Summary

POPULATION AND GENETIC PECULIARITIES OF TASTE SENSITIVITY TO PHENYLTHIOCARBAMIDE
Miatchina O.V., Skyba O.S., Velytchko L.G.

Key words: phenylthiocarbamide, different ethnic people groups, races.

Population and genetic peculiarities of taste sensitivity to phenylthiocarbamide (PTC) were examined in different ethnic groups and races. The distribution of taste sensitivity to PTC concentration has been studied on 339 healthy persons. Among them 69 are from Iraq and Syria, 71 – from India, 65 – from Kenya, 25 – from Dagestan and 109 – from Central Russia. It has been found out there are differences between the threshold of taste sensitivity peaks and threshold to PTC taste. Hindu is stated to have statistically valid low threshold of PTC taste in comparison with other groups.

УДК 618.19-006-071

Ніколенко Д.Є.

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ НЕІНВАЗИВНОЇ СОЛІДНОЇ ФОРМИ ВНУТРІШНЬОПРОТОКОВОГО РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» м. Полтава, Україна

Наведені результати імуногістохімічних досліджень солідної форми росту внутрішньопротокового раку молочної залози у жінок за допомогою групи онкомаркерів. Знайдено при співставленні з гістохімічною характеристикою атипової клітинної популяції, що онкомаркери p63, bcl-2, α-sma та VEGF мають різний рівень експресії, який залежить від ступеня диференціювання елементів пухлини. Виявлені клітинні елементи канцеризованої протоки молочної залози, котрі стримують інвазію ракової пухлини, що відкриває перспективи її медичного керування.

Ключові слова: молочна залоза, внутришньопротоковий рак, солідна форма росту, імуногістохімічний метод.

Внутрішньопротоковий рак молочної залози (ВПРМЗ), складає до 8% від усіх раків даної локалізації, характеризується різноманітністю морфологічних варіантів росту та мультіцентризмом [2,3,7]. Прогресії пухлини сприяє проліферативна активність останньої, що досліджується за допомогою деяких маркерів клітинної проліферації (Кі-67) [4] та кількістю фігур мітозів [3].

Серед гістологічних варіантів росту неінвазивної форми ВПРМЗ найбільш малігнізованими є такі, що мають низький ступінь диференціювання, до якого відноситься гістологічий солідний варіант [8]. В ході пухлиної трансформації клітини останнього набувають нових антигенних властивостей. Для ідентифікації таких властивостей пухлин існує сучасне імуногістохімічне дослідження [4,6,10] із застосуванням сироваток до пухлиних антигенів - імуногістохімічні маркери (bcl-2, p63,VEGF, p53 та інш.) [1,5,9,11,12].

Проте, імуногістохімічна характеристика солідного варіанту ВПРМЗ як неінвазивного, так і інвазивного типів, потребує подальшої розробки та аналізу.

Вивчення імуногістохімічніх особливостей солідного варіанту ВПРМЗ дозволить, на нашу думку, з'ясувати деякі біологічні особливості морфогенезу ВПРМЗ. В свою чергу, виявлені іммуногістохімічні особливості можливо будуть враховані при виборі адекватного лікування і зорієнтують лікаря на прогноз ВПРМЗ.

Мета дослідження: з'ясувати імуногістохімічні особливості найменш вивченого аспекту дії онкогенів і пухлинних супресорів, а також особливості васкулогенезу при неінвазивному солідному ВПРМЗ.

Матеріали та методи дослідження

Вивченню підлягали 6 випадків захворювань на ВПРМЗ із верифікованим солідним типом раку у жінок фертильного віку (операційний та біопсійний матеріал Полтавського обласного патологоанатомічного бюро).

Імуногістохімічні реакції проводились нами в сертифікованій імуногістохімічній лабораторії (зав.кафедри проф. І.С.Шпонька, м. Дніпропетровськ) з використанням моноклональних антитіл: VEGF (клон VGI, DacoCytomation), p63 (клон JAY, DacoCytomation), онкопротеіну bcl-2 (клон 124, DacoCytomation). Дофарбування ядер клітин виконували гематоксиліном Майера.

Вивчення імуногістохімічних мікропрепаратів проводилось за допомогою світлового мікроскопу фірми "Olimpus". Фотозйомка мікропрепаратів проводилась цифровою фотокамерою, поєднаною з мікроскопом фірми "Olimpus" "C 3040-A DUP" з використанням спеціальної програми "Олимпус ДП Софт».

Результати та їх обговорення

За результатами попереднього дослідження, з використанням гістологічного, гістохімічного та каріометричного аналізу був виявлений гістологічний поліморфізм та з'ясований гістохімічний атипізм у вигляді глікоген,- та жировмісних клітин у складі атипової популяції солідного варіанту неінвазивного внутрішньопротокового раку молочної залози. Останній нагадує гістохімічні ознаки ембріонального періоду розвитку молочної залози, та має низький ступінь диференціації [7].

При даному дослідженні верифікація за анти-

генними властивостями клітинного складу солідного варіанту ВПРМЗ була наступною. Експресія маркеру малодиференційованого стану клітин p63 має виражений та помірний ступінь в ядрах епітелію, що розташований в парабазальних відділах канцеризованої протоки (Мал.1).

Інша популяція клітин, що виповнює всередині канцеризовані протоки і утворює солідні структури ВПРМЗ, не має ознак ядерної експресії маркеру p63, що, на нашу думку і за даними літератури, свідчить про вихід даних клітин з недиференційованого стану та з-під впливу, регулюючого апоптоз, протеїну p63.

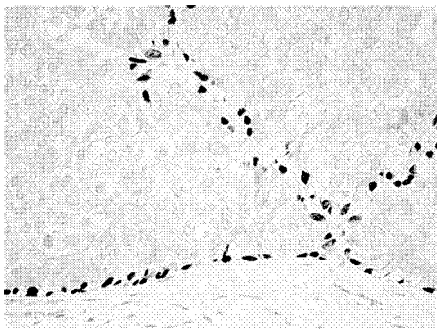
Візуалізація експресії маркеру bcl-2 в частині парабазальнорозташованих клітин з ознаками апоптотозу (зморшкувате ядро, або залишки його у вигляді глибок базофільного кольору), виявила дифузне внутрішньоцитоплазматичне коричньове забарвлення некробіотичних змін у внутрішньопротоковій атиповій популяції епітелію.

Разом з тим відмічається і локальна посилена експресія bcl-2 атиповими клітинами здебільш перинуклеарної локалізації. Вочевидь, останнє відповідає напруженому синтезу антиапоптотичних протеїнів в ділянках локалізації мітохондрій, тобто блокуванню атиповими клітинами альтеративного впливу апоптозу. Дана характеристика експресування маркеру притаманна атиповим клітинам з великими світлими ядрами, що містять одне або два ядерця та оточені звивистим контуром каріолеми серед добре розвиненої цитоплазми, що багата на глікоген.

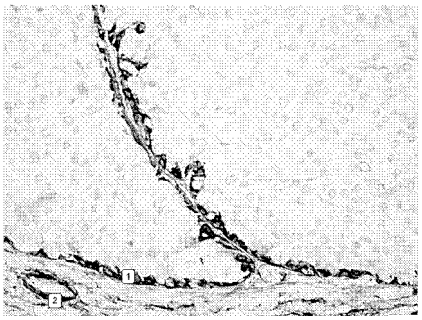
На нашу думку, дана різноманітність експресії маркеру bcl-2 та його локалізації відповідає ступеню напруженості синтезу антиапоптотичних протеїнів та стадійності відповіді атипових клітин на сигнали ініціації апоптозу, що, вочевидь, залежить від ступеню пошкодження хромосомного апарату.

Як наслідок зникнення контролюючого впливу p63 та посиленої експресії bcl-2 при солідному варіанті внутрішньопротокового раку молочної залози, утворюється популяція глікоген, - та ліпідовмісних клітин.

Імуногістохімічне досліженя гладком'язового актину (α-sma) виявляє наявність останнього в цитоплазмі клітин, розташованих в сполучнотканинному комплексі навколо популяції атипових клітин канцеризованої протоки МЗ. При цьому спостерігається різний ступінь насиченості гладком'язового актину в цитоплазмі, що, за даними літератури, демонструє скорочувальну функцію останнього (Мал.2).



Мал.1 Виражена експресія маркеру p63 в парабазальних відділах солідної ракової популяції в канцеризованій протоці молочної залози. ІГХ метод, додаткове забарвлення гематоксиліном Майєра. Зб. х400



Мал.2 Експресія α-sma сполучнотканинному комплексі (1) навколо солідної популяції ВПРМЗ, та судинах оточуючої строми молочної залози (2). ІГХ метод, додаткове забарвлення гематоксиліном Майєра. Зб. х400

Разом із тим, в окремих ділянках стінки канцеризованої протоки молочної залози спостерігається і слабка експресія маркеру, що, вочевидь, свідчить про зниження насиченості гладком'язового актину в даних клітинах. На відміну від базальнорозташованих ракових клітин, епітелій, що виповнює просвіт канцеризованої протоки, не експресує α-sma маркер.

Привертає до себе увагу, виявлений гладком'язовий компонент і в ендотелії судин, що містяться в стромі, навколо ракової пухлини протоку молочної залози. Причому маркер α-sma експресує ендотеліій тонкостінних судин, прилеглих до стінки канцеризованої протоки.

Це спонукає до вивчення особливостей трофіки солідного раку протоків МЗ за допомогою моноклональної сироватки до VEGF. У даному морфологічному типові росту пухлини виявлена слабка експресія маркеру цитоплазмою клітин, розташованих як в центральних, так і периферійних відділах пухлини. Вочевидь, дана експресія маркеру α-sma свідчить про секрецію фактору росту ендотелію судин клітинами пухлини, що знаходяться в умовах гіпоксії. При цьому і визначаються примітивні тонкостінні судини, що утворені ендотелієм, і впритул прилягають до стінки канцеризованої протоки. Проте живлення клітин пухлини, як автономної популяції все ще відбувається переважно за рахунок дифузного

захвату поживних речовин.

Таким чином, візуалізація клітин, помічених маркерами p63 та α-sma в сполучно-тканиному комплексі, що оточує атипову клітинну популяцію при солідному варіанті ВПРМЗ, дає певну можливість визначення відсутності інвазивного росту в даній пухлині.

Різноманітна за ступенем та локалізацією експресія антиапоптотичного маркеру bcl-2 демонструє різні механізми ухилення від апоптозу популяції атипових клітин, що мають внутрішньопротокову локалізацію. При цьому різновидом клітинних елементів, що не зазнають апоптотичних перетворень, є глікогенвмісні та ліпідвмістні клітини.

Висновки

1. Клітини солідного варіанту внутрішньопротокового раку молочної залози, що не вдаються до апоптозу та мають локальну крапкоподібну експресією bcl-2 – є глікогенвмісними, можуть відігравати велику роль для подальшого інвазивного росту пухлини; а ліпідвмісні ракові клітини позбавлені експресії bcl-2 через фанероз.

2. Клітини з внутрішньоцитоплазматичною експресією α-sma та внутрішньоядерною - p63, обмежують ракову клітинну популяцію солідного варіанту росту, стримують інвазію останнього.

3. Гіпоксичні пошкодження клітин солідного варіанту росту раку молочної залози зумовлюють експресію VEGF низького рівня.

Перспективи подальших досліджень

Планується створити комплексний морфологічний алгоритм діагностики внутрішньопротокового раку молочної залози.

Література

1. Герштейн Е.С. Фактор роста эндотелия сосудов в опухолях и сыворотке крови больных раком молочной желези VEGF / Е.С.Герштейн, А.М.Щербаков, С.К.Алиева [и др.] // Бюлл. экспериментальной биологии и медицины. -2003 -№1 -С.99-102.
2. 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 (засновника кафедри та патологоанатомічної служби на Буковині : мат. конф. – Чернивці, 2007. - С.96-101.
3. 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.
4. Киясов А.П. Методы иммуногистохимии.- В кн.: Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / под ред. С.В. Петрова, Н.Т. Райхлина. - Казань: Титул, 2004. - С. 18-38.
5. Копнин Б.П.Структурная организация и биохимическая активность белка p53 // Канцерогенез / под ред. Д.Г. Заридзе. – М. : Медицина, 2004.-С.132-142.
6. Мушкамбаров Н.Н. Молекулярная биология: Учебное пособие для студентов медицинских вузов / Н.Н.Мушкамбаров, С.Л.Кузнецов. - М. : 000 «Медицинское информационное агенство».-2007.- С.443-520.
7. Ніколенко Д.Є. Гістохімічні та каріометричні особливості солідної форми внутрішньопротокового раку молочної залози / Ніколенко Д.Є. // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. - 2010. - №1(12). - С.107-110.
8. Пальцев М.А. Атлас патологии опухолей человека / М.А. Пальцев, Н.М.Аничков. - М. : Медицина, 2005. - С.266-284.
9. Фільченко О.О. Апоптоз і рак: від теорії до практики / О.О.Фільченко.- Тернопіль : ТДМУ, 2006. - С.10-110, 306-373.
10. Dabbs D.J. Diagnostic immunohistochemistry / D.J.Dabbs // Churhill Livinstone, 2006. - 828 p.
11. Ferrara N. The biology of VEGF an its receptors / N.Ferrara, H.P. Gerber, J.LeCouter // Nat Med. - 2003. - V.9. - P. 669-676.
12. Folkman J. Angiogenesis / Folkman J. // Annu. Rev. Med. - 2006. - V. 57. - P. 1-18.

Реферат

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СОЛИДНОЙ ФОРМИ ВНУТРИПРОТОКОВОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Николенко Д.Е.

Ключевые слова: молочная железа, внутрипротоковий рак, солидный вариант, иммуногистохимический метод.

Приведены результаты иммуногистохимических исследований исследований солидной формы внутрипротокового рака молочной железы женщины при помощи группы онкомаркеров. Определено при сопоставлении с гистохимической характеристикой атипической клеточной популяции, что онкомаркеры p63, bcl-2, α-sma и VEGF имеют разный уровень експрессии, который зависит от степени дифференцировки элементов опухоли. Выявлены клеточные элементы канцеризованого протока молочной железы, которые сдерживают инвазию опухоли, что открывает перспективы медицинской коррекции.

Summary

IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF SOLID FORM OF INTRADUCTAL BREAST CANCER

Nikolenko D.Ye.

Keywords: mammary gland, intraductal breast cancer, solid form of new growth, immunohistochemical method.

This paper presents immunohistochemical findings on a solid form of intraductal cancer obtained by using the group of oncomarkers. It has been found out by comparison with the histochemical characteristics of atypical cell population that oncomarkers p63, bcl-2, α-sma and VEGF have different expression level which depends on the degree of tumor elements differentiation. There have been detected cellular elements of cancerous ducts of mammary glands which restrict tumor invasion and in that in way offer the challenge for the therapeutic correction.