

ОСОБЕННОСТИ СУБЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ УЧАСТКОВ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ШЕЙКИ МАТКИ ПРИ ФОНОВЫХ И ПРЕДРАКОВЫХ ПРОЦЕССАХ

А.П. Пересунько, Абу Селех Исмаил Мохамед, И.С.

Давыденко, В.П. Кравчук

Кафедра онкологии, лучевой диагностики и лучевой терапии

Буковинский государственный медицинский университет, г. Черновцы

Резюме. На основании проведенных гистопатологических исследований установлено неодинаковое строение субэпителиальной соединительной ткани шейки матки при её различных предопухолевых состояниях. При псевдоэрозии изменения касаются только появления небольшой очаговой инфильтрации лимфоидными клетками, плазмацитами и моноцитарными элементами в неизменной соединительной ткани. При «зажившей» псевдоэрозии гистологическая картина подобна вышеописанной, но появляются мелкие очаги более плотной упаковки более окрашенных соединительнотканых волокон. При лейкоплакии и дисплазии наблюдается существенное уплотнение соединительной ткани за счет увеличения удельной плотности (%) соединительнотканых волокон и степени насыщения их белком (согласно окрашиванию). Уплотнение соединительной ткани возрастает в ряду: лейкоплакия, дисплазия легкой степени, дисплазия средней степени, дисплазия тяжелой степени.

Ключевые слова: предопухолевые состояния, шейка матки, соединительная ткань.

Введение

Проблеме заболеваний шейки матки посвящено огромное количество работ как в СНГ, так и за границей. Они дополнены данными электронно-микроскопических, гистохимических исследовательских приемов, которые представляют несомненную новизну [1,2,4]. Тем не менее в них практически не описывается и не объясняется состояние подлежащей соединительной ткани шейки матки в процессе малигнизации ее эпителия. Кроме того гистохимические методы оценки состояния соединительной ткани практически не используются в практической медицине из-за значительной дороговизны. Методы окраски и, особенно, оценки препарата требуют высокой квалификации морфолога. Даже наличие таких специалистов в лабораториях гинекологических клиник не будет уменьшать количество ошибок в связи с наличием субъективизма в интерпретации результатов [8,10].

Хотя само понятие «предопухоловое состояние» в своих конкретных формах может быть дискуссионным и не всегда четким, все же не вызывает сомнения, что существуют ряд морфологических изменений в шейке матки, в отношении которых в той или иной степени можно обсуждать определенный уровень риска их перехода в истинную опухоль [1,2,4-6,8,10,12].

В последнее время пристальное внимание привлекает строма опухоли, особенно ее соединительнотканый компонент [7,11]. При этом подразумевается, что последний не только влияет на течение опухолевого процесса, но и, с другой стороны, сам формируется в значительной степени в связи с воздействием на него молекулярных факторов паренхимы опухоли [7]. Иными словами, имеются взаимные влияния между опухолевой паренхимой и стромой опухоли. На пути трансформации нормальных эпителиальных клеток в опухолевые [8] можно предполагать появление (или повышение продукции) в их цитоплазме определенных регулирующих молекул с дальнейшим выделением их во внеклеточную среду, в связи с чем следует ожидать некие изменения в близлежащей соединительной ткани. Если таковые имеют место, это можно будет использовать не только в диагностических целях, но и для прогнозирования дальнейшего поведения конкретного предопухолового состояния, а в перспективе, возможно, и для разработки методов лечения и профилактики последнего.

Цель исследования

Установить гистопатологические особенности субэпителиальных участков соединительной ткани шейки матки при некоторых предопухоловых состояниях её эпителия.

Материал и методы

Исследованы следующие состояния шейки матки: псевдоэрозия простая (12 наблюдений), псевдоэрозия «зажившая» (8), лейкоплакия (9), дисплазия легкой степени (10), средней степени (6) и тяжелой степени (8). Возраст пациенток – 27-48 лет. Биопсийный материал фиксировали 48-72 часов в 10% растворе нейтрального забуференного формалина, а после парафиновой заливки на санном микротоме МС-2 получали гистологические срезы толщиной 5 мкм. С обзорными целями гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Со специальными целями использована методика Н.З. Слинченко («хромотроп 2В»–«водный голубой» после протравки фосфорно-вольфрамовой кислотой). Указанная окраска по результатам соответствует известной методике Мэллори, но в отличие от последней позволяет адекватно окрашивать ткани, фиксированные обычным способом в формалине [3]. После

окрашивания появляется возможность визуализировать волокна соединительной ткани (по чистой голубой окраске различной интенсивности), фибрин (малиновый цвет), эритроциты – ярко-красные, различные клетки: их ядра и цитоплазма окрашиваются в оттенки цветов от голубого до пурпурного, обычно с присутствием серого компонента (осаждение железного гематоксилина, используемого в ходе окраски), который не наблюдается в соединительнотканых волокнах и фибрине. Оптические изображения переводили в цифровые с помощью микроскопа ЛЮМAM-P8 и цифровой фотокамеры Olympus C740UZ. Полученные цифровые изображения анализировали с помощью лицензионной копии компьютерной программы ВидеоТест – Размер 5.0, производителя ООО Видеотест (Россия, 2000). Интенсивность окраски измеряли микронзондовым методом согласно технологии компьютерной микроденситометрии по показателю "оптическая плотность" в условных единицах от 0 (полностью проницаемый для светового пучка) до 1 (абсолютно непроницаемый для светового пучка). Там, где это было возможно, попиксельно определяли удельную площадь (%), занимаемую соединительноткаными волокнами в определенных участках соединительной ткани. Для полученных статистических выборок проверяли гипотезу о нормальности распределения с помощью критерия Уилки-Хана-Шапиро. Хотя гипотеза ни в одном случае не была отклонена, учитывая небольшое количество наблюдений, использовали не только параметрический метод сравнения – непарный двусторонний критерий Стьюдента, но и непараметрический метод – критерий Манна-Уитни. Уровнем статистической значимости считали $p=0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Состояние шейки матки при простой псевдоэрозии характеризуется прежде всего тем, что в местах обычного расположения многослойного плоского неороговевающего эпителия шейки матки обнаруживаются участки, непрерывно покрытые однослойным цилиндрическим или кубическим эпителием, которые, соответственно, не являются эрозиями, но макроскопически выглядят как таковые. В данном случае изучены псевдоэрозии, впервые выявленные у пациенток. Соединительная ткань, которая расположена непосредственно под однослойным цилиндрическим эпителием, имеет слабо окрашенные в голубой цвет (оптическая плотность $0,094 \pm 0,0008$ ус.ед.) тонкие соединительнотканые волокна нежно-петлистого строения, которые расположены разреженно (рис.1), удельная площадь волокон в массе соединительной ткани – $16 \pm 1,1\%$. Толщина этого слоя соединительной ткани варьирует на протяжении. Местами имеются небольшие скопления лимфоидных клеток, плазматиков и моноцитарных клеточных

форм. В более глубоких слоях соединительной ткани соединительно-тканые волокна имеют несколько большую толщину и окрашены интенсивнее (оптическая плотность $0,227 \pm 0,0015$ усл.ед., $p < 0,001$), ход у этих волокон не петлистый, а в виде параллельных – пучков (рис. 1). Следует отметить, что более сильное окрашивание волокон в методике Н.З.Слинченко соответствует большей концентрации в них белка [3]. В целом, за исключением явления вышеописанной клеточной инфильтрации, гистологическая картина соединительной ткани при простой псевдоэрозии соответствует обычному строению.

В случае зажившей псевдоэрозии имеется ввиду ситуация, когда на месте бывшей простой псевдоэрозии эпителий вновь приобретает своё изначальное строение – становится многослойным плоским неороговевающим. Такие наблюдения представляют интерес в связи с возможными рецидивами псевдоэрозии или предполагаемого появления истинной эрозии. В общем, строение соединительной ткани напоминает таковое при простой псевдоэрозии (рис.2). Отличием является то, что в некоторых участках, непосредственно прилегающих к эпителию, имеются небольшие фокусы уплотненных сильнее прокрашенных (оптическая плотность $0,221 \pm 0,0014$ усл.ед.) в голубой цвет соединительнотканых волокон (рис. 2).

Состояние истинной эрозии характеризуется утратой эпителиального покрова на определенных участках. В отдельных случаях происходит углубление дефекта ткани за субэпителиальную базальную мембрану с образованием из эрозии по существу настоящего язвенного дефекта. Поверхностные отделы соединительной ткани сильно изменены. В частности, области предполагаемого расположения нежных соединительнотканых волокон выглядят гомогенными и, к тому же, измененного цвета – розовые (цветовые изменения подтверждаются объективными результатами компьютерного спектрального анализа). Всё это свидетельствует о выраженных химических и морфологических изменениях волокон. Кроме того, в самых поверхностных участках эрозии имеются прерывистые фибриновые наложения. В более глубоких отделах соединительной ткани отмечаются явления микротромбоза и лимфостаза (рис. 3).

Патология лейкоплакии связана с появлением кератинизации многослойного плоского эпителия, которая присуща шейке матки. На поверхности эпителия появляется четкий роговой слой, разной толщины. В 8 случаях из 9 наблюдается круглоклеточная инфильтрация субэпителиальных участков соединительной ткани, иногда достаточно плотная (рис.4). Однако, даже через клеточную инфильтрацию видно огрубление соединительнотканых волокон и их более плотное расположение – удельная площадь волокон в массе соединительной ткани – $22 \pm 1,8\%$. При оценке степени окрашивания

волокон этой локализации установлено, что она близка к таковой в более глубоких участках (оптическая плотность $0,226 \pm 0,0019$ усл.ед.). В других участках соединительной ткани на разной глубине особенностей не обнаружено.

Дисплазия легкой степени сопровождается нарушением стратификации и определенными изменениями эпителиоцитов приблизительно на $1/3$ глубины эпителия. В наших наблюдениях дисплазия лёгкой степени обычно сопровождалась кератинизацией эпителия, что, возможно, указывает на связь дисплазии с лейкоплакией в том смысле, что последняя, по-видимому, предшествует как по времени, так и патогенетически диспластическому процессу. В пользу этого предположения свидетельствуют и особенности строения соединительной ткани, непосредственно примыкающей к субэпителиальной базальной мембране (рис.5А). В частности, удельная площадь волокон в массе соединительной ткани составила $24 \pm 1,9\%$, а окрашивание по показателю «оптическая плотность» - $0,230 \pm 0,0016$ усл.ед.

Изменения эпителия при дисплазии средней степени подобны дисплазии легкой степени, но распространяются на $2/3$ его толщины. Также наблюдаются явления кератинизации. Следует отметить, что по современным представлениям дисплазию эпителия шейки матки средней и тяжелой степени относят к интраэпителиальным неоплазиям [8,9]. Согласно нашим собственным данным, строение субэпителиальной стромы соответствует дальнейшему уплотнению соединительной ткани (рис.5 Б), поскольку удельная площадь волокон в массе соединительной ткани в среднем определена с цифрами $31 \pm 2,4\%$, а окрашивание по показателю «оптическая плотность» - $0,232 \pm 0,0014$ усл.ед.

Патология дисплазии тяжелой степени сопровождается распространением характерных изменений на всю толщу эпителия. Интересно, что при этом кератинизации обычно не наблюдалось. Удельная площадь волокон в массе соединительной ткани была наиболее высокая среди всех групп исследования и в среднем составила $48 \pm 2,7\%$, а окрашивание по показателю «оптическая плотность» также характеризовалось наивысшим средним показателем - $0,327 \pm 0,0019$ усл.ед. (рис. 5В).

Выводы

1. При псевдоэрозии влагилицной части шейки матки изменения в её субэпителиальной соединительной ткани касаются только появления небольшой очаговой инфильтрации лимфоидными клетками, плазмочитами и моноцитарными элементами в неизменной соединительной ткани. При «зажившей» псевдоэрозии гистологическая картина подобна вышеуказанной, но появляются мелкие очаги

более плотной упаковки сильнее окрашенных соединительнотканых волокон.

2. При лейкоплакии и дисплазии наблюдается существенное уплотнение соединительной ткани за счет увеличения удельной плотности соединительнотканых волокон и степени насыщения их белком. Уплотнение соединительной ткани возрастает в ряду: лейкоплакия, дисплазия легкой степени, дисплазия средней степени, дисплазия тяжелой степени.

Перспектива дальнейших исследований

Перспективы дальнейших поисков связаны с определением конкретных молекулярных механизмов, вызывающих описанные в данном исследовании изменения соединительной ткани.

Литература:

1. Акуленко Л.В., Шабалина Н.В., Манухин И.Б. Современные взгляды на этиопатогенез и профилактику рака органов репродуктивной сферы // Пробл. репродукции. - 2003.- №4. - С. 15-22.
2. Вишнякова С.В., Пекарев О.Г., Ефремов А.В., Лузянин Ю.Ф. Этиопатогенетические аспекты псевдоэрозии шейки матки // Ж. акуш. и жен. болезней. – 2000. - Т.ХІХ, Вып.1. - С.1-4.
3. Давиденко І.С. Модифікація гістохімічної методики фарбування фібрину та колагенових волокон у плаценті // Бук. Мед. вісник.- 2001.- Т.5, №1.- С. 147-150.
4. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний шейки и тела матки. – С-Пб.: Сотис, 2000. - 233 с.
5. Charvet I., Meda P., Genet M., Pelte M.F., Vlastos A.T. Optical diagnosis of cervical dysplasia // Bull. Cancer. – 2004. - V. 91, N 1. - P. 45-53.
6. De Palo G. Cervical precancer and cancer, past, present and future // Eur. J. Gynaecol. Oncol. – 2004. - V. 25, N 3. - P. 269-278.
7. De Wever O., Mareel M. Role of tissue stroma in cancer cell invasion // J. Pathol. – 2003. – V.200, N4. – P.429-447.
8. Misra J.S., Das V., Srivastava A.N., Singh U. Role of different etiological factors in progression of cervical intraepithelial neoplasia // Diagn. Cytopathol. – 2006. - V. 34, N 10. - P. 682-685.
9. Pretorius R.G., Zhang X., Belinson J.L., Zhang W.H., Ren S.D., Bao Y.P., Qiao Y.L. Distribution of cervical intraepithelial neoplasia 2, 3 and cancer on the uterine cervix // J. Low Genit. Tract. Dis. – 2006. - V. 10, N 1. - P. 45-50.

10. Sellors J., Lewis K., Kidula N., Muhombe K., Tsu V., Herdman C. Screening and management of precancerous lesions to prevent cervical cancer in low-resource settings // Asian. Pac. J. Cancer Prev. – 2003. - V. 4, N 3. - P. 277-280.
11. Sivridis E., Giatromanolaki A., Koukourakis M.I. “Stromatogenesis” and tumor progression // Int. J. Surg. Pathol. – 2004. – V.12, N1. – P.1-9.
12. Terai Y., Ueda M. Management of dysplasia of the uterine cervix // Nippon. Rinsho. – 2004. - V. 62, N 10. - P. 88-92.

ОСОБЛИВОСТІ СУБЕПІТЕЛІАЛЬНИХ ДІЛЯНОК СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ШИЙКИ МАТКИ ПРИ ФОНОВИХ ТА ПЕРЕДРАКОВИХ ПРОЦЕСАХ

О.П. Пересунько, Абу Селех Ісмаїл Мохамед, І.С. Давиденко, В.П.Кравчук

Резюме. На основі проведених гістопатологічних досліджень встановлено неоднакову будову субепітеліальної сполучної тканини шийки матки при її різних передпухлинних станах. При псевдоерозії зміни торкаються лише появи невеликої вогнищевої інфільтрації лімфоїдними клітинами, плазмоцитами і моноцитарними елементами в незмінній сполучній тканині. При псевдоерозії, що «загоїлась» гістологічна картина подібна до вищеописаної, але з'являються дрібні вогнища більш щільного розташування сильніше пофарбованих сполучнотканинних волокон. При лейкоплакії та дисплазії спостерігається суттєве ущільнення сполучної тканини за рахунок збільшення питомої ваги (%) сполучнотканинних волокон та ступеня насичення їх білком (згідно з фарбуванням). Ущільнення сполучної тканини зростає в ряду: лейкоплакія, дисплазія легкого ступеня, дисплазія середнього ступеня, дисплазія тяжкого ступеня.

Ключові слова: передпухлинний стан, шийка матки, сполучна тканина.

PECULIARITIES OF SUBEPITHELIAL REGION OF CONNECTIVE TISSUE OF CERVIX IN BACKGROUND AND PRECANCERS PROCESSES

O.P. Peresunko, Abu Sela Ismail Mohammed, I.S. Davydenko, V.P. Kravtshuk

Abstract. The unequal structure of subepithelial connective tissue of cervix in patients with different precancer states has been examined. In patients with pseudoerosion the changes relate to the appearance of small local infiltration with lymphoid cells, plasmocytes and monocyte elements in the unchanged connective tissue. There is a similar hystological picture in patients with healed pseudoerosion, but small foci of more densitive packing of stronger stained

connective tissue fibers appear. The considerable infiltration of connective tissue due to increasing of specific density (%) of connective tissue fibers and the level of their saturation with protein (according to the staining) is found in patients with leukoplakia and dysplasia. The infiltration of connective tissue in creases in the row: leukoplakia, mild dysplasia, moderate dysplasia, severe dysplasia.

Key words: precancer state, cervix, connective tissue.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Обговорено на засіданні кафедри онкології, променевої діагностики
та променевої терапії 20.03.07 р. протокол №8
завідувач кафедри, д.мед.н., професор

Сенютович Р.В.