

MORPHOLOGICAL FEATURES OF REPARATIVE OSTEOGENESIS UNDER
SELENIUM DEFICIENCY*P.Ye. Kovalchuk, S.V. Tuliuliuk, S.V. Kozlov**

Abstract. This paper presents a range of functions of microelement selenium deficiency and its influence on the course of reparative osteogenesis.

Key words: selenium, osteogenesis, fracture.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

*State institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine"

Рецензент – проф. І.С. Давиденко

Buk. Med. Herald. – 2014. – Vol. 18, № 4 (72). – P. 49-51

Надійшла до редакції 26.08.2014 року

© П.Є. Ковальчук, С.В. Тулюлюк, С.В. Козлов, 2014

УДК 616.22-006:616-006.61:616-076.5

*О.В. Ковтуненко¹, С.М. Тимчук², Б.В. Шпортько²*АНАЛІЗ РІВНЯ ЕКСПРЕСІЇ МАТРИКСНИХ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗ 2 ТА 9
ІМУНОЦИТОХІМІЧНИМ МЕТОДОМ ДІАГНОСТИКИ У ХВОРИХ
НА РАК ГОРТАНІ З РЕГІОНАРНИМИ МЕТАСТАЗАМИ¹Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України»²Комунальний заклад «Дніпропетровська обласна клінічна лікарня ім. І.І. Мечникова»

Резюме. У статті проведений аналіз рівня експресії молекулярних маркерів матриксної металопротеїнази 2 та матриксної металопротеїнази 9 у хворих на рак гортані імуноцитохімічним методом. Дослідження проведено у 74 хворих на рак гортані III - IV стадій (T3-4N0-3M0). Матеріал для імуноцитохімічного дослідження отриманий методом тонкогілкової аспіраційної біопсії лімфатичних вузлів у період обстеження пацієнтів до лікування. Отримані дані дозволяють зробити висновки про наявність зв'язків між рівнем експресії маркерів та наявністю метастазів. Доведений прямий

кореляційний зв'язок експресії молекулярних маркерів матриксної металопротеїнази 2 та матриксної металопротеїнази 9 з метастазуванням у лімфатичні вузли, що дозволяє рекомендувати дослідження даних маркерів як прогностичних факторів наявності метастазів плоскоклітинного раку гортані в регіонарні лімфатичні вузли ший.

Ключові слова: рак гортані, метастази, імуноцитохімічне дослідження, матриксна металопротеїназа 2, матриксна металопротеїназа 9.

Вступ. Рак гортані посідає провідне місце серед злоякісних пухлин верхніх дихальних шляхів. Згідно з даними канцерреєстру України за 2012 р., рак гортані знаходиться на дванадцятому місці серед найбільш розповсюджених злоякісних новоутворень у популяції. Всього за рік зареєстровано 2366 випадків захворювання даною нозологією [1]. Не зважаючи на прогрес у світовій медицині, виживаність хворих на рак гортані істотно не змінилась за останні 20 років [2]. При регіонарному метастазуванні злоякісних новоутворень гортані лімфатичним шляхом першими уражаються регіонарні лімфовузли ший. Велику роль у прогнозі перебігу захворювання відіграють регіонарні метастази в шийні лімфатичні вузли, значення яких перевищує розмір та локалізацію первинної пухлини [3].

Еволюція лікування регіонарних метастазів пройшла шлях від радикальної операції, вперше описаної в 1888р., до суперселективних втручань, які проводяться в останні роки [4, 5].

Органозберігаюча тенденція в онкології потребує пошуку нових методів діагностики метастатичних лімфовузлів для точного вибору об'єму втручання. Значна увага приділяється вивченню експресії молекулярних маркерів. В останні роки в онкології значна увага приділяється імуногістохімічному, імуноцитохімічному дослідженню та молекулярним онкомаркерам [6]. Виявлені специфічні маркери, котрі дають можливість діагностувати та прогнозувати агресію плоскоклітинного раку. Зокрема, матриксні металопротеїнази 2 та 9 – прогностичні маркери інвазії та метастазування пухлини [7]. Зважаючи на високу смертність у перший рік після постановки діагнозу, можна сказати, що лікування та діагностика раку гортані, особливо його метастазів, потребує подальшого дослідження, розробки та впровадження нових методів у практичну діяльність [8].

Мета дослідження. Вивчити інформативність імуноцитохімічного дослідження пунктату лімфатичного вузла у хворих на рак гортані щодо регіонарного метастазування.

© О.В. Ковтуненко, С.М. Тимчук, Б.В. Шпортько, 2014

Матеріал і методи. Для виконання завдань дослідження під спостереженням перебували 74 хворих на рак гортані III-IV стадій (T3-4N0-3M0) та II клінічної групи, які проходили обстеження, лікування та спостереження в ЛОР-онкологічному відділенні Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І.І.Мечникова в період з 2011 по 2014рр. З них 38 осіб були з регіонарними метастазами раку гортані, у 36 – регіонарних метастазів не виявлено. Вік пацієнтів коливався від 33 до 74 років. Всі пацієнти були чоловіками, у яких гістологічно діагностувався плоскоклітинний рак. Всі цитологічні та імуноцитохімічні дослідження проводились у лабораторії КЗ «Обласна клінічна лікарня ім. І.І. Мечникова». Транскутанна аспіраційна біопсія проводилася з УЗД контролем, отримані цитологічні препарати фіксувались Citospray.

У нашому дослідженні як первинні маркери використовувалися моноклональні антитіла до матричної металопротеїнази 2 (clone A-gel VC-2 BioSystems, США), матричної металопротеїнази 9 (Polyclonal BioSystems, США). Для кожного маркера виконувалися контрольні дослідження з метою виключення помилково позитивних або помилково негативних результатів. Препарати досліджувалися за допомогою світлової мікроскопії на мікроскопі Carl Zeiss. Оцінка експресії маркерів проводилася за напівкількісним методом з такими рівнями: експресія відсутня – 0-10 %, слабка – 11-20 %, помірна – 21-50 % та виражена – більше 50 %.

Для статистичної обробки отриманого матеріалу використовувалися сучасні методи математично-статистичного аналізу. Обробка отриманих

даних проводилася за допомогою пакетів ліцензійних програм статистичного аналізу Statistica v.6.1 (Statsoft Inc., США, ліцензійний №AJAR9-09E415822FA), Microsoft® Office Excel® 2007 (12.0.6514.5000) SP2 MSO (12.0.6425.1000), (США, ліцензійний №89409-707-9902422-65234)

Результати дослідження та їх обговорення. Проведено дослідження рівнів експресії молекулярних маркерів матричної металопротеїнази 2 імуноцитохімічним методом у лімфатичних вузлах 74 хворих на рак гортані III-IV стадії. Експресія матричної металопротеїнази 2 визначалася у 31 (41,9 %) пацієнта, у 43 (58,1 %) – експресія відсутня (рис. 1).

Слабкий рівень експресії визначався в 14 (18,9 %) пацієнтів, помірний – у 7 (9,5 %) та високий – у 10 (13,5 %). У групі хворих на рак гортані з метастазами експресія матричної металопротеїнази 2 була відсутня у 16 (42,1±8,0 %) осіб, слабка експресія – у 14 (36,8±7,8 %) пацієнтів, помірна – у 4 (10,5±5,0 %), сильна експресія спостерігалась у 4 (10,5±5,0 %) пацієнтів. У другій групі хворих на рак гортані без метастазів експресія матричної металопротеїнази 2 була відсутня у 27 (75,0±7,2 %) осіб, слабка експресія пацієнтів – у жодного пацієнта, помірна – у 3 (8,3±4,6 %), сильна експресія спостерігалась у 6 (16,7±6,2 %) пацієнтів. У хворих на рак гортані з регіонарними метастазами показники експресії молекулярних маркерів були вищими у 2,4 раза.

При проведенні порівняльного статистичного дослідження матричної металопротеїнази 2 прогностичне значення показників експресії молекулярних маркерів пухлини відносно регіонарного метастазування визначено наявністю пря-

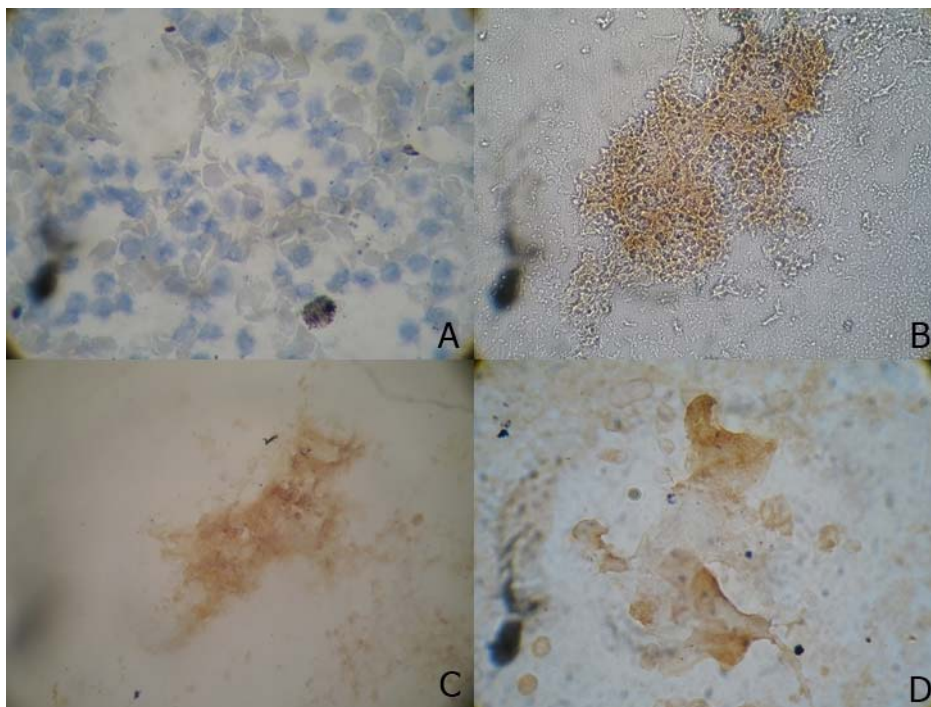


Рис. 1. Визначення експресії матричної металопротеїнази 2 методом імуноцитохімічного дослідження; мікропрепарат з окраскою моноклональними антитілами матричної металопротеїнази 2 (x100). А. – експресія відсутня (0 %); В. – слабкий рівень експресії (до 20 %); С. – помірний рівень експресії (21-50 %); D. – високий рівень експресії (>50 %)

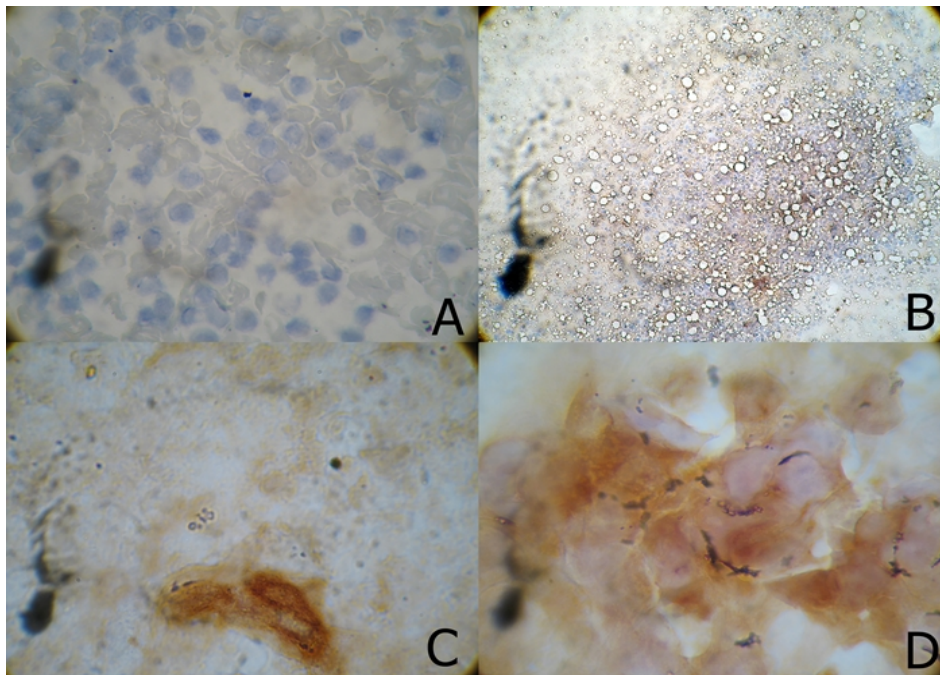


Рис. 2. Визначення експресії матричної металопротеїнази 9 методом імуноцитохімічного дослідження; мікропрепарат з окраскою моноклональними антитілами матричної металопротеїнази 9 (x100). А – експресія відсутня (0 %); В – слабкий рівень експресії (-20 %); С – помірний рівень експресії (21-50 %); D – високий рівень експресії (>50 %)

Таблиця 1

Експресія матричної металопротеїнази 2 ММП 2 у лімфатичному вузлі залежно від наявності метастазів

Гістологічний діагноз		Всього (n)	Відсутня	Слабка	Помірна	Сильна
1. ПРГ з метастазами (N1-3)	абс. (n)	38	16	14	4	4
	M±m (%)	100,0	42,1±8,0	36,8±7,8	10,5±5,0	10,5±5,0
2. ПРГ без метастазів (N0)	абс. (n)	36	27	0	3	6
	M±m (%)	100,0	75,0±7,2	0,0	8,3±4,6	16,7±6,2
p= (порівняння першої та другої групи)			0,004	0,001	0,760	0,463
Всього	абс. (n)	74	43	14	7	10
	M±m (%)	100,0	58,1±5,7	18,9±4,6	9,5±3,4	13,5±4,0

Таблиця 2

Експресія матричної металопротеїнази 9 (ММП 9) у лімфатичному вузлі залежно від наявності метастазів

Гістологічний діагноз		Всього (n)	Відсутня	Слабка	Помірна	Висока
1. ПРГ з метастазами (N1-3)	абс. (n)	38	12	8	7	11
	M±m (%)	100,0	31,6±7,5	21,1±6,6	18,4±6,3	28,9±7,4
2. ПРГ без метастазів (N0)	абс. (n)	36	27	0	3	6
	M±m (%)	100,0	75,0±7,2	0,0	8,3±4,6	16,7±6,2
p= (N1-3 та N0)			<0,001	0,019	0,232	0,222
Всього	абс. (n)	74	39	8	10	17
	M±m (%)	100,0	52,7±5,8	10,8±3,6	13,5±4,0	23,0±4,9

мих кореляційних зв'язків із ММП2 ($r = +0,37$; $p < 0,005$) – табл. 1.

Проведено дослідження рівнів експресії молекулярних маркерів матричної металопротеїнази 9 імуноцитохімічним методом у лімфатичних вузлах 74 хворих на рак гортані III-IV стадії. Експресія матричної металопротеїнази 9 визначала-

ся у 35 (47,3 %) пацієнтів, у 39 (52,7 %) осіб експресія відсутня (рис. 2).

Слабкий рівень експресії визначався у 8 (10,8±3,6 %) пацієнтів, помірний – у 10 (13,5±4,0 %) та високий – у 17 (23,0±4,9 %) осіб. У групі хворих на рак гортані з метастазами експресія матричної металопротеїнази 9 була відсут-

тня у 12 (31,6±7,5 %) пацієнтів, слабка експресія – у 8 (21,1±6,6 %) хворих, помірна – у 7 (18,4±6,3 %), сильна експресія спостерігалася в 11 (28,9±7,4 %) пацієнтів.

У другій групі хворих на рак гортані без метастазів експресія матриксної металопротеїнази 9 була відсутня у 27 (75,0±7,2 %) осіб, слабка експресія – у жодного пацієнта, помірна – у 3 (8,3±4,6 %), сильна експресія спостерігалась у 6 (16,7±6,2 %) осіб.

При проведенні порівняльного статистичного дослідження матриксної металопротеїнази 9 прогностичне значення показників експресії молекулярних маркерів пухлини відносно регіонарного метастазування визначено наявністю прямих кореляційних зв'язків із ММП9 ($r = +0,36$; $p \leq 0,02$) – табл. 2.

Висновки

1. При імуноцитохімічному дослідженні рівня експресії матриксної металопротеїнази 2 у хворих на плоскоклітинний рак гортані позитивна експресія визначається у 31 пацієнта (41,9 %); при дослідженні матриксної металопротеїнази 9 – у 35 пацієнтів (47,3 %).

2. У хворих на рак гортані з регіонарними метастазами показники експресії молекулярних маркерів були вищими у 2,4 раза (матриксна металопротеїназа 2) та 2,9 (матриксна металопротеїназа 9). Прогностичне значення показників експресії молекулярних маркерів пухлини відносно регіонарного метастазування визначено наявністю прямих кореляційних зв'язків із ММП2 ($r = +0,37$; $p < 0,005$) та ММП9 ($r = +0,36$; $p \leq 0,02$).

3. Для прогнозування розвитку метастазів у хворих на рак гортані рекомендується проводити імуноцитохімічне дослідження із застосуванням

прогностичних маркерів матриксної металопротеїнази 2 та матриксної металопротеїнази 9.

Перспективи подальших досліджень направлені на дослідження додаткових молекулярних маркерів для визначення оптимальної лікувально-діагностичної тактики при регіонарних метастазах раку гортані.

Література

1. Рак в Україні, 2011-2012. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / [Федоренко З.П., Гулак Л.О., Михайлович Ю.Й. та ін.]; за ред. проф. І.Б. Щепотіна // Бюл. нац. канцерреєстру України. – К., 2013. – С. 119.
2. Head and Neck Cancer Multimodality Management / [Jacques Bernier et al.] – NY.: Springer, 2011. – 709 p.
3. Prognostic biological features in neck dissection specimens / J.A. Woolgar, A. Triantafyllou, J.S. Lewis Jr [et al.] // Eur. Arch. Otorhinolaryngology. – 2013. – Vol. 270 (5). – P. 1581-1592.
4. The evolving role of selective neck dissection for head and neck squamous cell carcinoma / K.T. Robbins, A. Ferlito, J.P. Shah [et al.] // Eur. Arch. Otorhinolaryngology. – 2013. – Vol. 270 (4). – P. 1195-1202.
5. Management of Clinically Negative Neck in Early Head and Neck Cancersю / Juan P. Rodrigo, Jatin P. Shah, Carl E. Silver [et al.] // Head and Neck. – 2011. – Vol. 33(8). – P. 1209-1219.
6. Clinical Evaluation of a New Molecular Method for Detection of Micrometastases in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma / Carol G. Shores, MD, PhD; Xiaoying Yin, MD; William Funkhouser, MD [et al.] // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2004. – Vol. 130, № 8. – P. 937-942.
7. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor upregulates matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and membrane type-1 MMP (MT1-MMP) in human head and neck cancer cells / T. Tomita, M. Fujii, Y. Tokumaru [et al.] // Cancer Letters. – 2000. – Vol. 156. – P. 83-89.
8. A model and nomogram to predict tumor site origin for squamous cell cancer confined to cervical lymph nodes / A.N. Ali, J.M. Switchenko, S. Kim [et al.] // Cancer. – 2014. – Vol. 1. – P. 1-8.

АНАЛИЗ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ 2 И 9 ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКИМ МЕТОДОМ ДИАГНОСТИКИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ГОРТАНИ С РЕГИОНАРНЫМИ МЕТАСТАЗАМИ

А.В. Ковтуненко¹, С.Н. Тымчук², Б.В. Шпортько²

Резюме. В данной работе исследовались уровни экспрессии молекулярных маркеров матриксной металлопротеиназы 2 и матриксной металлопротеиназы 9 у больных раком гортани с регионарными метастазами. Цитологические препараты исследовались с помощью иммуноцитохимического метода. Материал был получен методом тонкоигольной аспирационной биопсии. Определены связи между экспрессией маркера и наличием метастазов. Доказана связь экспрессии молекулярных маркеров матриксной металлопротеиназы 2 и матриксной металлопротеиназы 9 с метастазированием в лимфатические узлы наличием прямых корреляционных связей, что позволяет рекомендовать исследования данных маркеров в качестве факторов наличия метастазов плоскоклеточного рака гортани в регионарные лимфатические узлы шеи.

Ключевые слова: рак гортани, метастазы, иммуноцитохимическое исследование, матриксная металлопротеиназа 2, матриксная металлопротеиназа 9.

ANALYSIS OF MATRIX METALLOPROTEINASES 2 AND 9 EXPRESSION RATE BY MEANS OF IMMUNOCYTOCHEMICAL DIAGNOSTIC TECHNIQUE IN PATIENTS WITH LARYNX CANCER WITH REGIONAL METASTASES

O.V. Kovtunenکو¹, S.M. Tymchuk², B.V. Shportko²

Abstract. In this study we investigated the expression levels of molecular markers of matrix metalloproteinase 2 and matrix metalloproteinase 9 in patients with larynx cancer with regional metastases. Cytological specimens were examined by means of immunocytochemical technique. The material was obtained by fine-needle aspiration biopsy. A relationship

between the expression of the marker and the presence of metastases has been established. A link between the expression of molecular markers of matrix metalloproteinase 2 and matrix metalloproteinase 9 with metastasis to lymph nodes in a direct correlation has been proved which allows us to recommend the study of these markers as factors in the metastatic squamous cell carcinoma of the larynx in the regional lymph nodes in the neck.

Key words: larynx cancer, metastases, immunocytochemical study, matrix metalloproteinase 2, matrix metalloproteinase 9.

¹State institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine"

²Public institution "Mechnikov Dnipropetrovsk Regional Clinical Hospital"

Рецензент – д. мед. н. С.А. Левицька

Buk. Med. Herald. – 2014. – Vol. 18, № 4 (72). – P. 51-55

Надійшла до редакції 06.10.2014 року

© О.В. Ковтуненко, С.М. Тимчук, Б.В. Шпортько, 2014

УДК 616.008.9:577.175.722]:616.124.2-092:616.12-008.331.1]-055.1

М.Ю. Колесник

ВПЛИВ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН МІОКАРДА ЛІВОГО ШЛУНОЧКА У ЧОЛОВІКІВ ІЗ НЕУСКЛАДНЕНОЮ АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

Запорізький державний медичний університет

Резюме. Проаналізовано вплив інсулінорезистентності на структурно-функціональний стан міокарда в 172 чоловіків із неускладненою артеріальною гіпертензією. Встановлено, що для хворих із високою інсулінорезистентністю (індекс НОМА вище медіани) характерно збільшення розмірів лівого передсердя та схильність до концентричного ремоделювання лівого шлуночка.

Пацієнти з високими значеннями індексу інсулінорезистентності мають ехокардіографічні ознаки підвищення тиску наповнення лівого шлуночка після фізичного навантаження.

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, інсулінорезистентність, лівий шлуночок.

Вступ. Серцева недостатність (СН) становить одну з найактуальніших проблем сучасної кардіології. На разі значна частина хворих з ознаками недостатності кровообігу (від 40 до 71 %) мають, як правило, збережену фракцію викиду лівого шлуночка (ЛШ) [5]. У цих пацієнтів на перший план виходять порушення діастолічної функції, які часто реєструються у хворих з артеріальною гіпертензією (АГ) та цукровим діабетом (ЦД).

Інсулінорезистентність (ІР) є провідним патогенетичним механізмом ЦД та існує задовго до маніфестації хвороби. Наявність цього патологічного стану спостерігається також у багатьох пацієнтів з ізольованою АГ та вважається незалежним предиктором розвитку серцевої недостатності (СН) [8]. Найбільш поширеним способом діагностики ІР вважається розрахунок індексу Homeostasis Model Assessment (НОМА). Значення більше 2,77 вважається патологічним. У попередніх роботах встановлено, що наявність ІР призводить до погіршення параметрів діастолічної функції ЛШ [7]. Але відкритим є питання впливу вираженості ІР на структурно-функціональний стан серця. Відомо, що збільшення індексу НОМА на кожну одиницю прогресивно підвищує ризик маніфестації як ЦД, так і кардіоваскулярних захворювань [6].

Мета дослідження. Встановити вплив інтенсивності ІР на структурно-функціональний стан міокарда ЛШ у чоловіків з неускладненою АГ.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на базі навчально-наукового медичного центру «Університетська клініка» Запорізького державного медичного університету. До роботи залучили 172 хворих на АГ II стадії. Критеріями залучення були наявність синусового ритму, здатність виконати пробу із фізичним навантаженням, значення індексу НОМА $\geq 2,77$, відсутність прийому антигіпертензивної терапії.

До критеріїв виключення відносили вторинні АГ, ішемічну хворобу серця, природжені та набуті вади серця, кардіоміопатії, цукровий діабет, хронічні захворювання легень, активні інфекційні та онкологічні хвороби, фракцію викиду ЛШ менше 45%, швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) менше 60 мл/хв за формулою MDRD. Всі пацієнти давали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні. Проведення роботи погоджено з локальним етичним комітетом.

Пацієнтам проводили загальноклінічне та лабораторне обстеження згідно з уніфікованим клінічним протоколом «Артеріальна гіпертензія» (Наказ МОЗ № 384 від 24.05.2012). Усім учасникам дослідження проводили добовий моніторинг артеріального тиску (АТ) за допомогою