

ВПЛИВ БІОФЛАВАНОЇДІВ НА АКТИВНІСТЬ ФОСФОЛІПАЗ А₂ З ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ Й БДЖОЛИНОЇ ОТРУТИ

Встановлено оптимальні параметри методики визначення інгібуючої дії біофлаваноїдів на фосфоліпазу (ФЛА₂) з підшлункової залози і бджолоїної отрути. Вивчено вплив на активність ФЛА₂ біофлаваноїдів кверцетину, геністеїну, геністеїн-софорикозиду, біофлаваноїдів розторопші. Встановлено, що найбільшою мірою інгібуюча активність властива біофлаваноїдам із софори та розторопші.

Ключові слова: біофлаваноїди, фосфоліпаза А₂, інгібіція.

THE INFLUENCE OF BIOFLAVANOIDS ON THE ACTIVITY OF PHOSPHOLIPASES A₂ OF PANCREAS AND BEE POISON

The optimal parameters of the bioflavonoids inhibitor action on phospholipase A₂ (PLA₂) from pancreas and bee poison were studied. The influence of bioflavonoids of quercetin, genisteine, genisteine-sophoricoside, silybum. bioflavonoids on PLA₂ activity was investigated. The inhibitive activity was revealed to be characteristic most of all to bioflavonoids from sophora and silybum.

Key words: bioflavonoids, phospholipase A₂, inhibition.

УДК 612.621.31:618.14-006.5

В. Г. Дубініна, канд. мед. наук, доц.

ЕКСПРЕСІЯ РЕЦЕПТОРІВ СТЕРОЇДНИХ ГОРМОНІВ ПРИ РІЗНИХ ВИДАХ ГІПЕРПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ ЕНДОМЕТРІЯ

Одеський державний медичний університет

Вступ

Питання клініки, діагностики і лікування гіперпластичних процесів ендометрія (ГПЕ) сьогодні у центрі уваги не тільки акушерів-гінекологів і клінічних патологів, але й онкогінекологів усього світу. Це пов'язано зі значним поширенням даної патології у жінок різних вікових груп і високою частотою рецидивів, а також імовірністю розвитку онкологічних захворювань на фоні даної патології [1–4; 6; 7; 9].

Клінічні прояви захворювання у жінок характеризуються виникненням рецидивних маткових кровотеч, що призводять до тимчасової втрати працездатності в найбільш активний період життя. Аномальні маткові кровотечі на фоні ГПЕ нерідко супроводжуються виникненням вторинних постгеморагічних анемії, в

окремих випадках із розвитком геморагічного шоку. Рецидивні кровотечі порушують психоемоційний стан хворих, взагалі погіршуючи якість життя пацієнток. Нерідко ГПЕ є причиною безплідності жінок. Питання про частоту малігнізації ГПЕ залишається дискусійним, але концепція про можливість пухлинної трансформації атипової гіперплазії ендометрія визнана безперечною більшістю вітчизняних і закордонних учених. У зв'язку з цим пацієнткам репродуктивного віку нерідко виконують радикальне оперативне лікування з приводу атипової гіперплазії ендометрія. Сьогодні, незважаючи на той факт, що впровадження ендоскопічних технологій у процес хірургічного лікування ГПЕ дозволило поліпшити показники ефективності втручання, проблема виникнення у хворих ре-

цидивів захворювання після лікувального впливу на ендометрій залишається досить серйозною та актуальною [2; 3; 5; 8].

Нині існують різні підходи до лікування хворих на ГПЕ з урахуванням віку, супровідної соматичної та гінекологічної патології, морфологічної структури гіперплазії. Проте не вирішені питання тактики введення хворих залежно від клініко-патогенетичного варіанта ГПЕ. Відповідно до сучасних поглядів, найбільш об'єктивною ознакою гормональної чутливості тканини є наявність стероїдних рецепторів гормонів. Але дотепер залишається не вивченим взаємозв'язок між рівнем експресії рецепторів стероїдних гормонів і морфологічною структурою ГПЕ, відсутні публікації стосовно оцінки ефективності лікування хворих на

ГПЕ з різним вмістом рецепторів [9–13].

Дослідження рецепторів до статевих стероїдних гормонів у тканині ендометрія в нормі та при різних морфологічних варіантах ГПЕ дозволить оцінити ступінь гормональної чутливості досліджуваної тканини і визначити доцільність призначення гормональної терапії пацієнткам репродуктивного віку при різних видах цього захворювання. Крім того, вивчення кореляційної залежності між клініко-патогенетичним варіантом ГПЕ і станом рецепторного апарату слизової оболонки тіла матки відкриває нові можливості для диференційованого вибору лікувальних заходів індивідуально у кожному конкретному клінічному випадку.

Саме тому нашою метою стало дослідження рецепторного апарату ендометрія у пацієнок із різними варіантами ГПЕ.

Матеріали та методи дослідження

Експресії рецепторів до естрадіолу і прогестерону визначали у 40 пацієнок репродуктивного віку, які утворили чотири групи по 10 осіб залежно від варіанта ГПЕ (проста без атипії, складна без атипії, проста з атипією, складна з атипією). Контрольна група — 10 практично здорових пацієнок, що проходили планове обстеження з метою підготовки до екстракорпорального запліднення.

Дослідження здійснювалося методом непрямой імуногістохімічної реакції на парафінових зрізах товщиною 3–5 мкм. Пацієнтки із супровідними запальними захворюваннями органів репродуктивної системи були виключені з дослідження. Матеріал для вивчення та подальшого аналізу одержували шляхом фракційного лікувально-діагностичного вишкрябання слизової оболонки порож-

нини матки і цервікального каналу, проведеного під гістероскопічним контролем. Використовували зскрібки з тривалістю фіксації не більше 24 год. Зрізи, депарафіновані за стандартною методикою, поміщали у цитратний буфер (рН 6,0) і обробляли у пароварці протягом 15 хв. Охолоджували 15–20 хв при кімнатній температурі та промивали у трис-буфері (рН 7,4–7,6). Для імуногістохімічного забарвлення використовували антитіла проти естрогенового (клон 1D5, DakoCytomation) і прогестеронового (клон 636, DakoCytomation) рецепторів і проявну систему Envision (DakoCytomation). Після проведення імуногістохімічного забарвлення зрізи дофарбовували гематоксиліном. Контрольні негативні реакції виконували без первинних антитіл, контрольні позитивні реакції — з використанням контрольних препаратів фірми Labvision.

Підрахунок результатів здійснювали на мікроскопі DMR HC (Leica) за допомогою програми Image-Pro Plus 5.1. Реакцію оцінювали за двома параметрами: ступенем поширення й інтенсивністю забарвлення. Ступінь поширення забарвлення визначали у відсотках шляхом підрахунку кількості забарвлених ядер відносно загальної кількості ядер. Інтенсивність забарвлення враховували за балами: 0 балів — відсутність забарвлення, 1 бал — слабе забарвлення, 2 бали — помірне і 3 бали — сильне забарвлення. Суму балів $\Sigma P(i)I$ позначали як імуногістохімічний індекс, який розраховували окремо для залозистого епітелію та клітин строми (тут $P(i)$ — це відсоток забарвлених клітин, I — інтенсивність забарвлення у балах). Реакцію кваліфікували як позитивну при значеннях імуногістохімічного індексу 100–300, слабопозитивну — при значеннях 10–100 і негативну — при значеннях 0–10. Статис-

тичну обробку одержаних даних проводили з використанням критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Середній вік пацієнок становив $(41,0 \pm 4,7)$ року і вірогідно не відрізнявся у сформованих групах. Взяття матеріалу для дослідження проводили в усіх пацієнок у другу фазу оваріально-менструального циклу. Порівняльний аналіз клініко-анамнестичних характеристик пацієнок показав, що найбільш частими симптомами ГПЕ були порушення оваріально-менструального циклу за типом метрорагії (77,5%), менометрорагії (60%), гіперполіменореї (47,5%), альгоменореї (27,5%). Вивчення стану рецепторного апарату слизової оболонки матки у досліджуваних групах показало таке. Експресія рецепторів естрадіолу як в епітеліальних, так і у стромальних клітинах була вірогідно нижчою у групах пацієнок із простою та складною атиповою гіперплазією ендометрія порівняно з групою практично здорових жінок і хворих із простою та складною гіперплазією ендометрія без атипії (рис. 1). Отже, за нашими даними, експресія рецепторів естрадіолу у слизовій оболонці матки вірогідно знижується у міру прогресування пухлинних змін у ній.

Характер експресії рецепторів до прогестерону у досліджуваних групах подано на рис. 2.

Під час аналізу стану прогестерон-рецепторної системи ендометрія було виявлено вірогідне зниження вмісту рецепторів прогестерону у слизовій оболонці тіла матки у жінок із наявністю простої та складної гіперплазії без атипії порівняно з практично здоровими пацієнтками. Крім того, вміст рецепторів прогестерону був вірогідно нижчий у гру-

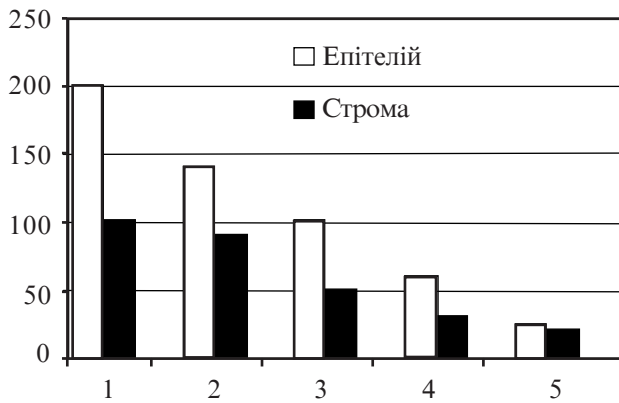


Рис. 1. Експресія рецепторів естрадіолу у слизовій оболонці матки при різних варіантах ГПЕ

Примітка. По осі ординат — значення імуногістохімічного індексу експресії рецепторів до естрадіолу, наведені у балах.

По осі абсцис — морфологічні варіанти ГПЕ, де 1 — нормальний ендометрій (епітелій — (210,50±4,15); строма — (110,10±2,15); $P_{2-5} < 0,05$; 2 — проста гіперплазія без атипії (епітелій — (150,0±2,3); строма — (100,4±1,7); $P_{1,3-5} < 0,05$; 3 — складна гіперплазія без атипії (епітелій — (110,2±1,7); строма — (60,00±3,05); $P_{1,2,4,5} < 0,05$; 4 — проста гіперплазія з атипією (епітелій — (70,5±2,8); строма — (40,20±2,25); $P_{1,3,5} < 0,05$; 5 — складна гіперплазія з атипією (епітелій — (34,90±1,24); строма — (30,8 ± 2,1); $P_{1-4} < 0,05$).

Відмінності вірогідні.

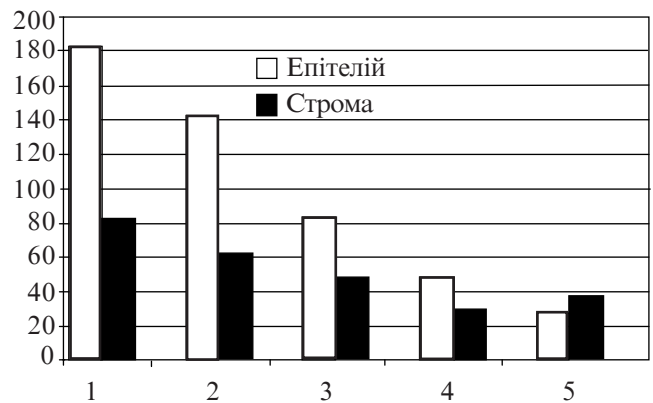


Рис. 2. Експресія рецепторів прогестерону у слизовій оболонці матки при різних варіантах ГПЕ

Примітка. По осі ординат — значення імуногістохімічного індексу експресії рецепторів до прогестерону, наведені у балах.

По осі абсцис — морфологічні варіанти ГПЕ, де 1 — нормальний ендометрій (епітелій — (190,5±3,4); строма — (90,0±1,5); $P_{2-5} < 0,05$; 2 — проста гіперплазія без атипії (епітелій — (150,3±2,5); строма — (70,0±1,6); $P_{1,3-5} < 0,05$; 3 — складна гіперплазія без атипії (епітелій — (90,4±3,6); строма — (56,0±3,2); $P_{1,2,4,5} < 0,05$; 4 — проста гіперплазія з атипією (епітелій — (56,0±4,5); строма — (38,1±3,5); $P_{1,3,5} < 0,05$; 5 — складна гіперплазія з атипією (епітелій — (34,70±2,05); строма — (45,0±2,1); $P_{1-4} < 0,05$).

Відмінності вірогідні.

пах хворих з атиповою гіперплазією ендометрія (4, 5) порівняно з іншими досліджуваними групами (1, 2, 3). При цьому зниження експресії прогестеронових рецепторів в епітеліальних клітинах корелювало з таким у клітинах стро-

стерону в епітеліальних клітинах корелює з такою у стромі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Антипова С. В. Передракові захворювання і рак ендометрія: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Харків. держ. мед. ун-т. — Харків, 2001.

2. Запорожан В. Н. Акушерство и гинекология: В 2-х книгах. — К.: Здоров'я, 2001. — 820 с., ил.

3. Запорожан В. М., Цегельський М. Р. Акушерство та гинекологія. — К.: Здоров'я, 1996. — 240 с.

4. Запорожан В. М., Цегельський М. Р. Гінекологічна патологія: Атлас: Навч. посібник. — Одеса: Одес. держ. мед. ун-т, 2002. — 308 с.

5. Манухин И. Б., Тумилович Л. Г., Геворкян М. А. Клинические лекции по гинекологической эндокринологии. — М.: Мед. информ. агентство, 2001. — 247 с., ил.

6. Коханевич Е. В. Гиперпластические процессы и рак эндометрия // Журн. практ. врача. — 1998. — № 4. — С. 23-31.

7. Диагностика и лечение гиперпластических процессов эндометрия

/ Е. В. Коханевич, В. Е. Мицкевич, Е. П. Манжура и др. // Здоровье женщины. — 2005. — № 1 (21). — С. 234-242.

8. Практическая гинекология / Под ред. В. И. Кулакова, В. Н. Прилепской. — М.: МЕДпрессинформ, 2001. — 720 с.

9. Руководство по эндокринной гинекологии / Под ред. Е. М. Вихляевой. — М.: ООО «Мед. информ. агентство», 1998. — 768 с.

10. Сметник В. П., Тумилович Л. Г. Неоперативная гинекология: Рук. для врачей. — М.: Мед. информ. агентство, 2000. — 592 с.

11. Шамбах Х., Кнатте Г., Карола В. Гормонотерапия. — М.: Медицина, 1998. — С. 41-43.

12. Molecular pathology of endometrial hyperplasia and carcinoma / X. Matias-Guiu, L. Catasus, E. Bussaglia et al. // Human Pathology. — 2001. — Vol. 32 (6). — P. 569-577.

13. Estrogen receptor beta delta 6 (ER beta delta 6) isoform in human endometrial hyperplasia and adenocarcinoma / M. Paul, K. Cholewa, U. Mazurek et al. // Cancer Invest. — 2004. — Vol. 22 (2). — P. 211-218.

У статті наведені результати дослідження вмісту рецепторів стероїдних гормонів у ендометрії жінок репродуктивного віку при різних варіантах проліферативних процесів у ньому. Проведено порівняльний аналіз експресії рецепторів естрогенів і прогестерону у практично здорових пацієнток і жінок із різними видами гіперпластичної трансформації ендометрія. Показано, що експресія рецепторів стероїдних гормонів у слизовій оболонці матки вірогідно знижується у міру прогресування пухлинного процесу.

Ключові слова: гіперплазія ендометрія, стероїдні гормони, рецептори, експресія, жінки репродуктивного віку.

The results of investigation of the steroid hormones receptors content in reproductive age women endometrium in the presence of various types of its proliferative processes are considered in the article. The comparative analysis of estrogens and progesterone receptors expression in healthy patients and women with the various types of hyperplastic endometrial transformation has been done. It was indicated that steroid hormones receptors expression in the uterine mucosa is reduced when the tumor process progressing.

Key words: endometrial hyperplasia, steroid hormones, receptors, expression, reproductive age women.

УДК 616.12-008.46-092:577.156.1

Л. М. Самохіна, канд. біол. наук,

С. О. Лазарева, канд. мед. наук,

В. І. Волков, д-р мед. наук, проф.

ОСОБЛИВОСТІ УЧАСТІ ТОНІНУ І КАЛЬПАЇНІВ У ПАТОГЕНЕЗІ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Державна установа «Інститут терапії ім. Л. Т. Малої АМН України», Харків

Клінічні симптоми хронічної серцевої недостатності (СН) розвиваються на фоні виснаження компенсаторно-адаптаційних механізмів [1]. На цій стадії постійна активація ренін-ангіотензинової системи (РАС) несприятливо впливає на функцію пристосування і може збільшити ураження міокарда, що призводить до прогресування патології. Відбуваються істотні зрушення балансу РАС із перевагою вазоконстрикції.

Одним із найсильніших вазоконстрикторів є ангіотензин II (АП), що утворюється з АІ за участі ангіотензин-перетворюючого ферменту (АПФ), хімо-трипсиноподібної протеїнази — хімази, тканинного активатора плазміногену (ТАП), тоніну, катепсину G або безпосередньо з ангіотензиногену за участі ТАП, катепсину G, тоніну.

Негативна дія АП пов'язана з активацією НАД(Ф)Н-оксидази – головного джерела реактивних форм кисню, що ут-

ворюються клітинами судин [2]. Джерелом ферментативного утворення радикалів кисню є електронна мітохондріальна транспортна система [3]. Хронічне підвищення утворення радикалів кисню у мітохондріях може призводити до ураження мітохондріальної ДНК із подальшим утворенням радикалів та ушкодженням клітин. Підвищення проникності мітохондріальних мембран із подальшим вивільненням протеаз, ядерних активаторів і біоенергетичною недостатністю є невід'ємною ланкою апоптозу [4]. Апоптоз міокарда, опосередкований через цитокіни й оксидативний стрес, є головною причиною критичної втрати маси кардіоміоцитів у термінально гіпертрофованому серці на кінцевій стадії хронічної серцевої недостатності (ХСН) [5].

У багатоступінчастому процесі апоптозу бере участь безліч ферментів, однак протеїназам приділяється визначальна

роль [6]. До них зараховують каспази, кальпаїни тощо. Кальпаїни — кальційзалежні цистеїнові протеїнази, реалізують свою дію шляхом розщеплення білків цитоскелета, ядерного матриксу, деяких факторів транскрипції, ін. m-кальпаїн здатен безпосередньо активувати ефекторну каспазу 3. Активація кальпаїнів у клітині приводить до уповільнення апоптозу.

За умов оксидативного стресу в ушкодженні міокарда можлива і участь тоніну, яка проявляється на фоні відсутності змін активності хімази [7].

Регуляція активності протеїнази, у тому числі хімази, тоніну, кальпаїнів відбувається за участі інгібіторів протеїнази: α -1-інгібітора протеїнази (α -1-ІП), α -2-макроглобуліну (α -2-МГ), які за класифікацією є серпінами [6]. Механізми дії серпінів пов'язані з месенджерними системами, що активуються при поглинанні клітиною комплексу «серпін-протеїназа-рецептор α -2-МГ»,