

ПАТОМОРФОЛОГІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ ПРОТЕОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ У ПОЄДНАННІ З СІМТОМАТИЧНОЮ ЛАЗЕРНОЮ ЕНДОСКОПІЧНОЮ РЕКАНАЛІЗАЦІЄЮ У ХВОРИХ НА НЕОПЕРАБЕЛЬНІ ЗЛОЯКІСНІ ПУХЛИНИ СТРАВОХОДУ

Гомоляко І.В., Назаренко О.Ю., Тодуров І.М.

Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О.Шалімова НАМН України, Київ

Вступ

За сучасними узагальненими статистичними даними рак стравоходу посідає 6 місце в структурі захворюваності на злоякісні новоутворення. Так в 2006 році в світі було зареєстровано 412 тисяч випадків цього захворювання, від якого померли 337 тисяч чоловік (5,4% загальної кількості смертей від всіх злоякісних пухлин в світі) [IARC — Lion, France, 2006]. При цьому слід зауважити, що рак стравоходу відноситься до високоепідеміологічних пухлин та характеризується раннім лімфогенним метастазуванням. Свідченням вищезазначеного є результати розрахунку індексу агресивності пухлини (співвідношення кількості смертей та нових випадків захворювання виявлених протягом року), який при раку стравоходу досягає 95%, в той час як при раку молочної залози та товстої кишки цей показник складає 23% [1,2]. Захворюваність на рак стравоходу в різних регіонах України складає 4-7 випадків на 100 тис. населення, що, фактично, відповідає рівню цього показника в економічно розвинених країнах Європи [3,4].

У випадках розвитку раку стравоходу особливо гостро проявляється актуальність однієї із ключових проблем практичної охорони здоров'я щодо ранньої діагностики злоякісних новоутворень [1,2,5,6]. Адже через мінімально виражені симптоматику раку стравоходу на початкових стадіях його розвитку та відсутність ефективних скринінгових програм в Україні більш, ніж у 70% хворих, на момент початку лікування діагностуються III-IV стадії захворювання [3,4]. При цьому, за даними переважної більшості авторів, на момент постановки діагнозу раку стравоходу операбельними є лише близько 20% пацієнтів, а резектабельність пухлини складає 60-70% від загальної кількості взятих на операцію хворих [3,7-10].

З огляду на вищенаведені статистичні дані зрозуміло, що питанню відновлення енте-рального харчування та, відповідно, покращення якості життя у неоперабельних хворих завжди приділялась першочергова увага. Загально визнано, що у хворих з неоперабельним раком стравоходу для усунення дисфагії, відновлення перорального харчування, покращення якості життя та, певною мірою, соціальної реабілітації, найбільш виправдані є використання симптоматичних ендоскопічних втручань [3,7,11]. Серед них, на думку багатьох авторів, лазерна ендоскопічна реканалізація (ЛЕР) стравоходу є однією із найбільш перспективних. Адже у порівнянні з іншими методами, вона має ряд беззаперечних переваг: достатню високу ефективність, атравматичність, безпечність, аблятичність, стерильність за відносної простоти виконання [11-13].

Проте, незважаючи на достатню велику кількість присвячених ЛЕР стравоходу клінічних та експериментальних досліджень ряд важливих питань пов'язаних з її використанням залишаються актуальними, далекими від остаточного вирішення та вимагають подальшого вивчення. Це, насамперед, стосується розробки нових модифікацій ЛЕР та диференційованих підходів щодо їх використання в залежності від ступеню, локалізації та довшини пухлинного стенозу стравоходу. В доступній нам вітчизняній та зарубіжній літературі відсутні дані щодо комбінованого застосування ензимних препаратів та процедури ЛЕР стравоходу в клініці та експериментальне обгрунтування доцільності такої комбінації. Подальший розвиток досліджень у означеному напрямку приведе до покращення результатів лікування та якості життя хворих на неоперабельний рак стравоходу.

Результати ряду сучасних клініко-експериментальних досліджень переконливо засвідчили високу ефективність загального та місцевого використання ферментних препаратів в онкологічній практиці при відсутності значимих негативних побічних ефектів [14-17]. Доведено, що морфологічні зміни, що виникають в тканинах пухлин під впливом ферментних препаратів достатню типові: відбувається руйнування сітки міжклітинних зв'язків, протоліз мембран ракових клітин, що призводить до зменшення та некрозу пухлини [18]. Проте доцільність комбінації ін'єкційного введення ензимів в тканину пухлини при проведенні лазерної ендоскопічної реканалізації стравоходу за умови його пухлинного утворення є актуальною, недостатньо вивченою та далеко не вирішеною проблемою. Тому першочерговим завданням нашого дослідження було вивчення морфологічних змін в тканинах пухлин при використанні різних концентрацій ферментних препаратів в експерименті та клініці.

Мета дослідження: покращення результатів лікування та якості життя хворих на неоперабельний рак стравоходу шляхом розробки нових та вдосконалення існуючих методів його лазерної ендоскопічної реканалізації.

Матеріали та методи

Для проведення експериментальної оцінки ефективності впливу трипсину на тканину помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу фрагменти пухлини об'ємом 3 мм³ занурювали в розчин трипсину. В залежності від концентрації ферментного препарату було сформовано 3 групи дослідження та одна — контролю, в кожну з яких включено по 10 біопатів. В групі спостереження А 10 мг трипсину розчиняли в 1 мл 0,9% розчину хлориду натрію, отримавши 1% розчин ферментного препарату, в групах В та С — 5 мг та 2 мг трипсину розчиняли в аналогічному об'ємі 0,9% розчину хлориду натрію, отримавши 0,5% та 0,2% розчини ферментного препарату відповідно. Фрагменти пухлини фіксували в нейтральному 10% формаліні та гістологічно досліджували через 2, 6, 12 та 24 години після занурення в розчин ферменту. Контролем слугували фрагменти пухлини занурені на відповідний термін в 0,9% розчин хлориду натрію.

Гістологічні зрізи фарбувалися за стандартною методикою гематоксиліно-еозинном, азур-2-еозинном досліджувалися на мікроскопі Olympus (Японія), для фото- та відеодokumentування використовували відеосистему Olympus (Японія), програмне забезпечення DP-Soft. Результати дослідження оцінювались описово та на основі візуально-аналогової напівкількісної шкали, згідно з якою мінімальне пошкодження препарату позначалось як "+", максимальне — "++++".

Результати дослідження

Структура тканини пухлини, фіксованої безпосередньо після її видалення була типовою для помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу, елементи якого визначались в вигляді чарунок в сполучнотканнінній стромі та між м'язовими волокнами. Гістологічну структуру пухлини представлено на рис. 1.

В біоптатах пухлини, які попереду від 2 до 24 годин знаходились в 0,9% розчині хлориду натрію (контрольна група) спостерігались прогресивні некробіотичні та некротичні зміни. Через 24 години перебування в фізіологічному розчині було відмічено поширені некротичні зміни, що були більш вираженими в центральній частині фрагмента. По периферії зберігались структурні елементи пухлини. Клітини пухлини — з вираженими дегенеративними змінами, частина їх з ознаками внутрішньоклітинного набряку, частина зменшена, має ушілену базofilну цитоплазму, фрагментовані ядра, зруйновані міжклітинні контакти. Строма пухлини набрякла, частково з ознаками лізису. Тканина нежиттездатна. Вищеписані морфологічні зміни представлені на рис. 2.

В біоптатах пухлини, що знаходились в розчині трипсину зміни носили більш різноманітний характер. В групі спостереження А через дві години після перебування препаратів в 1% розчині трипсину відзначались виражені дистрофічні зміни. Спостерігався внутрішньоклітинний набряк, вакуолізація клітин пухлини, конденсація ядерного хроматину. В стромі — набряк, вогнища фібриноїдного некрозу. Прилеглі м'язові волокна стінки стравоходу, колагенові волокна та стінки судин збережені. Гладком'язові клітини стінок судин вакуолізовані. В глибоких відділах біоптату структура пухлини в цілому збережена, явища деструкції виражені незначно, глибина пошкодження тканини складала близько 1 мм (рис. 3).

Через 6 годин після перебування препаратів в 1% розчині трипсину зафіксовано типові зміни у всій товщі біоптату. Переважають деструктивні зміни з руйнуванням стромі та клітинних елементів пухлини, проте на цьому фоні спостерігаються ділянки некробіозу зі збереженням окремих клітинних елементів. Тканина нежиттездатна (рис. 4).

Через 12 годин після перебування в 1% розчині трипсину відмічались однорідні зміни у всій товщі біоптату. Спостерігається повна деструкція стромі та клітинних елементів пухлини. Проте не всі тканини та клітини з ознаками повного розпаду, місцями вони збережені у вигляді тіней (рис. 5).

Через 24 години після перебування в 1% розчині трипсину також відмічались однорідні зміни у всій товщі біоптату. Спостерігається повна деструкція як стромі так і клітинних елементів пухлини. Препарат має вигляд тендітної сітки з залишкових структур стромі з укралюваними поодинокими клітин з ознаками деградації, пікнотичними ядрами. (рис. 6). Незворотні зміни у всій товщі біоптату тканини пухлини спостерігаються через 6 годин експозиції з наступним прогресуванням деструктивних змін аж до майже повного лізису до 24 години експозиції. Експозиція протягом 6 годин є достатньою для проникнення препарату на глибину 1,5 мм.

В групі В через дві години після перебування препаратів в 0,5% розчині трипсину зміни в біоптаті були аналогічними таким, що спостерігались в групі А у цей же термін спостереження. В поверхневих відділах біоптату дистрофічні зміни були більш значимими, ніж в його центральній частині. Спостерігався внутрішньоклітинний набряк, вакуолізація пухлинних клітин, конденсація ядерного хроматину. В стромі — набряк, вогнища фібриноїдного некрозу. Зміни в стромі більш виражені, ніж в групі А. В глибоких ділянках біоптату структура пухлини частково збережена, явища деструкції менш виражені, глибина пошкодження тканини близько 1 мм (рис. 7).

Через 6 годин після перебування в 0,5% розчині трипсину зміни у всій товщі біоптата були однорідними. Переважають деструктивні зміни стромі і клітинних елементів пухлини, проте на цьому фоні спостерігаються ділянки некробіозу зі збереженням окремих клітинних елементів. Слід підкреслити, що загалом ступінь пошкодження клітинних елементів та стромі був дещо меншим, ніж в групі А. Це стосується вираженості та глибини деструкції, але не ступеню щільності структур. Тканина нежиттездатна (рис. 8).

Через 12 годин після перебування в 0,5% розчині трипсину зміни у всій товщі біоптата також були однорідними. Спостерігається повна деструкція стромі та клітинних елементів пухлини. Проте не всі тканини та клітини з ознаками повного розпаду, місцями вони збережені у вигляді тіней. Відмінною рисою морфологічної динаміки в даній групі спостереження було більш значне пошкодження стромі пухлини (рис. 9). Через 24 години після перебування в 0,5% розчині трипсину зміни у всій товщі біоптата залишались однорідними. Спостерігалась повна деструкція стромі та клітинних елементів пухлини. Ступінь пошкодження структур відповідав 12 годинному періоду спостереження в групі А (рис. 10).

Таким чином, незворотні зміни у всі товщі біоптата тканини пухлини в групі В спостерігались через 6 годин експозиції з наступним прогресуванням деструктивних явищ. Проте на відміну від препаратів групи А ці зміни відбуваються дещо повільніше та в більшій мірі і раніше, ніж в групі А відбуваються деструктивні зміни в стромі пухлини. Експозиція протягом 6 годин є достатньою для проникнення препарату на глибину 1,5 мм.

В групі С через дві години після перебування препаратів в 0,2% розчині трипсину у всіх ділянках біоптата спостерігались глибокі деструктивні зміни, що виражались внутрішньоклітинним набряком, вакуолізацією пухлинних клітин, конденсацією ядерного хроматину, розпадом клітин. В стромі — виражений набряк. Проте остання, в порівнянні з відповідними строками спостереження в групах А та В, залишалась добре збереженою (рис. 11). Через 6 годин після перебування в 0,2% розчині трипсину зміни у всій товщі біоптата також були однорідними. Переважають деструктивні зміни з руйнуванням стромі та клітинних елементів пухлини, причому більш виражені, ніж в групі В. Прилеглі м'язові волокна стінки стравоходу, колагенові волокна та стінки судин збережені. Тканина пухлини нежиттездатна (рис. 12).

Через 12 годин після перебування в 0,2% розчині трипсину зміни у всій товщі біоптата характеризувались однорідністю. Спостерігалась повна деструкція стромі та клітинних елементів пухлини. Не всі тканини та клітини з ознаками повного розпаду, місцями вони залишалися збереженими у вигляді тіней. Загалом морфологічні зміни в препараті зміни такі ж як і в групі В після 6-годинної експозиції (рис. 13). Через 24 години після перебування в 0,2% розчині трипсину зміни у всій товщі біоптата також були однорідними. Спостерігалась повна деструкція стромі та клітинних елементів пухлини. Препарат має вигляд тендітної сітки з залишкових структур стромі з укралюваними поодинокими клітин з ознаками деградації, пікнотичними ядрами. Загалом тканина (як строма так і клітини) дещо більш збережені, ніж в аналогічні строки в групах А та В (рис. 14).

Таким чином, вищенаведені дані засвідчують, що незворотні зміни у всій товщі біоптата тканини пухлини в групі С спостерігались через 12 годин експозиції з наступним прогресуванням деструктивних змін. Експозиція протягом 12 годин є достатньою для проникнення препарату на глибину 1,5 мм. Результати дослідження на основі їх оцінки за візуально-аналоговою напівкількісною шкалою узагальнено в таблиці 1.

Дослідження впливу розчину химотрипсину

на тканині помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу in vivo

Важливим етапом дослідження було вивчення впливу трипсину на тканину помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу in vivo. З цією метою проведено дослідження фрагментів пухлинної тканини через 2 доби після введення в неї розчину

Таблиця 1.

Строки спостереження	Групи спостереження		
	Група А	Група В	Група С
2 години	++	++	++
6 години	+++	+++	++
12 години	++++	+++	+++
24 години	++++	+++	+++

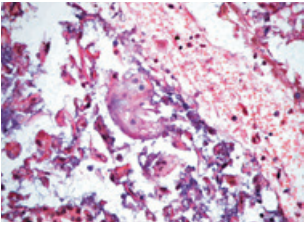


Рис. 1

Гістологічна структура помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу після видалення фрагменту. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

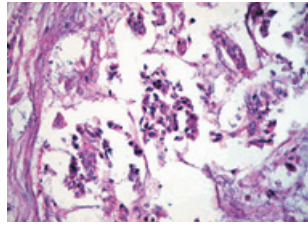


Рис. 2

Гістологічна структура помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу після перебування в 0,9% розчині хлориду натрію протягом 24 годин. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

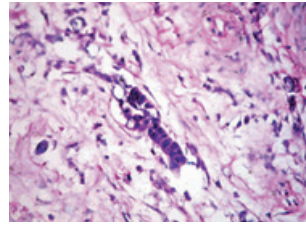


Рис. 3

Гістологічна структура помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу після перебування в 1% розчині трипсину протягом 2 години. Деградація ракових клітин. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

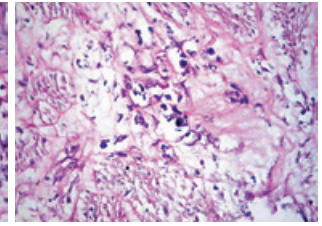


Рис. 4

Гістологічна структура помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу після перебування в 1% розчині трипсину протягом 6 годин. Деградація ракових клітин. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

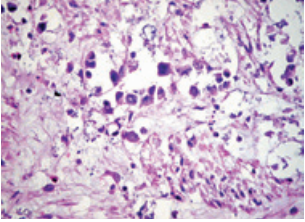


Рис. 5

Гістологічна структура помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу після перебування в 0,5% розчині трипсину протягом 12 годин. Деградація ракових клітин. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

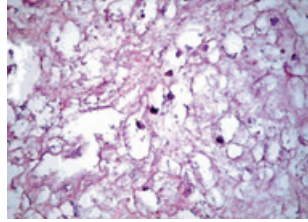


Рис. 6

Гістологічна структура помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу після перебування в 0,5% розчині трипсину протягом 24 години. Деградація ракових клітин. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

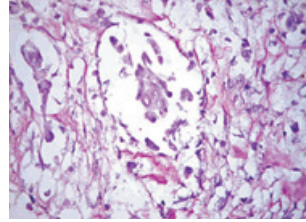


Рис. 7

Гістологічна структура помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу після перебування в 0,2% розчині трипсину протягом 2 години. Деградація ракових клітин. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

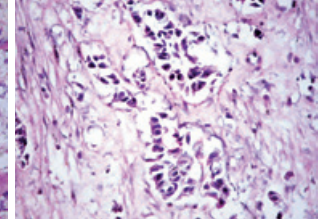


Рис. 8

Гістологічна структура помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу після перебування в 0,5% розчині трипсину протягом 6 годин. Деградація ракових клітин. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

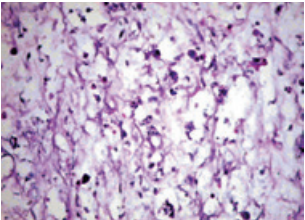


Рис. 9

Гістологічна структура помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу після перебування в 0,2% розчині трипсину протягом 12 годин. Деградація ракових клітин. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

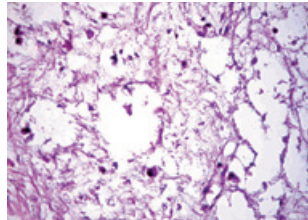


Рис. 10

Гістологічна структура помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу після перебування в 0,2% розчині трипсину протягом 24 години. Деградація ракових клітин. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

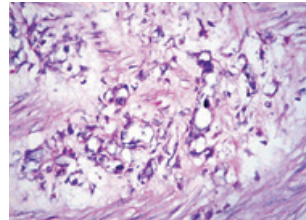


Рис. 11

Гістологічна структура помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу після перебування в 0,2% розчині трипсину протягом 2 години. Деградація ракових клітин. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

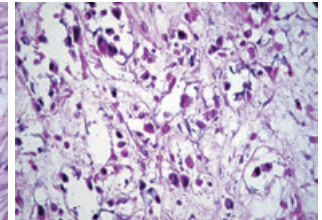


Рис. 12

Гістологічна структура помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу після перебування в 0,2% розчині трипсину протягом 6 годин. Деградація ракових клітин. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

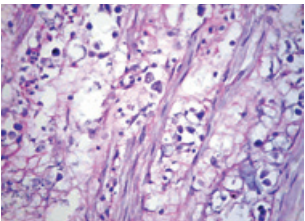


Рис. 13

Гістологічна структура помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу після перебування в 0,2% розчині трипсину протягом 12 годин. Деградація ракових клітин. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

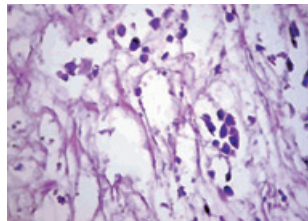


Рис. 14

Гістологічна структура помірно-диференційованого епідермоїдного раку стравоходу після перебування в 0,2% розчині трипсину протягом 24 години. Деградація ракових клітин. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

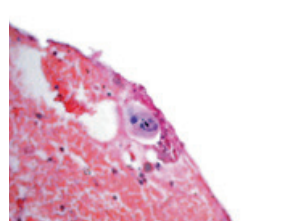


Рис. 15

Фрагмент тканини помірнодиференційованого епідермоїдного раку серед некротизованих пухлинних клітин. Друга доба після ін'єкційного введення в пухлину розчину трипсину під час першого сеансу КЛЕР стравоходу. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

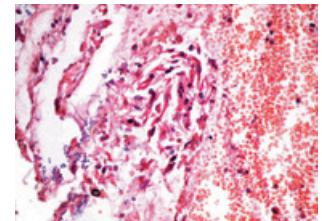


Рис. 16

Помірнодиференційований епідермоїдний рак. Група пухлинних клітин в стадії некролізу. Друга доба після повторного ін'єкційного введення в пухлину розчину трипсину під час другого сеансу КЛЕР стравоходу. Фарбування гематоксилін-еозином. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 40.

трипсину під час першого сеансу лазерної ендоскопічної реканалізації. В біопаті переважали некротичні зміни з вогнищами дрібних крововиливів. Переважна більшість клітин — в стані некролізу та лізису. Клітини пухлини, що збереглися частково чи повністю, знаходилися в стані дисоціації, розташовувалися поодинокі чи невеликими групами, були деформовані та зменшені в розмірах. Цитоплазма клітин вакуолізована, фрагментована. В ядрах — зменшення розмірів, конденсація хроматину, фрагментація, в окремих випадках — вакуолізація (рис. 15).

З метою з'ясування динаміки морфологічних змін в процесі проведення комбінованої лазерної ендоскопічної реканалізації проведено вивчення фрагментів пухлинної тканини через 2 доби після повторного введення ферментного препарату в пухлину під час другого сеансу лазерної ендоскопічної реканалізації стравоходу. В біопаті спостерігалися поодинокі невеликі фрагменти безструктурних некротизованих тканин. Визначалися поодинокі клітини в стані некролізу. Основну масу біопату займав помірно виражений запальний інфільтрат, до складу якого входили мононуклеари та поодинокі багатоядерні фагоцитарні клітини та фібробласти, дрібні капіляри. Ознак пухлинного росту в препараті не виявлено (рис. 16).

Висновки

Таким чином, в результаті проведення експериментального етапу дослідження встановлено, що після перших двох годин перебування в розчині трипсину, незалежно від його концентрації, найбільш виражені процеси руйнування тканин відбуваються в поверхневих ділянках фрагменту пухлини. Після 24 годин перебування в розчині ферментного препарату процес деструкції розповсюджується на всі ділянки фрагменту. При цьому спостерігається чітка дозо-залежність літичного ефекту, тобто зростання ступеню деструктивних змін з підвищенням концентрації розчину трипсину. При цьому різниця

рівнів дегенеративних змін між препаратами групами А та В менша, ніж між групами В та С, оскільки в останній з них довше зберігаються гістологічні елементи (хоча і з суттєвими ознаками ураження). Крім того в групі С відмічено більш високий ступінь збереження прилеглих структур — м'язових волокон, судин та стромі пухлини, що є небажаним з точки зору перспектив пухлинного росту.

Виходячи з вищевказаних даних ми дійшли до висновку, що в створених експериментальних умовах оптимальною щодо деструкції пухлини була 0,5% концентрація розчину трипсину з експозицією 24 години. Встановлено, що трипсин в комбінації з лазерним опроміненням *in vivo* справляє на тканину пухлини виражений літичний ефект. При цьому в прилеглий до пухлини сполучній тканині спостерігається активація фагоцитарних процесів, що сприяє очищенню поверхні препарату від залишків детриту.

Підсумовуючи вищезазначене, можна дійти до висновку, що результати роботи засвідчують доцільність комбінованого використання ферментних препаратів та лазерної ендоскопічної реканалізації у хворих з неоперабельним раком стравоходу, ускладненим стенозом останнього.

Література

1. Стидиди І.С., Кононець П.В. (2006) Транслокальна субтотальна резекція пищевода по поводу рака с сохранением блуждающих нервов. Груная и сердечно-сосудистая хирургия. 3: 32-35
2. Давыдов М.И., Стидиди І.С. (2007) Рак пищевода. (Москва). "Практическая медицина". 360 с.
3. Гауэл В.Л., Киркилевский С.И. (2003) Рак пищевода: руководство для онкологов и хирургов. (Киев). "Книга Плюс". 230 с.
4. Крахмальов П.С. (2004) Застосування радіомодифікаторів — сульфату міді та рекомбінантного а2β-інтерферону в комбінованому лікуванні хворих на рак стравоходу та шлунка з поширенням на стравохід. Автореф. дис... канд. мед. наук. (Київ). 18 с.
5. Jemal A., Murra T., Samuels A. et al. (2003) Cancer statistics. J. Clin. Oncol. 53: 5-26

6. Ries L.A.G., Eisner M.P., Kosary C. et al. (2002) SEER cancer statistics review, 1973-1999. [NEJM Esophageal Cancer Bethesda, National Cancer Institute]. http://seer.cancer.gov/csr/1973_1999/esoph.pdf
7. Ивашкин В.Т., Труханов А.С. (2000) Болезни пищевода. (Москва). "Триала-Х". 180 с.
8. Lee S.H. (2001) Significance of esophageal stenting in the palliation treatment of strictures. Brit. J. Radiology. 74: 891-900
9. Enzinger P.C., Mayer R.J. (2003) Esophageal Cancer. N. Engl. J. Med. Vol. 349; 23: 2241-2252
10. Былинский Б.Т., Лукавицкий Н.А. (2004) Проблемы хирургии рака кардиоэзофагальной зоны. Междунар. мед. журн. 1: 124-126
11. Галлигер Ю.И., Годжелло Э.А. (2001) Эндоскопические методы лечения при раке пищевода. Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 6: 75-78
12. Adam A., Morgan R., Ellul J., Mason R.C. (1998) A new design of the esophageal wallstent endoprosthesis resistant to distal migration. AJR. 170: 1477-1481

13. Gevers A.M., Macken E., Hiele M., Rutgeerts P.A. (1998) A comparison of laser therapy, plastic stents and expandable metal stents for palliation of malignant dysphagia in patients without a fistula. Gastrointest. Endosc. 48: 383-388
14. Wolf M., Zimper K. (1974) Die sorge für den Krebspatienten in der "genesendenfürsorge und in der praxis vom stadtputz des krankenhauses. Mittel. 75: 109-112
15. Wolf M., Ransberger K. (1972) Enzymetherapy. New-York Biol. Res. Inst. 232 p.
16. Ransberger K. (1992) Enzyme in der behandlung maligner tumore. (Jahrbuch). "Heilpraktiker". pp 65-77
17. Фанта И. (1994) История проблемы — системная энзимотерапия, исследования и клиническая практика. (Мюнхен-Прага). 84 с.
18. Wrbn H. (1992) Krebstherapie mit proteolytischen enzymen. In: kombinierte tumorthherapie. (Stuttgart). "Hippokrates". pp 248-263

КОЙЛОЦИТАРНА ДИСПЛАЗІЯ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКУ

Гомоляко І.В.

Національний Інститут хірургії та трансплантології ім. О.О.Шалімова НАМН України, Київ

Високий рівень захворюваності на рак шлунка робить проблему своєчасного виявлення передракових станів надзвичайно актуальною і важливою. До передракових станів слизової оболонки шлунку (СОШ) відносять декілька морфологічних феноменів, відомих як кишкова метаплазія (КМ) та дисплазія. Слід відзначити, що КМ і дисплазія можуть виявлятися за наявності ендоскопічно інтактної слизової оболонки.

Кишкова метаплазія розглядається як результат трансформації клітин шлункового епітелію, які мають секреторні властивості, в епітеліальні клітини, які мають абсорбційні властивості. Появу нової якості епітеліальних клітин пов'язують із змінами у функціонуванні стовбурових клітин внаслідок мутацій їх генома, що веде до суттєвих змін їх метаболізму [2,12]. На відміну від нормальної слизової оболонки кишки метаболізована СОШ є неоднорідною, мозаїчною щодо свого клітинного складу та біохімічних характеристик. Дослідження структури КМ, спектра ферментів та муцинів дозволили виділити три види кишкової метаплазії. [10,16]. Тонкокишкова метаплазія (повна, зріла, І тип КМ) нагадує за своєю структурою тонку кишку і є формою пристосованої перебудови. Епітелій продукує типові для тонкої кишки сіаломуцини, але ворсинки такої слизової відзначаються вагіабельністю довжиною та нерідко зовнішньої форми. Тонкокишкову метаплазію слід відрізнити від шлункової метаплазії (аденоматозна або поліпозна трансформація), яка спостерігається в гіперплазованих слизовій оболонці в умовах рефлексу або в прилеглих до виразки ділянках. Такі зміни СОШ є зворотним процесом, не розглядаються як передраковий стан і також є формою пристосовано-захисної перебудови.

Товстокишкова метаплазія (неповна, незріла) спостерігається у двох формах: товстокишкова метаплазія ІІ типу (гібридна, змішана, перехідна) та товстокишкова метаплазія ІІІ типу. Цей тип КМ характеризується нестабільністю клітинного генома, продукцією сульфомуцинів і саме він тісно пов'язаний з раком шлунку [5,6,11,16]. Водночас, товстокишкова метаплазія не є маркером прогнозу розвитку раку шлунку. Так, ІІ та ІІІ типи КМ можуть спостерігатися в ділянках СОШ, прилеглих до виразки шлунку, супроводжувати репаративний процес і зникати при відновленні СОШ. Маркером прогнозу розвитку раку шлунку є однією з найбільш ранніх ознак ракової перебудови є виявлення в епітелії нетипових для товстої кишки сіаломуцинів (інверсія слизоутворення) при ІІ та ІІІ типах кишкової метаплазії. Інверсія слизоутворення є відображенням трансформації слизоутворення в фетальний тип. Іншим важливим раннім критерієм виявлення малигнізації є виявлення в СОШ лактоферитину, який приймає участь в обміні заліза [16].

Другою формою передракового стану СОШ є дисплазія. Дисплазія характеризується наявністю неоплазованого епітелію, який залишається в межах епітеліального пласта. Загальними ознаками дисплазії є поліморфізм клітин і ядер за розмірами, формою та щільністю, гіперхромність ядер, збільшення ядерно-цитоплазматичного співвідношення, збільшення кількості мітозів та прогресуюча втрата подібності до нормальної тканини. Дисплазія є зворотним процесом, але в той же час розглядається як передраковий стан [9]. Дисплазія може спостерігатися на фоні КМ і на фоні незміненої СОШ.

Диференціальна діагностика тяжкої дисплазії і ранньої малигнізації має велике клінічне і біологічне значення. Однак, морфологічна діагностика шлункової епітеліальної дисплазії (ШЕД) є досить складною, оскільки зміни ядер епітеліальних клітин при дисплазії досить подібні до змін при регенераторних процесах та при гіперплазії, а також при карциномах *in situ*. Існує декілька підходів до оцінки ШЕД. В клінічній практиці більш уживаними є зручні і прості класифікації дисплазії з виділенням двох її ступенів — низького та високого [7] або трьох — слабкої, помірної та важкої дисплазії [3]. Консенсус з класифікації пухлин шлунково-кишкового тракту відомий як Віденська класифікація шлунково-кишкової епітеліальної неоплазії (1998) [6,14,15] представляє всі передракові стани і ракові захворювання як категорії єдиного патологічного процесу, як певний гістологічний континуум. За цією класифікацією категорія 1 визначає відсутність дисплазії/неоплазії; категорія 2 — невизначеність відносно неоплазії/дисплазії; категорія 3 — неінвазивна неоплазія низького ступеню (аденома/дисплазія низького ступеню); категорія 4 — неінвазивна неоплазія високого ступеню (категорія 4.1 — високий ступінь аденоми/дисплазії; категорія 4.2 — неінвазивний рак (карцинома *in situ*); категорія 4.3 — підозра на інвазивний рак); категорія 5 — інвазивна неоплазія (категорія 5.1 — внутрішньослизовий рак; категорія 5.2 — рак із розповсюдженням на підслизовий шар або глибше).

Послідовність розвитку диспластичних змін в СОШ, відображена в класифікації, дозволяє виявити найбільш складні для діагностики категорії. На етапі диференціальної діагностики змін СОШ 1 та 2 категорії виникають складності, обумовлені значною подібністю диспластичних і регенераторних та гіперпластичних змін. Останні супроводжуються появою таких ознак як збільшення розмірів та гіперхромності ядер, збільшення ядерно-цитоплазматичного відношення, помірний анізонуклеоз, втрата полярності клітин. Але при цьому зберігається архітекtonіка СОШ, а також є можливість уточнення природи ушкодження.

Найбільш складною для гістологічної діагностики є категорія 4. Розподіл неінвазивних передракових змін на високий ступінь аденоми/дисплазії та карциному *in situ* передбачає існування між ними відмінностей, які можливо диференціювати при гістологічному дослідженні. Але на практиці відмінності між високим ступенем аденоми/дисплазії (важкою дисплазією) та карциною *in situ* в СОШ дуже незначні. Зміни, які спостерігаються в епітелії за наявності цих двох процесів дуже близькі між собою, в обох випадках має місце проліферація аномальних клітин, які містять анеуплоїдну ядерну ДНК, збільшення ядерно-цитоплазматичного відношення, анізонуклеоз, втрата полярності клітин. Якщо дисплазія спостерігається на фоні КМ ІІ-ІІІ типів слід мати на увазі, що при слабких проявах дисплазії архітекtonіка передслизової слизової збережена або мають місце незначні порушення; порушення полярності, гіперхромності ядер, збільшення розмірів ядер помірно, кількість мітозів незначна. Характерною є наявність дистрофічних келиховидних клітин, в яких краплини слизу не мають сполучення з люмінальною поверхнею. У випадках важкої дисплазії на фоні КМ можна бачити тісне прилягання залоз, появу внутрішньозалозових епітеліальних містків, значну варіабельність ядер та порушення співвідношення між базальною мембраною та довгою віссю ядра. Знижується кількість келиховидних клітин та циліндричних епітеліальних клітин. Характерним є також збільшення кількості ядер і їх напластування.

Важливе значення для встановлення діагнозу карцинома *in situ* мають такі ознаки, як відсутність чітких границь епітеліальних клітин, тьмяність малюнку, збільшення кількості мітозів та поява атипичних мітозів. Неоплазія епітелію супроводжується значними порушеннями проліферативних процесів, які можуть бути виявлені за допомогою таких проліферативно-асоційованих антитіл як Ki-67 та PCNA [13]. В ряді не змінена слизова оболонка товстої кишки — легка дисплазія — помірна дисплазія — виражена дисплазія отримано достовірні відмінності в кількості і площі, а між вираженою дисплазією і високодиференційованою АДК — в індексі площі Ag-YOP-білків в ядрах клітин. Цей метод діагностики пропонується як об'єктивний для диференційної діагностики вираженої дисплазії та карциноми [2,3].

Весь перерахований діапазон ознак свідчить про відсутність на сьогоднішній день чітких морфологічних критеріїв, які б дозволили однозначно інтерпретувати та диференціювати передракові стани та карциному *in situ*. Тим більше, що високий ступінь аденоми/дисплазії (важка дисплазія), який розглядається як облігатний передраковий стан не завжди переходить в карциному *in situ*. Нерідко спостерігається або спонтанна регресія цих змін або їх регресія як результат лікування. Відсутність даних про природу дисплазії також є суттєвою завадою на шляху диференційної діагностики дисплазії та карциноми *in situ*.

Деякі перспективи щодо більш чіткої діагностики важкої дисплазії з'явилися у зв'язку з дослідженнями останніх років, які свідчать про роль вірусу папіломи людини (ВПЛ) в патогенезі рака. Найбільш дослідженими та систематизованими є дані про зв'язок з ВПЛ і раку шийки матки [1].

Продуктивна ВПЛ-інфекція гістологічно характеризується мультинуклеацією, проліферацією атипичних клітин та високим ядерно-цитоплазматичним відношенням, вагіабельністю розмірів ядра (анізонуклеозом). Однак, характерною особливістю ВПЛ уражені епітеліальні клітини є койлоцитоз. Койлоцитозом (койлоцитарною атипією) називають комбінацію аномалій ядра та характерну вакуолізацію цитоплазми епітеліоцитів у вигляді гало навколо ядра.

Дослідження СОШ з огляду на наявність койлоцитарної атипії показали, що за останні 7 років кількість випадків ураження СОШ типовим для ВПЛ-інфекції видом дисплазії збільшилась в 10 разів — від 2% до 20%. Характерними гістологічними ознаками поряд із койлоцитозом є наявність в СОШ "штампованих" залоз, різка мономорфічність клітин залозового епітелію та їх ядер. Клітини і ядра набувають характерної витягнутої форми, орієнтовані вертикально відносно базальної мембрани з типовою вакуолізацією цитоплазми навколо ядра. Завдяки характерній морфології за наявності даного виду дисплазії можливості диференційної діагностики дисплазії та карциноми *in situ* дещо більші, оскільки відмінності між ступенями дисплазії і раком є більш чіткими.

Співставлення результатів гістологічних досліджень гастробіопатій та СОШ після резекції шлунка виявило, що анованіти гістологічний континуум представлений у Віденській класифікації за наявності койлоцитарної дисплазії в біопатії простежується в слизовій оболонці оперованого шлунка. Як показали дослідження в межах невеликої ділянки СОШ, ураженої койлоцитарною дисплазією можуть спостерігатися всі послідовні стадії трансформації слизової оболонки до карциноми *in situ*. Це дає підставу вважати, що койлоцитарний вид дисплазії навіть за наявності неінвазивної неоплазії низького ступеню в гастробіопатії має привертати особливу увагу. Додільним є виділення койлоцитарної дисплазії в окремий вид дисплазії, який потребує тривалого спостереження та додаткових гістологічних досліджень та пошуку ефективних методів лікування.

Література

1. Данилова Н.В., Андреева Ю.Ю., Мальков П.Г. (2010) Предраковые изменения шейки матки: терминология и принципы дифференциальной диагностики. Архив патологии. 4: 12-16
2. Ивашкин В.Т., Мегро Ф., Лапина Т.Л. (1999) Helicobacter pylori: революция в гастроэнтерологии. (Москва). "Триала-Х". 255 с.
3. Лазарев А.Ф., Кобяков Д.С., Климачев В.В. и соавт. (2010) Аргирофильные белки районов ядрышковых организаторов в аденомах с различной степенью дисплазии и аденокарциноме толстой кишки. Арх. патол. 4: 16-20
4. Лазарев А.Ф., Кобяков Д.С., Климачев В.В. (2006) Количественный анализ аргирофильных белков районов ядрышковых организаторов в аденомах толстой кишки и морфологические критерии риска малигнизации. Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. 5: 31-37
5. Маев И.В., Заиратянц О.В., Кучерявый Ю.А. (2000) Кишечная метаплазия слизистой оболочки желудка в практике гастроэнтеролога: современный взгляд на проблему. Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. 4: 38-48
6. Мосийчук Л.Н., Зак М.Ю. (2010) Хронический гастрит: современный взгляд на проблему. Новости медицины и фармации. 21; 349: 12-15
7. Островский О.С., Мосийчук Л.М., Зак М.Ю., Гайдар Ю.А. (2009) Особенности морфологических та гистотопографических змін у слизовій оболонці шлунка у пацієнтів з хронічним атрофічним гастритом при хелікобактерній інфекції. Гастроентерологія. 42: 232-241
8. Ambros R.A., Kurman R.J. (1990) Current concepts in the relationship of human papillomavirus infection to the pathogenesis and classification of precancerous squamous lesions of the uterine cervix. Semin. Diagn. Pathol. 7: 3: 158-172
9. Correa P. (1992) Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process — first american cancer society award lecture on gastric epidemiology and prevention. Cancer. Res. 52: 6735-6740
10. Filipe I.M., Munoz N., Matko I. et al. (1994) Intestinal metaplasia types and the risk of gastric cancer: a cohort study in Slovenia. Int. J. Cancer. 57: 324-329
11. Genta R.M. (1995) Helicobacter pylori as a promoter of intestinal metaplasia and gastric cancer: an alluring hypothesis in search of evidence. Eur. J. Gastroenterol., Hepatol. 7: 1: 245-254
12. Rameil S. (2003) Barrett's esophagus: model of neoplastic progression. World J. Surgery. 27: 1009-1013
13. Ruge M., Correa P., Dixon M.F. (2000) Gastric dysplasia. The Padova international classification. Am. J. Surg. Pathol. 24: 2: 251-255
14. Schlemper R.J., Riddell R.H., Kato Y. (2000) The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia. Gut. 47: 251-255
15. Stemmermann G.N. (2007) Intestinal metaplasia of the stomach. A status report. Cancer. 74: 556-564
16. Torisu T., Matsumoto T., Takata Y. (2008) Atrophic gastritis, but not antibody to Helicobacter pylori, is associated with body mass index in a Japanese population. J. Gastroenterol. 43; 10: 762-766