ЛІТЕРАТУРА

1. *Головченко Ю.И., Трещинская М.А.* Обзор современных представлений об эндотелиальной дисфункции. Cons. med. Ukr. 2008; 11: 38–40.
2. *Лисицына Н. В.* Медикаментозные средства, влияющие на синтез оксида азота и их место в патогенетической терапии преэклампсии // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. 2010. №10.
3. *Хлыбова С.В., Циркин В.И., Дворянский С.А. и др.* Содержание аргинина в сыворотке крови при физиологическом и осложненном течении беременности. Рос. вест. акуш.-гинек. 2007; 2: 4–7.
4. *Bryan N.S., Bian K., Murad F.* Discovery of the nitric oxide signaling pathway and targets for drug development. Frontiers in Bioscience 2009; 14: 1–18.
5. *Baylis C.* Nitric oxide deficiency in chronic kidney disease. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2008; 294: 1–9.
6. *Chatterjee A., Catravas J.D.* Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. Vascul. Pharmacol. 2008; 49(4–6): 134–140.
7. *Rytlewski K., Olszanecki R., Lauterbach R. et al.* Efects of oral L-arginine on the fetal condition and neonatal outcome in preeclampsia: a preliminary report. Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. 2006; 99(2): 146–152.
8. *Neri I., Jasonni V.M., Gori G.F. et al.* Efect of L-arginine on blood pressure in pregnancy-induced hypertension: a randomized placebo-controlled trial. J. Matern. Fetal Neonatal. Med. 2006; 19(5): 277–281.
9. *Xiao X.M., Li L.P.* L-Arginine treatment for asymmetric fetal growth restriction. Int. J. Gynaecol. Obstet. 2005; 88(1): 15–18.
10. *Sieroszewski P., Suzin J., Karowicz-Bilińska A.* Ultrasound evaluation of intrauterine growth restriction therapy by a nitric oxide donor (L-arginine). J. Matern. Fetal Neonatal Med. 2004; 15(6): 363–366.

АНАЛІЗ ЕКСПРЕСІЇ ПРОТООНКОГЕНУ STAT3 У ЖІНОК ІЗ ПЕРЕДРАКОВИМИ УРАЖЕННЯМИ ШИЙКИ МАТКИ

ГЛАДЧУК В.І., БУБНОВ В.В.,МАРІЧЕРЕДА В.Г.

м. Одеса

Надзвичайно важливою проблемою сучасного акушерства та гінекології залишається патологія шийки матки. У структурі гінекологічної захворюваності серед патологічних змін епітелію шийки матки доброякісні та фонові процеси складають до 85% , передпухлинні (насамперед, дисплазії) – до 20% [1].За статистичними даними, РШМ нині посідає друге місце за частотою серед онкологічних причин смертності після раку молочної залози [2,3].

Про етіопатогенетичний зв'язок генітальної папіломавірусної інфекції та РШМ відомо давно [4-6].Інфікування епітеліальних клітин вірусом папіломи людини (ВПЛ) –обов'язкова, але недостатня подія для канцерогенезу.ВПЛ, інтегруючись у хромосоми інфікованої клітини, приводить до порушення її метаболізму. Патологічні стани, а саме, запалення та інфекційне ушкодження ВПЛ, стимулюють імунну клітинну відповідь шляхом вивільнення медіаторів, які забезпечують виживання пухлинних клітин і швидке збільшення осередків пухлин паракринним шляхом. Крім того, епігенетичні мутації онкогенів та хромосомні аберації пухлино-супресорних генів стимулюють продукцію пухлинних медіаторів в межах мікрооточення пухлин, що сприяє розвитку неопластичних процесів аутокринним шляхом.

Ці два шляхи призводять до активації латентного сигнального трансдуктора і активатора транскрипції 3 (STAT3), який є посередником транскрипційної відповіді, що сприяє виживанню та швидкому росту клітин і ангіогенезу. Надлишок цитокінів, які активізують STAT3 в межах мікросередовища пухлини, таких як, інтерлейкіни ІЛ 6, ІЛ 10 і ІЛ 17/23, створює основу сигнальної мережі, яка одночасно просуває ріст неопластичного епітелію, ініціює запалення і пригнічує антипухлинну імунну відповідь організму. Відповідно, аномальна і постійна активація STAT-3 часто спостерігається в злоякісних пухлинах епітеліального походження і асоціюється із негативним результатом.

Беручи до уваги перераховане вище, метою даного дослідження було визначити рівень патерну експресії STAT3 в різних ступенях передракового ураження шийки матки по відношенню до персистенції ВПЛ.

Матеріали та методи дослідження

Обстежено 90жінок віком від 25 до 45 років (середній вік 36,4±1,3 років). Всі пацієнтки проходили загальноприйняте клінічне, гінекологічне, інструментальне та лабораторне обстеження на базі МКЛ № 9 ім. проф. О.І. Мінакова, згідно чинних клінічних протоколів. Стан шийки матки оцінювали за допомогою цитологічного, кольпоскопічного досліджень, з подальшим патогістологічним дослідженням біопсійного матеріалу, який був взятий з піхвової частини шийки матки після проведення кольпоскопічного дослідження та виконання гістеректомій з 2010 по 2013 рік. Наявність генітальної папіломавірусної інфекції, визначення типу вірусу проводилось методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі.

Було зібрано 90біоптатів шийки матки, серед яких 70 передракових (CIN I – 10 (14,3%), CIN II – 32 (45,7%), CIN III – 28 (40,0%)) та 20 нормальних контрольних зразків. Частина кожного зі зразків, була поміщена в охолоджений 1 фосфатний буфер сольового розчину (PBS), які відправлені для молекулярно-біологічних робіт, а друга половина для патогістологічного дослідження в розчині формаліну. Патогістологічний діагноз встановлений згідно класифікації Всесвітньої організації Охорони Здоров'я. Клініко-патогістологічна характеристика та наявність ВПЛ представлені в таблиці № 1.

Таблиця 1

Клініко-патогістологічна характеристика зразків тканини шийки матки

Тип тканини	Характеристика	Кількість	ВПЛ 16, 18 тип, (%)	Середній вік
Нормальні зразки	ВСЬОГО	20	11 (55,0)	
	Нормальні зразки без запалення	4	2 (50,0)	35,1±4,2
	Нормальні зразки з ознаками запалення	16	9 (56,2)	28,0±1,8
Дисплазії	ВСЬОГО	70	47 (67,1%)	29,1±2,2
	1	10	7 (70%)	
	2	32	24 (75%)	
	3	28	16 (57,1%)	

Наявність експресії STAT-3 визначали за допомогою методу Western Blotting за наступною методикою: зразки тканини лізувалі у лизуючому буфері, що містить 1 % NP40 і 0,1 % SDS. Концентрацію білка у зразках визначали за методом Бредфорда (Bradforgreagent, R1271, Fermentas) відповідно до протоколу виробника. Рівні кількості лізата (близько 30 мкг - за сумарною концентрації білків у пробі) були розділені за молекулярною вагою в 12 % ПААГе з 0,1 % SDS, потім переносили на нітроцелюлозну мембрану та проводили імуноблот-аналіз зі специфічними антитілами проти Stat3 (SantaCrus, США) і Bcl-XL та β-актину (Sigma-Aldrich, Сент-Луїс, Міссурі, США). Специфічні білки віазулізували з

використаних набору реагентів PolyVue HRP/DAB Detection system (PV 100D, Diagnostic Biosystems, USA). Специфічні смуги аналізували за допомогою програми Quantity ONE і системи відеодокументації VersaDOC 4000MP (BIO-RAD) (рис 1.). Молекулярну вагу специфічних білків вираховували за допомогою програми Quantity ONE за стандартними пофарбованим білкам PageRuler Prestained Protein ladder Pluse (SM 1811, Fermentas) які наносили на гель і переносили на мембрану.Статистичний аналіз здійснювали за допомогою пакету програм Statistics 10. Значення $p<0,05$ вважали статистично достовірним.

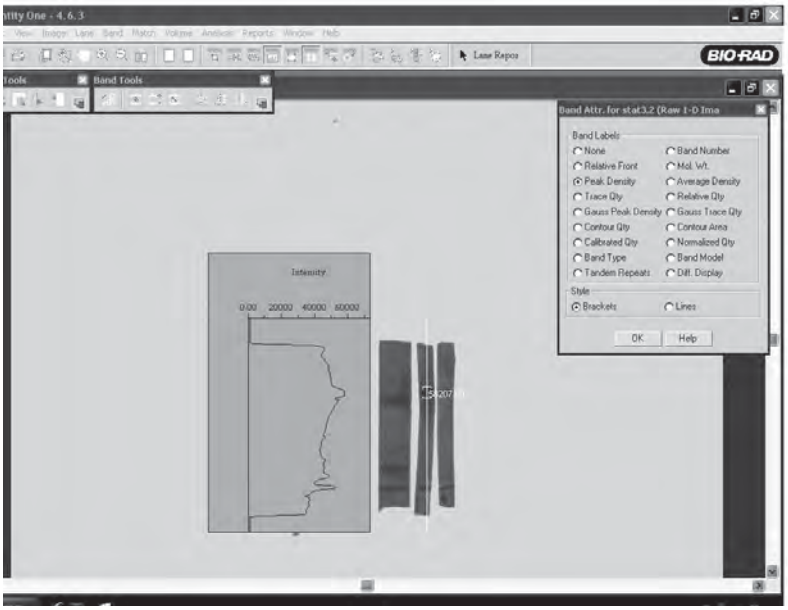

Рис. 1. Приклад калібрування показників активності STAT3.

Результати дослідження та їх обговорення

Комплексно обстежені відповідно до вимог чинних клінічних протоколів, регламентованих наказами МОЗ України (№ 582 від 15.12.2003, № 676 від 31.12.2004, № 417 від 15.07.2011) 70 пацієнток із передраковими ураженнями жіночих статевих органів (група CIN).

Групу порівняння склали 20 здорових жінок, обстежених у порядку диспансерного спостереження на клінічних базах кафедри акушерства та гінекології №1 Одеського національного медичного університету. Усі жінки, включені в дослідження, дали інформовану згоду.

Як показано в таблиці 2, слідові кількості STAT3 були експресовані в нормальних тканинах шийки матки у той час як початкова, а також висока ступінь передракових уражень (CIN II, CIN III) відрізнялася помірним або високим рівнем STAT3 відповідно.Більшість початкових передракових уражень (CIN I) мали слабку або відсутню експресію STAT3, хоча в деяких CIN I STAT3 показала фокально позитивні результати в базальному шарі. Навпаки, більш виражені типи передракових уражень (CIN II, CIN III) мали змінний рівень експресії STAT3. Незмінені тканини шийки матки виявили низький рівень експресії STAT3, за винятком декількох випадків, які супроводжувалися запальними процесами шийки матки.У передракових ураженнях шийки матки, ми спостерігали іммунопозитивність STAT3 в межах від 33 до 40% за допомогою імуноблотингу.

Таблиця 2

Рівень експресії STAT3 у біоптатах шийки матки у досліджуваних групах

Білок	Контрольна група (n=20)				Група CIN (n=70)			
Рівень експресії STAT3	відсутня (-)	слаба (+)	помірна (++)	виражена (+++)	відсутня (-)	слаба (+)	помірна (++)	виражена (+++)
	13	5	1	1	9	46	11	4

Для аналізу впливу інфекції ВПЛ на експресію STAT3 і активність на різних стадіях уражень шийки матки, результати даних імуноблотингу STAT3 у біоптатах передракових захворюваньбули проаналізовані відносно статусу ВПЛ- інфікування у відповідних зразках.

У ВПЛ позитивних зразках виявлено більш високий рівень експресії STAT3 порівняно з таким у ВПЛ–негативних ураженнях шийки матки. У більшості ВПЛ позитивних нормальних тканиншийки матки не виявлено експресії STAT3, за винятком тих, що мали ознаки запалення.

Загалом, у цьому дослідженні нами продемонстровано зміну експресії STAT3 у цервікальних клітинах на тлі передракових захворювань шийки матки. Результати імуноблотінга показали, що активність STAT3 зростає залежно від тяжкості уражень. Було виявлено також позитивний зв'язок зміненої експресії STAT3 із ураженням ВПЛ-18. Кореляція експресії STAT3 з ВПЛ-18 позитивним статусом в передракових захворюваннях шийки матки свідчить про участь ВПЛ-інфекції у розвитку передракової трансформації епітелію шийки матки. В більш ранніх дослідженнях експресія STAT3 не корелювала зі статусом ВПЛ-інфекції, як принциповий агент, який ассоційовано із розвитком передракових уражень шийки матки.

Наші спостереження, що свідчать про потенційну роль STAT3 в цервікальному канцерогенезі, відповідають аналогічним результатам, що демонструють присутність STAT3 в пухлинних клітинах шийки матки, хоча і з перемінним рівнем експресії в межах від 24 % до 56 % [7-9]. Ці дослідження були проведені з використанням імуногістохімічного аналізу STAT3 на ретроспективно взятих зразках. Близька у 40% випадків наявність STAT3 в клітинах була виявлена в зразках передракових ураженнь шийки матки,які переважно відносилися до категорії CINII і CINIII [10].Наші результати показують вищий рівень експресії STAT3 в CINII і CINIII зразках у порівнянні з CINI типом передракових уражень.Підвищення експресії і активація STAT3, знайдені в нашому дослідженні, можуть бути пов'язаніз поліпшенням якості зразків, оскільки вони були оброблені негайно після біопсії. STAT3 є лабільним білком, тобто цілком імовірно, що в результаті тривалого зберігання STAT3 може зазнавати деградації чи дефосфорилювання, які можуть бути частково відповідальні за низький рівень експресії STAT3 в інших дослідженнях [11-13]. Крім того, дослідження, про які повідомлялося раніше, використовували тільки імуногістохімічне визначення фосфорильованогоSTAT3 і не розглядали загальну експресію STAT3 одночасно, як це можливо за допомогою імуноблотінгу.

Висновки

1. Активність STAT3 зростає залежно від ступеню передракових уражень шийки матки.
2. Встановлено позитивний зв'язок зміненої експресії STAT3біоптатів шийки матки із ураженням ВПЛ-18.
3. Наявність запальних процесів шийки матки поза присутності передракових уражень асоціюється із підвищенням експресії STAT3.
4. Профілактичне лікування хронічних запальних захворювань шийки матки є патогенетично обґрунтованою профілактикою передракових уражень шийки матки, особливо у жінок із персистенцією ВПЛ.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Воробьева Л.И., Винницкая Д.Б., Доценко Ю.С., Евтушенко Г.В.* Опухоли женских половых органов. В: Справочник по онкологии. Киев: Здоров'я, 2000: 499—553.
2. Національний канцер-реєстрУкраїни БЮЛЕТЕНЬ НАЦІОНАЛЬНОГО КАНЦЕР-РЕЕСТРУ УКРАЇНИ Видання № 12 КИЇВ – 2011 [Електронний ресурс].–Режим доступу: http://www.ucr.gs.com.ua/dovida9/PDF/57-58-shm.pdf

3. *Aggarwal B.B., Sethi G., Ahn K.S., et al.*: Targeting signal-transducer-and-activator-of-transcription-3 for prevention and therapy of cancer: modern target but ancient solution. Ann N Y Acad. Sci. – 2006.-Vol. 1091.-P.151-169.
4. *Chen C. L., Hsieh F.C., Lieblein J.C., et al.*: Stat3 activation in human endometrial and cervical cancers. Br. J. Cancer 2007.- Vol.96.-P.591-599.
5. *Decker T., Kovarik P.*: Serine phosphorylation of STATs. Oncogene.- 2000.- Vol.19.-P.2628-2637.
6. *Feng D., Peng C., Li C., et al.*: Identification and characterization of cancer stem-like cells from primary carcinoma of the cervix uteri. Oncol. Rep. 2009.- Vol. 22.-P.1129-1134.
7. Human papillomavirus types by age in cervical cancer precursors: predominance of human papillomavirus 16 in young women / [Porras C., Rodriguez A.C., Hildesheim A. et al.] // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. – 2009. – Vol. 18, № 3. – P. 863-365.
8. *Kim D.J., Chan K.S., Sano S., Digiovanni J.*: Signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3) in epithelial carcinogenesis. Mol. Carcinog. – 2007.-Vol. 46.-P.725-731.
9. *Lu H., Ouyang W., Huang C.*: Inflammation, a key event in cancer development. Mol. Cancer. Res. – 2006.-Vol. 4.-P.221-233.
10. *Smith J.S., Herrero R., Bosetti C., et al.*: Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. J. Natl. Cancer Inst. 2002.- Vol.94.-P.1604-1613.
11. *Sobti R.C., Singh N., Hussain S.et al.*: Overexpression of STAT3 in HPV-mediated cervical cancer in a north Indian population. Mol. Cell. Biochem.- 2009.-Vol 174.-P.187-192.
12. *Takemoto S., Ushijima K., Kawano K., et al.*: Expression of activated signal transducer and activator of transcription-3 predicts poor prognosis in cervical squamous-cell carcinoma. Br. J. Cancer 2009.- Vol.101. – P.967-972.
13. *Zaporozhan V., Peresunko A., Oliynyk E.* The role of clinico-genetic monitoring of risk groups for early diagnostics of female reproductive system tumors. EJC Supplements Controversies in Tumor Prevention ang Genetics, 2004, Vol №2, No.1. p-45

АНАЛИЗ КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ У РОДИЛЬНИЦ С ОПЕРАТИВНЫМИ ВМЕШАТЕЛЬСТВАМИ НА ЯИЧНИКАХ В АНАМНЕЗЕ

ГОВОРУХА И.Т., АКИМОВА И.К., ДЕМИНА Д.В.

г. Донецк

Оперативные вмешательства на яичниках составляют 19-25% в структуре гинекологических операций. Следует отметить, что в течение последних лет наблюдается тенденция к неуклонному их росту, что связано с совершенствованием диагностических методов и эндоскопической техники [1].

Операции на яичниках независимо от показаний для их проведения оказывают негативное влияние на репродуктивное здоровье женщины с возможным развитием таких неблагоприятных последствий как бесплодие, нарушение менструального цикла, невынашивание беременности и другие [1-4].

Материалы и методы исследования

Проведен ретроспективный анализ медицинской документации (амбулаторных карт, индивидуальных карт беременных, историй болезней, историй родов) 150 родильниц с опе-