

Контролем були тварини, які отримували 0,9% розчин натрію хлориду. Щурів виводили з експерименту на 30 добу спостереження. Проведене морфометричне дослідження з високим ступенем вірогідності показало активну реакцію тимуса після застосування препаратів, що виявилось статистично значимими змінами морфометричних параметрів органу.

Ключові слова: тимус, щури, імунофан, циклофосфан.

mg/kg. Animals, was getting 0,9% soluble-sodium chloride, served as a control. Rats were carried out from an experiment on 30 day of supervision. The carried out morphometric research with the high degree of authenticity rotined the active reaction of thymus after drugs application, that showed up by the changes of morphometric parameters of the organ.

Key words: thymus, rats, imunofan, cyclophosphanum.

УДК 616.22-006.61-036.1-078-091.8

АНАЛІЗ ЕКСПРЕСІЇ ОНКОБІЛКА P53 В ПЛОСКОКЛІТИННИХ РАКАХ ГОРТАНІ

О.В. Ковтуненко

Дніпропетровська державна медична академія, Дніпропетровськ

Робота виконана в рамках науково-технічної програми у галузі медицини, та є фрагментом комплексної теми кафедри оториноларингології ДДМА „Розробка нових медичних технологій в діагностиці, лікуванні та профілактиці патології верхніх дихальних шляхів і органу слуху” (Недержреєстрації 019U003630)

Ген p53 є одним із ключових у реалізації механізмів регуляції апоптозу й цілісності геному. Мутацію цього гену знайдено в більшості відомих пухлин людини в тому числі в ПРГ. Саме з мутацією гена p53 пов'язують трансформацію нормальних клітин у пухлинні. За допомогою моноклонального антитіла p53 виявляють продукт діяльності цього гена - онкопротеїн p53. Так званий «дикий» тип p53 в нормі присутній у всіх клітинах, але є нестійким і має період напіврозпаду в кілька хвилин, на відміну від онкобілка p53, який експресується при мутантному p53 та має період напіврозпаду до доби. У зв'язку з цим вважається, що імуногістохімічне виявлення p53 практично повністю пов'язане з мутантним геном. Ген p53 є "захисником" генома, активним "реаніматором" ДНК, індуктором апоптозу. При сублетальних ушкодженнях ДНК, які виникають під впливом іонізуючого випромінювання, хімічних речовин і вірусів, він активує білок p21 - інгібітор циклінзалежних кіназ. Підвищення експресії викликає зупинку клітинного циклу в пізній фазі G1. Одночасно запускаються процеси відновлення ДНК. У випадку успішної репарації ДНК з клітини знімається блок і вона може надалі ділитися й функціонувати у звичайному режимі. У разі неможливості відновлення ДНК, ген p53 через активацію каскаду каспаз запускає знищення ушкодженої клітини, тобто апоптоз. Активація p53 супроводжується одночасною зміною експресії генів онтролюючих апоптоз (Bax, bcl-2, циклін E та ін.). Таким чином, відбувається активація відразу декількох шляхів індукції апоптозу, що, очевидно, забезпечує надійність його реалізації [1, 2, 3, 13].

В особливу групу генів-мішеней p53 можна віднести гени, що контролюють ангиогенез. Ключову роль у неоангиогенезі відіграє VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor - фактор росту ендотелію судин), що стимулює розмноження й міграцію ендотеліоцитів. Його експресія підвищується при гіпоксії або активації деяких онкогенів. Ген p53 репресує транскрипцію як гена VEGF, так і гена HIF-1 (Hypoxia Inducing Factor 1) - транскрипційного фактора, що забезпечує підвищення експресії VEGF і його рецепторів у відповідь на зменшення вмісту кисню. Крім того, HIF-1 змінює експресію генів, які контролюють транспорт глюкози й гліколіз, що забезпечує адаптацію клітин до умов гіпоксії [7].

Клітини з активованим p53 гірше переносять недостачу кисню, перестають продукувати VEGF і починають секретувати інгібітори ангиогенезу, що перешкоджає утворенню нових судин. Дані функції є, очевидно, ще однією з пухлино-супресорних дій p53, тому що вони запобігають адаптації до гіпоксії й проростанню судин у центр пухлини [9].

Інактивація онкосупресорної функції гена p53 ("дикого", нормального типу) - універсальний крок у розвитку пухлин людини. Різноманітні мутації p53-"дикого" типу з утворенням p53-мутантного - найбільш часте генетичне порушення, що спостерігається у злоякісних пухлинах. Мутації та інші зміни активності p53 викликають одночасну появу цілого

спектра нових властивостей неопластичної клітини, таких як зниження чутливості до ріст-супресуючих сигналів, іморталізація, підвищення здатності виживати в несприятливих умовах, генетична нестабільність, стимуляція неоангіогенезу, блокування клітинного диференціювання. Це, очевидно, і є поясненням такої високої частоти мутацій p53 у самих різних новоутвореннях і дозволяє за один крок пройти відразу декілька етапів пухлинної прогресії, причому, мутації p53 можуть бути як ініціальною подією, тобто детермінувати початкові етапи канцерогенезу, так і виникати й відбиратися вже у ході росту пухлини, забезпечуючи придбання нових агресивних властивостей і стійкості до терапії [19].

Ген p53 найбільш досліджуваний маркер при ПРГ, але численні дані про його роль досить суперечливі. Мутація й надекспресія p53 зустрічається в раках голови й шиї за різними даними у 43 - 76% випадків [5, 6, 10, 12], частіше чим у пухлинах інших локалізацій, що вказує на домінуючу роль ушкодження цього гена в канцерогенезі. У більшості пацієнтів відзначено зв'язок цих мутацій із тривалим вживанням алкоголю й курінням, причому, останнє має набагато більше значення. Ступінь експресії p53 корелює зі ступенем дисплазії, з найбільш високими значеннями в інвазивних раках [4, 11]. За даними багатьох авторів експресія p53 є одним з найбільш важливих прогностичних факторів у плоскоклітинних раках голови й шиї та свідчить про несприятливий перебіг хвороби, низьку виживаність у зв'язку більш раннім виникненням рецидивів первинної пухлини або розвитком повторно-первинних пухлин, неефективність терапії після повного курсу лікування у цих пацієнтів [14, 18]. Пухлини у пацієнтів з експресією p53 були резистентними до променевої терапії зі зниженням показників загальної виживаності навіть після повного курсу терапії. У зв'язку з цим, пацієнти з p53-позитивними пухлинами мають потребу в індивідуальному підборі терапії й додаткових більш жорстких курсах ад'ювантної терапії й хіміопрофілактики [17].

У ряді досліджень прогностична значущість p53-експресії не була підтверджена, хоча при аналізі численних даних відзначено, що чим більше вибірка хворих у дослідженні, тим частіше підтверджується прогностична важливість досліджуваного маркера [8, 15, 16].

Метою роботи було вивчення експресії онкобілка p53 в плоскоклітинних раках гортані з різним клінічним перебігом захворювання для його подальшого прогнозування та визначення найбільш оптимальних сучасних методів діагностики біологічних властивостей пухлин.

Матеріал та методи дослідження. Проведено ретроспективний аналіз клініко-анатомічного матеріалу 458 хворих, який отримано під час оперативного лікування і діагностичних біопсій з приводу раку гортані III - IV стадій (T3-4N0-3M0) в ЛОР-онкологічному відділенні Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І.І.Мечникова в період з 2001 по 2007р. З них неoad'ювантно отримали курс ПХТ 296 пацієнтів (схема RBMF, TP), передопераційний курс променевої терапії 103 пацієнта, яку проводили на гамма-терапевтичних апаратах типа «Агат-С» і «Рокус-М» в статичному режимі з 2-х полів, що протилежать, розмірами 6x8 і 8x10 см, ритм опромінення 5 фракцій в тиждень по 2 Гр. щодня до сумарної осередкової дози (СОД) 40 Гр. Вік пацієнтів коливався від 30 до 74 років, середній вік складав $55,7 \pm 5,3$ роки.

Для проведення морфологічного дослідження операційний і біопсійний матеріал хворих фіксували в 10% нейтральному формаліні. Для проведення морфологічного дослідження використовували парафінові блоки операційного та біопсійного матеріалу у випадках раку гортані та його метастазів у лімфатичні вузли. Для отримання зрізів використовували мікромом зі станцією прийому зрізів (Microm HM-340), що дозволило готувати серійні зрізи та оцінювати тотожні ділянки пухлинної тканини при подальшому проведенні імуногістохімічних (ІГХ) реакцій. Мікроскопію проводили за допомогою світлового мікроскопа Leica DMLS з використанням об'єктивів $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$.

В нашому дослідженні в якості первинних використовувалися моноклональні антитіла онкопротеїну p53 (клон DO-7, DakoCytomation). Для кожного маркера виконувалися контрольні дослідження з метою виключення помилково-позитивних або помилково-негативних результатів. Титр антитіл підбирався індивідуально для маркера з використанням у якості розчинника спеціального розчину antibody diluent (DakoCytomation). Відповідно до рекомендацій та за нашим досвідом, використовували онкопротеїн p53 готовий до використання розчини RTU (Ready-To-Use). Наступний етап імуногістохімічного дослідження проводили з використанням системи візуалізації останнього покоління EnVision (DakoCytomation). Для оцінки експресії p53 враховувалось тільки специфічне коричневе забарвлення ядер. Незалежно від інтенсивності забарвлення, обчислювався відсоток клітин

з інтрануклеарною реакцією до загальної кількості клітин у середньому за результатами всіх вивчених ділянок. Оцінка експресії p53 здійснювалась за наступною шкалою: негативна реакція – 0-10% позитивно забарвлених клітин; позитивна реакція - більше 10% клітин з імуногістохімічною міткою.

Статистичну обробку матеріалу проводили з використанням варіаційних статистичних методів. Визначення достовірності відмінностей ознак проводили за допомогою параметричних методів та визначення причинно-наслідкових та кореляційних зв'язків між досліджуваними параметрами об'єкту. Показники розраховували за допомогою електронних таблиць, оброблених програмою «Microsoft Office Excel» версія 2007.

Результати дослідження та їх обговорення. При ІГХ реакціях визначення p53 проявлялось як специфічне ядерне забарвлення різного ступеня інтенсивності. Оцінювалась відносна кількість ядер з реакцією на 1000 клітин в різних полях зору. Серед існуючих методик оцінки експресії p53 для різних органів ми користувалися, на наш погляд, найбільш адаптованою для ПРГ, відповідно до якої пухлини, де реакція спостерігалася в 10% і більше клітин, вважались позитивними за статусом по онкобілку p53, менше 10% - p53-негативними.

У нормальному епітелії гортані експресія p53, як правило, не спостерігалась. У ряді випадків відзначалась реакція слабкої інтенсивності в базальному й парабазальному шарах, кількість клітин з реакцією коливалась від 0 до 15%. В епітелії гортані з ознаками гіперплазії та дисплазії експресія спостерігалась частіше, при цьому інтенсивність реакції була як слабкою, так і помірною, а кількість клітин з реакцією в цих зонах досягала 30%.

У клітинах ПРГ експресія p53 виявлялась як специфічне інтрануклеарне забарвлення різної інтенсивності, в основному високої та помірної. Реакція спостерігалась в 0-95% клітин пухлини. У нашому дослідженні більша половина раків (57,6%) мала p53-позитивний статус. У плоскоклітинних зроговілих раках реакція виявлялась, в основному, в клітинах периферичних відділів пухлинних осередків, зроговілі клітини практично завжди, за винятком декількох випадків, не забарвлювались. Периферичний тип реакцій був характерним для високодиференційованих зроговілих ПРГ, у яких експресія p53 спостерігалась тільки в зовнішньому шарі пухлинних комплексів, і тільки зрідка, в більш центральних відділах. У плоскоклітинних раках без ознак зроговіння розподіл клітин з реакцією був більш дифузний, без значних відмінностей між центральними й периферичними ділянками. Крім того, реакцію з p53 у вигляді забарвлення слабкої інтенсивності спостерігали в запальному інфільтраті. Кількість клітин з реакцією коливалась від 0 до 25%. Нами не виявлено залежності експресії p53 в лейкоцитах від виразності запальної інфільтрації, гістологічної будови й ступеня диференціювання ПРГ.

У групі високодиференційованих ПРГ переважними типами забарвлення були помірна й висока інтенсивність, хоча й слабкий варіант зустрічався відносно часто. У зв'язку з більшою кількістю в цій групі зроговілих ПРГ переважним типом забарвлення був периферичний, із часткою клітин центральних ділянок пухлинних осередків, з реакцією від 0 до 35%. У цілому, в цій групі реакція спостерігалася в 0-70% клітин. При цьому кількість p53-позитивних пухлин була трохи нижчою за середні показники.

Серед помірнодиференційованих раків реакція була помірної й частіше високої інтенсивності. Перевага експресії p53 у периферичних відділах пухлинних осередків визначалась тільки в плоскоклітинних зроговілих раках, у той час, як у незроговілих така гетерогенність була не частою подією. Реакція спостерігалась в 0-84% клітин, частота надекспресії p53 у цій групі новоутворень відповідала середнім показникам, і була трохи вище (на 4,8%), ніж в групі високодиференційованих раків, однак ці відмінності не були достовірними (табл. 1).

У групі низькодиференційованих ПРГ реакція виявлялась у вигляді інтенсивного інтрануклеарного забарвлення, і тільки в декількох випадках помірного. Розподіл клітин з реакцією був рівномірним серед пухлинної паренхіми, з невеликим збільшенням їх частки в області вираженого заглибного й інвазивного росту. Загалом, експресія спостерігалася в 0-95% клітин, кількість p53-позитивних раків у цій групі було більше, ніж в загальній популяції. Варто відзначити, що в більшості p53-позитивних низькодиференційованих ПРГ реакція спостерігалася більш ніж в 50% клітин.

Дані таблиці 1 свідчать про помітне збільшення кількості p53-позитивних пухлин у групах відповідно до зниження ступеня диференціювання. Так, серед помірнодиферен-

ційованих пухлин їх більше на 4,8% у порівнянні з високодиференційованими, у той час, як серед раків з низьким ступенем диференціювання їх більше відповідно на 9,8% і 5,0%. Однак ці дані не показали статистично достовірних відмінностей ні між групами 1, 2, 3, ні в порівнянні із середніми показниками ($p > 0,05$). Таким чином, відсутність значущих відмінностей експресії p53 між групами раків різного ступеня диференціювання не дозволяє його використовувати як маркер ступеня диференціювання пухлин. У той же час, значні відмінності в рівні експресії p53 в ПРГ в порівнянні з нормальною й диспластично зміненою слизовою гортані, свідчать про його інформативність, як показника онкотрансформації.

У дослідженні був проведений аналіз експресії онкобілка p53 у пухлинах з уже наявними метастазами в лімфатичні вузли й без таких. Як видно з таблиці 2, частота надекспресії p53 у групі з наявністю метастазів була на 9,6% вище, ніж серед всіх ПРГ й на 21,0%, ніж серед пухлин без метастазів ($p < 0,001$).

Таблиця 1

Експресія онкобілка p53 в ПРГ різного ступеня диференціювання

Гістологічний діагноз	Всього (n)	Позитивна	Негативна
1. Високодиференційовані ПРГ	109	58	51
M±m (%)		53,2±4,8	46,8±4,8
2. Помірnodиференційовані ПРГ	276	160	116
M±m (%)		58,0±3,0	42,0±3,0*
3. Низькодиференційовані ПРГ	73	46	27
M±m (%)		63,0±5,7	37,0±5,7*
Всього	458	264	194
M±m (%)		57,6±2,3	42,4±2,3

* $p \leq 0,001$ при порівнянні показників в групі «Позитивна» - «Негативна».

Таблиця 2

Експресія онкобілка p53 в ПРГ в залежності від наявності метастазів

Гістологічний діагноз	Всього (n)	Позитивна	Негативна
1. ПРГ з метастазами	250	168	82
M±m (%)		67,2±3,0	32,8±3,0**
2. ПРГ без метастазами	208	96	112
M±m (%)		46,2±3,5*	53,8±3,5*
Всього	458	264	194
M±m (%)		57,6±2,3	42,4±2,3

* $p < 0,001$ при порівнянні показників груп 1 та 2.

** $p < 0,001$ при порівнянні показників в групі «Позитивна» - «Негативна».

Визначено прямий кореляційний зв'язок експресії p53 з наявністю метастазів в ПРГ ($r = +0,52$). За даними, отриманими в ході дослідження, ймовірність наявності метастазів у p53-позитивних раках була в 1,5 рази вище, ніж у пухлинах з негативним статусом.

Таблиця 3

Експресія онкобілка p53 в групах ПРГ в залежності від розвитку рецидивів захворювання

Гістологічний діагноз	Всього (n)	Позитивна	Негативна
1. ПРГ з рецидивами	98	64	34
M±m (%)		65,3±4,8	34,7±4,8**
2. ПРГ без рецидивів	360	200	160
M±m (%)		55,6±2,6	44,4±2,6**
Всього	458	264	194
M±m (%)		57,6±2,3	42,4±2,3

** $p < 0,002$ при порівнянні показників в групі «Позитивна» - «Негативна».

Крім того, вивчена експресія p53 у пухлинній тканині метастазів ПРГ в лімфовузлах. Як і в первинній пухлині, в метастазах відзначалася інтрануклеарна реакція переважно високої й помірної інтенсивності. При порівнянні рівня експресії p53 у первинній пухлині й у метастазах відзначені незначні відмінності у ряді випадків, коли кількість клітин з реакцією у метастатичній популяції була на 5-15% вище, ніж у материнській пухлині. У той же час, в ході дослідження не було відмічено випадків відмінного від первинної пухлини статусу метастазу за геном p53, тобто надекспресія в метастазі й відсутність її у первинній пухлині та навпаки.

Отримані дані можна трактувати як підтвердження впливу мутації гену p53 на метастатичні властивості ПРГ, зокрема на раннє метастазування. Дані представлені в таблиці 3 демонструють відмінності в експресії p53 в цих групах хворих. Серед пухлин з рецидивами кількість p53-позитивних з інтенсивною реакцією була на 7,7% більше, ніж серед всіх раків, і на 9,7%, ніж серед пухлин без рецидивів ($p < 0,05$).

Визначено наявність прямого кореляційного зв'язку експресії p53 з раннім розвитком рецидивів в ПРГ ($r = +0,31$). Ймовірність розвитку рецидиву протягом першого року серед раків з надекспресією p53 була в 1,4 рази вище, ніж в p53-негативних пухлинах. Виходячи із представлених матеріалів стає очевидним, що експресія p53 має значний вплив на біологічні властивості ПРГ і його перебіг. Для перевірки нашого припущення щодо впливу гену p53 на властивості ПРГ було проведено вивчення експресії p53 у групах хворих, що одержали різні види неоад'ювантного лікування й мали різний терапевтичний ефект. Отримані дані наведені в таблиці 4. При порівнянні кількості p53-позитивних пухлин у групах пацієнтів, яких лікували хіміотерапевтичними препаратами за стандартною схемою виявлені достовірні відмінності.

Таблиця 4

Експресія онкобілку p53 в ПРГ, що мали різний ефект від проведеного лікування

Гістологічний діагноз	Всього (n)	Позитивна	Негативна
1.1. ПРГ з ефектом від ПХТ	240	109	131
M±m (%)		45,4±3,2	54,6±3,2
1.2. ПРГ без ефекту від ПХТ	56	40	16
M±m (%)		71,4±6,0*	28,6±6,0**
2.1. ПРГ з ефектом від променевої терапії	48	27	21
M±m (%)		56,3±7,2	43,8±7,2
2.2. ПРГ без ефекту від променевої терапії	55	35	20
M±m (%)		63,6±6,5	36,4±6,5**
ПРГ без неоад'ювантного лікування	59	53	6
M±m (%)		89,8±3,9	10,2±3,9**
Всього	458	264	194
M±m (%)		57,6±2,3	42,4±2,3

* $p < 0,05$ при порівнянні показників груп 1.1 та 1.2

** $p < 0,002$ при порівнянні показників в групі «Позитивна» - «Негативна».

Надекспресія p53 серед пухлин, що не мали ефекту від хіміотерапії, зустрічалася на 13,8% частіше, ніж серед всіх раків, і в 1,6 рази частіше, ніж у пухлинах з позитивним ефектом від проведеного хіміотерапевтичного лікування. Визначено зворотний зв'язок між експресією p53 та ефективністю проведеної хіміотерапії ($r = -0,65$). При цьому ймовірність того, що проведена хіміотерапія буде неефективною в p53-позитивних ПРГ була в 1,8 рази вище, ніж у негативних за цим показником пухлинах. У групі раків, що зазнали променевого впливу надекспресія p53 зустрічалася в пухлинах з низьким ефектом терапії, різниця із середніми показниками склала 1,3%, а з радіочутливими пухлинами 6,0%, однак, отримані дані не показали статистично достовірних відмінностей. При порівнянні хворих групи 2, що одержали різне лікування, не виявлено різниці показників експресії p53 ($p > 0,05$). Так, у групі пацієнтів, які відповіли на терапію серед радіочутливих раків p53-позитивний статус зустрічався на 10,9% частіше, ніж у хіміочутливих, а серед радіорезистентних раків на 7,8% рідше в порівнянні з новоутвореннями, що не відповіли на хіміотерапію.

Висновки

1. Виходячи із представлених матеріалів, стає очевидним значний вплив мутації гену p53 на чутливість плоскоклітинних раків гортані до лікування, зокрема до хіміотерапії. Напевно, це пов'язане з порушенням у зв'язку з мутацією гену p53 активації апоптозу, на індукції якого заснована дія традиційних схем хіміотерапії. Тобто наявність надекспресії p53 у ПРГ може свідчити про знижену чутливість до хіміопрепаратів через складності запуску апоптозу в пухлині.
2. Очевидно, що виявлена висока ймовірність розвитку рецидивів у спостереженнях з p53-позитивним статусом частково пов'язана з даною стійкістю до хіміотерапії, а також до променевої терапії. Для останньої не виявлено статистично достовірних відмінностей, хоча певні тенденції в цьому напрямку в нашому дослідженні спостерігалися.
3. При аналізі показників p53 статусу у нашому дослідженні виявлено основні закономірності процесів онкотрансформації у ПРГ. Виявлені значні відмінності в рівнях експресії p53 між

нормальним і диспластично зміненим епітелієм гортані у порівнянні з раками, у той час як розбіжності між пухлинами різного ступеня диференціювання хоча й продемонстрували східчає збільшення експресії, але не були статистично достовірними. Кількість р53-позитивних пухлин була статистично більшою в групі метастатичних пухлин та серед пухлин з епізодом рецидиву, а також у групі раків з відсутнім ефектом від хіміотерапії.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку. Суперечливі дані підтверджують необхідність подальшого вивчення для остаточного з'ясування існування клініко-імунологічних і морфо-імунологічних кореляцій у тканинах хворих на рак гортані з метою можливого використання їх для діагностики, оцінки перебігу й прогнозування пухлинного процесу. Перспективи подальших розробок пов'язані з вивченням додаткових факторів які відображають біологічні властивості плоскоклітинних раків гортані.

Література

1. Копнин Б. П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза / Б. П. Копнин // Биохимия.- 2000.- Т.65.- С.5-33.
2. Копнин Б. П. Опухолевые супрессоры и мутаторные гены в кн. Канце-рогенез / Копнин Б. П. - М.: Научный мир, 2000.- С.86–87.
3. Петров С. В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С. В. Петров, Н. Т. Райхлин. - Казань, 2004.- 456 с.
4. Biomarkers to predict oral squamous cell carcinoma in precancerous stages / M. Sperandio, E. Odell, D. Oliveira, S. Warnakulasurya // Rev. Fac. Odontol. Bauru.- 2002.- Vol.10, №3.- P.63-67.
5. Blons H. TP53 and head and neck neoplasms / H. Blons, P.Laurent-Puig // Human Mutation.- 2003.- Vol.21.- P.252-257.
6. Correlation of expression of Ki-67, EGFR, c-erbB-2, MMP-9, p53, bcl-2, CD34 and cell cycle analysis with survival in head and neck squamous cell cancer / P. Smilek, L. Dusek, K. Vesely [et al.] // J. Exp. Clin. Cancer Res.- 2006.- Vol.25, №4.- P.549-555.
7. Dabbs D. J. Diagnostic immunohistochemistry / Dabbs D. J. - Churchill Livingstone, 2006.- 828 p.
8. Expression of cyclin-dependent kinase inhibitor p21(WAF1) and p53 tumour suppressor gene in laryngeal cancer / J. Jeannon, J. Soames, J. Lunec [et al.] // Clin. Otolaryngol.- 2000.- Vol.25, №1.- P.23-27.
9. Folkman J. Angiogenesis / Folkman J. // Annu. Rev. Med.- 2006.- Vol.57.- P.1-18.
10. Gleich L. L. Molecular genetics of head and neck cancer / L. L. Gleich, F. N. Salamone // Cancer Control.- 2002.- Vol.9, №5.- P.369-378.
11. Hussein M. R. Alterations of p53 and Bcl-2 protein expression in the laryngeal intraepithelial neoplasia / Hussein M. R. // Cancer biology and therapy.- 2005.- Vol.4, №2.- P.213-217.
12. Kyzas P. Selective reporting biases in cancer prognostic factor studies / Kyzas P., Loizou R., Ioannidis J. // Journal of the National Cancer Institute.- 2005.- Vol.97, №14.- P.1043-1054.
13. p53 alterations predict tumor response to neoadjuvant chemotherapy in head and neck squamous cell carcinoma: a prospective series / A. Cabelguenne, H. Blons, I. de Waziers [et al.] // J. Clin. Oncol.- 2000.- Vol.18.- P.1465-1473. 1
14. p53, p16 and cyclin D1: molecular determinants of radiotherapy treatment response in oral carcinoma / R. Jayasurya, G. Francis, S. Kannan [et al.] // Int. J. Cancer.- 2004.- Vol.109.- P.710-716.
15. Predictive value of P53, BCL-2, and BAX in advanced head and neck carcinoma / S. Casado, J. Forteza, S. Dominguez [et al.] // Am. J. Clin. Oncol.- 2002.- Vol.25, №6.- P.588-590.
16. Prognostic significance of Bcl-2 and p53 expression in advanced laryngeal squamous cell carcinoma / M. Friedman, J. Lim, E. Manders [et al.] // Head Neck.- 2001.- Vol.23, №4.- P.280-285.
17. Prognostic significance of expression of p53, bcl-2 and bax in squamous epithelial carcinoma of the larynx - a multivariate analysis / M. Jackel, L. Sellmann, S. Youssef [et al.] // HNO.- 2001.- Vol.49, №3.- P.204-211.
18. Prognostic significance of p53 expression in oral squamous cell carcinoma without neck node metastases / C. de Vicente, J. Gutierrez, A. Zapatero [et al.] // Head Neck.- 2004.- Vol.26.- P.22-30.
19. Soussi T. Significance of p53 mutations in human cancer: a critical analysis of mutations at CpG dinucleotides / T. Soussi, C. Beroud // Hum. Mutat.-2003.- Vol.21.- P.192–200.

Резюме

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ОНКОБЕЛКА P53 В ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ РАКАХ ГОРТАНИ

Ковтуненко А.В.

В исследовании проведен анализ экспрессии онкобелка р53 при раке гортани в зависимости от степени гистологической дифференцировки, наличия

ANALYSIS OF EXPRESSION OF P53 IS IN PLANOCELLULAR CANCER OF LARYNX

Kovtunenکو A.V.

In research the analysis of expression of p53 is conducted at the cancer of larynx depending on the degree of histological embryonization, presence

метастазов, развития рецидивов, эффекта от проведенной химиотерапии и лучевой терапии. Полученные данные в этих группах свидетельствуют о важном диагностическом, прогностическом и предсказательном значении экспрессии онкобелка p53 относительно онкотрансформации опухоли, развития метастазов и рецидивов опухоли, ее чувствительности к химиотерапии у пациентов с плоскоклеточным раком гортани.

Ключевые слова: рак гортани, онкобелок p53.

of metastases, development of relapses, effect from the conducted chemotherapy and radial therapy. Findings in these groups testify to the important diagnostic, prognostic and predict value of expression of p53 relatively transformation of tumour, development of metastases and relapses of tumour, to its sensitiveness to the chemotherapy for patients with the planocellular cancer of larynx.

Keywords: cancer of larynx, p53.

УДК 612.135.085.1.087

КІЛЬКІСНІ ЧИННИКИ ТА ЯКІСНІ ОСОБЛИВОСТІ МІКРОГЕМОЦІРКУЛЯЦІЇ ПРИ ПРОЛОНГОВАНІЙ КРАНІО-ЦЕРЕБРАЛЬНІЙ ГІПОТЕРМІЇ

О.В. Козлов

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м.Харків

Результати досліджень, присвячених впливу низькотемпературних дій на мікроциркуляцію (МЦ), свідчать про те, що стан останньої визначається глибиною гіпотермії, функціональним станом мікросудин та їх розмірами. Зміни мікроциркуляції при охолодженні полягають в констрикції мікросудин, уповільненні кровотоку, підвищенні в'язкості крові, ішемії тканин. Кровотік зберігається у магістральних артеріолах і венулах, а також артеріоло-венулярних анастомозах, але припиняється в безпосередньо охолоджуваних тканинах і у всій системі мікроциркуляції [4, 7, 9, 10, 14, 15, 16].

Зіставлення змін у мікроциркуляторному руслі при різних способах охолодження показує, що в умовах КЦГ порушення менш значні, ніж при загальній гіпотермії. Проте, дослідженням змін у мікроциркуляторному руслі при різних режимах КЦГ не приділялося належної уваги.

Метою роботи було вивчення змін МЦ при різній глибині і тривалості краніо-церебральної гіпотермії.

Матеріал та методи дослідження. Експериментальним об'єктом для вивчення впливу різних режимів охолодження були статевозрілі щури-самці вагою від 180 до 200 грамів. КЦГ здійснювали за допомогою гіпотерма «Холод 2-Ф», вдосконаленого камерою для охолодження дрібних лабораторних тварин [6]. В ході експерименту вимірювали температуру в середньому вусі і прямій кишці. Вимірювання температури здійснювали за допомогою електронного термометра (дозволяюча здатність - 0,1° С).

Пролонгацію КЦГ, протягом 6 годин, здійснювали в автоматичному режимі роботи гіпотерма, при досягненні ректальної температури 34, 32, 30, 28 ° С. Часткове придушення терморегуляторних реакцій при КЦГ здійснювали шляхом внутрішньочеревинного введення суміші 5%-го тіопентала натрію (з розрахунку 30 мг/кг маси) та 20% - го розчину гамма – оксімасляної кислоти (ГОМК) з розрахунку (100 мг/кг маси). Глибину наркозу контролювали по зникненню корніального рефлексу.

Для оцінки мікроциркуляції використовували метод прижиттєвої біомікроскопії дрібних судин брижі щурів по методиці [13]. Після розкриття черевної порожнини по серединній лінії живота, щур знаходився під наркозом, (описаному вище) тварину укладали на термостабілізований столик [2], де розміщували останній сегмент брижі. За допомогою термостата добивалися зрівнюванню температур тіла тварини і столика для проведення біомікроскопії. Протягом всього терміну нагляду для запобігання висихання брижі її покривали шаром біологічно нейтральної водонепроникної рідини ПМС -400. Нагляди і фотореєстрацію проводили за допомогою мікроскопа типа ТМ – 1, по методиці [13] через 1, 3, 6 годин експозиції КЦГ, а також після природного зігрівання тварини.

Основними проявами лікувальної дії гіпотермії є зниження рівня метаболізму і підвищення стійкості тканин до гіпоксії [5]. В той же час зміни мікроциркуляторного русла, що вносять істотний внесок у компенсаторні реакції організму, вивчені недостатньо. Нами було