

УДК 616.24-006.04-007.1

Филенко Б.М., Ройко Н.В., Проскурня С.А.

ОЦІНКА ЕКСПРЕСІЇ МАРКЕРІВ ПРОЛІФЕРАЦІЇ КІ67 ТА ЦИКЛІН D1 ПРИ ПЛОСКОКЛІТИННОГО РАКУ ЛЕГЕНЬ З ОРОГОВІННЯМ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», Полтава.

Вивчення проліферативної активності неопластичної клітини за допомогою імуногістохімічного методу дослідження має важливе інформативне значення для обґрунтування морфогенезу та прогнозування перебігу онкозахворювань. Мета дослідження полягає в оцінці значення експресії маркерів проліферації Кі67 та циклін D1 в морфогенезі плоскоклітинного раку легень з ороговінням. При проведенні імуногістохімічного дослідження використовували моноклональні антитіла Кі-67 та сусліп D. Дослідження дозволило встановити загальну закономірність експресії маркерів проліферації при плоскоклітинному раку легень з ороговінням. Найвища проліферативна активність спостерігається у ракових комплексах з ліпід-позитивними раковими перлинами, що відповідає 24% та 34% імуногістохімічного мічення клітин з маркерами циклін D1 та Кі67 відповідно. Зниження здатності клітин до поділу змінюється у напрямку набуття клітинами цитодиференційних ознак, що становить ІМ 21% та 22% у комплексах з ШИК-позитивними перлинами та 12% і 18% – з тіонін-позитивними перлинами.

Ключові слова: плоскоклітинний рак легень з ороговінням, проліферація, імуногістохімія.

Робота є фрагментом НДР «Клініко-функціональні та морфологічні особливості перебігу захворювань респіраторної системи (туберкульозу, саркоїдозу, дисемінованих процесів та ХНЗЛ) на різних етапах лікування, реабілітації та профілактики», № держреєстрації 0110U008151.

Рак легень займає провідне місце серед онкологічних захворювань та у структурі смертності від злоякісних новоутворень [11; 14]. Згідно сучасної патоморфологічної класифікації до основних гістогенетичних форм бронхогенних раків, які об'єднали в групу недрібноклітинний рак, відносять плоскоклітинний рак, аденокарциному, крупноклітинний та диморфний рак, а також особливий варіант аденокарциноми – бронхіолоальвеолярний рак [1; 19].

Плоскоклітинний рак складає 40-70% всіх випадків бронхогенного раку, та має чіткий зв'язок з екзогенними канцерогенними факторами [9; 20]. В залежності від вираженості ознак кератинізації з формуванням ракових перлин та наявності міжклітинних зв'язків розрізняють високодиференційований та низькодиференційований рак [19].

Проте, незалежно від гістогенетичного варіанту та ступеня диференціювання, ключову роль у розвитку ракових пухлин відіграє безконтрольна проліферація клітин, яка призводить до збільшення кількості анапластичних елементів. В останні роки широкого розповсюдження набуло використання імуногістохімічних маркерів проліферації, основними з яких є Кі-67 та циклін D1 [3].

Незважаючи на широке використання антигену Кі-67 для діагностики різних патологічних процесів, існують певні труднощі в інтерпретації результатів імуногістохімічного забарвлення з його використанням, в тому числі і при пухлинах легень. Це може бути пов'язано з використанням різних антитіл до Кі-67 та внутрішньопухлинною гетерогенністю забарвлення клітин, що спостерігається і при плоскоклітинному раку легень. Крім того, рівень гіперекспресії у злоякісних новоутвореннях легень, за даними різних авторів, є неоднозначним показником та може коливатися в межах 18–57,2% [13], що пояснюється різним підходом до визначення ступеня імуногістохіміч-

ного забарвлення. Деякі автори гіперекспресію Кі-67 вважають при забарвленні більше 10% позитивних клітин, інші відзначають гіперекспресію за наявності 20% забарвлених клітин або 35% і вище [16].

Встановлено, що експресія маркеру Кі-67 залежить від гістогенезу пухлини, корелює зі ступенем її диференціювання [4; 7] та є важливим маркером проліферативної активності пухлини. Це вказує на його цінне прогностичне значення. Ризик рецидиву прямо пов'язаний з високою експресією фактору проліферації [15]. Проте, не встановлено чіткого зв'язку експресії маркеру проліферації Кі67 зі ступенем диференціювання плоскоклітинного раку легень та його роль в морфогенезі даного високодиференційованого гістологічного варіанту пухлини [10].

Регуляція поділу клітини відбувається на всіх етапах її життєвого циклу. Перехід клітини із точки G₀ в G₂ характеризується утворенням комплексів циклінів групи D. Показники експресії цикліну D1 є вагомим прогностичним маркером проліферативної активності пухлинної клітини, що значно вище при циклін D1-позитивних пухлинах ніж у циклін D1-негативних неоплазіях. Прогностичні показники п'ятирічного виживання хворих на рак легень з вираженою експресією цикліну D1 краще, порівняно з пацієнтами з циклін D1-негативними пухлинами (89% і 64% відповідно). Отже, гіперекспресія цикліну D1, як правило, сприятливий прогностичний фактор. Ці дані свідчать про причетність цикліну D1 до розвитку та прогресування раку легень, його проліферативну активність і клінічний прогноз у пацієнтів [17; 18]. При ультраструктурно диференційованому плоскоклітинному раку легень не виявлено співвідношення між вираженою експресією цикліну D1 і ступенем диференціювання. Це свідчить про певні молекулярні зміни, пов'язані з деякими субклітинними особливостями недріб-

ноклітинного раку легень [8].

Отже, вивчення описаних молекулярних властивостей неопластичної клітини за допомогою імуногістохімічного методу дослідження має важливе інформативне значення для обґрунтування морфогенезу та прогнозування перебігу онкозахворювань.

Мета дослідження

Мета дослідження полягає в оцінці значення експресії маркерів проліферації Ki67 та циклін D1 в морфогенезі плоскоклітинного раку легень з ороговінням.

Матеріали та методи дослідження

Морфологічні дослідження проводились на післяопераційному матеріалі 24 хворих на плоскоклітинний рак легень з ороговінням. Шматочки для гістологічного та імуногістохімічного досліджень брали з різних ділянок пухлини, які фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну з наступною парафіновою проводкою. З одержаних блоків робили серійні зрізи товщиною 7-10 мкм, які забарвлювались гематоксиліном та еозинном.

При проведенні імуногістохімічного дослідження парафінові зрізи відібраних блоків наносили на спеціальні адгезивні предметні скельця SuperFrost Plus. Після депарафінізації та регідратації зрізів проводили температурне демаскування антигенів. Далі проводили інкубацію зрізів з первинними антитілами у вологих камерах при температурі 23-25°C впродовж 30 хвилин. В якості первинних використовували моноклональні антитіла Ki-67 (клон SP6, LabVision) та cyclin D1 (клон SP4, LabVision). Ідентифікація реакції проводилась завдяки нанесенню хромогену DAB з проявом у вигляді коричневого забарвлення специфічних структур. Для ідентифікації тканинних структур зрізи додатково забарвлювали гематоксиліном Майєра впродовж 1-3 хвилин.

Вивчення забарвлених препаратів проводилось на цифровому світловому мікроскопі фірми «Olympus BX41» з використанням об'єктивів Ч10, Ч20, Ч40, Ч100, а їх фотозйомка – на цифрову фотокамеру фірми «Olympus C 4040».

При оцінці імуногістохімічної реакції з антитілами онкомаркера Ki-67, які реагують лише з клітинами в G₁-, S- і G₂-періодах циклу виявляли ядерне забарвлення бурого кольору. Маркер cyclin D1 характеризувався також інтрануклеарною експресією бурого кольору різної інтенсивності. В залежності від інтенсивності забарвлення, ступінь експресії оцінювався як негативний (-), низький (+), помірний (++) та високий (+++).

У кожному спостереженні частка імуногістохімічно мічених ядер з Ki67 та циклін D1 визначалась у відсотках: підраховувався відсоток клітин з маркером у 10 полях по 100 клітин, а також середній відсоток, а його показник оцінювався як індекс імуногістохімічного мічення клітин (IM%). Експресія досліджених білкових маркерів оцінювалась в залежності від гістотопографічних зон плоскоклітинного раку з ороговінням [6].

Дослідження проведено з дотриманням основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2008 рр.), а також наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Результати дослідження та їх обговорення

На основі попередньо проведених досліджень встановлено, що ракові комплекси при плоскоклітинному раку легень з ороговінням, незалежно від гістохімічного типу «ракової перлини» [12], мають три ідентичні зони: зона інвазії, зона проліферації та зона диференціювання [6]. Імуногістохімічні дослідження підтверджують дане припущення та визначення експресії маркерів проводилось саме за цими зонами.

Комплекси плоскоклітинного раку легень з ороговінням, які містять ліпід-позитивні «ракові перлини», характеризуються високою (+++) експресією цикліну D1 в зоні інвазії та проліферації, що виявляється темно-коричневим ядерним забарвленням. У зоні диференціювання експресія даного маркера не виявляється (-).

Показники експресії Ki67 в пухлинних комплексах плоскоклітинного раку легень з ороговінням, які містять ліпід-позитивні «перлини» співпадають з показниками експресії цикліну D1, тобто відзначається висока (+++) ядерна експресія в зонах інвазії та проліферації при відсутності (-) візуалізації в зоні диференціювання.

Отже, необхідно відмітити, що ступінь проліферативної активності ракових клітин найвища в зонах інвазії та проліферації і, відповідно, індекс імуногістохімічного мічення клітин (IM%) з маркером Ki 67 складає 34%, а з циклін D1 – 26%.

Проліферативна активність клітин в комплексах плоскоклітинного раку легень з ороговінням, що містять ШИК-позитивні «ракові перлини», характеризується переважанням помірної (++) експресії онкомаркерів Ki67 та цикліну D1 в зоні інвазії, що проявляється коричневим забарвленням ядер при наявності поодиноких клітин з ядерною гіперекспресією. Проте, у зоні проліферації відмічається зниження експресії онкомаркера цикліну D1 (+), яке проявляється незначним світлокоричневим інтрануклеарним забарвленням при збереженні імуногістохімічного забарвлення ядер з використанням маркера Ki67 (++).

Зона диференціювання характеризується відсутністю забарвлення ядер з використанням онкомаркерів цикліну D1 та Ki67, тобто негативно (-) експресією даних маркерів. Це свідчить про поступове зменшення проліферативної активності клітин від зони інвазії до диференціювання з поступовим їх дозріванням на набуттям специфічних функцій.

Необхідно зазначити, що ступінь проліферативної активності ракових клітин найвища в зонах інвазії та проліферації, хоча у порівнянні з

аналогічними зонами у комплексах з ліпід-позитивними перлинами та знижується, ІМ з маркером Ki67 склав 22% та з циклін D1 – 21%.

Ракові комплекси плоскоклітинного раку легень з ороговінням, які містять тіонін-позитивні «перлини», характеризуються зниженням проліферативної активності у порівнянні з ліпід- та ШИК-позитивними комплексами. Дане положення підтверджується слабкою (+) експресією цикліну D1 в зоні інвазії та проліферації, що проявляється світло-коричневим забарвленням ядер клітин. Зони проліферації та диференціювання характеризуються повною відсутністю візуалізації даного маркера. Проте, відмічається певне збереження експресії онкобілка Ki67 у порівнянні з ліпід- та ШИК-позитивними комплексами. Так,

зона інвазії характеризується помірною (++) експресією маркера Ki67 коричневого кольору. У зоні проліферації відмічається виражена (+++) реакція з антигеном Ki67, що проявляється темно-коричневим ядерним забарвленням. Одночасно в зоні диференціювання відсутня експресія до маркера Ki67, що свідчить про втрату клітинами здатності до ділення.

Ступінь проліферативної активності ракових клітин пухлинних комплексів з тіонін-позитивними «перлинами» має неоднозначний характер, що характеризується індексом імуногістохімічного мічення клітин з маркером Ki67 в середньому 18%, а з циклоном D1 – 12%.

Результати проведеного дослідження можна представити у вигляді таблиці.

Таблиця 1

Імуногістохімічна характеристика проліферативної активності плоскоклітинного раку легень з ороговінням

Тип «перлини»	Зони пухлинних комплексів	Циклін D1	Ki 67	ІМ (%)	
				Циклін D1	Ki 67
Ліпід-позитивні	Інвазії	+++	+++	26±4,3	34±3,5
	Проліферації	+++	+++		
	Диференціювання	-	-		
ШИК-позитивні	Інвазії	++	++	21±2,6	22±2,5
	Проліферації	+	++		
	Диференціювання	-	-		
Тіонін-позитивні	Інвазії	+	++	12±2,1	18±2,2
	Проліферації	+	+++		
	Диференціювання	-	-		

Отже, в ході проведеного імуногістохімічного дослідження з визначенням проліферативної активності плоскоклітинного раку легень з ороговінням встановлено, що показники експресії маркерів Ki67 та цикліну D1 є неоднозначним. Простежується виражена проліферативна активність ракових клітин поблизу базальних відділів ракових комплексів, тобто в зоні інвазії, що підтверджує дослідження ряду авторів. Крім того, поступове зниження експресії маркерів Ki67 та цикліну D1 корелює зі ступенем диференціювання клітин, тобто набуття клітинами здатності синтезувати цитокератини та вираженості міжклітинних зв'язків [5; 2]. Проте, незважаючи на те, що плоскоклітинний рак легень з ороговінням відноситься до високодиференційованого злоякісного новоутворення, проліферативна активність клітин в пухлинних комплексах відрізняється в залежності від наявності різних типів «ракових перлин». Це, напевно, має значення як у морфогенезі так і для прогнозу перебігу даного захворювання.

Висновки

Дослідження дозволило встановити загальну закономірність експресії маркерів проліферації при плоскоклітинному раку легень з ороговінням. Найвища проліферативна активність спостерігається у ракових комплексах з ліпід-позитивними раковими перлинами, що відповідає 24% та 34% імуногістохімічного мічення клітин з маркерами циклін D1 та Ki67 відповідно. Зниження здатності клітин до поділу змінюється у напрямку набуття клітинами цитодиференційних ознак, що стано-

вить ІМ 21% та 22% у комплексах з ШИК-позитивними перлинами та 12% і 18% – з тіонін-позитивними перлинами.

Перспективним є комплексне вивчення імуногістохімічного профілю плоскоклітинного раку легень з ороговінням, враховуючи проліферативну активність, апоптоз та ступінь диференціювання з обґрунтуванням їх ролі в морфогенезі даного гістогенетичного типу раку.

Література

1. Акопов А. Современные подходы к классификации рака легкого / А. Акопов // Врач. – 2011. – № 12. – С. 7-12.
2. Болгова Л.С. Гистологические и иммуногистохимические исследования в уточнении гистогенеза рака легкого / Л.С. Болгова, Т.Н. Туганова, О.И. Алексеенко и др. / Онкология. – 2010. – Том 12, №4. – С.331-334.
3. Иммуногистохимические методы: Руководство / Ed. by George L. Kumar, Lars Rudbeck.: ДАКО / Пер. с англ. под ред. Г.А.Франка, П.Г.Малькова. – М., 2011. – 224 с.
4. Туманский В.А. Показатели пролиферативной активности опухоли у больных с ранними стадиями немелкоклеточного рака легкого / В.А. Туманский, А.И. Шевченко, А.П. Колесник и др. // Патология. – 2010. – Том 7, №2. – С. 81-84.
5. Филенко Б.М. Особливості експресії високомолекулярного цитокератину та Е-кадгерину при плоскоклітинному раку легень з ороговінням / Б.М. Филенко, Ю.А. Гасюк, С.А. Проскурня, Н.В. Ройко // Вісник Української медичної стоматологічної академії «Актуальні проблеми сучасної медицини». – 2015. – Т.15, Вип. 4(52). – С. 276-280.
6. Филенко Б.М. Гістотопографічні особливості плоскоклітинного раку легень з ороговінням центральної локалізації / Б.М. Филенко, Н.В. Ройко, С.А. Проскурня // Медична наука та практика на сучасному історичному етапі: збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції. – Київ, 2014. – С. 12-14.
7. Ahn H.K. Clinical significance of Ki-67 and p53 expression in curatively resected non-small cell lung cancer / H.K. Ahn, M. Jung, S.Y. Ha. [et al.] // Tumour Biol. – 2014. – Vol. 35(6). – P. 5735-5740.
8. Bombn J.A. Ultrastructural and Molecular Heterogeneity in Non-Small Cell Lung Carcinomas: Study of 110 Cases and Review of the Literature / J.A. Bombn, A. Martnez, J. Ramnrez [et al.] // Ultrastructural Pathology. – 2002. – Vol. 26 (4). – P. 211-218.

9. Cornfield J. Smoking and lung cancer: recent evidence and a discussion of some questions / J. Cornfield, W. Haenszel, E. C. Hammond, A. M. Lilienfeld, M. B. Shimkin [et al.] // International Journal of Epidemiology. – 2009. – № 38 (5). – P. 1175–1191.
10. Daisuke M. Ki-67 labeling index affects tumor infiltration patterns of lung squamous cell carcinoma / M. Daisuke, M. Ryota, M. Tomohiko et al. // Molecular medicine reports. – 2015. – №12. – P. 7303-7309.
11. Ferlay J. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008 / Ferlay J., Shin H.R., Bray F. et al. // GLOBOCAN 2008. Int J. Cancer. – 2010. – Vol. 127. – P. 2893–2917.
12. Gasyuk Y. Histochemical polymorphism of keratin pearls in squamous cell carcinoma of the lung / Y. Gasyuk, B. Filenko // Canadian Scientific Journal. – 2014. – № 2. – C. 18-24.
13. Haga Y. Ki-67 Expression and Prognosis for Smokers With Resected Stage I Non-Small Cell Lung Cancer / Y. Haga, K. Hiroshima, A. Iyoda [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 2003. – Vol 75. – P. 1727-1733.
14. Jemal A. Global Cancer Statistics / A. Jemal, F. Bray, M. M. Center et al. // Ca Cancer J Clin. – 2011. – Vol. 61, № 2. – P. 69–90.
15. Kazuhiro T. Ki-67 is a strong prognostic marker of non-small cell lung cancer when tissue heterogeneity is considered / T. Kazuhiro, T. Tomonori, H. Tomayoshi // BMC Clinical Pathology. – 2014. – Vol. 14 (23). Режим доступу: <http://www.biomedcentral.com/1472-6890/14/23>.
16. Maddau C. Prognostic significance of p53 and Ki-67 antigen expression in surgically treated non-small cell lung cancer: immunocytochemical detection with imprint cytology / C. Maddau, M. Confortini, S. Bisanzì [et al.] // Am. J. Clin. Pathol. – 2006. – Vol. 125, №3. – P. 425-431.
17. Mishina T. Cyclin D1 expression in non-small-cell lung cancers: its association with altered p53 expression, cell proliferation and clinical outcome / T. Mishina, H. Dosaka-Akita, I. Kinoshita [et al.] // Br. J. Cancer. – 1999. – Vol. 80(8). – P. 1289–1295.
18. Radovik S. Non-small cell lung carcinoma: cyclin d1, bcl-2, p53, ki-67 and her-2 proteins expression in resected tumors / S. Radovik, M. Babik, M. Doric [et al.] // Bosnian journal of basic medical sciences. – 2007. – Vol. 7 (3). – P. 205-211.
19. Travis W.D. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of tumours of the lung. Pleura. Thymus and Heart / W.D. Travis, E. Brambilla, H.K.Muller-Hermelink, C.C.Harris. – Lyon: IARC Press, 2004. – 344 p.
20. Wang X.-R. The roles of smoking and cooking emissions in lung cancer risk among Chinese women in Hong Kong / X.-R.Wang, Y.-L.Chin, H. Qiu [et al.] // Annals of Oncology. – 2009. – Vol. 20. – № 4. – P. 746-751.
6. Filenko B.M. Gistotopografichni osoblivosti ploskoklitinnogo raku legen z orogovinniam tsestralnoyi lokalizatsiyi / B.M. Fylenko, N.V. Royko, S.A. Proskurnya // Medichna nauka ta praktika na suchasnomu istorichnomu etapi: zbirnik materialiv mizhnarodnoyi naukovo-praktichnoyi konferentsiyi. – Kyiv, 2014. – S. 12-14.
7. Ahn H.K. Clinical significance of Ki-67 and p53 expression in curatively resected non-small cell lung cancer / H.K. Ahn, M. Jung, S.Y. Ha, [et al.] // Tumour Biol. – 2014. – Vol. 35(6). – P. 5735-5740.
8. Bombh J.A. Ultrastructural and Molecular Heterogeneity in Non-Small Cell Lung Carcinomas: Study of 110 Cases and Review of the Literature / J.A. Bombh, A. Marthnez, J. Ramnrez [et al.] // Ultrastructural Pathology. – 2002. – Vol. 26 (4). – P. 211-218.
9. Cornfield J. Smoking and lung cancer: recent evidence and a discussion of some questions / J. Cornfield, W. Haenszel, E.C. Hammond, A.M. Lilienfeld, M.B. Shimkin [et al.] // International Journal of Epidemiology. – 2009. – № 38 (5). – P. 1175–1191.
10. Daisuke M. Ki-67 labeling index affects tumor infiltration patterns of lung squamous cell carcinoma / M. Daisuke, M. Ryota, M. Tomohiko et al. // Molecular medicine reports. – 2015. – №12. – P. 7303-7309.
11. Ferlay J. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008 / Ferlay J., Shin H.R., Bray F. et al. // GLOBOCAN 2008. Int J. Cancer. – 2010. – Vol. 127. – P. 2893–2917.
12. Gasyuk Y. Histochemical polymorphism of keratin pearls in squamous cell carcinoma of the lung / Y. Gasyuk, B. Filenko // Canadian Scientific Journal. – 2014. – № 2. – C. 18-24.
13. Haga Y. Ki-67 Expression and Prognosis for Smokers With Resected Stage I Non-Small Cell Lung Cancer / Y. Haga, K. Hiroshima, A. Iyoda [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 2003. – Vol 75. – P. 1727-1733.
14. Jemal A. Global Cancer Statistics / A. Jemal, F. Bray, M.M. Center et al. // Ca Cancer J Clin. – 2011. – Vol. 61, № 2. – P. 69–90.
15. Kazuhiro T. Ki-67 is a strong prognostic marker of non-small cell lung cancer when tissue heterogeneity is considered / T. Kazuhiro, T. Tomonori, H. Tomayoshi // BMC Clinical Pathology. – 2014. – Vol. 14 (23). Режим доступу: <http://www.biomedcentral.com/1472-6890/14/23>.
16. Maddau C. Prognostic significance of p53 and Ki-67 antigen expression in surgically treated non-small cell lung cancer: immunocytochemical detection with imprint cytology / C. Maddau, M. Confortini, S. Bisanzì [et al.] // Am. J. Clin. Pathol. – 2006. – Vol. 125, №3. – P. 425-431.
17. Mishina T. Cyclin D1 expression in non-small-cell lung cancers: its association with altered p53 expression, cell proliferation and clinical outcome / T. Mishina, H. Dosaka-Akita, I. Kinoshita [et al.] // Br. J. Cancer. – 1999. – Vol. 80(8). – P. 1289–1295.
18. Radovik S. Non-small cell lung carcinoma: cyclin d1, bcl-2, p53, ki-67 and her-2 proteins expression in resected tumors / S. Radovik, M. Babik, M. Doric [et al.] // Bosnian journal of basic medical sciences. – 2007. – Vol. 7 (3). – P. 205-211.
19. Travis W.D. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of tumours of the lung. Pleura. Thymus and Heart / W.D. Travis, E. Brambilla, H.K. Muller-Hermelink, C.C. Harris. – Lyon: IARC Press, 2004. – 344 p.
20. Wang X.-R. The roles of smoking and cooking emissions in lung cancer risk among Chinese women in Hong Kong / X.-R. Wang, Y.-L. Chin, H. Qiu [et al.] // Annals of Oncology. – 2009. – Vol. 20. – № 4. – P. 746-751.

References

1. Akopov A. Sovremennyye podhody k klassifikatsii raka legkogo / A. Akopov // Vrach. – 2011. – № 12. – S. 7-12.
2. Bolgova L.S. Gistologicheskie i immunogistohimicheskie issledovaniya v utochnenii gistogeneza raka legkogo / L.S. Bolgova, T.N. Tuganova, O.I. Alekseenko i dr. // Onkologiya. – 2010. – Tom. 12, № 4. – S.331-334.
3. Immunogistohimicheskie metody: Rukovodstvo / Ed. by George L. Kumar, Lars Rudbeck.: DAKO / Per. s angl. pod red. G.A.Franka, P.G.Malkova. – M., 2011. – 224 s.
4. Tumanskiy V.A. Pokazateli proliferativnoy aktivnosti opuholi u bolnyh s rannimi stadiyami nemelkokletochno raka legkogo / V.A. Tumanskiy, A.I. Shevchenko, A.P. Kolesnik i dr. // Patologiya. – 2010. – Tom 7, №2. – S. 81-84.
5. Fylenko B.M. Osoblyvosti ekspresii vysokomolekuliarnoho tsytokeratynu ta E-kadherynu pry ploskoklitinnomu raku lehen z

Реферат

ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ ПРОЛИФЕРАЦИИ KI67 И ЦИКЛИН D1 ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКИХ С ОРОГОВЕНИЕМ

Филенко Б.Н., Ройко Н.В., Проскурня С.А.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак легких с орогованием, пролиферация, иммуногистохимия.

Изучение пролиферативной активности неопластической клетки с помощью иммуногистохимического метода исследования имеет важное информативное значение для обоснования морфогенеза и прогнозирования течения онкозаболеваний. Цель исследования заключается в оценке значения экспрессии маркеров пролиферации Ki67 и циклин D1 в морфогенезе плоскоклеточного рака легких с орогованием. При проведении иммуногистохимического исследования использовали моноклональные антитела Ki67 и циклин D1. Исследование позволило установить общую закономерность экспрессии маркеров пролиферации при плоскоклеточном раке легких с орогованием. Самая высокая пролиферативная активность наблюдается в раковых комплексах с липид-положительными раковыми жемчужинами, что соответствует 24% и 34% иммуногистохимического мечения клеток с маркерами циклин D1 и Ki67 соответственно. Снижение способности клеток к делению меняется в направлении обретенных клетками цитодифференциальных признаков, что составляет 21% и 22% иммуногистохимического мечения в комплексах с ШИК-положительными жемчужинами и 12% и 18% - с тионин-

положительными жемчужинами.

Summary

ASSESSMENT OF EXPRESSION OF PROLIFERATION MARKERS KI67 AND CYCLIN D1 IN KERATINIZING SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF LUNG

Fileenko B.N., Royko N.V., Proskurnya S.A.

Key words: keratinizing squamous cell carcinoma of lung, proliferation, immunohistochemistry.

Studying proliferative activity of neoplastic cells by immunohistochemistry has important informative value for the study of morphogenesis and prognosis of cancer. The paper was aimed to assess the expression value of proliferation markers Ki67 and cyclin D1 in the morphogenesis of keratinizing squamous cell carcinoma of lung. During immunohistochemical study monoclonal antibodies Ki67 and cyclin D1 were used. The study allowed us to establish a common pattern of proliferation marker expression in keratinizing squamous cell carcinoma of lung. The highest proliferative activity was observed in cancer complexes with lipid-positive pearls that corresponded to 24% and 34% of immunohistochemical labeling cells with cyclin D1 and the markers Ki67 respectively. Reducing the ability of cells division was changing towards the acquiring cytodifferential characteristics, representing 21% and 22% of immunohistochemical labeling in complexes with PAS-positive pearls and 12% and 18% in the form of thionine-positive pearls.

УДК 611.817.18:572.087

Шиян Д.Н.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ ЯДЕР И ПРОВОДЯЩИХ ПУТЕЙ МОЗЖЕЧКА

Харьковский национальный медицинский университет

Изучением морфологических особенностей подкорковых узлов головного мозга занимались многие исследователи. На сегодня метод препарирования головного мозга претерпел существенные изменения, благодаря чему были описаны и детально изучены различные его отделы. В то же время авторы совершенно недостаточно использовали макро-микроскопический метод. Исследование проведено на 340 препаратах мозжечка людей, умерших в возрасте от 20 до 99 лет. В работе заявлен способ исследования ядер и проводящих путей мозжечка, включающий предварительную обработку, благодаря которой препарат сохраняет свои топографоанатомические особенности, способен долгое время храниться, эластичен, серое вещество приобретает контрастную насыщенную окраску и четко дифференцируется с белым веществом, проводящие пути легко препарировать макромикроскопическим методом под бинокулярной лупой по В. П. Воробьеву. Может быть использован при изучении строения структур серого и белого вещества ЦНС.

Ключевые слова: мозжечок, ядра мозжечка, морфология.

Данная работа является фрагментом НИР «Морфологічні особливості органів і систем тіла людини на етапах онтогенезу», № гос. регистрации 0144U004149.

Изучением морфологических особенностей подкорковых узлов головного мозга занимались многие исследователи [1, 7, 15, 16]. Одной из первых работ, в которой имеются рисунки головного мозга, изготовленного методом препарирования, была работа Виессенса (Viessens, 1685) [2, 5]. На сегодня метод препарирования головного мозга претерпел существенные изменения, благодаря чему были описаны и детально изучены различные его отделы [3, 8, 14, 17]. Методы препарирования головного мозга довольно разнообразны, начиная от обычного препарирования, т.н. расщипывания, и заканчивая современными методами макро-микроскопического препарирования под бинокулярной лупой. Так, Розетт (Rosett, 1933) для изучения проводящих путей головного мозга проводил их автоматическое внутреннее расслоение путем градуированных взрывов ткани головного мозга при помощи углекислоты [4]. С. Б. Дзугаева в 1939 г. разработала способ предварительной обработки мозга, с помощью которого, методом расщипывания, выполнила ряд препаратов

проводящих путей головного мозга [6].

В. А. Бец, положивший основу изучения цитоархитектоники головного мозга, указывал на необходимость восполнить пробел между анатомическими и гистологическими исследованиями [6]. Большинство работ по изучению мозга посвящено или макроскопической анатомии или гистологии этих образований [9, 11, 13]. В то же время авторы совершенно недостаточно использовали макро-микроскопический метод, предложенный академиком В. П. Воробьевым и усовершенствованный в дальнейшем его учениками [10, 12]. Под «макро-микроскопической областью» принято считать область, которая лежит между полем зрения анатома и полем зрения гистолога. К этой же области относятся также образования, сделать которые видимыми препятствует нечеткость их границ, а поэтому их форма, строение, топография не могут быть обнаружены макроскопически.

Цель исследования

Разработать новый и более приемлемый в