

Pliten O. N. Морфологічні особливості базальної мембрани багат шарового плоского епітелію і підлягаючої стромі при цервікальних інтраепітеліальних неоплазіях та раку шийки матки = Morphological features of basal membrane of stratified squamous epithelium and underlying stroma in cervical intraepithelial neoplasias and cancer of the uterine cervix. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015;5(6):95-114. ISSN 2391-8306. DOI [10.5281/zenodo.18391](https://doi.org/10.5281/zenodo.18391)
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%286%29%3A95-114>
<https://pbn.nauka.gov.pl/works/564123>
<http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.18391>
Formerly *Journal of Health Sciences*. ISSN 1429-9623 / 2300-665X. Archives 2011 – 2014
<http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/issue/archive>

Deklaracja.
Specyfika i zawartość merytoryczna czasopisma nie ulega zmianie.
Zgodnie z informacją MNiSW z dnia 2 czerwca 2014 r., że w roku 2014 nie będzie przeprowadzana ocena czasopism naukowych; czasopismo o zmienionym tytule otrzymuje tyle samo punktów co na wykazie czasopism naukowych z dnia 31 grudnia 2014 r.
The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1089. (31.12.2014).
© The Author (s) 2015;
This article is published with open access at License Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland and Radom University in Radom, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 21.04.2015. Revised 28.05.2015. Accepted: 05.06.2015.

**МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ БАЗАЛЬНОЇ МЕМБРАНИ БАГАТОШАРОВОГО ПЛОСКОГО ЕПІТЕЛІУ І ПІДЛЯГАЮЧОЇ СТРОМИ ПРИ ЦЕРВІКАЛЬНИХ ІНТРАЕПІТЕЛІАЛЬНИХ НЕОПЛАЗІЯХ ТА РАКУ ШИЙКИ МАТКИ
MORPHOLOGICAL FEATURES OF BASAL MEMBRANE OF STRATIFIED SQUAMOUS EPITHELIUM AND UNDERLYING STROMA IN CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIAS AND CANCER OF THE UTERINE CERVIX**

**О. М. Плітень
O. N. Pliten**

**Харківський національний медичний університет
Kharkiv National Medical University**

Abstract. The article presents the morphological features of the basal membrane of stratified squamous epithelium and underlying stroma in cervical intraepithelial neoplasias and cancer of the uterine cervix which were investigated by routine histological, histochemical and immunohistochemical methods. The present study indicated that as stages of carcinogenesis progress changes in the stromal-vascular component and in the basal membrane of the epithelium occur that has an important role in the differential diagnosis of the stages of carcinogenesis of the uterine cervix.

Key words: uterine cervix, cervical intraepithelial neoplasias, cancer, stratified squamous epithelium, basal membrane, stroma, morphology.

Резюме. У роботі розглянуті морфологічні особливості базальної мембрани багат шарового плоского епітелію і підлягаючої стромі при цервікальних інтраепітеліальних неоплазіях та раку шийки матки, які були досліджені за допомогою рутинних гістологічних, гістохімічних і імуногістохімічних методів. Дослідження показало, що у міру поважчання стадії канцерогенезу відбуваються зміни стромально-судинного компоненту і базальної мембрани епітелію. Виявлені зміни мають важливу роль у диференціальній діагностиці стадій канцерогенезу у шийці матки.

Ключові слова: шийка матки, цервікальні інтраепітеліальні неоплазії, рак, багат шаровий плоский епітелій, базальна мембрана, строма, морфологія.

Резюме. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БАЗАЛЬНОЙ МЕМБРАНЫ МНОГОСЛОЙНОГО ПЛОСКОГО ЭПИТЕЛИЯ И ПОДЛЕЖАЩЕЙ СТРОМЫ ПРИ ЦЕРВИКАЛЬНЫХ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НЕОПЛАЗИЯХ И РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ. В работе рассмотрены морфологические особенности базальной мембраны многослойного плоского эпителия и подлежащей стромы при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях и раке шейки матки, которые были исследованы с помощью рутинных гистологических, гистохимических и иммуногистохимических методов. Исследование показало, что по мере утяжеления стадии канцерогенеза происходят изменения в стромально-сосудистом компоненте и в базальной мембране эпителия, что играет важную роль в дифференциальной диагностике стадий канцерогенеза в шейке матки.

Ключевые слова: шейка матки, цервикальные интраэпителиальные неоплазии, рак, многослойный плоский эпителии, базальная мембрана, строма, морфология.

Вступ. Рак шийки матки (РШМ) займає сьоме місце в числі найбільш поширених видів онкологічних захворювань серед жінок Європейського регіону ВООЗ, частка якого в структурі загальної онкологічної захворюваності становить близько 3,8% [3], є другим найбільш поширеним видом раку серед жінок у світі [6]. Більшість випадків РШМ зустрічається в найменш розвинених регіонах, в країнах з низьким і середнім рівнем прибутків і досить рідко зустрічається в країнах з високим рівнем прибутків, де давно діють програми скринінгу [3, 6, 7].

Причиною практично всіх випадків РШМ є генітальна інфекція, спричинена онкогенними штамами вірусу папіломи людини. Глибокі розбіжності у показниках захворюваності та смертності між групами населення з високим і низьким рівнем прибутків в основному пояснюються різницею в поширеності інфекції вірусу папіломи людини, високі рівні якої пов'язані з низьким доступом і якістю послуг з профілактики та боротьби проти РШМ [3].

РШМ як і раніше є важливою медичною й соціальною проблемою і у всіх економічно розвинених країнах. У складній і розгалуженій проблемі РШМ ключове положення займають три основних напрямки: 1) патогенетичне обґрунтування методів профілактики, 2) рання діагностика і 3) удосконалення методів лікування дисплазії і преінвазивного раку для попередження інвазивного раку. Ці три напрямки повинні привести до рішення важкого, але реального завдання – звести до мінімуму захворюваність і смертність від РШМ [1, 2].

У зв'язку із цим підвищуються вимоги до вірогідності патологоанатомічних висновків при диференціальній діагностиці доброякісних і злоякісних новоутворень шийки матки

(ШМ). Особлива увага приділяється ранній діагностиці початкових пухлинних змін у ШМ із можливо найбільш раннім виявленням пограничних (передракових) станів і раннього раку, що необхідно для вибору об'єму операції [5].

У ряді випадків важко домогтися одноманітності в оцінці передракових змін і ступеня диференціювання злоякісної пухлини різними фахівцями. Діагностична робота висококваліфікованих патоморфологів виявила різні трактування одних і тих же препаратів з гістологічними картинами дисплазій різного ступеня важкості, а також виразності стадій розвитку злоякісних пухлин. Методи морфологічної діагностики, які застосовуються при дослідженні біоптатів ШМ, продовжують ґрунтуватися на описовій характеристиці мікроскопічних змін епітелію ШМ, де застосовується багато суб'єктивізму, що знижує точність діагностики й можливість одноманітного трактування спостережуваних картин різними патологоанатомами. Це, насамперед, стосується діагностики важких форм дисплазій і карциноми *in situ* (CIS, син. преінвазивна карцинома, інтраепітеліальний рак), а також оцінки початкових ознак інвазії [5].

У зв'язку із цим питання профілактики РШМ і ранньої діагностики початкових стадій канцерогенезу як і раніше залишаються найважливішою медичною й соціальною проблемою, що вимагає подальшого вдосконалювання морфологічних методів дослідження [2, 12, 17]. Визначення ступеня диференціювання новоутвору досить варіює серед патоморфологів і ці складнощі, що виникають при практичному застосуванні існуючих класифікацій, вимагають створення більш точних методів дослідження й систем для об'єктивної діагностики стадій розвитку пухлин. Зростаючі вимоги до точності діагностики стадій канцерогенезу в ШМ пов'язані з новими можливостями лікування онкологічних захворювань [5].

Відомо, що цілісність базальної мембрани (БМ) служить достовірним критерієм відмінності преінвазивного і інвазивного раку будь-яких локалізацій, у тому числі і ШМ. Проте, окрім положень про її наявність до початку інвазії або відсутність при інвазивному рості, важлива її якісна характеристика при різних стадіях канцерогенезу. При вирішенні питання про наявність або відсутність інвазивного росту особливо великого значення набуває вивчення підлягаючої тканини. Тільки одночасне вивчення змін з боку епітелію і сполучної тканини може дати правильне подання про сутність явищ, що відбуваються, і допомогти в діагностиці. Тривалий час на стан сполучної тканини в ШМ при патологічних процесах уваги не звертали, і патологоанатоми розцінювали зміни в сполучній тканині лише як прояв запальної реакції. У цей час положення справ змінилося, і в останні роки з'явилися дослідження, що дозволяють не тільки по-іншому трактувати зміни з боку строми, але й використовувати отримані дані з метою диференціальної діагностики. Питання про

взаємовідносини епітелію і строми при проліферативних процесах у шийному епітелії, у тому числі пухлинних, складний. Передпухлинні й пухлинні перетворення шийного епітелію супроводжуються глибокими змінами строми ШМ, які виражаються в сполучених десмолітичних і десмопластичних процесах. При дисплазії і CIS вони, очевидно, урівноважені, або навіть переважають десмопластичні процеси. При інвазивному рості починають переважати десмолітичні процеси, що, найімовірніше, пов'язане з ферментативною активністю пухлинних клітин, які мають відмінні від нормальних клітин біологічні властивості. Немаловажне значення при аналізі процесу стромальної інвазії атипічного епітелію має, очевидно, і вивчення клітин імунокомпетентного ряду, що здійснюють імунологічний нагляд і мають певний вплив на процес інвазії. Немає сумнівів, що при дисплазіях, CIS і початкових формах інвазії інфільтрація лімфоїдними, плазматичними клітинами з домішкою гістіоцитів і тучними клітинами строми по своїй біологічній сутності не має нічого спільного із запаленням, а взаємозалежна із процесами трансформації й проліферації, що відбуваються в епітеліальному шарі [4, 14, 18]. Морфологічні дослідження при дисплазіях, CIS і інвазивному рості повинні передбачати вивчення стану БМ, строми і клітинної інфільтрації. Всі ці додаткові дані обов'язково повинні враховуватися в комплексі всіх показників, коли мова йде про диференціальну діагностику цервікальних інтраепітеліальних неоплазій та РШМ.

Мета даного дослідження полягала у гістологічній, гістохімічній та імуногістохімічній (ІГХ) оцінці стану базальної мембрани багат шарового плоского епітелію і підлягаючої строми при цервікальних інтраепітеліальних неоплазіях та РШМ для покращення діагностики цих патологічних станів ШМ. методи дослідження

Матеріали та методи. Матеріалом для дослідження стали 120 зразків тканини ШМ із різною патологією ектоцервіксу. Весь матеріал був розподілений на 6 досліджуваних груп. I група – незмінений багат шаровий плоский епітелій (НБПЕ ШМ) – представлена 20 зразками тканини ШМ з нормальною будовою епітелію, II – 16-ма зразками тканини ШМ з цервікальною інтраепітеліальною неоплазією I ступеня важкості (CIN I), III – 15 зразками тканини ШМ з CIN II, IV – 17 зразками тканини ШМ з CIN III – важка дисплазія, V – 18 зразками тканини ШМ з CIN III – преінвазивна карцинома (CIS), VI група представлена 24 зразками тканини ШМ з інвазивним плоскоклітинним раком (invCa).

Діагноз ставився на підставі результатів клінічних і патоморфологічних досліджень. Ступені CIN ШМ класифіковані відповідно до гістологічної класифікації пухлин жіночої статеві системи, 2-а редакція (1994) [9], у якій диспластичні зміни різних ступенів важкості й преінвазивна карцинома ШМ, у відношенні яких широко використовується найменування цервікальна інтраепітеліальна неоплазія (cervical intraepithelial neoplasia – CIN), об'єднані за

назвою плоскоклітинні інтраепітеліальні ураження (squamous intraepithelial lesions – SIL). CIN I ступеня важкості є синонімом слабкої дисплазії, CIN II ступеня – помірної, CIN III ступеня важкості використовується для позначення як важкої дисплазії, так і преінвазивної карциноми. Плоскоклітинні карциноми підрозділяють на зроговілий і незроговілий рак.

Матеріал фіксували в 10% розчині формаліну. Піддавали стандартній проводці через спирти концентрації, що збільшується, рідину Никифорова (96 % спирт і діетиловий ефір у співвідношенні 1:1), хлороформ, після чого заливали парафіном. З приготовлених блоків робили серійні зрізи товщиною $4-5 \times 10^{-6}$ м.

Оцінку цілісності БМ проводили на препаратах, забарвлених декількома методами, з урахуванням специфіки забарвлення її деяких шарів. Так, базальну пластинку, що становить колаген IV типу, який містить більше вуглеводних бокових ланцюгів, чим інші типи (більше гідроксилізіна і гідроксіпроліна), оцінювали при забарвленні гематоксиліном та еозином (колаген забарвлюється в рожевий колір), за ван Гізоном (у жовтий колір), за Маллорі (у темно-синій колір), при імпрегнації сріблом за методом Більшовського-Гросс (у жовтий або блідо-коричневий колір) і при PAS-реакції (у червоний колір), а шар ретикулінових волокон – при імпрегнації сріблом (ретикулінові волокна забарвлюються в чорний колір) і при PAS-реакції (у червоний колір, тому що також покриті глікопротеїдом і протеогліканом). За допомогою вище перерахованих методів також оцінювали характер строми і глікогенутворюючу функцію епітеліоцитів (PAS-реакція). Гістологічні і гістохімічні методики виконували по прописах, викладеним в посібниках з гістологічної техніки та гістохімії [8, 10, 11].

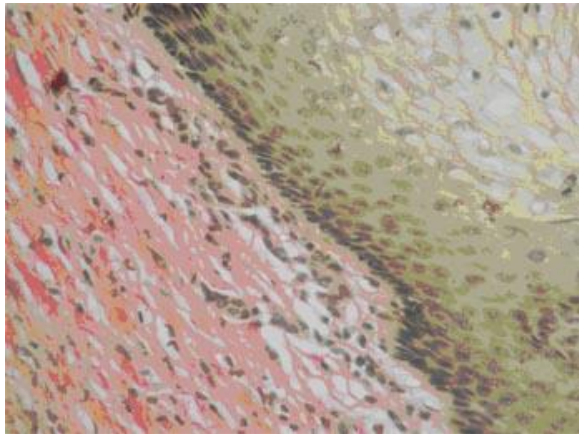
Імуноморфологічне дослідження проводили на парафінових зрізах, товщиною 5-6 мкм непрямим методом Кунса за методикою Brosnan [19]. Колагени типірували моноклональними антитілами (МКАТ) до колагенів I, III, IV типів. Як люмінесцентну мітку використовували F(ab)-2-мічені фрагменти кролячих антитіл проти імуноглобулінів миші (FITS). Препарати вивчали в люмінесцентному мікроскопі МЛ-2 з використанням світлофільтрів: ФС-1-2, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3.

Результати та їх обговорення. *Морфологічне дослідження базальної мембрани і підлягаючої строми незміненого багатошарового плоского епітелію шийки матки.* НБПЕ розташовується на БМ, що при оцінці шарів, які її складають (базальної пластинки, шару ретикулінових волокон), при забарвленні препаратів гематоксиліном і еозином, методами за ван Гізоном, Маллорі (рис. 1), при PAS-реакції і імпрегнації солями срібла на всьому протязі чітка й оптично сприймається як однорідне ущільнення.

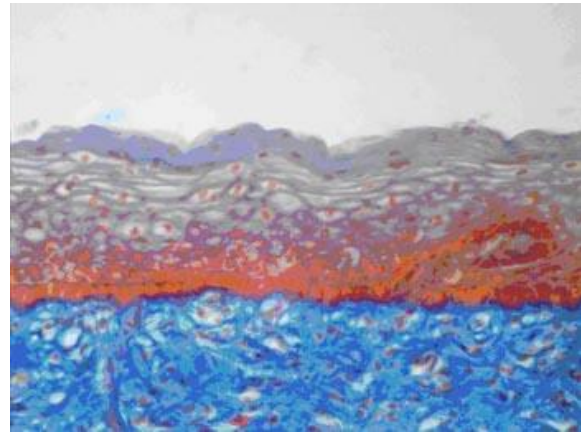
Стромально-епітеліальне сполучення утворює пальцеподібні фіброваскулярні сосочки, які проникають в нижні шари багатошарового плоского епітелію (БПЕ). Строма

складається з пухкої сітки еластичних і колагенових волокон, серед яких перебувають фібробласти, лімфоцити, кровеносні й лімфатичні судини, нервові закінчення (рис. 1). У нижньої поверхні епітелію ці ж стромальні елементи утворюють чітку БМ, хід якої точно відтворює рельєф сосочків підепітеліальної тканини. Через строму проходять тонкі й незначно звиті судини майже вертикально до БМ, де утворюють прості й складні аркади, сплетення й капілярні петлі в кожному сосочок підепітеліальної тканини. Основними термінальними судинами є волоскові капіляри, що проходять у дрібні сосочки строми, або сітчасті капіляри, що зустрічаються при відсутності сосочків останньої. Обидва типи термінальних судин щільно й упорядковано розташовуються по ектоцервіксу.

При ІГХ типіруванні колагенів у ШМ із нормальною будовою БПЕ визначався колаген I типу в стромі (рис. 2), III типу – у сполучнотканинному компоненті судинної стінки, IV типу – у БМ (рис. 3), при імунофлюоресцентному дослідженні яких виявлялося яскраве світіння всіх типів.



А



Б

Рис. 1. Чітка безперервна базальна мембрана незміненого багатошарового плоского епітелію слизової оболонки піхвової частини шийки матки й виражена колагенова підлягаюча стромі. А – забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном, Б – забарвлення за Маллорі. $\times 400$.

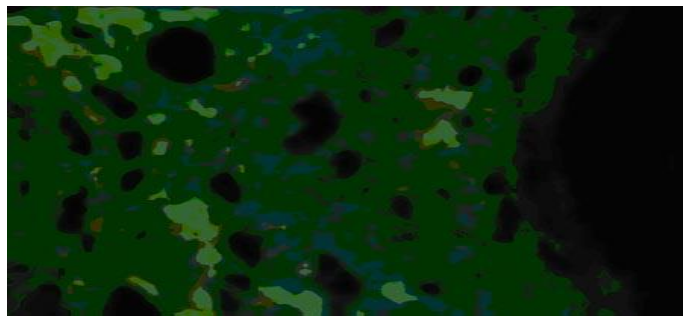


Рис. 2. Світіння колагену I типу в підлягаючій сполучнотканинній стромі незміненого багатошарового епітелію шийки матки. Непряма реакція Кунса із МКАТ до колагену I типу, $\times 400$.

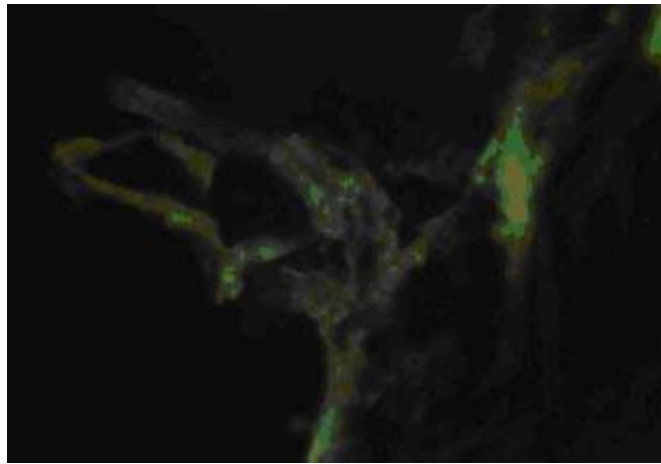
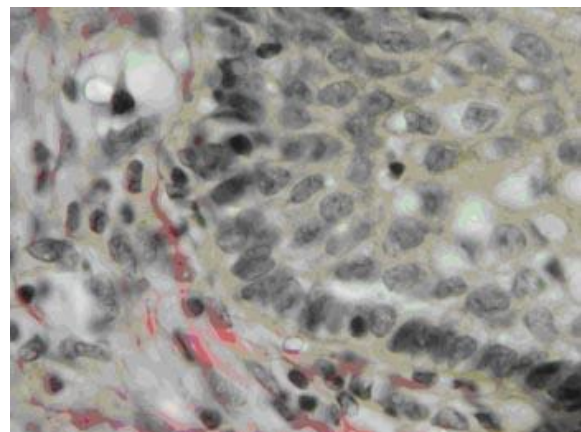
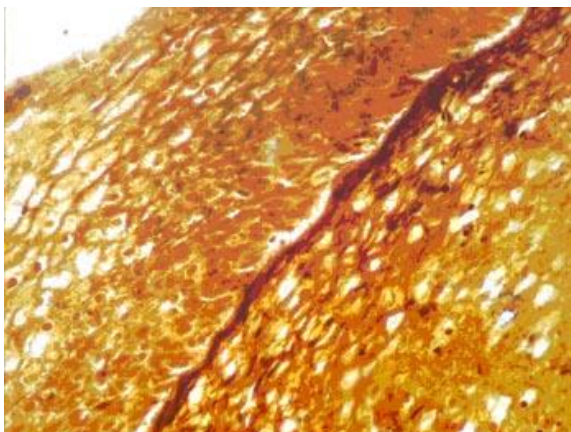


Рис. 3. Незмінений багат шаровий плоский епітелій слизової оболонки піхвової частини шийки матки: світіння колагену IV типу в базальній мембрані в зоні сосочка. Непряма реакція Кунса із МКАТ до колагену IV типу, $\times 400$.

Морфологічне дослідження базальної мембрани і підлягаючої стромі шийки матки з інтраепітеліальною неоплазією I та II ступенів важкості. При CIN I і CIN II БМ при забарвленні препаратів гематоксиліном і еозином, методами за ван Гізоном, Маллорі, при PAS-реакції і імпрегнації солями срібла на всьому протязі чітка (рис. 4, рис. 5). У стромі відповідно осередкам дисплазії, як правило, відзначалася нерізка або помірна інфільтрація лімфоїдними, плазматичними клітинами з домішкою гістіоцитів і тучними клітинами. При ПХ типіруванні колагенів визначався колаген I типу в стромі, III типу – у сполучнотканинному компоненті судинної стінки, IV типу – у БМ, при імунофлюоресцентному дослідженні яких виявлялося яскраве світіння всіх типів.



А

Б

Рис. 4. Чітка безперервна базальна мембрана і помірно виражена підлягаюча сполучнотканинна строма при CIN I. А – забарвлення срібленням за Більшовським-Гросс, $\times 400$; Б – забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном, $\times 1000$.

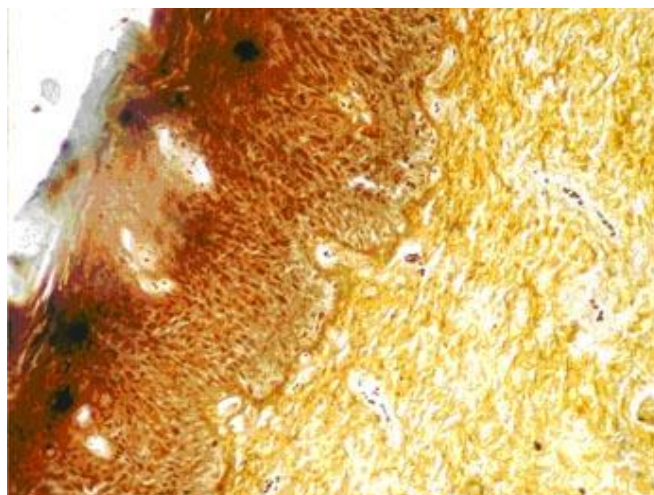


Рис. 5. Чітка безперервна базальна мембрана при CIN II. Забарвлення срібленням за Більшовським-Гросс, $\times 200$.

Морфологічне дослідження базальної мембрани і підлягаючої стромі шийки матки з інтраепітеліальною неоплазією III ступеня важкості – важка дисплазія. БМ в осередках важкої дисплазії (CIN III) чітка за рахунок шару ретикулінових волокон, що складаються з колагену, покритого глікопротеїдом і протеогліканом (рис. 6), але відзначається потоншення базальної пластинки БМ, що складається з колагену IV типу (рис. 7). У стромі, відповідно осередкам дисплазії, відзначається виражена інфільтрація лімфоїдними, плазматичними клітинами з домішкою гістіоцитів і тучними клітинами.

При ІГХ типіруванні білків-колагенів виявлялася велика кількість новоутвореного колагену III типу, середній рівень світіння колагену IV типу з деяким потоншенням його товщини (рис. 8) і трохи знижена інтенсивність світіння колагену I типу.

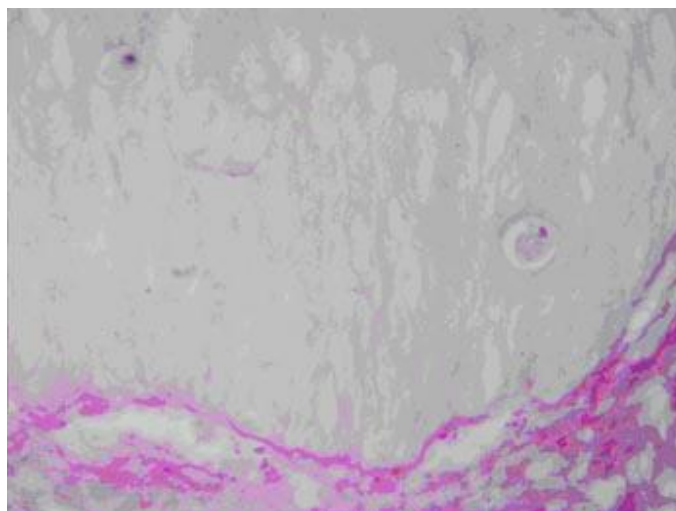


Рис. 6. CIN III: базальна мембрана чітка за рахунок шару ретикулінових волокон, що складаються з колагену, покритого глікопротеїдом і протеогліканом. PAS-реакція, $\times 1000$.

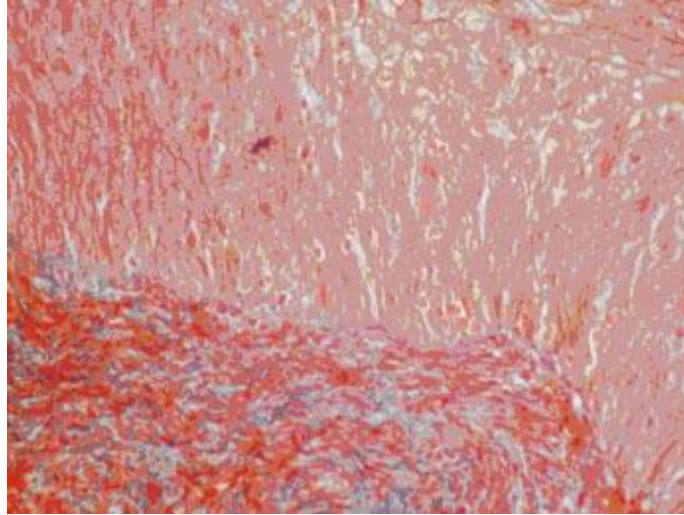


Рис. 7. CIN III: потоншення базальної пластинки базальної мембрани, що складається з колагену IV типу, різке зменшення колагенових волокон в підлягаючій сполучнотканинній стромі. Забарвлення за Маллорі, $\times 400$.

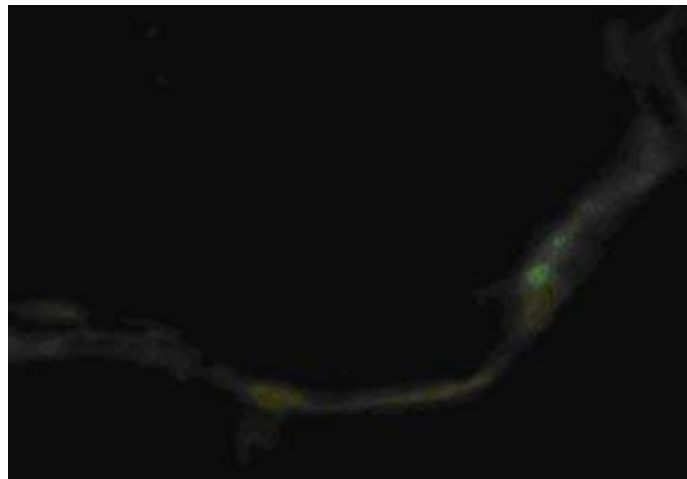


Рис. 8. CIN III: світіння колагену IV типу в стоншеній базальній мембрані. Непряма реакція Кунса із МКАТ до колагену IV типу, $\times 400$.

Морфологічне дослідження базальної мембрани і підлягаючої стромі шийки матки з інтраепітеліальною неоплазією III ступеня важкості – преінвазивна карцинома. Патологічно змінена частина епітеліального шару при інтраепітеліальній неоплазії ШМ III ступеня важкості має чітку границю не тільки по БМ, але й з «боків» зі здоровим епітелієм (рис. 9, рис. 10). Місцева сполучнотканинна реакція підсилюється. Вся ділянка CIS супроводжується інтенсивною лімфогістіоцитарною інфільтрацією з домішкою плазматичних і тучних клітин, що щільно прилягає до БМ (рис. 11). Крім лімфогістіоцитарної інфільтрації спостерігається проліферація клітин фібробластичного

ряду. Паралельно відзначаються деструктивні зміни колагенових аргірофільних і еластичних волокон (рис. 10). Однак на периферії інфільтрату, на границі зі здоровою тканиною ШМ, всі види волокнистих структур концентруються й разом з активно проліферуючими клітинами фібробластичного ряду утворюють молоду сполучну тканину.

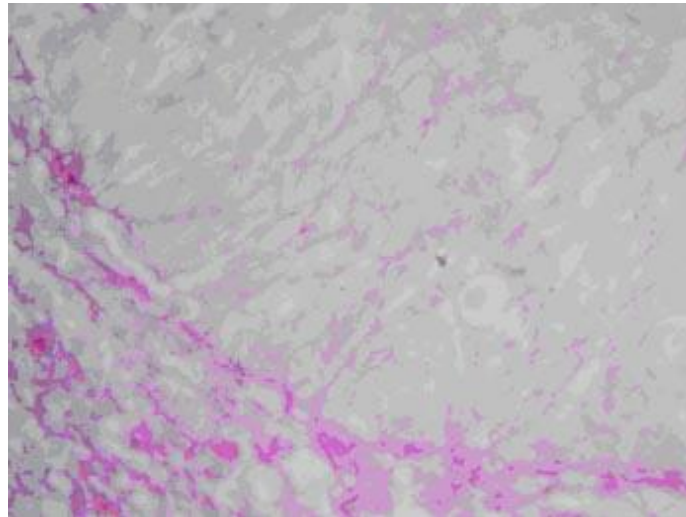


Рис. 9. CIS: базальна мембрана чітка за рахунок шару ретикулінових волокон, що складаються з колагену, покритого глікопротеїдом і протеогліканом. PAS-реакція, $\times 1000$.

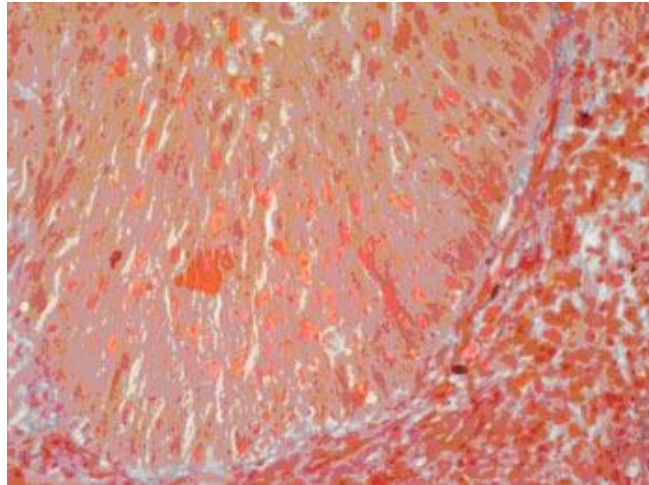


Рис. 10. CIS: чітка границя епітеліального шару по базальній мембрані, базальна пластинка якої, що складається з колагену IV типу, стоншений; незначний вміст колагенових волокон в підлягаючій сполучнотканинній стромі. Зabarвлення за Маллорі, $\times 400$.

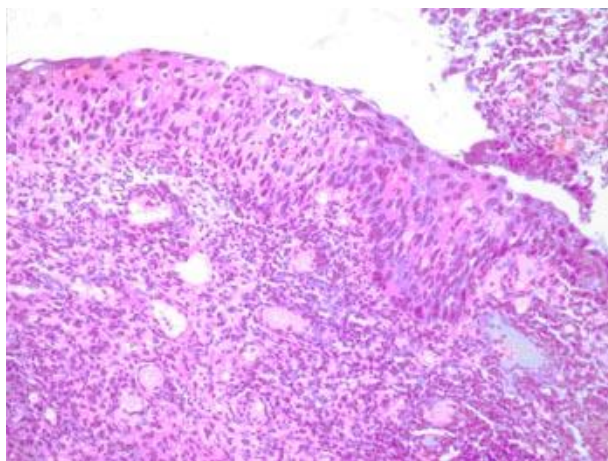
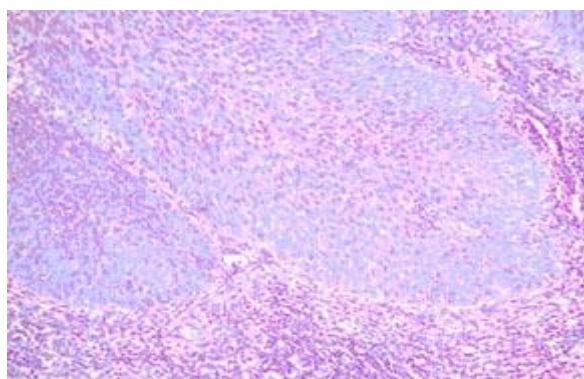


Рис. 11. Високодиференційована форма плоскоклітинного CIS зі схильність до зроговіння. У стромі виражена дифузна лімфоїдно-гістіоцитарна інфільтрація. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$.

Окремо варто звернути увагу на два процеси, підозрілих на початок інфільтративного росту: CIS з підозрою на стромальну інвазію й CIS з «спірною» інвазією.

CIS з підозрою на стромальну інвазію мікроскопічно характеризується стовщенням шару атипічних клітин, зануренням їх у підлягаючу тканину у вигляді масивних, частіше округлої форми акантотичних тяжів, що відтискують перед собою БМ, що не простежується чітко на всьому протязі. Подібний вид змін іменують як внутрішньоепітеліальний рак з колбовидним ростом [15]. CIS з колбовидними розростаннями (зв'язаними хоча б вузькою ніжкою з покривним епітелієм) і явищами порушення БМ на деяких ділянках якісно відмінний від звичайних, перерахованих вище видів CIS і досить загрозливий відносно виникнення інвазивного росту (рис. 12).



А

Б

Рис. 12. CIS з підозрою на стромальну інвазію: стовщення шару атипічних клітин, занурення їх у підлягаючу тканину у вигляді масивних, округлої форми акантотичних тяжів, що відтискують перед собою базальну мембрану, яка не простежується чітко на всьому протязі. У стромі виражена дифузна лімфоїдно-гістіоцитарна інфільтрація. А – забарвлення гематоксиліном і еозином; Б – забарвлення за Маллорі. $\times 200$.

Тому його рекомендується віднести до ураження, підозрілого на інфільтративний ріст. Остаточний висновок можна давати тільки після дослідження серійних зрізів.

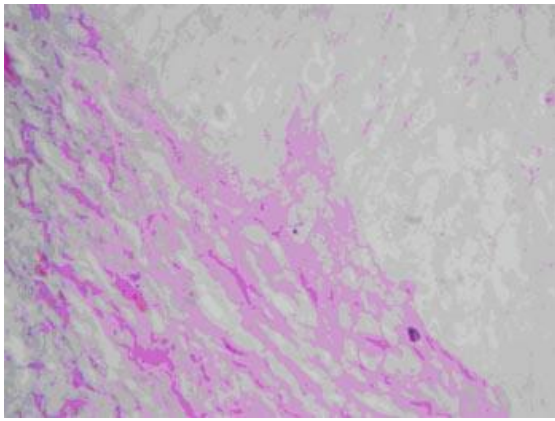
При CIS з «спірною» інвазією відзначається нечіткість границь анаплазиріваного епітелію, роз'єднаність епітеліальних клітин усередині комплексів, схильність їх до занурення в підлягаючу тканину. Однак відшнуровка від основного шару не спостерігається. Характерно, що епітелій, що граничить із БМ, і в акантотичних тяжках більш високого ступеня диференціювання в порівнянні з вище розташованими шарами. У ньому іноді виявляється нагромадження кератину в клітках.

Однак невеликі осередки, що вторгаються в підлягаючу строму й мають виражене диференціювання й зроговіння, не завжди варто розцінювати як показники інвазії, тому що вони можуть спостерігатися й поза пухлинним ростом. Тому такий різновид змін, підозрілих на інвазію, і називають спірною інвазією. Із цього випливає, що подібного роду акантотичні тяжкі з більш високодиференційованими клітинами епітелію варто розцінювати як підозрілі на інвазію при врахуванні стану епітеліального шару в цілому, тому що явища акантозу можуть мати місце й при різного роду запальних і дистрофічних змінах шийного епітелію.

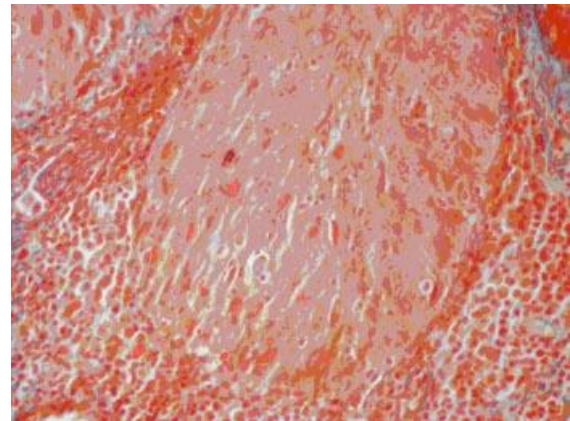
При підозрі на початок інвазії БМ на місці нечіткості границь епітелію розщеплюється на окремі волокна, які товщають і коротшають. Колагенові волокна фрагментуються, стають нерівномірної величини, розташовуються безладно, число їх зменшується (рис. 13). Волокна, що розташовуються безпосередньо в БМ, аргірофільні. У підозрілій на інвазивний ріст зоні відзначається проліферація фібробластів, які розташовуються під розщепленою мембраною у вигляді вала.

При CIS з колбовидним ростом БМ ще більш розщеплена і зберігається у вигляді одиничних аргірофільних волокон. Місцями вона не визначається. Акантотичні розростання анаплазиріваного епітелію оточені фібробластами, за яких звичайно виявляються лімфоплазмодитарні інфільтрати. Серед останніх іноді виявляються безладно розташовані стовщені колагенові волокна, які при імпрегнації сріблом аргірофільні.

При ПХ типіруванні виявляється зниження інтенсивності світіння колагену I і III типів у зонах лімфогістіоцитарного інфільтрату і підвищення яскравості на його периферії, інтенсивність світіння колагену IV типу знижена, волокна стовщені, укорочені, фрагментовані.



А



Б

Рис. 13. Підозра на початок інфільтративного росту: базальна мембрана нечітка, розщеплена на окремі волокна, місцями не визначається. А – PAS-реакція, $\times 1000$; Б – забарвлення за Маллорі, $\times 400$.

Морфологічне дослідження базальної мембрани і підлягаючої стромы шийки матки з інвазивним плоскоклітинним раком. В інвазивних раках кількість і характер стромы пухлини значно варіюють, іноді сполучнотканинні тяжі пронизують пухлину. Спостерігається лімфоцитарна і плазмоцитарна інфільтрація різного ступеня зрілості. Характерна велика кількість тонкостінних кровоносних судин.

На початку інфільтративного росту, коли відзначається проникнення пухлинних клітин у підлягаючу тканину, залишки БМ зберігаються тим менше, чим глибше розташовуються пухлинні комплекси. Колагенові волокна виявляються все в меншій кількості, вони вкорочені, стовщені, безладно розташовані, аргірофільні, забарвлюються пікрофуксином у жовтий колір. Кількість фібробластів зменшується, вони вже не утворюють вала навколо пухлинних клітин. Проте лімфоїдно-плазмоцитарна інфільтрація виражена, причому головним чином за рахунок лімфоцитів різного ступеня зрілості. У міру зростання ступеня виразності інвазії БМ руйнується (рис. 14, рис. 15), зменшується кількість фібробластів, що немов би оточують комплекси клітин атипічного епітелію. У результаті цього пухлинні клітини перебувають у безпосередньому зіткненні з лімфоїдно-плазмоцитарним інфільтратом (рис. 16). Поряд із цим навколо відділених інвазивних осередків часто виявляється нерівномірно сформована БМ (рис. 17). Але коли із цих ізольованих осередків відзначається виникнення нових інвазивних відростків, то БМ у зоні їхнього занурення найчастіше не визначається.

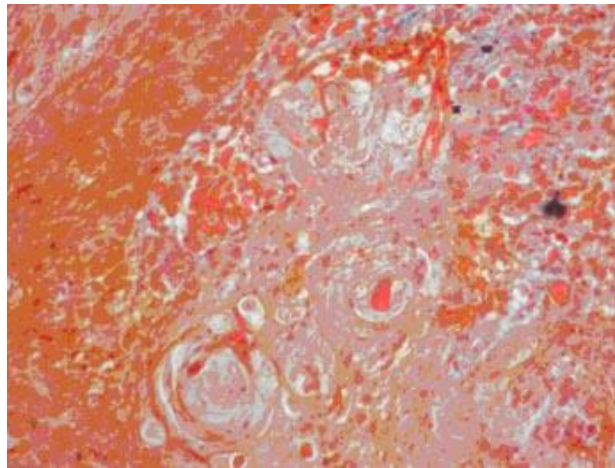


Рис. 14. Плоскоклітинний зроговілий рак: базальна мембрана зруйнована, пухлинні клітини перебувають у безпосередньому зіткненні з лімфоїдно-плазмоцитарним інфільтратом, у підлягаючій сполучнотканинній стромі незначний вміст колагенових волокон. Зabarвлення по Маллорі, $\times 400$.



Рис. 15. Плоскоклітинний незроговілий рак: базальна мембрана зруйнована, пухлинні клітини перебувають у безпосередньому зіткненні з лімфоїдно-плазмоцитарним інфільтратом. PAS-реакція, $\times 400$.

При ІГХ диференціюванні колагенів виявлене різке зниження інтенсивності й осередкове світіння колагену I типу в пухлинах з не- або маловиразним стромальним компонентом і в зонах лімфогістіоцитарного інфільтрату (рис. 18), визначалося слабке світіння колагену III типу (незрілий, швидкозростаючий колаген) у таких же зонах, що вказує на розвиток стромального компонента в пухлині (рис. 19).

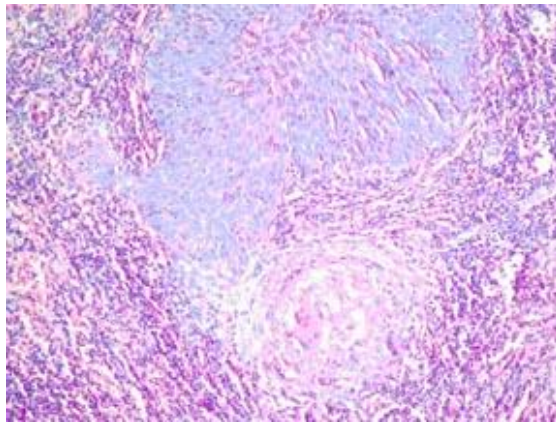


Рис. 16. Плоскоклітинний зроговілий рак: зберігаються ознаки вертикальної анізоморфності, поряд із клітинним і ядерним атипізмом спостерігається диференціювання клітин аж до утворення рогової речовини. Рогова перлина на периферії епітеліального шару. У стромі виражена дифузна лімфоїдно-плазмоцитарна інфільтрація. Пухлинні клітини у безпосередньому зіткненні з лімфоїдно-плазмоцитарним інфільтратом. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 200$.

У стінках пухлинних судин при імунофлюоресцентному дослідженні виявлялося яскраве світіння колагену III типу (рис. 20). Світіння колагену IV типу здебільшого не визначається або інтенсивність його знижена – різко або помірно, відповідно зонам прогресії інвазії або формування ізольованих інвазивних осередків.

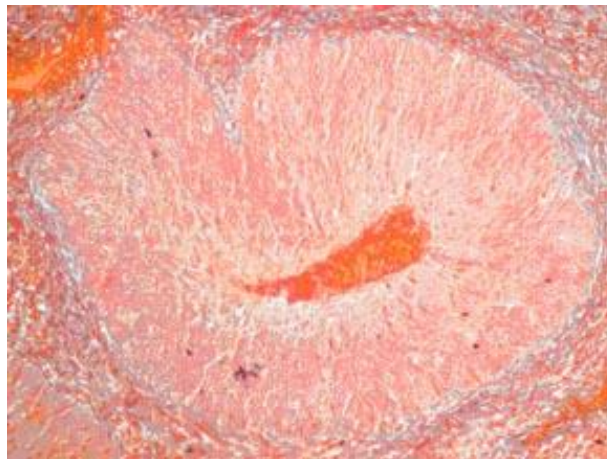


Рис. 17. Нерівномірно сформована базальна мембрана навколо ізольованих інвазивних осередків. Забарвлення по Маллорі, $\times 200$.

Отже, характеризуючи стан БМ можемо відзначити, що в НБПЕ й при CIN I-III цілісність її збережена, однак при CIN III вона трохи стоншена. При CIS границя БМ нечітка, при підозрі на початок інвазії БМ на місці нечіткості границь епітелію розщеплюється на окремі волокна, які товщають і коротшають. Колагенові волокна фрагментуються, стають

нерівномірної величини, розташовуються безладно, число їх зменшується. У підозрілій на інвазивний ріст зоні відзначається проліферація фібробластів, які розташовуються під розщепленою мембраною у вигляді вала. При початку інфільтративного росту, коли відзначається проникнення пухлинних клітин у підлягаючу тканину, залишки БМ зберігаються тим менше, чим глибше розташовуються пухлинні комплекси. Колагенові волокна виявляються все в меншій кількості, вони вкорочені, стовщені, безладно розташовані.

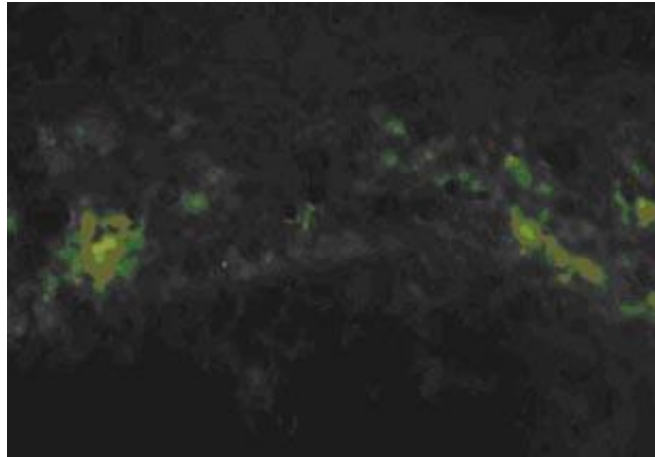


Рис. 18. Осередкове світіння колагену I типу в сполучнотканинній стромі плоскоклітинного раку шийки матки. Непряма реакція Кунса із МКАТ до колагену I типу, $\times 400$.

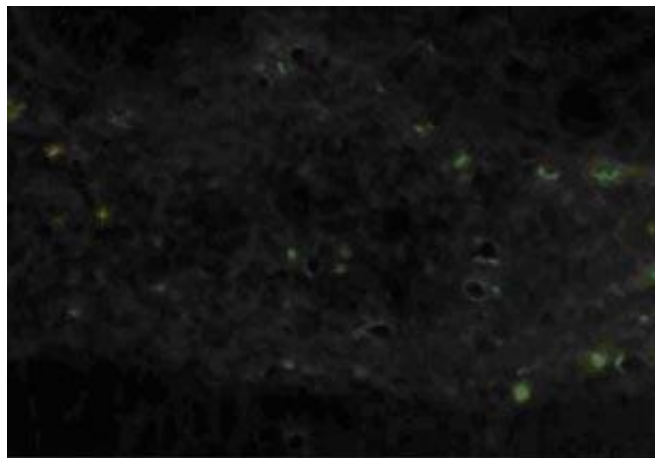


Рис. 19. Крапчасте світіння колагену III типу в сполучнотканинній стромі плоскоклітинного раку шийки матки, що свідчить про розвиток стромального компонента пухлини. Непряма реакція Кунса із МКАТ до колагену III типу, $\times 400$.

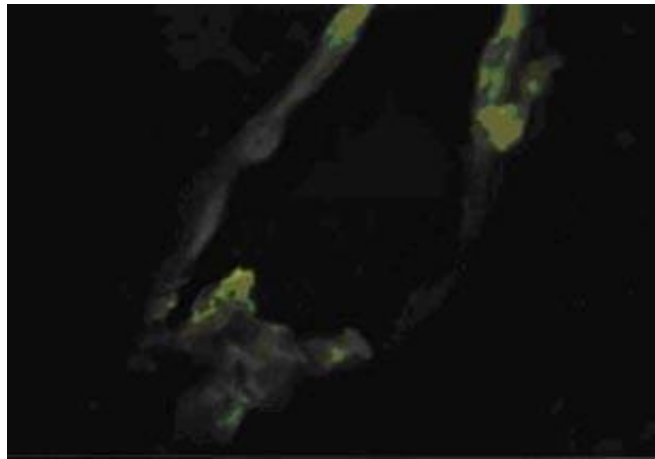


Рис. 20. Яскраве світіння стінок новостворених судин пухлини, що свідчить про перевагу в сполучнотканинному компоненті судинної стінки колагену III типу. Непряма реакція Кунса із МКАТ до колагену III типу, $\times 400$.

Кількість фібробластів зменшується, вони вже не утворюють вала навколо пухлинних клітин. Зате лімфоїдно-плазмоцитарна інфільтрація виражена, причому головним чином за рахунок лімфоцитів різного ступеня зрілості. У результаті цього пухлинні клітини перебувають у безпосередньому зіткненні з лімфоїдно-плазмоцитарним інфільтратом [15, 20, 21, 24].

У той же час навколо ізольованих інвазивних осередків нерідко виявляється нерівномірно сформована БМ. Однак, коли із цих ізольованих осередків відзначається виникнення нових інвазивних відростків з низькодиференційованих клітин, то БМ у зоні їхнього впровадження найчастіше не визначається.

Зменшення виразності, фрагментація й відсутність БМ при останніх стадіях канцерогенезу й розвиненому раку пов'язані зі зниженням колагенутворюючої функції клітин базального шару БПЕ ШМ і зниженням змісту глікопротеїдів у структурі БМ. Однак, як було відзначено раніше, при інвазивному раку іноді виявляється нерівномірно сформована БМ навколо ізольованих осередків, що говорить про підвищення продукції колагену пухлинними клітинами. Тому, існує думка, що БМ, утворення яке індуковано самими пухлинними клітинами, необхідна тільки для існування вже сформованих ракових осередків, але подальший їхній ріст може відбуватися лише за умови її розплавлювання. Висловлюється припущення, що десмолітичні процеси, що приводять до порушення БМ, обумовлені не тільки дією пухлинних, найбільше анаплазируваних клітин епітелію, але й дією лімфогістиоцитарних елементів. Однак, якщо у вогнищах лімфогістиоцитарних інфільтратів відзначається розпад колагенових і аргірофільних волокон, то навколо цих інфільтратів спостерігається новоутворення волокнистих структур. Тому лімфоїдні

інфільтрати, перешкоджаючи утворенню БМ навколо пухлинних осередків, які інвазують, і входячи в безпосередній контакт із пухлинними клітинами, можуть приводити їх до загибелі або вповільнення росту окремих комплексів, а по периферії стимулюють десмопластичні процеси [16, 22, 23].

Дослідження БМ і строми, проведене за допомогою ІГХ досліджень, показало наявність і співвідношення різних типів колагенів при різних стадіях канцерогенезу ШМ.

У БМ виявлявся колаген IV типу, інтенсивність світіння якого знижується в міру поважчання ступеня дисплазії, фрагментоване світіння зустрічається в ділянках, підозрілих на інвазію й відсутнє у зонах інвазивного росту. При ІГХ типіруванні колагенів у підлягаючій стромі в групі із НБПЕ й при CIN I-III явно переважав колаген I типу, при CIS його кількість зменшується, а при invCa його вміст вкрай низький. У стромі, що розвивається, при invCa виявляється й колаген III типу. Даний тип колагену вважається незрілим, тільки що утвореним. У великій кількості він виявляється в грануляційній тканині при загоєнні ран [13]. Колаген III типу виявлявся також і в стінках судин, особливо у великій кількості в інвазивних пухлинах, що свідчить про новоутворення останніх.

Висновки. Таким чином, у міру поважчання стадії канцерогенезу відбуваються зміни в стромально-судинному компоненті і у БМ. Особливо великого значення набуває вивчення стану базальної мембрани при вирішенні питання про наявність або відсутність інвазивного росту атипічного епітелію. Цілісність БМ служить достовірним критерієм відмінності преінвазивного і інвазивного раку. Але дати об'єктивне уявлення про сутність явищ, що відбуваються, і допомогти в діагностиці може тільки комплексне вивчення змін з боку БМ і підлягаючої строми, в чому також великої ролі набуває аналіз ІГХ маркерів, оскільки при цьому істотно підвищується якість дослідження, яке неможливо отримати при використанні традиційних гістологічних методів.

Таким чином, стан БМ епітелію ШМ і підлягаючої строми є додатковим критерієм у диференціальній діагностиці стадій канцерогенезу, що дозволяє підвищити якість діагностики патологічних станів ШМ.

Перспективи подальших розробок полягають у дослідженні стану БМ БПЕ і підлягаючої строми при цервікальних інтраепітеліальних неоплазіях та РШМ за допомогою більш широкого спектру ІГХ методів дослідження.

Літературні джерела:

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Г.Г. Автандилов – М., 2002.
2. Автандилов Г.Г. Дифференциальная диагностика стадий канцерогенеза в шейке матки (по данным плоидометрического исследования) / Г.Г. Автандилов, Ю.К. Глухова, Т.М.

Преображенская // Архив патологии. – 2004. – №3. – С. 23–27.

3. Вопросы и темы здравоохранения. Рак шейки матки [Электронный ресурс] / Всемирная организация здравоохранения. – Режим доступа: <http://www.euro.who.int/ru/health-topics/noncommunicable-diseases/cancer/news/news/2012/2/early-detection-of-common-cancers/cervical-cancer>

4. Ганина К.П. Диагностика предопухолевых процессов шейки матки / К.П. Ганина, Е.П.Коханевич, А.Н. Мельник – К.: Наукова думка, 1984. – 178с.

5. Гундорова Л.В. Морфометрическая диагностика предрака и рака предстательной железы по данным исследования ploидности / Л.В. Гундорова, Г.Г. Автандилов, К.Б. Саниев, О.В. Зайратьянц // Архив патологии. – 2003. – №4. – С.46–50.

6. Информационный бюллетень № 380, март 2015 г. [Электронный ресурс] / Всемирная организация здравоохранения. – Режим доступа: [http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs380/ru/;](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs380/ru/)

7. Информационная записка ВОЗ. Комплексная профилактика рака шейки матки и борьба с ним – здоровое будущее для девочек и женщин / Всемирная организация здравоохранения. – L'IV Com Sàrl, Villars-sous-Yens, Switzerland, 2013. – 13 с.

8. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли – Москва: Мир, 1960. – 648 с.

9. Международная гистологическая классификация опухолей. Гистологическая классификация опухолей женского полового тракта. – Женева, 1994.

10. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов – Л.: Медицина, 1969. – 406 с.

11. Пирс Э. Гистохимия (теоретическая и прикладная) / Э. Пирс – Москва: Иностранная литература, 1962. – 962 с.

12. Рыбакова М.Г. Сопоставление показателей встречаемости диагнозов как метод оценки качества гистологической диагностики (на примере внутриэпителиальных и инвазивных новообразований матки) / М.Г. Рыбакова, Г.Б. Ковальский, В.Н. Чибисов и др. // Архив патологии. – 2003. – №5. – С.40–43.

13. Серов В.В. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология) / В.В. Серов, А.Б. Шехтер – М.: Медицина, 1981. – 343с.

14. Фролова И.И. Иммуногистохимические исследования дискератоза и неопластических изменений экзоцервикса при гинекологической патологии / И.И. Фролова, Г.М. Местергази, В.Е. Радзинский и др. // Архив патологии. – 2002. – №6. – С. 23–26.

15. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний шейки и тела матки / О.К. Хмельницкий – СПб: Сотис, 2000. – 336 с.

16. Чепик О.Ф. Динамика канцерогенеза и профилактика рака шейки матки / О.Ф. Чепик // Материалы Всесоюз. Симпозиума «Вопросы профилактики и ранней диагностики рака шейки матки». – Тбилиси, 1971. – С. 154–159.
17. Яковлева И.А. Эпителий шейки матки в процессе малигнизации / И.А. Яковлева, И.Г. Ботнаръ, А.М. Черный – Кишинев: Штиинца, 1981.
18. Яковлева И.А., Кукутэ Б.Г. Морфологическая диагностика предопухолевых процессов и опухолей матки по биопсиям и соскобам / И.А. Яковлева, Б.Г. Кукутэ – Кишинев: Штиинца, 1979. – 147с.
19. Brosman M. Immunofluorescencne vysetrovanie formal-parafinovego materialu / M. Brosman // Cs. patol. – 1979. – 15. – 4. – С. 215–220.
20. D'Ardenne A.J. Use of basement membrane markers in tumor diagnosis / A.J. D'Ardenne // J. Clin. Pathol. – 1989. – Vol. 42. – P. 449–457.
21. Goldberg I. Expression of extracellular matrix proteins in cervical squamous cell carcinoma – a clinicopathological study / I. Goldberg, B. Davidson, L. Lerner-Geva et al. // J. Clin. Pathol. – 1998. – Vol. 51 (10). – P. 781–785.
22. Liotta L.A. Tumor invasion and metastases: Role of the basement membrane / L.A. Liotta // Am. J. Pathol. – 1984. – Vol. 117. – P. 339–347.
23. Sakai L.Y. Production and characterization of monoclonal antibody to human type IV collagen / L.Y. Sakai, E. Engvall, D.W. Hollister et al. // Am. J. Pathol. – 1982. – Vol. 108. – P. 310–318.
24. Stewart C.J. Distribution of type IV collagen immunoreactivity to assess questionable early stromal invasion / C.J. Stewart, A.M. McNicol // J. Clin. Pathol. – 1992. – Vol. 45 (1). – P. 9–15.