

Фундаментальні дослідження

УДК: 611.08: 616.441-006.6+006.55

РОЛЬ СПАДКОВОСТІ В ЕКСПРЕСІЇ МАРКЕРІВ АПОПТОЗУ ТА КЛІТИННОЇ ПРОЛІФЕРАЦІЇ ПРИ ТИРЕОЇДНОМУ РАКУ

*О.В. Мужичук¹, Н.І. Афанасьєва², В.В. Мужичук³, В.І. Старіков¹, Ю.О. Вінник⁴,
В.В. Михалицин⁴*

¹Харківський національний медичний університет, Україна

²Державна установа «Інститут медичної радіології імені С.П. Григор'єва АМН України», м. Харків, Україна

³Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

⁴Харківський обласний клінічний онкологічний центр, Україна

Досліджено 128 зразків тканини вилученої щитовидної залози. У всіх випадках діагностований диференційований тиреоїдний рак. У зрізах вивчали експресію p53, p21^{WAF1/CIP1} та p63 з аналізом показників залежно від наявності й виду обтяженої спадковості. Встановлено, що експресія досліджуваних маркерів у пухлинній тканині хворих на диференційований тиреоїдний рак, що мали здорових родичів знаходиться на найнижчому рівні. У пацієнтів, родичі яких страждали на різноманітну тиреоїдну неонкологічну патологію показники експресії були вище. Найбільші показники експресії маркерів спостерігалися у хворих з обтяженою онкологічною спадковістю.

В параканкротній тканині тенденції щодо зміни експресії маркерів апоптозу та проліферації при обтяженій спадковістю хоча й були менш виразними, але мали подібні риси зі злоякісними пухлинами. Цей факт свідчить, що молекулярно-генетичні порушення відзначають не тільки в пухлинних, але й у немалігнізованих клітинах, що можливо свідчить на користь гіпотези, що наслідком таких порушень може бути виникнення злоякісної пухлини.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: рак щитовидної залози, маркери p53, p21^{WAF1/CIP1}, p63

РОЛЬ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ В ЕКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА И КЛЕТОЧНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ ПРИ ТИРЕОИДНОМ РАКЕ

*А.В. Мужичук¹, Н.И. Афанасьева², В.В. Мужичук³, В.И. Стариков¹, Ю.А. Винник⁴,
В.В. Михалицин⁴*

¹Харьковский национальный медицинский университет, Украина

²Государственное учреждение «Институт медицинской радиологии имени С.П. Григорьева АМН Украины», г. Харьков

³Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

⁴Харьковский областной клинический онкологический центр, Украина

Исследовано 128 образцов ткани удаленной щитовидной железы. Во всех случаях диагностирован дифференцированный тиреоидный рак. В срезах изучали экспрессию p53, p21^{WAF1/CIP1} и p63 с анализом показателей в зависимости от наличия и вида отягощенной наследственности. Установлено, что экспрессия исследуемых маркеров в опухолевой ткани больных дифференцированным тиреоидным раком, имевших здоровых родственников находится на наиминимальном уровне. У пациентов, родственники которых страдали на различную тиреоидную неонкологическую патологию, показатели экспрессии были выше. Наибольшие показатели экспрессии маркеров наблюдались у больных с отягощенной онкологической наследственностью.

В параканкротной ткани тенденции относительно изменения экспрессии маркеров апоптоза и пролиферации при отягощенной наследственности хотя и были менее выраженными, но имели сходные черты со злокачественными опухолями. Этот факт свидетельствует, что молекулярно-генетические нарушения отмечают не только в опухолевых, но и в немалігнізованных клетках, что очевидно свидетельствует в пользу гипотезы о том, что следствием таких нарушений может быть возникновение злокачественной опухоли.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рак щитовидной железы, маркеры p53, p21^{WAF1/CIP1}, p63

THE ROLE OF HEREDITY IN APOPTOSIS AND CELL PROLIFERATION MARKERS EXPRESSION IN THYROID CANCER

A.V. Muzhychuk¹, N.I. Afanasyeva², V.V. Muzhychuk³, V.I. Starikov¹, Y.A. Vinnik⁴, V.V. Michalycyn⁴

¹Kharkiv National Medical University, Ukraine

²State establishment «S.P. Grigoriev Institute for medical radiology academy of medical science of Ukraine», Kharkov

³V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

⁴Kharkiv regional oncology clinic, Ukraine

128 samples of removed thyroid gland tissue were studied. In all cases differentiated thyroid cancer was diagnosed. We analyzed the results of immunohistochemical staining for p53, p21^{WAF1/CIP1} and p63 and the correlation with presence and type of patients burdened heredity. Established, that the expression of studied markers in tumor of patients, which had a healthy family, was at lowest level. The expression rates were higher in patients whose relatives had various non-neoplastic thyroid pathology. The highest rates of markers expression observed in patients with cancer burdened heredity.

In paratumor tissue the trends of markers expression changes in patients with burdened heredity, although were less pronounced, but had similarities with malignant tumors. It indicates that the molecular-genetic disorder is occurring not only in tumor but also in nonmalignant cells. This fact obviously is in favor of the hypothesis that the effect of such disorders may be the malignant tumor appearance.

KEY WORDS: thyroid cancer, markers p53, p21^{WAF1/CIP1}, p63

Однією з найбільш поширених пухлин ендокринної системи є рак щитовидної залози (РЩЗ) [1, 2]. Останнім часом в Україні спостерігається значний приріст захворюваності на цю патологію. [3-5].

Однією з причин виникнення злоякісних пухлин взагалі, та тиреоїдного раку зокрема, є порушення в генетичному апараті клітини з накопиченням численних мутацій у генах [6]. Найважливішим антионкогеном чи геном-супресором росту пухлини є ген p53. Він забезпечує стабільність багатоклітинного організму та здатен активувати або репресувати транскрипцію великої кількості генів. Зокрема їм активується p21^{WAF1/CIP1} – низькомолекулярний інгібітор циклін-залежних кіназ з сімейства CIP/KIP [7]. І якщо p53 розглядають як «страж геному», то щодо ролі його гомологу p63 в канцерогенезі (зокрема тиреоїдному) думка неоднозначна. [8].

В більшості випадків пухлини, розвиток яких пов'язаний з мутаціями або пошкодженнями в генетичному матеріалі, є спадковими. У випадку мутації в генах-супресорах, кожна клітина організму має лише одну непошкоджену копію цього гену. При спорадичній мутації в гомологічному гені, яка може бути викликана як ендо-, так і екзогенним фактором, відбувається виникнення трансформованої клітини, яка дає початок пухлинному клону [9].

Відомо, що патологія щитовидної залози в певному відсотку випадків є спадково детермінованою. Причому це стосується як злоякісних пухлин, так і доброякісних патологічних процесів [10].

Робота виконана в рамках НДР «Вивчення особливостей клінічного перебігу тиреоїдного раку на тлі доброякісної тиреоїдної патології та її вплив на розвиток раку щитовидної залози» (№ державної реєстрації ОК

0301U000169).

Мета роботи: оцінка експресії біомолекулярних маркерів p53, p21^{WAF1/CIP1}, p63 в пухлинній та параканкротній тканинах диференційованих форм тиреоїдного раку залежно від агрегації онкологічної та тиреоїдної доброякісної патології в родовах хворих.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Досліджено тканину видаленої щитовидної залози 128 хворих на диференційований рак. З них у 26 хворого в родоводі спостерігали різноманітну тиреоїдну неонкологічну патологію. Родичі 21 хворого страждали на різні онкологічні захворювання. Решта (82) хворих обтяженої спадковості не мала. Слід зазначити, що у 1 хворого в родоводі були випадки як злоякісних захворювань, так і тиреоїдної неонкологічної патології.

Видалену тканину фіксували у 10,0% розчині нейтрального забуференого формаліну. Гістологічні зрізи товщиною 4-5 мкм. забарвлювали гематоксилином та еозином. Імуногістохімічне виявлення p53, p21^{WAF1/CIP1} та p63 проводили на депарафінованих зрізах товщиною 4-5 мкм, із попереднім демаскуванням антигену у цитратному буфері (pH 6,0) у мікрохвильовій печі протягом 10 хв. Для візуалізації продуктів реакції застосовували систему En Vision (Dako Cytomation). В якості первинних антитіл використовували моноклональні антитіла до p21^{WAF1/CIP1} (клон SX118), p53 (клон DO-7), p63 (клон 4A 4). Інкубацію з первинними антитілами проводили протягом 18 годин. Ідентифікація реакції проводилась за допомогою хромогену 3,3'-діамінобензидин тетрагексифториду (DAB, Dako Cytomation). Зрізи контрастували за допомогою гематоксилина Майєра. Оцінку результатів імуногістохімічного забарвлення проводили за допомогою світлового мікро-

скопа (збільшення $\times 1250$, масляна імерсія). Результати імуногістохімічних реакцій оцінювали шляхом підрахунку відсотка позитивно забарвлених клітин (індекс мітки – ІМ) із різною інтенсивністю, яку оцінювали візуально. У кожному випадку аналізували від 800 до 1000 епітеліальних клітин. Отримані дані оцінювали за такими параметрами: для p53 $ІМ < 10,0\%$ – низький рівень експресії, $10,0\% \leq ІМ < 30,0\%$ – високий рівень, $ІМ \geq 30,0\%$ – гіперекспресія; для p21^{WAF1/CIP1} $ІМ < 7,0\%$ – низький рівень експресії, $7,0\% \leq ІМ < 15,0\%$ – високий рівень, $ІМ \geq 15,0\%$ – гіперекспресія [11]. Експресію p63 оцінювали за принципом її наявності [12]. Експресію зазначених маркерів вивчали як у пухлинній тканині, так і в її безпосередньому оточенні – параканкротній тканині.

Всі статистичні розрахунки і порівняння проводили після попереднього підтвердження нормальності розподілення даних за критеріями Д'агостіно ексцес та Д'агостіно асиметрія методами параметричної статистики з визначенням середніх арифметичних величин (М), їх середніх похибок (m) та t-критерію Ст'юдента [13].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

При аналізі експресії білка p53 встановлено, що у хворих на диференційований рак щитовидної залози (ДРЩЗ) з відсутністю обтяженої спадковості ІМ p53 був вірогідно нижчим, ніж у групах з онкологічною та тиреоїдною неонкологічною патологією в родовах (табл. 1).

Таблиця 1
Експресія p53 у хворих на ДРЩЗ залежно від наявності обтяженої спадковості та її виду (М \pm m)

Вид патології родичів	Число хворих, n	Показники експресії p53			
		ІМ, %	Рівень експресії		%
			Низький, % випадків	Високий або гіпер-експресія, % випадків	
Відсутня	82	3,04 \pm 0,63	81,71 \pm 4,27	18,29 \pm 4,27	53,29 \pm 5,51
Пухлинна	21	10,19 \pm 2,37*	47,62 \pm 10,90*	52,38 \pm 10,90*	84,38 \pm 7,92*
Тиреоїдна неонкологічна	26	6,92 \pm 1,26*	69,23 \pm 9,05	30,77 \pm 9,05	67,77 \pm 9,17

Примітка:

* – відмінності вірогідні ($p < 0,01$) порівняно з аналогічними показниками при відсутності обтяженої спадковості

В той же час, частота реєстрації експресії p53 в пухлинній тканині ДРЩЗ у хворих, що мали здорових родичів, була вірогідно меншою ніж в групі з обтяженою онкологічною спадковістю. Порівняно з пацієнтами, які мали в родовах тиреоїдну неонкологічну патологію, цій показник також мав тенденцію до зниження.

Низькі показники рівня експресії p53 у хворих на ДРЩЗ зі здоровими родичами спостерігали вірогідно частіше, ніж у групі з обтяженою онкологічною спадковістю. Так само, висока експресія p53 найчастіше від-

значалась в хворих з онкологічною патологією в родовах. Другою за частотою високої експресії p53 була група хворих на ДРЩЗ з тиреоїдною неонкологічною патологією у родичів. І найрідше висока експресія p53 спостерігалась в хворих без обтяженої спадковості.

В зв'язку з існуванням двох гістологічних варіантів ДРЩЗ – папілярного (ПР) та фолікулярного (ФР), оцінку експресії p53 в залежності від агрегації обтяженої спадковості в родовах було проведено з урахуванням гістологічної будови пухлини (табл. 2).

Таблиця 2
Експресія p53 у хворих на папілярний та фолікулярний РЩЗ залежно від наявності обтяженої спадковості та її виду (М \pm m)

		Гістологічний варіант пухлини	Вид патології родичів		
			Відсутня	Пухлинна	Тиреоїдна неонкологічна
Число хворих, n		ПР	46	11	15
		ФР	36	10	11
Показники експресії p53	ІМ, %	ПР	2,09 \pm 0,87	13,82 \pm 3,99*	6,20 \pm 1,93
		ФР	5,31 \pm 1,10	6,20 \pm 1,95	6,00 \pm 2,59
	низький, %	ПР	89,13 \pm 4,59	36,36 \pm 14,50*	73,33 \pm 11,42
		ФР	72,22 \pm 7,47	60,00 \pm 15,49	63,64 \pm 14,50
	високий або гіперекспресія, %	ПР	10,87 \pm 4,59	63,64 \pm 14,50*	26,67 \pm 11,42
		ФР	27,78 \pm 7,47	40,00 \pm 15,49	36,36 \pm 14,50
	% позитивних випадків	ПР	51,87 \pm 7,37	89,64 \pm 9,19*	55,67 \pm 12,83
		ФР	54,78 \pm 8,23	77,06 \pm 13,30	74,36 \pm 13,17

Примітка:

* – відмінності вірогідні ($p < 0,01$) порівняно з аналогічними показниками при відсутності обтяженої спадковості

ІМ р53 в усіх хворих на фолікулярний тиреоїдний рак був однаковим і не залежав від наявності в них обтяженої онкологічної чи тиреоїдної неонкологічної спадковості.

На противагу цьому, в хворих на ПР простежувалась залежність експресії р53 від наявності обтяженої спадковості. Найнижчий ІМ р53 спостерігається в групі зі здоровими родичами, далі експресія підвищувалась у хворих з обтяженою тиреоїдною неонкологічною спадковістю, та найбільший показник спостерігається в пацієнтів з онкологічною патологією в родовах.

Щодо відсотка випадків реєстрації експресії р53, серед хворих на ФР в усіх випадках показники між собою практично не відрізнялись.

В той же час за ПР спостерігалась тенденція щодо росту кількості випадків експресії р53 серед хворих від пацієнтів без обтяженої спадковості до хворих з онкологічною патологією в родовах.

Оцінка експресії р53 показала, що у хворих на ФР як низький, так і високий його рівень спостерігався в усіх групах приблизно з однаковою частотою.

У випадках ПР, найчастіше низька експресія р53 спостерігалась при відсутності обтяженої спадковості. Приблизно з такою ж частотою низька експресія цього маркера спостерігалась і у хворих, що мали родичів з тиреоїдною неонкологічною патологією. Але в пацієнтів, з онкологічною патологією в родовах, низький рівень експресії р53 спостерігався найрідше. Аналогічно, високий рівень експресії р53 при ПР найчастіше зустрічали в групі з обтяженою онкологічною спадковістю. У хворих на ПР, що мали родичів з тиреоїдною неонкологічною патологією, частота високої експресії цього маркера зустрічалась значно рідше, а в хворих без обтяженої спадковості – ще рідше.

При вивченні експресії р53, жодного випадку експресії маркера в параканкротній тканині встановлено не було.

При аналогічному аналізі експресії р21^{WAF1/CIP1} було встановлено вірогідне збільшення ІМ цього маркера в параканкротній тканині у хворих з обтяженою як онкологічною, так і тиреоїдною неонкологічною спадковістю порівняно з показником у хворих без її обтяження (табл. 3).

Таблиця 3

Експресія р21^{WAF1/CIP1} у хворих на ДРЦЗ залежно від наявності обтяженої спадковості та її виду (M±m)

Вид патології родичів	Число хворих, n	Показники експресії р21 ^{WAF1/CIP1}			
		ІМ, %	Рівень експресії		% позитивних випадків
			низький, % випадків	високий або гіперекспресія, % випадків	
Відсутня	82	8,27±1,43 ¹	62,20±5,35 ¹	37,80±5,35 ¹	42,68±5,46 ¹
Пухлинна	21	19,52±4,14 ¹	23,81±9,29 ³	76,19±9,29 ³	76,19±9,29 ³
Тиреоїдна неонкологічна	26	16,62±1,77 ²	23,08±8,26 ³	76,92±8,26 ³	76,92±8,26 ³

Примітка:

* – відмінності вірогідні (1 – p<0,02; 2 – p<0,01; 3 – p<0,001) порівняно з аналогічним показником в інших групах

При визначенні рівня експресії р21^{WAF1/CIP1} встановлено, що його низький рівень експресії в пацієнтів, що мали здорових родичів, спостерігали вірогідно частіше, а високий рівень або гіперекспресію маркера – вірогідно рідше, ніж у хворих з обома видами обтяженої спадковості.

Так само серед хворих з наявністю обох видів обтяженої спадковості частота реєстрації експресії р21^{WAF1/CIP1} була вірогідно вищою, ніж за її відсутності.

Аналогічно експресії р53, оцінку експресії р21^{WAF1/CIP1} залежно від агрегації обтяженої спадковості в родовах хворих на ДРЦЗ було проведено з урахуванням гістологічної будови пухлини (табл. 4).

В обох групах хворих на ПР з наявністю обтяженої спадковості ІМ р21^{WAF1/CIP1} був вірогідно вищим, ніж у пробандів за здоровими родичами.

У випадку ФР, ІМ р21^{WAF1/CIP1} в усіх хво-

рих, незалежно від наявності обтяженої спадковості та її виду статистично не відрізнявся.

Щодо рівня експресії р21^{WAF1/CIP1}, його низький рівень або відсутність експресії у хворих на ПР, які мали здорових родичів, спостерігали вірогідно частіше, а високий рівень та гіперекспресію маркера – відповідно рідше, ніж в групах з обтяженою онкологічною та тиреоїдною неонкологічною спадковістю.

Низький рівень експресії р21^{WAF1/CIP1} за ФР також найчастіше спостерігався у хворих без обтяженої спадковості. Найрідше низький рівень маркера спостерігали при обтяженій тиреоїдній неонкологічній спадковості. Приблизно з тією ж частотою низький рівень експресії р21^{WAF1/CIP1} був зафіксований у хворих на ФР з онкологічною патологією в родовах.

Таблиця 4

Експресія p21^{WAF1/CIP1} у хворих на папілярний та фолікулярний РЩЗ залежно від наявності обтяженої спадковості та її виду (M±m)

		Гістологічний варіант пухлини	Вид патології родичів		
			Відсутня	Пухлинна	Тиреоїдна неонкологічна
Число хворих, n		ПР	46	11	15
		ФР	36	10	11
Показники експресії p21 ^{WAF1/CIP1}	ІМ, %	ПР	10,91±2,10*	28,45±6,99 ¹	22,40±3,54 ²
		ФР	4,89±1,22	9,70±2,38	9,45±2,20
	низький, %	ПР	56,52±7,31*	9,09±4,39 ³	13,33±8,78 ³
		ФР	69,44±7,68*	40,00±15,49	36,36±14,50 ¹
	високий або гіперекспресія, %	ПР	43,48±7,31*	90,91±8,67 ³	86,67±8,78 ³
		ФР	30,56±7,68*	60,00±15,49	63,64±14,50 ¹
	% позитивних випадків	ПР	52,17±7,37*	90,91±8,67 ²	86,67±8,78 ²
		ФР	30,56±7,68*	60,00±15,49	63,64±14,50 ¹

Примітка:

* – відмінності вірогідні (¹ – p<0,05; ² – p<0,01; ³ – p<0,001) порівняно з аналогічним показником

Високий рівень та гіперекспресію p21^{WAF1/CIP1} у хворих на ФР, що мали здорових родичів, спостерігали в третині випадків, а в групах з обтяженою пухлинною та тиреоїдною неонкологічною спадковістю – в 2 рази частіше.

Щодо відсотка випадків реєстрації експресії p21^{WAF1/CIP1} серед хворих, то при ПР за наявності обтяженої онкологічної та тиреоїдної неонкологічної спадковості цей показник був приблизно на одному рівні, та вірогідно вище, ніж в пацієнтів, що мали здорових родичів.

Відсоток виявлення експресії цього ж маркера за ФР у хворих з обтяженою тиреоїдною неонкологічною спадковістю приблизно дорівнював показникові в групі з обтяженою онкологічною, та був втричі більшим, ніж у хворих, що мали здорових родичів. Разом з дослідженням експресії p21^{WAF1/CIP1} в пух-

линній, нами було вивчено експресію маркера в параканкротній тканині залежно від агрегації онкологічної та тиреоїдної патології в родовах пробандів.

ІМ цього маркера в параканкротній тканині пацієнтів, які мали здорових родичів, був в декілька разів меншим за показники у хворих з обтяженою онкологічною та тиреоїдною неонкологічною спадковістю (табл. 5). У хворих з обома видами обтяженої спадковості відсоток випадків реєстрації експресії p21^{WAF1/CIP1} в параканкротній тканині значно перевищував такий в групі з її відсутністю.

У зв'язку з розбіжностями в експресії p21^{WAF1/CIP1} у хворих на папілярний та фолікулярний раки було вивчено його експресію в параканкротній тканині залежно від агрегації обтяженої спадковості в родовах при кожному гістологічному варіанті пухлини окремо (табл. 6).

Таблиця 5

Експресія p21^{WAF1/CIP1} в параканкротній тканині хворих на ДРЩЗ залежно від наявності обтяженої спадковості та її виду (M±m)

		Гістологічний варіант пухлини	Вид патології родичів		
			Відсутня	Пухлинна	Тиреоїдна неонкологічна
Число хворих, n			82	21	26
Показники експресії p21 ^{WAF1/CIP1}	ІМ, %		0,22±0,18*	1,48±0,59 ¹	1,19±0,51
	% позитивних випадків		6,10±2,64*	23,81±9,29	30,77±9,05 ²

Примітка:

* – відмінності вірогідні (¹ – p<0,05; ² – p<0,02), порівняно з аналогічним показником в іншій групі.

Таблиця 6

Експресія p21^{WAF1/CIP1} в параканкротній тканині хворих на папілярний та фолікулярний РЩЗ залежно від наявності обтяженої спадковості та її виду (M±m)

		Гістологічний варіант пухлини	Вид патології родичів		
			Відсутня	Пухлинна	Тиреоїдна неонкологічна
Число хворих, n		ПР	46	11	15
		ФР	36	10	11
Показники експресії p21 ^{WAF1/CIP1}	ІМ, %	ПР	0,07±0,06*	0,91±0,80	1,80±0,77 ¹
		ФР	0,42±0,31	2,10±1,08	0,27±0,20
	% позитивних випадків	ПР	4,35±3,01*	18,18±11,63	40,00±13,09 ²
		ФР	8,33±4,61	30,00±14,49	18,18±11,63

Примітка:

* – відмінності вірогідні (¹ – p<0,05; ² – p<0,02), порівняно з аналогічним показником в іншій групі

Так експресія p21^{WAF1/CIP1} в параканкротній тканині хворих на ПР без обтяженої спадковості спостерігалась в поодиноких випадках та на незначному рівні. В той же час, в групі з обтяженою онкологічною спадковістю спостерігалась тенденція щодо збільшення ІМ p21^{WAF1/CIP1}. Цей показник в параканкротній тканині хворих з обтяженою тиреоїдною неонкологічною спадковістю був на найвищому рівні.

При фолікулярному раку ІМ p21^{WAF1/CIP1} в параканкротній тканині при відсутній обтяженій спадковості був приблизно на тому ж рівні, що в групі з тиреоїдною неонкологічною патологією в родовах. Разом з тим у хворих з обтяженою онкологічною спадковістю цей показник мав тенденцію до збільшення порівняно з іншими групами.

Серед хворих на ПР зі здоровими родичами, відсоток випадків реєстрації експресії p21^{WAF1/CIP1} в параканкротній тканині спостерігали значно рідше, ніж при наявності обтяженої онкологічної і особливо тиреоїдної неонкологічної спадковості.

Серед хворих на ФР, що мали здорових родичів, спостерігалась аналогічна тенденція щодо зниження частоти випадків позитивної експресії p21^{WAF1/CIP1} в параканкротній тканині порівняно з іншими групами.

З урахуванням можливої проканцерогенної дії p63, його експресія як в пухлинній, так і в параканкротній тканинах також була вивчена залежно від агрегації онкологічної та тиреоїдної патології у родовах хворих на ДРЦЗ.

При визначенні експресії p63 було встановлено її наявність в пухлинній тканині лише при папілярному раці.

Тому, зрозуміло, вивчення залежності експресії p63 в пухлинній тканині від наявності обтяженої спадковості проводилось лише всередині групи хворих на ПР (табл. 7).

Як видно з наведених даних, ІМ p63 в пухлинній тканині хворих на ПР, що мали здорових родичів не відрізнявся від показника в групах з обома видами обтяженої спадковості.

Таблиця 7

Експресія p63 в хворих на ПРЦЗ залежно від наявності обтяженої спадковості та її виду (M±m)

		Вид патології родичів		
		Відсутня	Пухлинна	Тиреоїдна неонкологічна
Число хворих, n		46	11	15
Показники експресії p63	ІМ, %	7,04±3,00	10,45±3,19	6,07±1,62
	% позитивних випадків	52,17±7,37*	81,82±11,63 ¹	73,33±11,42

Примітка:

* – відмінності вірогідні (p<0,05) порівняно з аналогічним показником в групі з обтяженою онкологічною спадковістю

Встановлено, що частота реєстрації експресії p63 серед хворих на ПР без обтяженої спадковості була найрідшою. Тенденція щодо збільшення відсотку хворих з наявною експресією цього маркера в пухлині спостерігалась в групі з тиреоїдною неонкологічною патологією в родовах. Наявність експресії p63 спостерігали вірогідно найчастіше (p<0,05) серед пацієнтів з обтяженою онкологічною спадковістю порівняно з групою

хворих, що мали здорових родичів.

Експресію p63 в параканкротній тканині спостерігали при обох гістологічних варіантах ДРЦЗ.

У хворих з обтяженою онкологічною та тиреоїдною неонкологічною спадковістю простежувалась незначна тенденція щодо збільшення цього показника порівняно з пробандами без обтяженої спадковості (табл. 8).

Таблиця 8

Експресія p63 в параканкротній тканині хворих на ДРЦЗ в залежності від наявності обтяженої спадковості та її виду (M±m)

		Вид патології родичів		
		Відсутня	Пухлинна	Тиреоїдна неонкологічна
Число хворих, n		82	21	26
Показники експресії p63	ІМ, %	0,45±0,20	1,19±0,71	1,65±1,11
	% позитивних випадків	14,63±3,90	19,05±8,57	19,23±7,73

Аналогічна картина склалася і з частотою випадків виявлення позитивної експресії p63 в параканкротній тканині.

При розподілу хворих за гістологічним варіантом пухлини (табл. 9) було з'ясовано,

що при ПР з наявною онкологічною та різноманітною тиреоїдною неонкологічною патологією в родовах, ІМ p63 мав тенденцію до збільшення в порівнянні з хворими, що мали здорових родичів.

Експресія p63 в параканкротній тканині хворих на папілярний та фолікулярний РЩЗ залежно від наявності обтяженої спадковості та її виду (M±m)

		Гістологічний варіант пухлини	Вид патології родичів		
			Відсутня	Пухлина	Тиреоїдна неонкологічна
Число хворих, n		ПР	46	11	15
		ФР	36	10	11
Показники експресії p63	ІМ, %	ПР	0,39±0,30	2,27±1,20	2,80±1,69
		ФР	0,53±0,35	0,0±0,0	0,09±0,09
	% позитивних випадків	ПР	15,22±5,30	36,36±14,50	26,67±11,42
		ФР	13,89±5,76	0,0±0,0	9,09±8,67

Східна картина була також при підрахунку частоти виявлення випадків з наявною експресією маркеру.

На протигагу цьому, при ФР збільшення показників експресії p63 залежно від наявності онкологічної чи тиреоїдної патології в родовах встановлено не було.

Таким чином встановлено, що експресія всіх досліджуваних маркерів в пухлинній тканині хворих на ДРЩЗ, які мали здорових родичів знаходиться на найнижчому рівні. Разом з тим, у пацієнтів, родичі яких страждали на різноманітну тиреоїдну неонкологічну патологію показники експресії підвищувалися. Найбільші ж показники експресії маркерів спостерігались у хворих з обтяженою онкологічною спадковістю. Зазначені зміни в експресії маркерів були більш значущими при папілярному раці.

В параканкротній тканині тенденції щодо зміни експресії маркерів апоптозу та проліферації при обтяженій спадковістю хоч і є менш виразними, але мають схожі риси зі злоякісними пухлинами, особливо при ПР. Цей факт свідчить, що молекулярно-генетичні порушення відзначають не тільки у пухлинних, але і в немалігнізованих клітинах. Це, вочевидь свідчить на користь підтвердження нашої гіпотези про те, що нас-

лідком таких порушень, при певних умовах може бути виникнення злоякісної пухлини щитовидної залози [14].

ВИСНОВКИ

1. Наявність у хворих на ДРЩЗ обтяженої спадковості несприятливо впливає на експресію маркерів апоптозу та проліферації.
2. Обтяжена тиреоїдна доброякісна та онкологічна спадковість в родоводі хворих на ДРЩЗ супроводжується найвищими показниками експресії маркерів апоптозу та проліферації.
3. Наявність онкологічної патології в родоводі призводить до більш суттєвих змін в експресії маркерів апоптозу та проліферації серед хворих на ДРЩЗ.
4. Особи з доброякісними захворюваннями щитовидної залози, що мають тиреоїдну або онкологічну патологію в родовах, є групою ризику щодо виникнення тиреоїдного раку, особливо його папілярного варіанту.

Доцільним є імуноцитохімічне дослідження зазначених маркерів в пунктаті утворень щитовидної залози у хворих з обтяженою спадковістю.

ЛІТЕРАТУРА

1. Валдина Е.А. Заболевания щитовидной железы / Е.А. Валдина. – Петербург, 2006. – 264 с.
2. Плешков В.Г. Проблемы ранней диагностики и лечения рака щитовидной железы / В.Г. Плешков, С.В. Корнев, В.В. Тугай // Рос. онкол. журнал. – 2002. – № 5. – С.49–55.
3. Федоренко З.П. Національний канцер-реєстр України / З.П. Федоренко, А.Н. Міщенко, Л.О. Гулак [та ін.] // К, 1998. – 117 с.
4. Федоренко З.П. Рак в Україні, 2004-2005. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / З.П. Федоренко, Л.О. Гулак, Є.Л. Горох [та ін.] // Бюлетень національного канцер-реєстру України. – № 7. – К. – 2006. – 96 с.
5. Федоренко З.П. Рак в Україні, 2005-2006. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / З.П. Федоренко, Л.О. Гулак, Є.Л. Горох [та ін.] // Бюлетень національного канцер-реєстру України. – № 87. – К. – 2007. – 96 с.
6. Заридзе Д.Г. Канцерогенез / Д.Г. Заридзе. – М. Медицина, 2004. – 574 с.
7. Bar J. Understanding the role of p53 in cancer / J. Bar, G. Blander, A. Damalas [et al.] // Cancer Research and Therapy. – 2002. – Vol. 92. – P. 174–175.
8. Malaguarnera R. The p53-homologue p63 may promote thyroid cancer progression / R. Malaguarnera, A. Mandarino, E. Mazzon, [et al.] // Endocr Relat Cancer. – 2005. – Vol. 12, № 4. – P. 953–971.
9. Лихтенштейн А.В. Генодиагностика рака: реальность и перспективы. / А.В. Лихтенштейн, Г.И. Потапова // Патол. физиол. эксперим. Терапия. – 2005. – № 1. – С. 2–7.
10. Мужичук А.В. Роль наследственности в течении дифференцированного тиреоидного рака / А.В. Мужичук, Н.И. Афанасьева, В.В. Мужичук // Международный медицинский журнал 2009. – Т. 15, № 3(59). – С. 93–97.
11. Несіна І.П. Дослідження медикаментозної резистентності злоякісних новоутворень ендометрію

- залежно від агрегації пухлинної патології у родовах хворих. /Л.П. Несіна, Л.І. Воробйова, Л.Г. Бучинська // Онкологія. – 2005. – Т. 7, № 3. – С. 201–204.
12. Unger P. Expression of p63 in papillary thyroid carcinoma and in Hashimoto's thyroiditis: a pathobiologic link? / P. Unger, M. Ewart, B.Y. Wang, [et al] // H. Pathology. – 2003. – Vol. 34(8). – P.764-769
 13. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М. Практика, 1999. – 460 с.
 14. Мужичук О.В. Роль структурно-функціонального стану паренхіми щитовидної залози у тиреоїдному канцерогенезі / О.В. Мужичук, Н.І. Афанасьєва // Експериментальна і клінічна медицина. – 2009. – № 2. – С. 47–53.

© Мужичук О.В., Афанасьєва Н.І., Мужичук В.В.,
Старіков В.І., Вінник Ю.О., Михаліцин В.В., 2010

УДК: 577.15.03.04

ВПЛИВ НАДМІРНОГО ХАРЧУВАННЯ В РАНЬОМУ ПЕРІОДІ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗУ НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ БАЛАНС І NO-СИНТАЗНУ АКТИВНІСТЬ В ТКАНИНАХ СТАРИХ ЩУРІВ

Ю.В. Нікітченко, В.М. Дзюба, А.С. Попович, Г.О. Шеремет, В.В. Бондар

Науково-дослідний інститут біології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, Україна

Досліджено особливості змін прооксидантно-антиоксидантного балансу, тиреоїдного статусу та NO-синтазної активності у тканинах 20-місячних щурів, які одержували надмірне харчування протягом першого місяця після народження. Виявлено, що у піддослідних тварин маса тіла, концентрація тироксину, вміст гідроперекисів ліпідів і NO-синтазна активність були вище, ніж у контрольних щурів. При цьому в печінці піддослідних щурів спостерігалось вірогідне зниження Se-залежної глутатіонпероксидазної активності. Припускається, що одними з ключових ланок механізму виживаємості щурів в умовах надмірного харчування можуть бути прооксидантно-антиоксидантна система та тиреоїдний статус.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: надмірне харчування, прооксидантно-антиоксидантний баланс, тиреоїдний статус, NO-синтазна активність, щури

ВЛИЯНИЕ ИЗБЫТОЧНОГО ПИТАНИЯ В РАННЕМ ПЕРИОДЕ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС И NO-СИНТАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ В ТКАНЯХ СТАРЫХ КРЫС

Ю.В. Нікітченко, В.Н. Дзюба, А.С. Попович, А.А. Шеремет, В.В. Бондарь

Научно-исследовательский институт биологии Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина, Украина

Исследованы особенности изменений прооксидантно-антиоксидантного баланса, тиреоидного статуса и NO-синтазной активности в тканях 20-месячных крыс, которые получали избыточное питание в течение первого месяца после рождения. Обнаружено, что у подопытных животных масса тела, концентрация тироксина, содержание гидроперекисей липидов и NO-синтазная активность были выше, чем у контрольных крыс. При этом в печени подопытных крыс наблюдалось достоверное снижение Se-зависимой глутатионпероксидазной активности. Предполагается, что одними из ключевых звеньев механизма выживаемости крыс в условиях избыточного питания могут быть прооксидантно-антиоксидантная система и тиреоидный статус

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: избыточное питание, прооксидантно-антиоксидантний баланс, тиреоидний статус, NO-синтазна активність, крысы

THE EFFECT OF EARLY POSTNATAL OVERNUTRITION ON PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE AND NO-SYNTASE ACTIVITY IN OLD RATS TISSUES

Yu.V. Nikitchenko, V.N. Dzyuba, A.S. Popovich, A.A. Sheremet, V.V. Bondar

Scientific-research Institute of Biology of V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

The peculiarities of changes of prooxidant-antioxidant balance, thyroid status and NO-synthase activity in tissues of 20-month-old rats after overnutrition during first month after birth were investigated. It was found