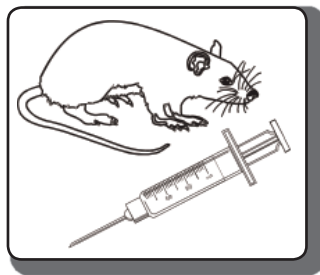


Теоретическая и экспериментальная медицина



УДК 618.72 - 006 : 612.017.1.018 : 577] - 055.2 «465.40/.65»

А.С. Шайкина¹, Б.Я. Рыжавский², С.В. Беков¹, И.Н. Буробин³, Е.Г. Кудянов³

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ И ПРОГЕСТЕРОНА, ПРОЛИФЕРАЦИИ В ЭПИТЕЛИОЦИТАХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

*Краевой клинический центр онкологии¹,
680042, ул. Воронежское шоссе, 164, тел.: 8-(4212)-41-60-72, e-mail: kkco@mail.ru;
Дальневосточный государственный медицинский университет²,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел.: 8-(4212)-32-63-93, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru;
Бюро судебно-медицинской экспертизы министерства здравоохранения Хабаровского края³,
ул. Истомина, 85 а, г. Хабаровск*

Иммуногистохимическое изучение показателей пролиферации, наличия рецепторов к эстрогенам (РЭ) и прогестерону (РП), количества и локализации клеток, имеющих их, нашло широкое применение при изучении такой распространенной патологии молочной железы, как мастопатия и рак [1, 3, 7, 12, 14, 18]. Это находит объяснение в связи с тем, что доказанным считается роль гиперэстрогении в развитии данных заболеваний [2]. С другой стороны, установлено также действие гестагенов на пролиферацию в молочной железе. Показано, что оно зависит от фазы менструального цикла, беременности, способа увеличения концентрации гестагенов. Прогестерон регулирует пролиферацию молочной железы в течение менструального цикла и во время беременности, стимулирует рост ее эпителия, обуславливает увеличение числа и размеров долек в железе. В то же время этот гормон сдерживает в ней избыточную митотическую активность [2, 4, 9, 11, 13, 14, 16, 18].

Хорошо известно, что эффект любого гормона зависит как от его концентрации, так и от состояния рецепторного аппарата клетки. По-видимому, различия последнего обуславливают (по крайней мере, частично) очаговость предопухолевых и опухолевых изменений в молочной железе. Активация клеточного деления — один из фундаментальных признаков онкогенеза. Количественная оценка уровня пролиферации часто используется в качестве маркера этого процесса и показателя злокачественности опухоли [3, 7, 8, 14]. Использование в качестве маркера Ki67 характеризует пролиферативный пул ткани [3]. Широкое распространение нашло изучение рецепторов эстрогенов

Резюме

Представлены результаты иммуногистохимического исследования рецепторов эстрогенов (РЭ), прогестерона (РП), Ki67 в молочных железах в норме, а также при фиброаденомах во время беременности. Реакция на данные маркеры выявлена как в выводных протоках, так и в концевых отделах железы. Описаны ее топографические различия.

Ключевые слова: молочная железа, иммуногистохимия, фиброаденомы, рецепторы к эстрогену, рецепторы к прогестерону.

A.S. Shaikina, B.Y. Rizhavskiy, S.V. Bekhov,
I.N. Burobin, E.G. Kudyanov

IMMUNE HISTOCHEMICAL ANALYSIS OF ESTROGEN AND PROGESTIN RECEPTORS, PROLIFERATION INTO BREAST EPITHELIOCYTES

*Regional oncology center;
Far Eastern state medical university;
Forensic medicine expertise Buro, Khabarovsk*

Summary

The results of immune histochemical study of estrogen and progesterone receptors Ki67 in healthy breasts and in fibroadenomas during gestation. Reaction to these markers was revealed both in ducts and distal (end) parts of the breasts. Topographic differences are described.

Key words: breast, immune histochemistry, fibroadenoma, receptors to estrogen, progesterone.

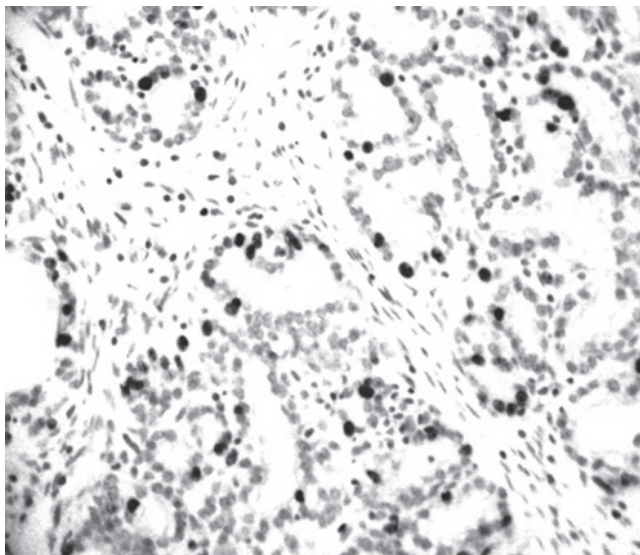


Рис. 1. Реакция на РЭ в молочной железе.
Норма. Увеличение 10×20

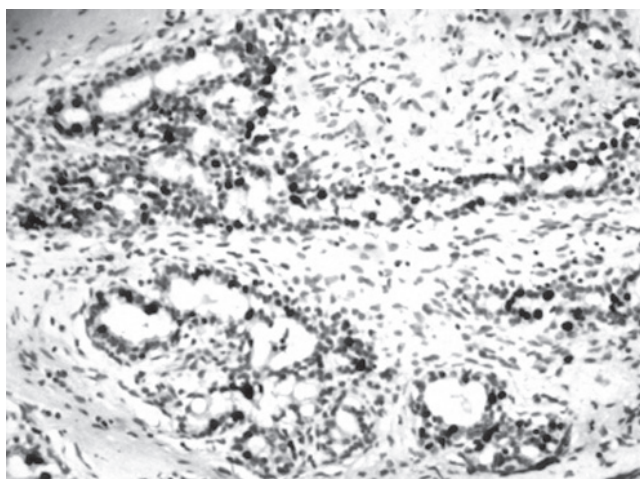


Рис. 2. Реакция на РП в молочной железе.
Норма. Увеличение 10×20

(РЭ) и прогестерона (РП). В гораздо меньшей степени изучены соотношения между показателями пролиферации, состоянием рецепторов к половым стероидам в норме. Отсутствуют систематические исследования онтогенетических изменений РЭ, РП и показателей пролиферации в паренхиматозных компонентах молочной железы.

В связи с этим в настоящей работе, являющейся фрагментом планируемых исследований данной направленности, мы изучали соотношения между количественными характеристиками названных показателей у женщин репродуктивного возраста в молочных железах, не имевших патологических изменений, а также при наличии фибroadеномы у беременных.

Цель исследования — изучить рецепторы к эстрогенам и прогестерону, а также пролиферативную активность клеток в молочной железе у женщин разного возраста в норме и при доброкачественных поражениях молочных желез (фибroadенома).

Материалы и методы

Исследованы молочные железы 7 женщин, погибших в результате травм, при вскрытии которых не было

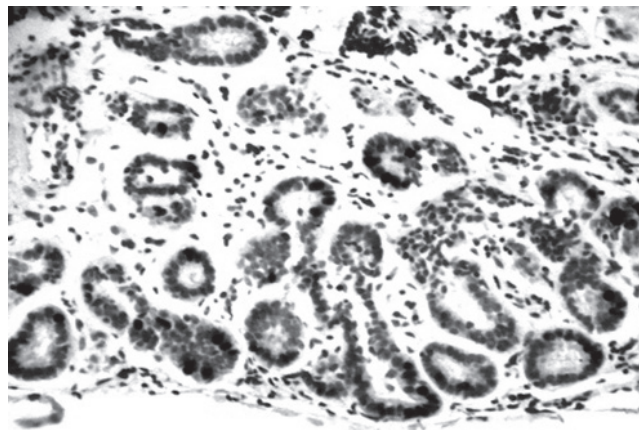


Рис. 3. Реакция на Ki 67 в молочной железе с фибroadеномой (беременность). Увеличение 10×20

обнаружено патологических изменений этого органа, а также органов эндокринной и репродуктивной систем. По возрасту женщины с нормальными молочными железами разделены на две группы: 1 группа — 40-50 лет, 2 группа — 50-65 лет. Кроме того, исследован операционный материал от 3 беременных женщин, обратившихся в отделение амбулаторной хирургии, у которых были диагностированы фибroadеномы молочной железы. Гистологическое и иммуногистохимическое исследование проводилось на базе Краевого клинического центра онкологии. Материалом для исследования послужил верхний наружный квадрант нормальной ткани правой молочной железы и очаг поражения при фибroadеноме. При иммуногистохимическом исследовании изучались следующие маркеры: 1) рецепторы эстрогенов (РЭ); 2) рецепторы прогестерона (РП); 3) Ki67.

Постановка иммуногистохимической реакции проводилась с использованием системы визуализации Super Sensitive Polymer — HRP Detection System (BioGenex) по общепринятым методикам [10, 15].

Среднюю интенсивность иммуногистохимических реакций при выявлении эстрогенов и прогестерона проводили по 3-балльной шкале, количество окрашенных ядер оценивали по 5-балльной шкале, суммарную оценку — по их совокупности [14]. Интенсивность реакции на Ki67 определялась по количеству (%) окрашенных ядер [10].

Результаты и обсуждение

РЭ в молочной железе женщин в норме выявлены во внутридольковых, междольковых протоках и концевых отделах (рис. 1). При этом интенсивность реакции была от 0 до 3 баллов. Наибольшей интенсивностью реакции отличались внутридольковые протоки и однослойный эпителий междольковых протоков. По числу прореагировавших ядер реакция варьировала от 0 до 3 баллов. Наибольшей окраски по количеству ядер достигли внутридольковые протоки и однорядный эпителий междольковых протоков. У женщин в возрасте от 40 до 50 лет реакция на РЭ была большей, чем у женщин 50-65-летнего возраста. Интенсивность окраски РЭ у женщин 40-50 лет составила от 0 до 3 баллов, количество оценивалось от 0 до 3 баллов. Интенсивность окраски РЭ у женщин 50-65 лет составляла от 0 до 1 балла, количество окра-

Характеристика реакций на Ki 67, рецепторы эстрогенов и прогестерона в молочной железе

Возраст, диагноз	Внутридольковые протоки			Междольковые протоки						Концевые отделы		
				Однорядный эпителий			Многорядный эпителий					
	Ki67	РЭ	РП	Ki67	РЭ	РП	Ki67	РЭ	РП	Ki67	РЭ	РП
42 г., норма	**	1/3*	0/0	**	2/3*	1/1	**	2/3	1/1	**	1/2	0/0
44 г., норма	**	0/0	0/0	**	1/1	0/0	**	0/0	0/0	**	0/0	0/0
46 лет, норма	**	2/2	1/2	**	2/3	2/2	**	1/2 апек	1/2	**	1/2	1/1
46 лет, норма	**	3/2	1/1	**	3/3	2/2	**	1/2	1/2	**	1/1	1/1
58 лет, норма	**	1/1	0/0	**	2/1	1/1	**	0/0	1/1	**	0/0	1/1
61 г., норма	**	1/1	0/0	**	0/0	0/0	**	1/1	0/0	**	0/0	0/0
62 г., норма	**	0/0	0/0	**	0/0	0/0	**	0/0	0/0	**	0/0	0/0
21 г., фиброаденома, беременность 14 нед.	10%A	1/1	2/1	5%	1/1	1/1	2%	1/1	0/0	1%	1/1	1/1
26 лет, тубулярная аденома, беременность 26 нед.	25%	0/0	1/1	20%	0/0	1/1	10%	0/0	0/0	5%	0/0	0/0
39 лет, фиброаденома, беременность 27 нед.	30%	1/1	2/1	20%	1/1	1/1	15%	0/0	1/1	5%	0/0	1/1

Примечания. А — процент положительно реагирующих клеток, * — в числителе — баллов по количеству прореагировавших клеток, в знаменателе — баллов по интенсивности реакций, ** — реакция не проводилась

шенных ядер — от 0 до 2 баллов. Максимальная суммарная оценка рецепторов эстрогена концевых отделов в младшей возрастной группе женщин составила 3 балла, в более старшей возрастной группе женщин — 2 балла (таблица).

РП в нормальной молочной железе также выявлены во внутридольковых и междольковых протоках, концевых отделах. Интенсивность реакции колебалась от 0 до 2 баллов. Наибольшей интенсивности окраска достигала в эпителии междольковых протоков. Число прореагировавших ядер на РП также было оценено от 0 до 2 баллов. Наибольшее количество прореагировавших ядер наблюдалось в однорядном эпителии междольковых протоков, максимальная ее интенсивность — в междольковых протоках, а минимальная — в концевых отделах. У женщин в возрасте 40-50 лет эти показатели были несколько более высокими, чем у женщин в возрасте 50 — 65 лет. У женщин 40-50 лет интенсивность реакции ядер составила от 0 до 2 баллов, количество также от 0 до 2 баллов. У женщин 50-65 лет интенсивность окраски ядер составила от 0 до 1 балла, количество окрашенных ядер — от 0 до 1 балла (таблица). РЭ в молочной железе у беременных женщин с фиброаденомой по интенсивности окраски колеблются от 0 до 1 балла. Окраске подверглись как концевые отделы, так и внутри- и междольковые протоки. Количество ядер с выявленными РЭ также было оценено от 0 до 1 балла. Положительная реакция наблюдалась в концевых отделах, внутридольковых, междольковых протоках (таблица).

РП у беременных женщин в молочной железе с фиброаденомой по интенсивности окраски составили от 0 до 1 балла. Реакция на окраску РП была большей во внутридольковых протоках и однорядном эпителии междольковых протоков. По количеству окрашенных ядер РП были оценены от 0 до 2 баллов. Интенсивность окраски была также больше в однорядном эпителии междольковых протоков и во внутридольковых протоках (рис. 2, таблица).

Показатель пролиферативной активности, оцененный с помощью выявления в качестве маркера Ki67, был изучен в молочных железах с фиброаденомой у беременных

женщин (рис. 3). Положительная реакция наблюдалась во внутридольковых и междольковых протоках (от 10 до 20% клеток). Реакция концевых отделов была более низкой (менее 10%, таблица).

Мы полагаем, что необходимы дополнительные исследования, направленные на установление закономерностей онтогенетических изменений РЭ, РП, Ki67 в эпителиоцитах разных отделов молочной железы, выявление корреляций реакции на указанные маркеры.

Л и т е р а т у р а

1. Габуня М.С., Лобова Т.А., Егорова Л.Г. Состояние молочных желез при заместительной гормональной терапии // Акушерство и гинекология. - 2001. - №2. - С. 50-53.
2. Кира Е.Ф., Бескровный С.В., Ильин А.Б. и др. Влияние препаратов гестагенного ряда на морфофункциональное состояние молочных желез // Журнал акушерства и женских болезней. - 2000. - Т 49, №2. - С. 75-84.
3. Коган И.Ю. Молекулярно-биологические маркеры пролиферации и апоптоза в эпителии молочной железы // Молекулярная медицина. - 2008. - № 1. - С. 23-27.
4. Коколина В.Ф., Фомина М.Д. Развитие молочных желез в процессе созревания репродуктивной системы // Рос. вестник акушера-гинеколога. - 2006. - Т. 6, №3. - С. 26-32.
5. Невожай В.И., Мюллер Е.С. Иммуногистохимическое исследование рецепторов стероидных гормонов при раке молочной железы // Тихоокеанский мед. журнал. - 2007. - №4. - С. 79-80.
6. Сергеева Н.И., Дзеранова Л.К., Мескиз Е.В. и др. Участие пролактина в маммогенезе и канцерогенезе молочной железы // Акушерство и гинекология. - 2005. - №3. - С. 13-17.
7. Тагиева Т.Т. Пролиферативная активность в узловых образованиях молочных желез у больных мастопатией // Паллиативная медицина и реабилитация. - 2008. - №4. - С. 11-16.
8. Упоров А.В., Семиглазов В.Ф., Пожариский К.М. Иммуногистохимическое изучение клеток рака молоч-

ной железы с использованием разных маркеров пролиферации // Архив патологии. - 2000. - Т. 62, №2. - С. 26-30.

9. Федосов А.В., Семейкин А.В. Прогестины: молекулярные механизмы контроля пролиферации и апоптоза клеток чувствительных тканей // Вопросы онкологии. - 2003. - Т. 49, № 1. - С. 9-20.

10. Франк Г.А., Завалишина Л.Э. Методы иммуногистохимии и гибридизации in situ в онкоморфологии. Моск. науч.-исслед. онкологический ин-т им. П.А. Герцена. - М., 2009. - С. 7-10.

11. Чеботникова Т.В., Андреева Е.Н. Дефицит андрогенов у женщин: новая проблема и новые возможности транселективных модуляторов // Проблемы репродукции. - 2006. - Т. 12, №4. - С. 51-55.

12. Цыганков В.И., Коваленко В.Л., Швеи С.И. и др. Пролиферативная активность и эстрогеновые рецепторы при раке молочной железы // Тихоокеанский мед. журнал. - 2000. - №4. - С. 47-48.

13. Aupperlee M.D., Haslam S.Z. Differential hormonal regulation and function of progesterone receptor isoforms in normal adult mouse mammary gland // Endocrinology. - 2007. - Vol. 148, №5. - P. 2290-2300.

14. Branchini G., Schneider L., Cericatto R. et al. Progesterone receptors A and B and estrogen receptor alpha

expression in normal breast tissue and fibroadenomas // Endocrine. - 2009. - Vol. 35, №3. - P. 459-466.

15. Catalog «Products&Services», Dako. - 2007. - P. 85.

16. Cline J.M., Wood C.E. Hormonal effects on the mammary gland of postmenopausal nonhuman primates // Breast Dis. - 2005-2006. - №24. - P. 59-70.

17. Hallberg G., Persson I., Naessen T. et al. Effects of pre- and postmenopausal use of exogenous hormones on receptor content in normal human breast tissue: a randomized study // Gynecol. Endocrinol. - 2008. - Vol. 24. - P. 475-480.

18. Kalirai H., Clarke R.B. Human breast epithelial stem cells and their regulation // J. Pathol. - 2006. - Vol. 208, №1. - P. 7-16.

Координаты для связи с авторами: Шайкина Александра Сергеевна — врач-патологоанатом, e-mail: shushulka@mail.ru, тел.: 8-(4212)-41-06-29; Рыжавский Борис Яковлевич — доктор мед. наук, профессор, проректор по НИР, зав. кафедрой гистологии, цитологии и клеточной биологии; Беков Сергей Викторович — зав. патолого-анатомическим отделением ККЦО, тел.: 8-(4212)-41-06-29; Буробин Игорь Николаевич — врач-судмедэксперт, тел.: 8-(4212)-45-74-70; Кудянов Евгений Геннадьевич — врач-судмедэксперт БСМЭ, тел.: 8-(4212)-45-74-70.



УДК 612.172

Г.К. Степанова, С.М. Дмитриева, М.В. Устинова

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА В РАЗЛИЧНЫЕ СЕЗОНЫ ГОДА У ЮНОШЕЙ-ЯКУТОВ

Медицинский институт Якутского государственного университета им. М.К. Аммосова,
677000, ул. Белинского, 58, г. Якутск

Изменение функционального состояния организма под влиянием сезонных колебаний климатических факторов является нормальной приспособительной реакцией здорового человека. В то же время, когда адаптационные возможности организма снижены, сезонные изменения метеорологических факторов могут оказать повреждающее воздействие [6]. Наиболее очевидна связь сезонной периодичности метеофакторов с функцией сердечно-сосудистой системы, о чем свидетельствует реакция вариабельности сердечного ритма (ВСР) на изменение метеоусловий [1, 2]. Существование зависимости ВСР от сезона года показано у детей в условиях умеренного климата [7]. Поскольку амплитуда сезонных колебаний метеофакторов в условиях Северо-Восточной Азии существенно превышает таковую в других климатических поясах, представляет интерес изучение реакции параметров ВСР на изменение погодных условий в разные сезоны года в Якутии.

Цель — исследование индивидуальных особенностей ВСР у юношей-якутов в разные сезоны года.

Материалы и методы

С целью изучения ВСР у юношей в различные сезоны года проведено 4 серии обследований, в которых приняли участие 20 практически здоровых юношей-якутов — студентов ЯГУ 18-21 лет. Производилась регистрация электрокардиограммы в первом стандартном отведении с использованием аппаратно-программного комплекса «Валента» (ПО «Нео», г. Санкт-Петербург). После 10-минутного отдыха в положении лежа на спине записывались 200 кардиоинтервалов. В каждой из серий один и тот же юноша повторно обследовался 5-6 раз. Исследования проводили в дни без выраженных отклонений геомагнитного поля. Данные о состоянии геомагнитной активности (планетарный индекс — Кр) были предоставлены Институтом космифизики СО РАН (г. Якутск). Метеорологические показатели взяты с метеосайта <http://meteo.infospace.ru>.

В 1 серии обследований (с 16 сентября по 7 октября 2005 г.) приняли участие 9 студентов, количество об-