОЗНАЯ ФОРМА ВНУТРИПРОТОВОКОВОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В СОПОСТАВЛЕНИИ С ЕЕ ОНТОГЕНЕЗОМ.

Николенко Д.Е.

Ключевые слова: онтогенез, молочная железа, внутрипротоковый рак, криврозная форма.

Результаты проведенных комплексных морфологических и морфометрических (кариометрия) исследований внутрипротокового рака молочной железы – криврозного варианта роста – свидетельствуют о том, что диагностически значимыми иммуногистохимическими маркерами являются p63 и α -sma. Морфологически и иммуногистохимически данный тип роста коррелирует с этапами онтогенеза молочной железы, являясь отражением катаплазии.

Summary

CRIBRIFORM INTRADUCTAL BREAST CANCER IN COMPARISON WITH ITS ONTOGENESIS

Nikolenko D.Ye.

Key words: ontogenesis, mammary glands, intraductal cribriform cancer.

The results of complex morphological and morphometric (karyometry) investigations of intraductal cribriform breast cancer demonstrate the diagnostically significant immunohistochemical markers are p63 and α -sma. According to morphological and immunohistochemical findings this type correlates with the stages of the mammary gland ontogenesis reflecting the processes of cataplasia.

УДК: 616-092:616.831-001«756»

ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ПАТОГЕНЕЗІ ПОВТОРНОЇ ЛЕГКОЇ ЧМТ

Носов А.Т., Каджая М.В.

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад..А.П.Ромоданова АМНУ», Київ

У експерименті на 90 білих щурах вивчені патоморфологічні зміни при повторній легкій ЧМТ. Виявлено, що повторна ЧМТ характеризується стійкими патоморфологічними змінами у вигляді збільшення дегенеративно змінених нейронів, зменшення співвідношення «нейрон-глія», зменшення площі активних мітохондрій, зменшення хроматину в каріоплазмі. Причиною змін, що виникають, є дифузне аксональне ушкодження в найгострішому періоді травми мозку, а у подальшому – порушення мікроциркуляції. Найбільш стійкі зміни відмічені в гіпокампальній ділянці та гіпоталамусі на боці нанесення травми.

Ключові слова: повторна легка черепно-мозкова травма, морфометрія, патогенез.

За даними ВОЗ кількість хворих із гострою ЧМТ збільшується в середньому на 2% щорік.

Серед всіх хворих з ЧМТ постраждали із повторною травмою мозку складають до 20% і повторна травма мозку значно відрізняється від первинної по своїй клінічній течії, що формує складніший посттравматичний дефект, основне ядро якого складають когнітивні, психоорганічні і вегетативні порушення [1].

Тому, важливе значення має визначення патоморфологічних змін, що полягають в основі патогенезу повторної ЛЧМТ.

Висувається гіпотеза, що повторна легка травма мозку внаслідок ефекту кумулятивного ушкодження зрештою може привести до когнітивних порушень внаслідок ушкодження гіпокаму

[2]. Показано, що у щурів із повторною травмою на відміну від щурів з однією травмою мозку через 7 днів наголошувалося значне зменшення нейронів, особливо в гіпокампальній зоні Ca1 і посттравматичні наслідки можуть відрізнятися між поодинокую і повторними ЧМТ [3, 4].

Однак, приведені літературні дані лише частково віддзеркалюють патоморфологічні зміни при повторній ЧМТ, що слугувало причиною проведення дослідження.

Мета дослідження. Вивчити ультраструктурні зміни в динаміці перебігу повторної легкої ЧМТ, що визначають функції ЦНС: компенсаторність (співвідношення нейрон/глія), метаболізм і енергетичне забезпечення (мітохондрій), активність нейронів, стан ядра і, побічно, можливості апоп-