

УДК 618-091.817;092.12

Романюк А.М., Линдін М.С., Москаленко Р.А., Кузенко Є.В.

**МОРФОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РАКУ
МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ В УМОВАХ ЗАБРУДНЕННЯ ДОВКІЛЛЯ
СОЛЯМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

Сумський державний університет, медичний інститут (м. Суми)

Дана робота виконана в межах навчально-дослідницької теми «Морфогенез загальнопатологічних процесів», № держ. реєстрації 013U003315.

Вступ. Проблемі розвитку злоякісного пухлинного процесу в молочній залозі присвячено не одне дослідження. В якості етіологічних чинників виникнення раку молочної залози (РМЗ) описані порушення харчування [6], гормональні розлади [10], спадкова схильність [3], вірусна контамінація, фактори зовнішнього середовища та інші [9]. Неопластичні захворювання молочної залози, безперечно, є екологічно залежною патологією, про що свідчить їх стабільний ріст у розвинутих країнах світу [11], серед яких вплив важких металів (з атомною масою більше 50 а.о.) займає не останнє місце [5].

Незважаючи на позитивний біологічний вплив на організм більшості сполук важких металів, є відомості про їх канцерогенний вплив на тканину молочної залози. Він реалізується через механізми інтеркалірування ДНК своїм безпосереднім впливом на процеси транскрипції, трансляції та реплікації [2]. За рахунок пригнічення системи антиоксидантного захисту вищезазначені сполуки спричиняють опосередкований вплив на функціонування епітеліальних клітин молочної залози. Окремі хімічні елементи можуть порушувати функціонування тканини, а інші імітувати дію естрогену, впливаючи на гормональний стан жінки [7].

У деяких випадках дисбаланс мікроелементів у тканинах має природне біогеохімічне походження – за умов проживання людини на території з підвищеним вмістом важких металів, тощо. Такими територіями в Сумській області є С-Будський, Шосткинський та Ямпільський райони, в яких відмічається підвищення в ґрунті солей заліза, марганцю, хрому, міді, кобальту, нікелю, свинцю та цинку [1].

Мета дослідження - вивчити морфологію та хімічний склад тканини раку молочної залози у жінок, які мешкають в екологічно-забруднених регіонах.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводилось на тканині молочної залози 60 жінок, прооперованих з приводу РМЗ. Зразки тканини РМЗ були розділені на 2 групи. I група (30 зразків) – тканина РМЗ жінок з екологічно забруднених регіонів. II група (30 зразків) – тканина РМЗ жінок контрольної групи, які проживали в «екологічно-чистих» районах. Гістологічні характеристики тканин вивчалися на зрізах, забарвлених гематоксилін-еозином. За допомогою цифрової системи виведення зображення «SEO Scan ICX 285 AK-F IEE-1394» (Україна) знімки гістологічних мікропрепаратів документували та зберігали на комп'ютері.

Хімічний аналіз здійснювався методом атомної абсорбції. Зважену тканину після висушування та спалювання розчиняли в 10% розчині соляної та азотної кислот. На атомному абсорбційному спектрофотометрі С-115М1 визначали кількість цинку (довжина хвилі - 213,9 нм), міді (довжина хвилі - 324,7 нм), свинцю (довжина хвилі - 283,3 нм), хрому (довжина хвилі - 357,9 нм), заліза (довжина хвилі - 248,3 нм) та нікелю (довжина хвилі – 240,7 нм).

Мікроелементний склад зрізів тканини вивчали на растровому електронному мікроскопі, який оснащений енерго-дисперсійним спектрометром. Дослідження мікроелементного складу зрізів (товщина 5

мкм), нанесених на спектрально-чистий графітний стержень проводили за допомогою спеціально розробленої комп'ютерної програми «Magellanes». Для перегляду морфологічних змін об'єктів дослідження використано програмне забезпечення «VCU».

При проведенні статистичного дослідження використовували програму Microsoft Excel 2010 з додатком AtteStat 12.0.5. Порівняння між групами проведено за допомогою t-критерію Ст'юдента з урахуванням нормальності вибірки за критерієм Колмогорова, різниця вважалася вірогідною при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Дослідження гістологічних препаратів виявило, що серед жінок із «забруднених» регіонів у тканині РМЗ у 25 випадках виявлений інфільтративний протоковий рак, у 2 випадках медулярний рак та по одному випадку слизовий рак та рак Педжета (**рис. 1**).

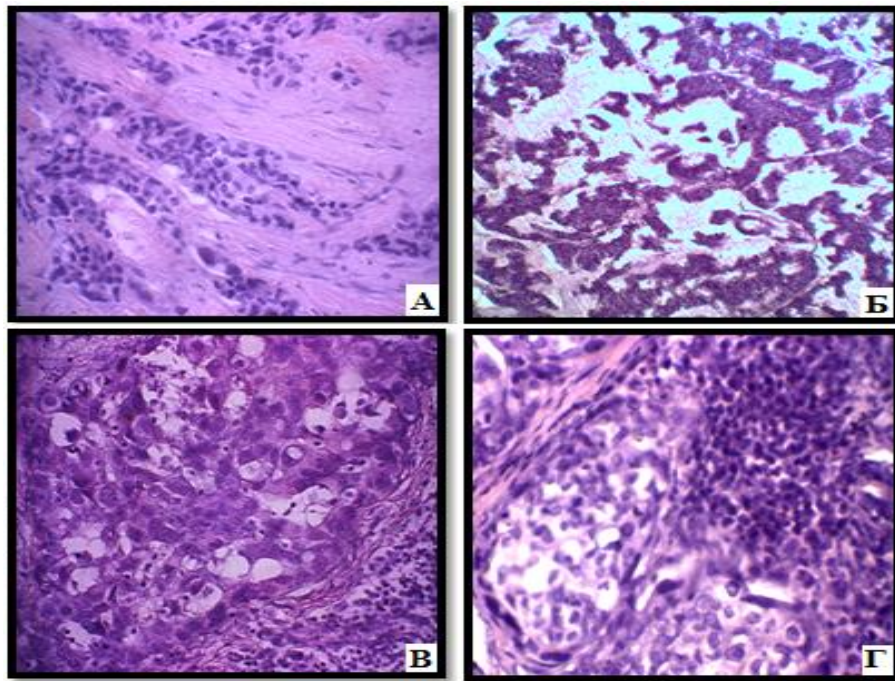


Рис. 1. Гістогічні варіанти РМЗ. Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. х100.
А – інфільтративний протоковий рак, Б – слизовий рак, В – рак Педжета, Г – медулярний рак.

У контрольній групі жінок із «чистих» районів результати гістологічного дослідження виявилися наступними: 26 випадків інфільтративного протокового раку, 2 медулярного раку і 2 слизового раку молочної залози.

При визначенні мікроелементного складу тканини РМЗ жінок із «забруднених» районів шляхом атомно-абсорбційної спектроскопії встановлено, що вміст заліза склав $65,23 \pm 4,4$ мкг/г, міді – $5,98 \pm 3,1$ мкг/г, хрому – $2,56 \pm 1,1$ мкг/г, цинку – $4,44 \pm 1,6$ мкг/г, свинцю – $0,11 \pm 0,04$ мкг/г, нікелю – $0,31 \pm 0,04$ мкг/г. В контрольній групі спостерігалися значно нижчі показники вмісту зазначених мікроелементів у пухлинній тканині. Так кількість заліза була меншою на 24% ($49,56 \pm 5,6$ мкг/г), міді – на 15,4% ($5,06 \pm 2,4$ мкг/г), хрому – на 16,8% ($2,13 \pm 4,9$ мкг/г), цинку – на 13,8% ($3,9 \pm 1,4$ мкг/г), свинцю – на 11,1% ($0,098 \pm 0,03$ мкг/г) та нікелю на 9,3% ($0,28 \pm 0,03$ мкг/г).

Підвищений вміст мікроелементів - важких металів у тканині РМЗ жінок, які мешкають у екологічно забруднених регіонах, у порівнянні з контрольною групою, вказує на схильність до накопичення їх у пухлинній тканині за умов підвищеної кількості останніх у навколишньому середовищі. Співставляючи захворюваність на РМЗ у різних регіонах області з даними хімічного аналізу, встановлено, що саме в екологічно-забруднених районах підвищена як захворюваність на РМЗ (майже в 2 рази), так і кількість сполук важких металів у пухлинній тканині.

Для з'ясування просторової особливості та локалізації накопичення досліджуваних мікроелементів у раковій пухлині нами проведене дослідження хімічного складу тканини РМЗ, який визначався енергодисперсійним методом на растровому електронному мікроскопі у двох функціональних режимах: сканування всієї поверхні препарату та

вогнищеве сканування з урахуванням мікроелементного складу паренхіматозного на стромального компонентів тканини (рис. 2).

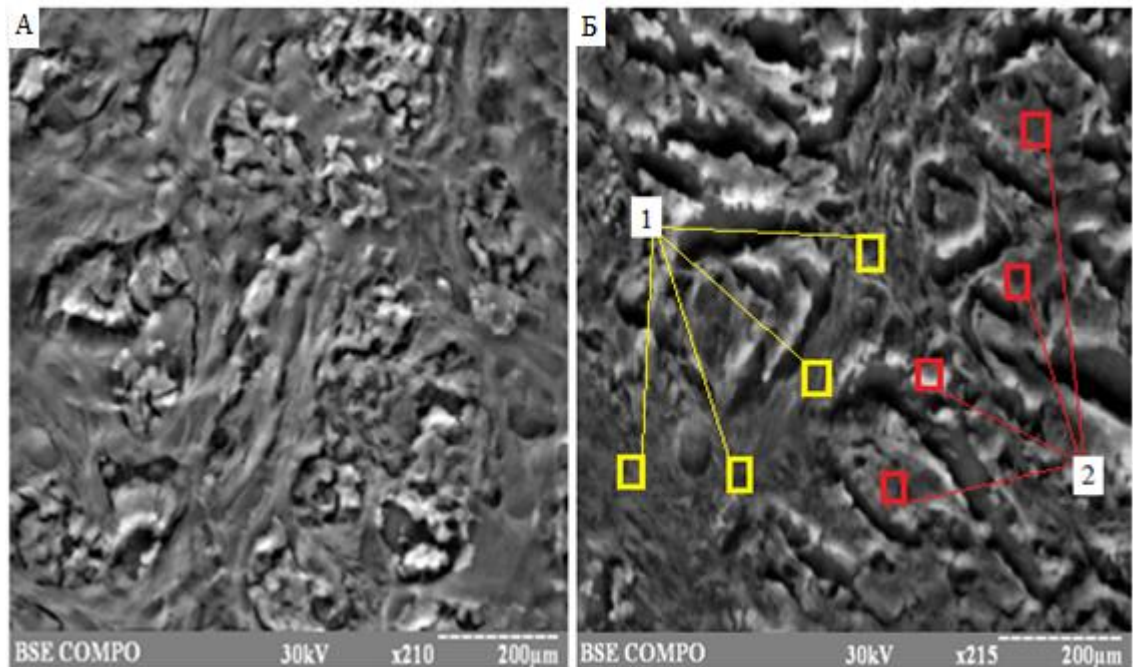


Рис. 2. Растрова електронна мікроскопія.

А – сканограма всієї поверхні препарату (збільшення x210), Б – вогнищева сканограма (збільшення x215): 1- стромальний компонент, 2 – паренхіматозний компонент.

Результати енерго-дисперсійного методу виявили, що поряд з такими макроелементами, як кальцій, натрій, калій, фосфор, сірка, в пухлинній тканині молочної залози знаходились також важкі метали: залізо, цинк, мідь, хром, нікель та сліди свинцю (рис. 3). У пухлинах жінок із «забруднених» районів показники вмісту мікроелементів - важких металів були більшими на 15-25% за ті, що виявлені у контрольній групі.

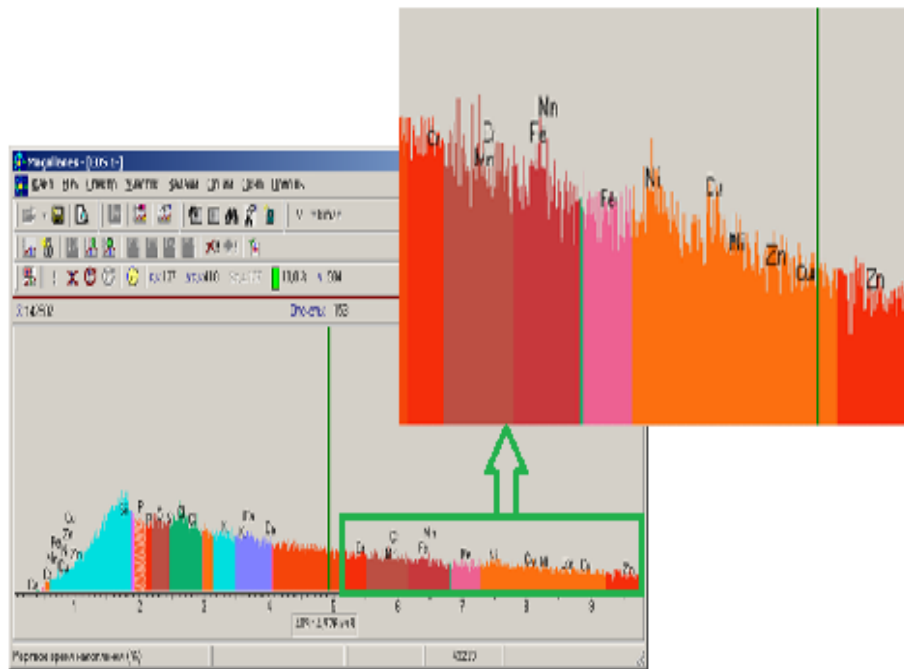


Рис. 3. Спектр хімічних елементів, виявлений під час енерго-дисперсійної спектроскопії.

При дослідженні складових препаратів РМЗ встановлено, що більше накопичує важкі метали саме паренхіматозний компонент пухлинної тканини. Статистично достовірної різниці між накопиченням вищезазначених елементів та гістологічним варіантом РМЗ не встановлено.

Без сумніву, важкі метали відіграють важливу роль у життєдіяльності як клітини, так і у цілому організмі. Цинк, залізо та мідь приймають участь в окисно-відновних реакціях, виступаючи складовими ферментів антиоксидантної системи (каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза); стабілізують генетичний матеріал клітини, приймаючи участь у синтезі ДНК, РНК і білків, клітинній проліферації та диференціюванні, регулюванні генної експресії; регулюють обмін холестерину, синтез стероїдних, тиреоїдних та інших гормонів, інтенсивність ангиогенезу та інше.

Надмірне ж надходження солей важких металів в організм викликає зворотні ефекти. Канцерогенний вплив сполук важких металів може реалізуватися як через механізми порушення структури ДНК своїм безпосереднім впливом на процеси транскрипції, трансляції та реплікації [5], так і через пригнічення системи антиоксидантного захисту [2]. Деякі з металів можуть порушувати функціонування клітин, а деякі імітувати дію естрогену, впливаючи на гормональний стан жінки з майбутнім їх блокуванням. Вони посилюють проліферативну активність клітин ангіогенезу, впливають на процеси апоптозу та проліферативну активність пухлинних клітин [8], зменшують адгезивні міжклітинні зв'язки [4], що в кінцевому підсумку призводить до стимулювання пухлинної трансформації, ініціації та прогресії.

Саме надмірна наявність сполук важких металів у паренхіматозному компоненті пояснює їх канцерогенний вплив на молочну залозу. Присутність цих металів у стромальному компоненті можна розглядати як етіологічний фактор патологічної біомінералізації пухлинної тканини, що також є негативною прогностичною характеристикою злоякісного процесу.

Дисбаланс хімічних елементів у тканинах шляхом антагоністичної дії з фізіологічними адаптативними системами може призводити до виникнення вторинних змін тканини, таких як некроз, запалення, що також впливає на перебіг пухлинного процесу та його патоморфоз.

Висновки.

1. Надмірне надходження сполук важких металів в організм людини призводить до накопичення останніх у різних структурах пухлинної тканини молочної залози.
2. Можна припустити, що гіпермікроелементоз раку молочної залози призводить до порушення антиоксидантного захисту клітин та дестабілізації генетичної рівноваги епітеліальних клітин молочної

залози, що в кінцевому підсумку ініціює та стимулює розвиток пухлинного процесу.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення імуногістохімічних маркерів апоптозу, проліферативної активності, адгезивної спроможності, інвазивного потенціалу пухлинних клітин та епігенетичних змін ДНК у залежності від кількості важких металів у пухлинній тканині молочної залози.

Література

1. Доповідь про стан навколишнього середовища у Сумській області у 2009 році. – Суми : РКР «Ellada S», 2010. - 84 с.
2. Benderli Cihan Y. Trace elements and heavy metals in hair of stage III breast cancer patients / Y. Benderli Cihan, S. Sozen, S. Ozturk Yildirim // *Biol. Trace. Elem. Res.* – 2011. – Vol. 144(1–3). – P. 360–379.
3. Gudmundsdottir K. The roles of BRCA1 and BRCA2 and associated proteins in the maintenance of genomic stability / K. Gudmundsdottir, A. Ashworth // *Oncogene.* – 2006. – Vol. 25. – P. 5864-5874.
4. Hashemi M. Cytotoxic effects of intra and extracellular zinc chelation on human breast cancer cells / M. Hashemi, S. Ghavami, M. Eshraghi [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2007. – Vol.557. – P.9–19.
5. Hentze M.W. Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism / M.W. Hentze, M.U. Muckenthaler, B. Galy [et al.] // *Cell.* – 2010. – Vol.142. – P. 24–38.
6. Hirose K. Dietary patterns and the risk of breast cancer in Japanese women / K. Hirose, K. Matsuo, H. Iwata [et al.] // *Cancer Sci.* – 2007. – Vol. 98(9). – P. 1431-1438.
7. Jackson L.W. The association between cadmium, lead and mercury blood levels and reproductive hormones among healthy, premenopausal women /

- L.W. Jackson, P.P. Howards, J. Wactawski-Wende [et al.] // Hum. Reprod.- 2011. – Vol. 26(10). – P. 2887-2895.
8. Lowndes S.A. Phase I study of copper-binding agent ATN-224 in patients with advanced solid tumors / S.A. Lowndes, A. Adams, A. Timms [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2008. - Vol. 14(22). – P. 7526-34.
 9. Martin M.B. Estrogen-like activity of metals in MCF-7 breast cancer cells / M.B. Martin, R. Reiter, T. Pham [et al.] // Endocrinology. – 2003. – Vol. 144 (6). – P. 2425–2436.
 10. Missmer S.A. Endogenous estrogen, androgen, and progesterone concentrations and breast-cancer risk among postmenopausal women / S.A. Missmer, A.H. Eliassen, R.L. Barbieri [et al.] // J. Natl. Cancer Inst. – 2004. – Vol. 96. – P. 1856-1865.
 11. Pinnix Z.K. Ferroportin and iron regulation in breast cancer progression and prognosis / Z.K. Pinnix, L.D. Miller, W. Wang [et al.] // Sci. Transl. Med. – 2010. – Vol. 2(43). – P. 43-56.

УДК 618-091.817;092.12

МОРФОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ В УМОВАХ ЗАБРУДНЕННЯ ДОВКІЛЛЯ СОЛЯМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Романюк А.М., Линдін М.С., Москаленко Р.А., Кузенко Є.В.

Резюме. Метою дослідження стало вивчення хімічного складу тканини раку молочної залози. Проводилося визначення важких металів у пухлинній тканині за допомогою атомної абсорбції та енергодисперсійною спектрометрії. Встановлено взаємозв'язок між надмірним надходження сполук важких металів в організм людини та накопичення їх у пухлинній тканині молочної залози, що може виступати пусковим фактором канцерогенезу.

Ключові слова: пухлина, молочна залоза, важкі метали, канцерогенез.

УДК 618-091.817;092.12

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Романюк А.Н., Лындин Н.С., Москаленко Р.А., Кузенко Е.В.

Резюме. Целью исследования стало изучение химического состава ткани рака молочной железы. Проводилось определение тяжелых металлов в опухолевой ткани с помощью атомной абсорбции и энергодисперсионной спектрометрии. Установлена взаимосвязь между чрезмерным поступлением соединений тяжелых металлов в организм женщины и накоплением их в опухолевой ткани молочной железы, что может выступать пусковым фактором канцерогенеза.

Ключевые слова: опухоль, молочная железа, тяжелые металлы, канцерогенез.

UDC 618-091.817;092.12

Morphological and Biochemical Features Breast Cancer in Conditions Environmental Contamination of Heavy Metal Salts

Romanyuk A.N. Lyndin N. S., Moskalenko R. A., Kuzenko E.V.

Abstract. The problem of developing a malignant tumor in the breast is dedicated to more than one study. As etiological factors of breast cancer described eating disorders, hormonal disorders, genetic predisposition, viral contamination, environmental factors, and others. Neoplastic breast disease is undoubtedly an environmentally dependent pathology, as evidenced by their steady growth in developed countries.

Researches is devoted to the study of the morphology and chemical composition of the tissue breast cancer in women who live in ecologically polluted regions.

The study was conducted on breast tissue of 60 women operated on breast cancer. Histological characteristics of tissues studied in sections stained with hematoxylin-eosin. Chemical analysis was carried out by atomic absorption. Microelement composition of tissue sections studied by scanning electron microscope, which is equipped with energy dispersive spectrometer.

Results. The amount of trace metals, atomic absorption method defined, in breast cancer tissue from women environmentally contaminated region exceeds their number in the control group: iron - by 24%, copper - by 15.4% chromium - by 16.8%, zinc - by 13.8%, lead - by 11.1% and nickel - by 9.3%. The results of energy dispersive method found that trace elements content in the research group more than 50 atomic mass by 15-25% larger than those found in the control group. Trace metals accumulate over in the cellular component of the tumor tissue. It is the presence of excess heavy metals in the parenchymal component explains their carcinogenic effects on the mammary gland. The presence of these metals in the stromal component can be considered as an etiological factor of pathological biomineralization tumor tissue, which is also a negative prognostic feature of malignancy. Comparing the incidence of breast cancer in different areas of the region with the data of chemical analysis, it was found that in environmentally contaminated areas as increased incidence of breast cancer (almost 2 times), and the number of heavy metal compounds in tumor tissue. A statistically significant difference between the accumulation of elements and histological type of breast cancer is not established.

Carcinogenic effect of heavy metal compounds can be realized through the mechanisms of DNA structure violation to their direct influence on the processes of transcription, translation and replication, inhibition of antioxidant

defense system, simulate the action of estrogen, increased proliferative activity of cells of angiogenesis. they affect apoptosis and proliferative activity of tumor cells, reduce adhesive intercellular communication, which ultimately leads to stimulation of malignant transformation, initiation and progression.

Conclusions. Excessive inflow trace metals in the body leads to their accumulation in tumor breast tissue. We can assume that this leads to disruption of antioxidant defense cells and destabilize the balance of genetic breast epithelial cells, which ultimately initiates and stimulates the development of cancer.

Prospects for further research. Study of immunohistochemical markers of apoptosis, proliferative activity, adhesive capacity invasive potential of tumor cells and epigenetic DNA changes depending on the amount of heavy metals in tumor tissue.

Keywords: tumor, mammary gland, trace metals, carcinogenesis.

Рецензент – проф. Старченко І.І.

Стаття надійшла 19.08.2014 р.

Морфологічні та біохімічні особливості раку молочної залози в умовах забруднення довкілля солями важких металів [Романюк А.М., Линдін М.С., Москаленко Р.А., Кузенко Є.В.] // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Вип.4, Т. 1. (113). – С.318-322.