

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»

**НАУКОВИЙ ВІСНИК
УЖГОРОДСЬКОГО УНІВЕРСИТЕТУ
СЕРІЯ МЕДИЦИНА**

**SCIENTIFIC BULLETIN
OF UZHGOROD UNIVERSITY
MEDICAL SERIES**

ВИПУСК 2 (47)

Ужгород – 2013

УДК 617-083.98
ББК 54.5
Н 34

Періодичне видання – збірник наукових праць «Науковий вісник Ужгородського університету», серія «Медицина» є фаховим виданням, в якому можуть друкуватися матеріали кандидатських та докторських дисертацій з медичних наук
(Постанова Президії ВАК України № 05/2 від 27.05.2009. –
Бюлетень ВАК України, 2009, № 8, с. 11)

Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації №7972,
серія КВ від 9.10.2003 року, видане Державним комітетом телебачення
і радіомовлення України

Засновник і видавець – Державний вищий навчальний заклад
«Ужгородський національний університет»

Виходить два рази на рік і більше

Збірник наукових праць видається з 1993 року

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

Голова редколегії:	Головацький А.С.
Заступник голови редколегії:	Фабрі З.Й.
Секретар редколегії:	Кочмарь М.Ю.
Члени редколегії:	Архій Е.Й., Болдіжар О.О., Віщак В.Е., Ганич О.М., Ганич Т.М., Горленко О.М., Коваль Г.М., Маляр В.А., Рішко М.В., Фекета В.П., Фера О.В., Чобей С.М., Шеремет П.Ф., Шимон В.М.
Відповідальний редактор:	Русин В.І.

Редакційна рада:

Ахтемійчук Ю.Т. (Чернівці)	Переяслов А.А. (Львів)
Березницький Я.С. (Дніпропетровськ)	Пиптюк О.В. (Івано-Франківськ)
Венгер І.К. (Тернопіль)	Полянський І.Ю. (Чернівці)
Волков К.С. (Тернопіль)	Потапчук А.М. (Ужгород)
Гудзь І.І. (Івано-Франківськ)	Родин Ю.В. (Донецьк)
Дзюбановський І.Я. (Тернопіль)	Сипливий В.О. (Харків)
Дронов О.І. (Київ)	Тамм Т.І. (Харків)
Запорожченко Б.С. (Одеса)	Федонюк Я.І. (Тернопіль)
Зименковський А.А. (Львів)	Черкасов В.Г. (Київ)
Кобза І.І. (Львів)	Чуклін С.М. (Львів)
Кондратенко П.Г. (Донецьк)	Шаповал С.Д. (Запоріжжя)
Копчак В.М. (Київ)	Штутін О.А. (Донецьк)
Матвійчук Б.О. (Львів)	Ярешко В.Г. (Запоріжжя)

*Рекомендовано до друку Вченою радою Ужгородського національного університету
02.04.2013 року, протокол № 2*

© Н.В. Зелінська, О.П. Пересунько, І.С. Давиденко, 2013

УДК 618.146-006.6-008.018.2

Н.В. ЗЕЛІНСЬКА, О.П. ПЕРЕСУНЬКО, І.С. ДАВИДЕНКО

Буковинський державний медичний університет, кафедра онкології та радіології, Чернівці

НОВІ ПІДХОДИ У ВИВЧЕННІ СТАНУ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ПРИ АДЕНОКАРЦИНОМІ ТА ПЛОСКОКЛІТИННОМУ РАКУ ШИЙКИ МАТКИ

В даному дослідженні вперше використані комп'ютерні методи оцінки стану сполучної тканини шийки матки за показниками питомого об'єму волокнистого компонента та оптичної густини забарвлення сполучнотканинних волокон строми при плоскоклітинному (незроговілому та зроговілому) раку та аденокарциномі шийки матки. Отримані вірогідні результати дозволяють проводити точну гістохімічну диференційну діагностику плоскоклітинного та залозистого раку різних ступенів диференціювання (G1, G2, G3), що свідчить про доцільність використання комп'ютерної мікроспектрофотометрії в аспекті чутливого додаткового діагностичного тесту.

Ключові слова: рак шийки матки, сполучна тканина, диференційна діагностика

Вступ. Проблема своєчасної діагностики раку шийки матки (РШМ) в Україні далека від вирішення. РШМ належить до так званих «візуальних» локалізацій, для яких протягом багатьох десятиріч років відомі засоби раннього виявлення. Однак смертність хворих протягом року від встановлення діагнозу втричі перевищує кількість випадків в IV стадії [2, 6].

Близько 80 % всіх випадків РШМ складає плоскоклітинний рак, близько 20 % – аденокарцинома. В розвинутих країнах спостерігається значне зниження захворюваності на плоскоклітинний РШМ і смертності від цієї патології, що ймовірно пов'язано з ефективним скринінгом. В той же час захворюваність на аденокарциному шийки матки протягом останніх 30 років збільшується, напевно, внаслідок меншої ефективності цервікального цитологічного скринінгу і виявлення цього типу РШМ [2].

Проблема РШМ має клінічний, епідеміологічний, морфологічний, імунологічний, біоклінічний та інші аспекти. Вирішення її неможливе без використання морфологічних дослідницьких прийомів. Досить відзначити, що тільки за допомогою морфологічних методів вдається виявити передракові зміни епітелію (дисплазію), внутрішньоепітеліальний і передклінічний інвазивний рак. Бурхливий розвиток електронної мікроскопії та гістохімії ще більше розширює можливість клініцистів та онкоморфологів у вивченні механізмів малігнізації і закономірностей розвитку пухлин [2, 7, 8]. Це можна використовувати не тільки з діагностичною метою, але і для прогнозування подальшої поведінки конкретного передпухлинного стану, а в перспективі, і для розробки методів лікування і профілактики останнього [1, 2, 4, 6].

Мета дослідження. Показати діагностичну цінність гістохімічної комп'ютерної оцінки стану сполучно-тканинних волокон шийки матки в якості додаткового диференційно-діагностичного тесту.

Матеріали та методи. В нашому дослідженні проаналізовані морфологічні (дослідження роздільного діагностичного вишкрібання цервікального

каналу та стінок порожнини матки, прицільної біопсії та післяопераційних препаратів шийки матки) дані хворих на патологію шийки матки: пацієнтки з аденокарциномою шийки матки (n=19), з плоскоклітинним раком (n=25), недиференційованим раком (n=12); цитологічний контроль – пацієнтки з незмінним циліндричним епітелієм (n=15). У дослідженні були вивчені наступні групи: практично здорові жінки, аденокарцинома G1, G2, G3, плоскоклітинний рак незроговілий, плоскоклітинний рак зроговілий.

Для гістохімічного дослідження стану сполучної тканини та її оптичної щільності матеріал біопсії фіксували 48–72 годин в 10 % розчині нейтрального забуференого формаліну, після парафінової заливки на санному мікротомі MC-2 одержували гістологічні зрізи товщиною 5 мкм. Гістологічні препарати зафарбовували гематоксилином і еозином. Нами використана методика Н.З. Слінченко («хромотроп 2В»–«водний блакитний» після протравки фосфорно-вольфрамовою кислотою). Вказане забарвлення по результатах відповідає відомій методиці Меллорі, але на відміну від останньої дозволяє адекватно зафарбовувати тканини, фіксовані звичайним способом у формаліні. Після фарбування з'являється можливість візуалізувати волокна сполучної тканини – по чистому блакитному забарвленню різної інтенсивності, фібрин – малиновий колір, еритроцити – яскраво-червоні, різні клітини: їх ядра і цитоплазма забарвлюються у відтінки кольорів від блакитного до пурпурового. Оптичні зображення переводили в цифрові за допомогою мікроскопа ЛЮМAM-P8 і цифрової фотокамери Olympus C740UZ. Одержані цифрові зображення аналізували за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми ВідеоТест–Розмір 5.0, виробника ТОВ Відеотест (Росія, 2000). Інтенсивність забарвлення вимірювали мікросондовим методом згідно з технологією комп'ютерної мікроденситометрії за показником «оптична щільність» в умовних одиницях від 0 (повністю проникний для світлового пучка) до 1 (абсолютно непроникний для світлового пучка). Там, де це

було можливо, попіксельно визначали питомий об'єм (%), займану сполучнотканинними волокнами. Для одержаних статистичних вибірок перевіряли гіпотезу про нормальність розподілу за допомогою критерію Уїлки-Хана-Шапіро. Також використовували параметричний метод порівняння – непарний двосторонній критерій Стьюдента та непараметричний метод – критерій Манна-Уїтні. Рівнем статистичної значущості вважали $p=0,05$ [1, 3, 7].

Вказаний підхід визначив групи досліджуваного матеріалу. Зокрема, зазначеними методами вивчено: ділянки нормального плоского епітелію

ектоцервіксу та нормального циліндричного епітелію ектоцервіксу позапухлинного поля, ділянки пухлинного поля (аденокарцинома G1, G2, G3, плоскоклітинний рак незроговілий та зроговілий). Окрім того, окремо вивчено некротичні ділянки в аденокарциномі або плоскоклітинному раку [5].

Результати досліджень та їх обговорення. Зазначеними методами дослідження вивчені властивості стромального компонента шийки матки при вказаних її станах (табл. 1) з оцінкою таких показників, як питомий об'єм волокнистого компонента та оцінки оптичної густини забарвлення сполучнотканинних волокон.

Таблиця 1

Стан сполучної тканини при забарвленні гістологічних препаратів хромотропом-водним блакитним за Н.З. Слінченко у ділянках нормального епітелію та у ділянках пухлинного поля шийки матки

№ з/п	Групи дослідження	Показники	
		Питомий об'єм волокнистого компонента строми (%)	Оптична густина забарвлення сполучнотканинних волокон строми (ум.од.опт.густини)
1.	Ділянки нормального плоского епітелію ектоцервіксу позапухлинного поля	90,4±0,27	0,192±0,0015
2.	Ділянки нормального циліндричного епітелію ектоцервіксу позапухлинного поля	82,7±0,17 Рп<0,001	0,194±0,0016 Рп>0,05
3.	Ділянки пухлинного поля (Аденокарцинома G1)	48,9±0,19 Рп<0,001 Рц<0,001	0,164±0,0024 Рп<0,001 Рц<0,001
4.	Ділянки пухлинного поля (Аденокарцинома G2)	47,6±0,18 Рп<0,001 Рц<0,001 PG1>0,05	0,162±0,0023 Рп<0,001 Рц<0,001 PG1>0,05
5.	Ділянки пухлинного поля (Аденокарцинома G3)	46,9±0,22 Рп<0,001 Рц<0,001 PG1>0,05 PG2>0,05	0,160±0,0023 Рп<0,001 Рц<0,001 PG1>0,05 PG2>0,05
6.	Ділянки пухлинного поля (Плоскоклітинний рак незроговілий)	54,6±0,24 Рп<0,001 Рц<0,001 PG1<0,001 PG2<0,001 PG3<0,001	0,189±0,0025 Рп>0,05 Рц>0,05 PG1<0,001 PG2<0,001 PG3<0,001
7.	Ділянки пухлинного поля (Плоскоклітинний рак зроговілий)	55,9±0,21 Рп<0,001 Рц<0,001 PG1<0,001 PG2<0,001 PG3<0,001 Рпнр=0,004	0,190±0,0024 Рп>0,05 Рц>0,05 PG1<0,001 PG2<0,001 PG3<0,001 Рпнр>0,05
8.	Некротичні ділянки в аденокарциномі або плоскоклітинному раку	40,1±0,38 Р<0,001 (у порівнянні з будь-якою групою дослідження)	0,124±0,0041 Р<0,001 (у порівнянні з будь-якою групою дослідження)

Примітка: Рп – у порівнянні з ділянками нормального плоского епітелію; Рц – у порівнянні з ділянками нормального циліндричного епітелію; PG1, PG2, PG3 – у порівнянні з ділянками відповідного гістологічного варіанту аденокарциноми; Рпнр – у порівнянні з ділянками плоскоклітинного незроговілого раку.

Згідно з таблицею 1, питомий об'єм волокнистого компонента строми є найвищим у ділянках нормального епітелію позапухлинного поля, причому в найбільшій мірі це стосується ділянок плоского епітелію ектоцервіксу. Найменший питомий об'єм волокнистого компонента строми виявлено у некротичних ділянках аденокарциноми або плоскоклітинного раку, що пояснюється деструктивними процесами, які захоплюють не тільки паренхіму пухлини, але і строму новоутворення. З цим висновком узгоджуються дані про найнижчу оптичну густину сполучнотканинних волокон в цій групі дослідження.

Серед неуразжених некрозом ділянок пухлинного поля найнижчі показники питомого об'єму волокнистого компонента строми спостерігались в аденокарциномах, причому приблизно однаково при різних ступенях диференціювання цих пухлин. У цих же ділянках пухлин виявлено найнижчу середню оптичну густину забарвлення сполучнотканинних волокон, яка також не залежить від ступеня диференціювання аденокарциноми. При плоскоклітинних раках у порівнянні з аденокарци-

номами виявлено більш високі показники питомого об'єму волокнистого компонента строми і, окрім того, важливо, що при цьому оптична густина забарвлення сполучнотканинних волокон не просто є вищою, але приблизно така, як і у ділянках нормального плоского епітелію ектоцервіксу чи циліндричного епітелію ектоцервіксу позапухлинного поля.

Таким чином, проведені дослідження дозволяють вважати, що існують певні залежності між патологічними станами шийки матки та показниками строми, що дозволяє враховувати ці дані для складання прогнозу перебігу аденокарциноми чи плоскоклітинного раку.

Висновки. Комп'ютерна гістохімічна оцінка стану сполучно-тканинних волокон при зроговілому і незроговілому плоскоклітинному раку та аденокарциномі шийки матки, є чутливим додатковим диференційно-діагностичним тестом, що сприяє об'єктивізації оцінки гістологічних препаратів і відкриває перспективи у вивченні механізмів малігнізації та закономірностей розвитку пухлин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Воробьева Л.И., Лигирда Н.Ф. Рак шейки матки: международный опыт скрининга и возможности его реализации в Украине /Л.И. Воробьева, Н.Ф. Лигирда, З.П. Федоренко и др./ Мат. Наук.-практ. конф. «Сучасні принципи діагностики та лікування візуальних форм генітального раку у жінок». — 2002. — С. 11—13.
2. Давиденко І.С. Модифікація гістохімічної методики фарбування фібрину та колагенових волокон у плаценті / І.С. Давиденко // Буковинський медичний вісник. — 2001. — №5(1). — С. 147—150.
3. Запорожан В.М., Пішак В.П. Стан системи «епітелій-сполучна тканина» при передракових змінах і раку шийки матки: клініко-морфологічні і лазерно-поляриметричні особливості / В.М. Запорожан, В.П. Пішак, О.П. Пересунько [та ін.] // Журн. АМН України. — 2003. — № 9 (3). — С. 511—522.
4. Юшина В.И. Функциональные группы белка стромы шейки матки в процессе развития эпителиальных дисплазий и малигнизации эпителия. Актуальные вопросы акушерства и гинекологии / В.И. Юшина // Воронеж, мед. ин-т. — 1976. — С. 85—86.
5. Яковлева И.А. Эпителий шейки матки в процессе малигнизации / И.А. Яковлева, А.П. Черный, З.Р. Ботнар — Кишинев: Штиинца, 1981. — С.128.
6. American Cancer Society Guideline for early detection of cervical neoplasia and cancer. CA Cancer Clin. — 2002. — № 52. — P. 342—362.
7. Fettisoff F., Serre B. Argerophilik cellsand ectocervical epithelium. / F. Fettisoff, B. Serre, B. Arbeille [et al.] // Int. Gynecol. Pathol. — 1999. — № 10. — P.177—190.
8. Mikhail M.S., P.R. Palan, J. Basu Computerized measurement of intercapillary distance using image analysis in women with cervical intraepithelial neoplasia: correlation with severity./ M.S. Mikhail, P.R. Palan, J. Basu [et al.] // Acta. Obstet. Gynecol. Scand. — 2004. — Vol. 83, № 3. — P. 308—310.

N.V. ZIELINSKA, A.P. PERESUNKO, I.S. DAVYDENKO

Bukovina State Medical University, kafedra Oncology and Radiology, Chernivtsi

NEW APPROACHES IN THE STUDY OF CONNECTIVE TISSUE IN ADENOCARCINOMA AND SQUAMOUS CELL CARCINOMA

In this study, first used computer methods to assess the connective tissue of the cervix in terms of the specific volume of fibrous component and optical density color stromal connective tissue fibers at the squamous (neorogovevayuschy and coarsen) cancer and adenocarcinoma of the cervix. These is results, likely allow precise histochemical differential diagnosis of squamous and glandular cancer of various degrees of differentiation (G1, G2, G3), indicating the feasibility of using computer mikrospektrofotometry in terms of additional sensitive diagnostic test.

Key words: cervical cancer, the system "epithelium-connective tissue" differential diagnosis

Стаття надійшла до редакції: 4.03.2013 р.