

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
АЗЕРБАЙДЖАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

ШАЛАЛА ГАМИД кызы БАГИРОВА
КОЛЬПОСКОПИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ СТЕПЕНИ
ТЯЖЕСТИ ЦЕРВИКАЛЬНЫХ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ
НЕОПЛАЗИЙ

3215.01 – Акушерство и гинекология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
доктора философии по медицине

Баку – 2015

Работа выполнена на кафедре акушерства и гинекологии-2 и в Онкологическом центре Азербайджанского медицинского университета.

Научный руководитель:

заслуженный деятель науки,
доктор наук по медицине,
профессор

Н.М.ШАМСАДДИНСКАЯ

Официальные оппоненты:

доктор наук по медицине

И.Ш.МАГАЛОВ

доктор наук по медицине

О.М.ГУСЕЙНОВА

Ведущая организация: Азербайджанский государственный институт усовершенствования врачей им.А.Алиева, кафедра акушерства и гинекологии

Защита состоится «_25_____» _11_____ 2015 г. в _____ часов на заседании Диссертационного Совета D.03.011 при Азербайджанском медицинском университете

Адрес: AZ 1022, г. Баку, ул. Бакиханова, 23

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Азербайджанского медицинского университета

Автореферат разослан «_____» _____ 2015 г.

Ученый секретарь

Диссертационного Совета D.03.011,
доктор наук по медицине, профессор

Ш.Ф.ИБРАГИМЛИ

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Рак шейки матки является заболеванием, представляющим большую опасность для здоровья и жизни женщин и встречается в различных странах мира с неодинаковой частотой [Винокур М.Л., Никитина М.И., 2007]. Особенно высока его частота в странах Латинской Америки и Азии [Минкина Г.Н. и др., 2010]. В странах Европейского Союза число смертельных исходов от этого заболевания превышает число смертей от СПИДа и гепатита В. Рак шейки матки занимает второе место по распространенности злокачественных новообразований у женщин после рака молочной железы [Гинекология, под. ред. Х.Ф.Багировой, 2012].

В тоже время рак шейки матки является заболеванием, возникновение которого возможно предупредить путем выявления и лечения предраковых изменений. Длительность стадии предрака в виде эпителиальных дисплазий и преинвазивной карциномы колеблется в широких пределах, чаще она составляет несколько лет [Artman L.E. et al., 2005; Шамсаддинская Н.М., Багирова Л.Г., 2012]. Эпителиальные дисплазии и преинвазивная карцинома представляют собой изменения многослойного плоского эпителия шейки матки с различной биологической потенцией [Аполихина И.А., 2006; Кулакова В.И. и др., 2009].

Этиологическими факторами возникновения и развития эпителиальных дисплазий являются: раннее начало половой жизни, наличие большого числа половых партнеров, роды в очень молодом возрасте [Baylin S.B., 2008; Anderson M.C., 2011].

Кольпоскопия (КС) является одним из ведущих методов обследования больных с патологией шейки матки, основная сущность которого состоит в осмотре и ревизии состояния эпителия шейки матки и влагалища при увеличении микроскопом в 7-28 и более раз [Василевская Л.Н., 2006; Бауэр Г., 2008]. Расширенная кольпоскопия (РКС) является одним из наиболее распространенных, доступных и недорогих методов обследования шейки матки и влагалища, в основе которого лежит кольпоскопическая оценка различной реакции нормальных и патологически измененных тканей в ответ на обработку определенными медикаментозными составами [Britton L., 2008; Bigrigg M.A. et al., 2009]. РКС позволяет выявить и конкретизировать изменения эпителиального покрова шейки матки, трактовка которых при визуальном наблюдении затруднена, либо совсем невозможна [Anderson M.C., 2002].

Возможность применения методов количественной цитометрии в биологических и медицинских исследованиях очень широка. Эти методы включают множество задач, начиная от поиска наиболее информативных

морфометрических и цитоспектрофотометрических критериев кинетики ДНК в клеточном цикле и кончая многопараметрическим изучением гетерогенных популяций исследуемых объектов [Barlogie V., 2005; Бычкова Н.В. и др., 2006; Мурадов Х.К. и др., 2007]. Настоящая работа посвящена применению проточной цитометрии для оценки параметров клеточного цикла при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях (CIN) шейки матки.

Проточная цитометрия является современным методом определения поверхностных и внутриклеточных маркеров [Dean P.N. et al., 2005; Griffin N.R. et al., 2005]. Достижения в разработке проточно-цитометрического оборудования и компьютеризованных методов обработки данных позволили создать новое поколение проточных цитометров, широко применяемых в клинической лабораторной практике [Zanetta G.M. et al., 2009]. В данной работе представлены основные принципы и диагностические возможности метода проточной цитометрии при CIN шейки матки. Поэтому исследование, посвященное использованию метода проточной цитометрии для дифференциальной диагностики CIN представляется своевременным и актуальным.

Целью настоящего исследования явилось изучение клинико-морфологических, кольпоскопических и проточно-цитометрических особенностей цервикальных интраэпителиальных неоплазий шейки матки, имеющих значение при дифференциальной диагностике и прогнозировании течения заболевания.

Задачи исследования:

1. Оценить роль клинического и морфологического методов исследования для диагностики цервикальных интраэпителиальных неоплазий шейки матки.
2. Оценить роль кольпоскопического метода исследования для диагностики степени тяжести цервикальных интраэпителиальных неоплазий шейки матки.
3. Определить проточно-цитометрические показатели и выяснить возможность использования данного метода для ранней и дифференциальной диагностики степеней тяжести цервикальных интраэпителиальных неоплазий шейки матки.
4. Оценить возможность использования метода проточной цитометрии в качестве фактора прогноза при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях шейки матки различной степени тяжести.

Научная новизна. В результате данной работы разработаны рациональные клинические подходы к комбинированному лечению цервикальных интраэпителиальных неоплазий шейки матки.

Установлена прогностическая значимость метода проточной цитометрии для ранней и дифференциальной диагностики различных степеней тяжести цервикальных интраэпителиальных неоплазий шейки матки, что позволило предложить новые возможности в оценке эффективности и прогноза лечения данной категории больных.

На значительном материале проанализированы результаты кольпоскопического метода в диагностике цервикальных интраэпителиальных неоплазий шейки матки и их влияние на дальнейшее лечение цервикальных интраэпителиальных неоплазий шейки матки различной степени тяжести.

Установлено, что индекс ДНК (иДНК) и индекс пролиферации (ИП) являются независимыми факторами прогноза цервикальных интраэпителиальных неоплазий шейки матки.

Практическая значимость. На основании проведенных исследований установлена высокая частота выявления цервикальных интраэпителиальных неоплазий II-III степени. Это делает актуальным вопрос о необходимости привлечения внимания практических врачей к проблеме предрака шейки матки с целью его раннего выявления и адекватного лечения, что, в свою очередь, будет способствовать снижению заболеваемости раком шейки матки и улучшению отдаленных результатов лечения.

Обоснована необходимость внедрения в практическое здравоохранение методов кольпоскопии и проточной цитометрии с целью раннего выявления предраковых состояний, что обеспечит более надежную диагностику различных степеней тяжести CIN шейки матки.

Результаты данного исследования позволили рекомендовать использование методов кольпоскопии и проточной цитометрии в качестве дополнительных методов для дифференциальной диагностики патологических состояний шейки матки, исходящих из многослойного плоского эпителия, а также для определения индивидуального прогноза у больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями шейки матки различной степени тяжести. Изученные параметры: плоидность, иДНК, содержание анеуплоидных клеток, распределение клеток по фазам клеточного цикла и ИП клеток – являются критериями, которые позволяют судить о биологическом поведении эпителия шейки матки, что имеет большое значение для выбора тактики ведения больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями шейки матки.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- Для пациенток с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями I и II степени характерен более молодой возраст, а для больных с CIN III степени – более взрослый возраст.
- Кольпоскопически цервикальные интраэпителиальные неоплазии

I, II и III степени имеют различные морфологические картины, характерные для каждой степени тяжести CIN.

- По проточно-цитометрическим параметрам цервикальные интраэпителиальные неоплазии I и II степени относятся к диплоидным новообразованиям, а цервикальные интраэпителиальные неоплазии III степени – к анеуплоидным новообразованиям.
- Проточная цитофлуориметрия является высокоинформативным, автоматизированным цитологическим методом для ранней и дифференциальной диагностики, прогноза, а также мониторинга в процессе лечения больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями шейки матки.

Апробация диссертационного материала. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на совместном заседании кафедр акушерства и гинекологии-2, онкологии, гистологии, эмбриологии и цитологии (10.03.2015), на научном семинаре Апробационной комиссии при Диссертационном Совете D.03.011 (02.06.2015); на IV Национальном конгрессе Азербайджана по аллергологии, иммунологии и иммунореабилитации (Баку, 2012), на VII съезде онкологов и радиологов стран СНГ (Астана, 2012).

Внедрение результатов исследования. Результаты исследования внедрены в клиническую практику Онкологической клиники АМУ и Национального Онкологического Центра Азербайджана, применяются в виде лекционного материала и практических рекомендаций на кафедрах гистологии, гистологии, эмбриологии и цитологии, акушерства и гинекологии, онкологии АМУ.

Публикации. Результаты исследования изложены в 7-и научных работах (5 статей, 2 тезиса).

Структура и объем диссертации. Диссертация представлена в традиционном виде на 130 страницах, состоит из 5 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций. Список литературы состоит из 121 источника (8 – на азербайджанском, 42 – на русском и 71 – на других иностранных языках). Диссертация иллюстрирована 5 таблицами и 18 рисунками.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Согласно цели и задачам диссертации, был осуществлен рандомизированный отбор и последующее исследование контингента больных, при этом строго руководствовались общепринятыми способами и принципами формирования аналогичных контингентов, изложенными в ряде работ.

Всего были обобщены и проанализированы данные 640 больных с патологией шейки матки, лечившихся и находившихся под наблюдением в

Онкологической клинике АМУ с 2007 по 2012 годы. Распределение больных по годам выглядело следующим образом: 2007 г – 106 (16,6%), 2008 г – 100 (15,6%), 2009 г – 98 (15,3%), 2010 г – 108 (16,8%), 2011 г – 116 (18,1%), 2012 г – 112 (17,5% от общего числа контингента). CIN различной степени определена у 143 (22,34%) обследованных. Возраст больных с CIN варьировал от 21 года до 70-и лет. По степени CIN и конкретным возрастным диапазонам они были распределены в следующем виде:

CIN I степени (60 больных): 21-25 лет – 8 (13,3 %), 26-30 лет – 7 (11,6 %), 31-35 лет – 11 (18,3%), 36-40 лет – 13 (21,6%), 41-45 лет – 10 (16,6%), 46-50 лет – 2 (3,3%), 51-55 лет – 3 (5%), 56-60 лет – 3 (5%), 61-65 лет – 2 (3,3%), 66-70 лет – 1 (1,6 % от общего числа).

CIN II степени (50 больных): 26-30 лет – 2 (4%), 31-35 лет – 6 (12%), 36-40 лет – 16 (32%), 41-45 лет – 9 (18 %), 46-50 лет – 9 (18%), 51-55 лет – 5 (10%), 56-60 лет – 1 (2%), 61-65 лет – 2 (4% от общего числа).

CIN III степени (33 больных): 26-30 лет – 4 (12,1%), 31-35 лет – 2 (6%), 36-40 лет – 7 (21,2 %), 41-45 лет – 10 (30,3%), 46-50 лет – 8 (24,2%), 51-55 лет – 1 (3%), 56-60 лет – 1 (3% от общего числа).

Обследованию каждой больной предшествовали тщательная регистрация всех жалоб, а также сбор жизненного и гинекологического анамнезов (143 больных; 100,0%). Далее, практически во всех случаях производился влагалищный осмотр, в части наблюдений брались вагинальные мазки (143; 100%) и производилась прицельная биопсия шейки матки (143; 100%). Наряду с общеклиническим обследованием основных органов и систем, осуществлялся общий (143; 100,0%) и биохимический (143; 100%) анализ крови и мочи. По необходимости выполнялись рентгенологические (71; 49,6%), ультразвуковые (80; 55,9%) и кольпоскопические исследования (143; 100%), 3-м больным с тяжелой CIN (2%) была выполнена компьютерная томография и еще 2-м больным с тяжелой CIN (1,4%) – магнитно-резонансная томография.

При диагностике патологических состояний шейки матки использовались такие методы, как осмотр шейки матки с помощью влагалищных зеркал, различные виды кольпоскопии (простая, расширенная, хромокольпоскопия, флюоресцентная, кольпомикроскопия, цервикоскопия), цитологические методы исследования.

Одно из важных мест в диагностике гинекологических заболеваний занимает цитологический метод исследования. Благодаря высокой точности, этот метод считается одним из ведущих методов исследования при диагностике фоновых, предраковых и раковых процессов различной локализации. Совпадение цитологических заключений с результатами морфологических исследований влагалищной части шейки матки отмечается в

79,2-93,4% случаев.

Мазки для цитологического исследования следующими методами окрасивания: окраска по Романовскому-Гимзе; по Грамму; гематоксилином-эозином. При выполнении этих методик мазки предварительно были зафиксированы, по возможности, 10,0% раствором метанола в 0,2 М фосфатном буфере с pH-7,4. Селективные цитохимические методы окрасивания состояли из инкубации мазков в 0,05% забуференном растворе тионина; инкубации мазков в 1,0 % растворе альцианового синего при pH-5,5.

У женщин со здоровой шейкой матки материал получают с трех участков: с поверхности влажной части шейки, с участка на границе многослойного плоского эпителия со слизистой оболочкой цервикального канала и из нижней трети эндоцервикса [Хмельницкий О.К., 2005; Asamura H., 2009].

Для правильной интерпретации патологических изменений важное диагностическое значение имеет знание цитоморфологических особенностей нормальной слизистой оболочки шейки матки. Наиболее правильным и общепринятым является цитологическое описание по Папаниколу (PAP – smear test).

CIN является самой частой формой морфологического предрака шейки матки. В зависимости от атипичности клеток различают слабую, умеренную и выраженную степени CIN. Если цитологическая диагностика CIN не представляет трудностей, дифференциальная диагностика выраженной дисплазии и рака *in situ* нередко вызывает затруднение [Benedt J., 2008; Шабалова И.П., 2010].

В связи с этим, для диагностики патологических состояний шейки матки также использовались гистохимические реакции для изучения функциональной морфологии эпителиальных клеток шейки матки, люминесцентную микроскопию, которая основана на тропности акридинового оранжевого к клеточным ДНК и РНК и гистологический метод исследования, диагностическая ценность которого неоспорима. Для получения более полноценного заключения гистолога прицельную биопсию следует проводить с иссечением небольшого участка макроскопически неизменной ткани. С учетом специфики исследования, нами был применён комплекс светооптических и гистохимических методов анализа материала. Исследовались вагинальные мазки и фрагменты из диагностических выскабливаний матки. В обязательном порядке производилось патогистологическое исследование операционного и биопсийного материалов.

Кусочки тканей, предназначенные для светооптического анализа, фиксировались в 10% растворе кислого формалина, жидкости Буэна, обезживались в спиртах восходящей концентрации и заключались в парафин.

При работе с архивными материалами отбирались лишь те из них, которые находились либо в растворе формалина («сырой запас»), либо же – в парафиновых блоках. Микротомные срезы толщиной 5,0-7,0 мкм окрашивались гематоксилином-эозином, пикрофуксиновой смесью по ван Гизону, а в отдельных случаях – 0,05% забуференным раствором тионина и гематоксилином-флюорэсцином (уранином). Готовые микропрепараты микроскопировались и фотографировались в стандартных, сопоставимых условиях.

Перечисленные выше методы гистологического и гистохимического исследований технически не сложны, многократно апробированы.

Метод проточной цитометрии. В основе метода проточной цитометрии лежит измерение оптических свойств клеток. Современные проточные цитофлюориметры позволяют одновременно измерять несколько (до восьми) параметров: рассеяние света на малые углы (до 10°), которое еще называют прямым светорассеянием (forward scattering или FSC); рассеяние света на угол 90°, т.н. боковое светорассеяние (side scattering или SSC); интенсивность флюоресценции на разных длинах волн. Параметры светорассеяния позволяют проводить разделение клеток по размерам, форме, состоянию клеточной мембраны и характеристикам цитоплазмы.

Изучение распределения содержания ДНК по плоидности и пролиферативной активности методом проточной цитометрии было проведено у 110-и (16,9%) больных из 3143 пациентов. Клеточная суспензия для проточной цитометрии изготавливалась как из свежего материала (60 случаев; 54,5%), так и материалов из парафиновых блоков (50 случаев; 45,5%).

Сигналы оптических детекторов преобразовывались на экране дисплея и записывались в виде ДНК-гистограмм. Если на ДНК-гистограмме присутствовал один пик, соответствующий диплоидному содержанию ДНК в ядрах, опухоль считалась диплоидной. Если ДНК-гистограмма содержала наряду с диплоидным или без него один пик, отличающихся от диплоидных по содержанию ДНК ядер, то такой материал считали анеуплоидным. Наличие двух или более разделённых пиков анеуплоидных ядер позволяло говорить о многоклоновой популяции.

Методы статистической обработки. Все цифровые данные, полученные в ходе экспериментов, подверглись статистической обработке с учётом современных требований. Полученные данные подвергнуты статистической обработке непараметрическими методами по Уилкоксоу-Манн-Уитни. Для качественного анализа использовался χ^2 -критерий (критерий согласия Пирсона). Для определения степени сопряжённости между качественными признаками с числами вариант, большими двух, использован коэффициент взаимной сопряженности (полихорический показатель свя-

зи).

Все вычисления проводились с помощью электронной таблицы EXCEL-97 и результаты обобщались в таблицах и диаграммах.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что шейка матки имеет свои клинические и морфофункциональные особенности в различные возрастные периоды жизни женщины, которые, как показывает наш опыт, предрасполагают к определенной топографо-анатомической локализации патологических процессов на ней [Кравец Б.Б., 2007]. В ходе данного исследования выявлено, что у девочек чаще встречаются вульвовагиниты, у женщин репродуктивного возраста – эндоцервициты, воспалительно-пролиферативные процессы слизистой экзоцервикса, характерна локализация рака на экзоцервиксе. Для женщин, находящихся в постменопаузе, специфичны дегенеративно-дистрофические процессы экзоцервикса, характерна локализация рака в цервикальном канале.

Как было сказано выше, кольпоскопия является одним из ведущих методов обследования больных с патологией шейки матки, основная сущность которого состоит в осмотре и ревизии состояния эпителия шейки матки и влагалища при увеличении микроскопом в 7-28 и более раз.

При кольпоскопическом исследовании нами изучены следующие параметры: цвет; состояние сосудистого рисунка; поверхность и уровень МПЭ; стык эпителиев (локализация и характер); наличие и форма желез; реакция на раствор уксуса; реакция на раствор Люголя; границы образований (четкие или размытые); тип эпителия.

Установлено что, цвет эпителия зависит от толщины, оптической плотности, состояния стромы. При CIN картину ороговения определяет постепенная перестройка эпителиальных клеток с дезинтеграцией ядра и внутриклеточных органоидов, завершающаяся образованием роговых чешуек, в которых отсутствует гликоген. Зоны ороговения обычно более светлые по сравнению с нормальными тканями. Воспалительный процесс в строме, инфильтрация и расширение сосудов в определенной мере также влияют на цвет эпителия.

Кольпоскопически в сосудистой сети отмечается наличие разнокалиберных, но с плавной градацией ветвящихся сосудов, длинных, анастомозирующих друг с другом в виде щеток, метелок, кустиков. Атипическими считали сосуды короткие, в форме непонятных образований (шпильки, штопор, запятая) разной толщины с резкой градацией.

При оценки состояния желез установлено, что вокруг отверстия желез при CIN образуется ободок (ороговевая железа). Так, узкое или ши-

рокое плоское кольцо беловатого цвета вокруг устья железы с нечеткими контурами, как правило, имеет доброкачественный характер. При морфологическом исследовании широкого ободка с явлениями ороговения вокруг выводного протока, возвышающегося над поверхностью ткани, чаще находят признаки эпителиальной CIN I степени.

Проба с уксусной кислотой 3%-ным, либо 0,5%-ным раствором салициловой кислоты основана на том, что в результате ее действия происходит кратковременный отек эпителия, набухание клеток, сокращение подэпителиальных сосудов, анемизация тканей, проявляющиеся кольпоскопически в виде изменения цвета. Четкие контуры белого эпителия, интенсивность цвета и способность длительно сохранять бело-серый цвет свидетельствуют о возможной атипии (CIN III степени).

При кольпоскопии – множественные красноватые точки на определенном участке эпителия. Если точки мелкие, равномерно расположенные, одинаковые (нежная пунктация), то, как правило, эта картина соответствует легкой степени повреждения (CIN I), в то время как рельефные, крупные, нерегулярные, четко проявляющиеся после обработке уксусом точки – выраженной степени (грубая пунктация) (CIN II-III).

Мы предлагаем считать, что наличие типичной зоны трансформации (20 больных; 14%), как основного компонента, и следующих признаков: атипических сосудов (72 больных; 50%), ороговевших желез (48 больных; 33,5%), белого эпителия (143 больных; 100%), мозаики (32 больных; 22,37%) свидетельствуют о том, что эпителий становится атипичным. В связи с этим, мы согласны с существующей концепцией, что CIN всегда развивается в атипической зоне трансформации (143 больных; 100%) в процессе метаплазии.

Таким образом, в наших исследованиях кольпоскопически CIN I (60 больных; 42%) выражается слегка выпуклыми точками и неравномерными мозаичными структурами, а также воспалительной переходной зоной в области передней губы. Средняя тяжесть CIN II (50 больных; 35%) выражается нерегулярной мозаикой, грубыми изменениями над уровнем слизистой оболочки и в области задней губы маточного зева. При CIN III (33 больных; 23%) видны обширные участки с интенсивной уксусно-белой окраской и нерегулярными точками, а также грубая пунктация, крупные отверстия желез, похожие на дырки с красным основанием, расширение межкапиллярной дистанции на 4 ч условного циферблата (рис.1).

Как известно, проточная цитометрия является современным методом определения поверхностных и внутриклеточных маркеров. В настоящей работе представлены основные принципы и возможности использования



Рис. 1. Кольпоскопия CIN III

данного метода в дифференциальной диагностике различных степеней CIN шейки матки.

Проточная цитометрия имеет целый ряд преимуществ над другими методами флюоресцентных измерений: объективность; высокая чувствительность (новые приборы могут определять более чем 1000 флюорохромных молекул на клетку); высокая скорость, позволяющая анализировать гораздо большие клеточные объемы (100000 событий в минуту); способность определять редкие клетки со специфическими характеристиками в гетерогенной популяции; способность к изучению жизнеспособных нефиксированных клеток; возможность выполнения сложных одновременных измерений нескольких параметров каждой индивидуальной клетки в суспензии.

Таким образом, как проточная цитометрия позволяет исследовать многие важные параметры клеточного цикла.

По нашему мнению, также одним из наиболее точных критериев темпа роста и степени злокачественности опухоли является величина митотической активности. Мы предлагаем использовать величину митотической активности в качестве диагностического теста малигнизации многослойного плоского эпителия. В нашей клинике были проведены исследования митотической активности в клетках покровного эпителия влагалищной части шейки матки в норме и при различной степени CIN шейки матки. При этом оказалось, что митотическая активность в клетках покровного эпителия влагалищной части шейки матки здоровых женщин была срав-

нительно невысокой – индекс равнялся $0,05 \pm 0,01\%$. По мере нарастания тяжести морфологических изменений в клетках эпителиального пласта митотическая активность увеличивается. Так, при легкой эпителиальной CIN она составляет $0,22 \pm 0,03\%$, при тяжелой CIN – $0,4 \pm 0,02\%$.

Проточно-цитометрическое исследование эпителиальных элементов шейки матки при CIN I степени проведено нами у 38 больных (34,54%).

В каждом наблюдении преобладают клетки с диплоидным содержанием ДНК. При проточно-цитометрическом исследовании содержания ДНК в клетках шейки матки при CIN I степени, во всех образцах выявлено диплоидное распределение ДНК: на ДНК-гистограмме отмечался один пик ($G_0/1$) в области флуоресценции лимфоцитов человека (91,9%). Число пролиферирующих клеток было невелико и составило в S-фазе 3,7%, G_2+M фазе 5,6%. Индекс пролиферации соответствовал 8,4, а индекс ДНК был равен 1,0. Анеуплоидных клеток при проточно-цитометрическом исследовании CIN I степени не обнаружено (таблица)

Таблица

Проточно-цитометрические параметры при CIN I-III степени
(M и пределы колебания)

$C_0/1$	S-фаза	G_2+M	$> 4c$	ИП	иДНК	Ан
CIN I						
90,5 (85-92)	3,7 (3,8-4,4)	5,6 (4,9- 6,9)	0,2 (0,1-0,6)	8,4 (8,1-9,8)	1,0 (0,9-1,01)	-
CIN II						
88,6 (85-91)	4,6 (3,8-5,1)	5,5 (4,8-6)	1,3 (0,9-1,6)	9,6 (8,7-11,1)	1,2 (0,7-1,3)	-
CIN III						
82,7 (80-83)	6,9 (6,1-7,5)	9 (8,8-10,4)	1,4 (0,9-1,7)	15,2 (14,2-17,1)	1,4 (0,9-1,6)	1

Таким образом, по данным проточно-цитометрического анализа эпителиальных клеток шейки матки при CIN I степени в клеточной популяции преобладают клетки с диплоидным содержанием ДНК, отсутствуют полиплоидные и анеуплоидные клетки.

Проточно-цитометрическое исследование эпителиальных элементов шейки матки при CIN II степени проведено нами у 42 больных (38,1%).

В каждом наблюдении преобладают клетки с триплоидным и тетраплоидным содержанием ДНК. При проточно-цитометрическом исследовании содержания ДНК в клетках шейки матки при CIN II степени во всех образцах выявлено три- и тетраплоидное распределение ДНК. Число пролиферирующих клеток составило в S-фазе 4,6%, G_2+M фазе 5,5%. Индекс

пролиферации соответствовал 9,6, а индекс ДНК был равен 1,2. Анеуплоидных клеток при проточно-цитометрическом исследовании CIN II степени не обнаружено (таблица).

Таким образом, по данным проточно-цитометрического анализа эпителиальных клеток шейки матки при CIN II степени в клеточной популяции преобладают клетки с три- и тетраплоидным содержанием ДНК, присутствуют единичные полиплоидные клетки. Анеуплоидных клеток при проточно-цитометрическом исследовании CIN II степени не обнаружено.

Проточно-цитометрическое исследование эпителиальных элементов шейки матки при CIN III степени проведено нами у 30 больных (27,27%) (рис.2).

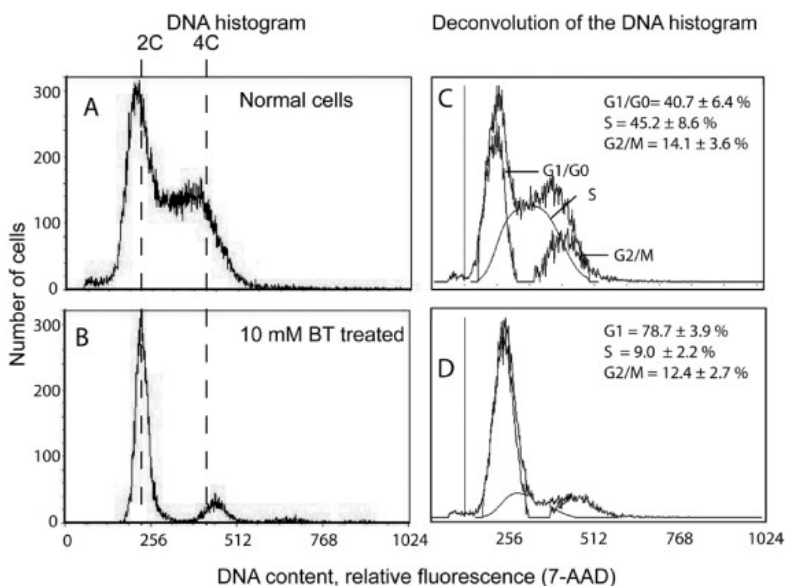


Рис. 2. Проточно-цитометрические параметры при CIN III степени

В каждом наблюдении преобладают клетки с тетраплоидным, пяти- и шестиплоидным содержанием ДНК. При проточно-цитометрическом исследовании содержания ДНК в клетках шейки матки при CIN III степени во всех образцах выявлено тетраплоидное, пяти и шестиплоидное распределение ДНК. Число пролиферирующих клеток составило в S-фазе 6,9%, G₂+M фазе 9%. Индекс пролиферации соответствовал 15,2, а индекс ДНК был равен 1,4. Среди исследованных клеток около 1% содержали анеуплоидные клетки.

Таким образом, по данным проточно-цитометрического анализа эпителиальных клеток шейки матки при CIN III степени в клеточной популяции преобладают клетки с тетраплоидным, пяти и шестиплоидным содержанием ДНК, присутствуют многочисленные полиплоидные клетки, а также анеуплоидные элементы. С помощью проточно-цитометрического исследования и с помощью гистограмм, при строгом цитологическом контроле, нами выделено группы больных с диплоидными и анеуплоидными новообразованиями. Учитывая показатели ИДНК, мы смогли охарактеризовать степень полиплоидии и анеуплоидии при CIN шейки матки различной степени. Подтип гистограммы дал возможность при каждом ее типе учитывать число анеуплоидных клеток и их пролиферативную активность.

В целом можно сделать вывод о перспективности данного направления в онкологии и гинекологии, дающего возможность широкого применения совместных методов кольпоскопии и количественной микроскопии в научных исследованиях и клинической практике.

Как было сказано выше, рак шейки матки является заболеванием, представляющим большую опасность для здоровья и жизни женщин. Клинические проявления предраковой стадии в виде эпителиальных дисплазий не являются патогномоничными. По нашим данным, почти у половины больных эпителиальными дисплазиями отсутствовали выраженные признаки поражения шейки матки, имеющаяся симптоматика была обусловлена сопутствующими гинекологическими заболеваниями.

После установления диагноза путем оценки характера морфологических изменений, нами намечался план лечебных мероприятий. Вид терапии определяется индивидуально в зависимости от вида патологии и возраста больных, поскольку у молодых больных патологический процесс поражает преимущественно экзоцервикс, а в пожилом возрасте – цервикальный канал. Больные, у которых при обследовании выявлена легкая CIN, могут быть подвергнуты динамическому наблюдению с проведением консервативного лечения. При отсутствии регрессии патологических изменений в течение нескольких месяцев пациенткам приходилось произвести вмешательство типа диатермокоагуляции, криодеструкции или лазерного выпаривания патологически измененных участков шейки матки.

Важную роль в лечении больных CIN играет удаление шейки матки с помощью хирургического скальпеля (ножевая конизация, ампутация). Подобно диатермо- и лазерной конизации, этот метод является одновременно и диагностическим и лечебным воздействием. Преимуществом удаления шейки путем использования хирургического скальпеля является отсутствие повреждения тканей в виде обугливания краев конуса, что

иногда делает затруднительной оценку характера поражения. В послеоперационном периоде после удаления шейки матки возможно возникновение кровотечения из ее культи.

При умеренно выраженной CIN шейки матки (CINII) у больных в возрасте до 40 лет может быть проведена диатермокоагуляция, криодеструкция, лазерное выпаривание патологически измененных участков шейки матки. Пациентки с деформацией шейки матки в возрасте старше 40 лет подверглись ножевой ампутации, диатермо- или лазерной конизации шейки матки с обязательным исследованием ступенчатых срезов удаленной части органа. При наличии сопутствующей гинекологической патологии в виде миомы матки, изменений в области придатков объем вмешательства может быть увеличен до полного удаления матки. При тяжелой CIN шейки матки (CIN III) требуется безотлагательное проведение лечебных мероприятий. При этом недопустима выжидательная тактика с повторным цитологическим исследованием мазков.

Женщины, подвергшиеся лечению по поводу CIN шейки матки, находились под диспансерным наблюдением акушеров-гинекологов общей врачебной сети. После успешно проведенных лечебных мероприятий, этим женщинам проводились регулярный контроль с осмотром шейки матки в зеркалах, кольпоскопия, цитологическое исследование. При наличии простой CIN такой осмотр проводилось 1 раз в 6 месяцев, а при CIN средней и тяжелой степени – один раз в квартал.

Таким образом, обобщая все вышесказанное, можно утверждать, что диагностический скрининг в различные периоды жизни женщины обеспечивает выбор своевременного и наиболее эффективного метода лечения шейки матки и, в конечном итоге, полноценную реабилитацию женщины, что способствует снижению риска развития рака шейки матки.

ВЫВОДЫ

1. Для пациенток с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями I и II степени характерен молодой возраст 21-40 лет – 57,27% (от общего числа больных), а для больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями III степени характерен взрослый возраст – 41-70 лет – 60,6% (от общего числа больных). Морфологические методы исследования способствуют улучшению дифференциальной диагностики патологических состояний шейки матки, исходящих из многослойного плоского эпителия, а также для определения индивидуального прогноза у больных с CIN.

2. Кольпоскопически цервикальные интраэпителиальные неоплазии I степени (38 больных; 34,54%) выражаются слегка выпуклыми точками и неравномерными мозаичными структурами, а также воспалительной переходной зоной в области передней губы; цервикальные интраэпителиальные неоплазии II степени (42 больных; 38,1%) выражаются нерегулярной мозаикой, грубыми изменениями над уровнем слизистой оболочки и в области задней губы маточного зева. При цервикальных интраэпителиальных неоплазиях III степени (30 больных; 27,27%) видны обширные участки с интенсивной уксусно-белой окраской и нерегулярными точками, а также грубая пунктация, крупные отверстия желез, похожие на дырки с красным основанием, расширение межкапиллярной дистанции на 4 ч условного циферблата.
3. Цервикальные интраэпителиальные неоплазии I и II степени относятся к диплоидным новообразованиям ($p < 0,05$), так как выявлено высокое количество клеточных элементов в G0 фазе (соответственно 90,5 и 88,6), а анеуплоидные клетки не обнаруживаются.
4. Цервикальные интраэпителиальные неоплазии III степени по проточно-цитометрическим параметрам относятся к анеуплоидным новообразованиям ($p < 0,05$), так как выявлено высокое количество клеточных элементов в S и G2+M фазе (соответственно 4,6 и 6,9, 5,5 и 5,6), а также обнаружены единичные анеуплоидные клетки.
5. Проточная цитофлуориметрия является высокоинформативным, автоматизированным цитологическим методом, который может быть использован многократно в качестве ранней и дифференциальной диагностики, прогноза, а также мониторинга в процессе лечения больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями шейки матки.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. На основании проведенных исследований установлена высокая частота выявления цервикальных интраэпителиальных неоплазий II-III степени. Это делает актуальным вопрос о необходимости привлечения внимания практических врачей к проблеме предрака шейки матки с целью его раннего выявления и адекватного лечения, что, в свою очередь, будет способствовать снижению заболеваемости раком шейки матки и улучшению отдаленных результатов лечения.

2. Обоснована необходимость внедрения в практическое здравоохранение методов кольпоскопии и проточной цитометрии с целью раннего выявления предраковых состояний и обеспечит более надежную диагностику цервикальных интраэпителиальных неоплазий шейки матки различной степени тяжести.
3. Результаты данного исследования позволили рекомендовать использование методов кольпоскопии и проточной цитометрии в качестве дополнительных методов дифференциальной диагностики патологических состояний шейки матки, исходящих из многослойного плоского эпителия, а также для определения индивидуального прогноза у больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями шейки матки различной степени тяжести. Изученные параметры – плоидность, иДНК, содержание анеуплоидных клеток, распределение клеток по фазам клеточного цикла и ИП клеток – являются критериями, которые позволяют судить о биологическом поведении эпителия шейки матки, что имеет большое значение для выбора тактики ведения больных с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями шейки матки.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кольпоцитологические исследования при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях // Sağlamlıq, 2012, №3, s. 40-44 (соавт.: Х.К.Мурадов).
2. Кольпоцитологические исследования при цервицитах / MDB ölkələri Onkoloq və radioloqlarının VII qurultayı, Astana, 5-7 sentyabr 2012, s.42 (соавт.: Х.К.Мурадов).
3. Кольпоцитологические исследования при дисплазиях I степени / Allerqologiya, immunologiya və immunoreabilitasiya üzrə IV Azərbaycan Milli Konqresi, Bakı, 19-20 oktyabr 2012, s.47-48 (соавт.: Х.К.Мурадов).
4. Некоторые закономерности механизма дисплазии шейки матки // Sağlamlıq, 2013, №1, s. 179-181 (соавт.: Н.М.Шамсаддинская, Х.К.Мурадов).
5. Оценка кольпоскопических исследований при фоновых заболеваниях шейки матки // Azərbaycan Onkologiya və Hematologiya Jurnalı, 2013, №2, 96-100 (соавт.: Н.М.Шамсаддинская, Х.К.Мурадов).
6. Лечение дисплазий шейки матки // Azərbaycan Tibb Jurnalı, 2015, №1, s.83-87 (соавт.: Н.М.Шамсаддинская, Х.К.Мурадов).
7. Проточно-цитометрические исследования дисплазий шейки матки // Вестник Российской Военно-Медицинской Академии, 2015, №2, с.53-55 (соавт.: Н.М.Шамсаддинская, Х.К.Мурадов).

ŞƏLALƏ HƏMİD qızı BAĞIROVA

SERVİKAL İNTRAEPİTELİAL NEOPLAZİYALARIN AĞIRLIQ DƏRƏCƏSİNİN PROQNOZLAŞDIRILMASI ÜÇÜN KOLPOSKOPİK VƏ MORFOLOJİ TƏDQIQATLAR XÜLASƏ

Hazırkı tədqiqatın məqsədi servikal intraepitelial neoplaziyaların (CIN) diferensial diaqnostikasında və gedişində əhəmiyyət kəsb edən klinik-morfoloji, kolposkopik və axar-sitometrik xüsusiyyətlərin öyrənilməsi olmuşdur.

2007-2012-ci illər ərzində ATU-nun Onkoloji Klinikasında müalicə almış və müşahidə altında olmuş, uşaqlıq boynu patologiyaları olan cəmi 640 xəstənin məlumatları ümumiləşdirilmiş və təhlil edilmişdir. CIN olan xəstələrin yaşı 21-dən 70-ə qədər dəyişirdi. Uşaq boynunun patoloji vəziyyətlərinin diaqnostikasında aşağıdakı metodlardan istifadə edilmişdir: uşaqlıq yolu güzgülərinin köməyiylə uşaqlıq yoluna baxış, müxtəlif növlü kolposkopiya, sitoloji, histoloji, histokimyəvi tədqiqat metodları, axar sitometriya.

Tədqiqat nəticəsində müəyyən edilmişdir ki, I və II dərəcəli CIN-li xəstələr üçün cavan yaş – 21-40 (xəstələrin ümumi sayının 57,27%-i), III dərəcəli CIN-li xəstələr üçün isə daha böyük yaş – 41-70 (xəstələrin ümumi sayının 60,6%-i) səciyyəvidir. Kolposkopik baxımdan I dərəcəli CIN (38 xəstə; 34,54%) bir qədər qabarıq nöqtələrlə və qeyri-bərabər mozaik strukturla, həmçinin ön dodaq nahiyəsində iltihabi keçid zonası ilə ifadə olunur. II dərəcəli CIN (42 xəstə; 38,1%) selikli qısa səviyyəsinin üstündə və uşaqlıq dəliyinə arxa dodağı nahiyəsində qeyri-müntəzəm mozaika, kobud dəyişiklikləri ilə ifadə olunur. III dərəcəli CIN-də (30 xəstə; 27,27%) intensiv ağ sirkə rəngli və qeyri-müntəzəm nöqtəli geniş sahələr, həmçinin kobud punktasiya, qırmızı əsaslı dəliklərə bənzər vəzilərin iri dəlikləri, kapillyararası məsafənin şərti siferblatın saat 4-ə qədər genişlənməsi görünür. I və II dərəcəli CIN diploid yenitörəmələrə aiddir ($p < 0,05$), çünki G0 fazasında hüceyrə elementlərinin yüksək sayı (müvafiq olaraq 90,5 və 88,6) aşkar edilmişdir, aneuploid hüceyrələr isə aşkar edilmir. III dərəcəli CIN sitometrik parametrlərinə görə aneuploid yenitörəmələrə aiddir ($p < 0,05$), çünki S və G2+M fazasında hüceyrə elementlərinin yüksək sayı aşkar olunmuş (müvafiq olaraq 4,6 və 6,9, 5,5 və 5,6), həmçinin tək-tək aneuploid hüceyrələri də müşahidə edilmişdir.

Axar sitofluorimetriya uşaqlıq boynunun CIN olan xəstələrin müalicə prosesində erkən və diferensial diaqnostika, proqnoz, həmçinin monitoring üçün dəfələrlə istifadə oluna biləcək yüksək informativ, avtomatlaşdırılmış sitoloji metoddur.

SHALALA HAMID BAGIROVA

COLPOSCOPIC AND MORPHOLOGICAL STUDIES TO PREDICT THE SEVERITY OF CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA

SUMMARY

The aim of this study was to examine the clinical and morphological, colposcopic and flow-cytometric features of cervical intraepithelial cervical neoplasia (CIN), having a value in the differential diagnosis and prediction of the disease.

Total have been compiled and analyzed data from 640 patients with cervical pathology who were treated and kept under observation in the Oncology Clinic of AMU from 2007 to 2012. The age of patients with CIN ranged from 21 to 70 years. In the diagnosis of pathological conditions of the cervix were used: examination of the cervix using a vaginal mirror, different kinds of colposcopy, cytological, histological, histochemical research methods, flow cytometry.

The results of study found that for patients with CIN I and II degree typical young age – 21-40 years – 57,27% (of the total number of patients), and patients with CIN III degree typical adult age – 41-70 years – 60,6% (of the total number of patients). Colposcopically CIN I (38 patients, 34,54%) expressed slightly convex dots and irregular mosaic structures, as well as inflammatory transition zone in zone of anterior lip; CINI I (42 patients; 38,1%) expressed an irregular mosaic and gross changes above the mucosa of the posterior lip of the uterine mouth. In CIN III (30 patients, 27,27%) are seen vast areas with intense acetic-white color and irregular points and rough stippling, large holes glands, similar to a hole with a red base, the expansion of intercapillary distance 4 hours conditional clock. CIN I or II refers to diploid tumors ($p < 0,05$), as detected high number of cell elements in the G0 phase (respectively 90,5 and 88,6), aneuploid cells were not detected. CIN III degree by flow-cytometry parameters refers to aneuploid tumors ($p < 0,05$), as revealed high number of cell elements in S and G2+M phase (respectively 4,6 and 6,9, 5,5 and 5,6), and the detected individual aneuplodnye cells.

Flow cytometry is a highly informative automated cytological method that can be used repeatedly as the early and differential diagnosis, prognosis, and monitoring the treatment of patients with CIN.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

иДНК	– индекс ДНК
ИП	– индекс пролиферации
КС	– кольпоскопия
МПЭ	– многослойный плоский эпителий
CIN	– цервикальные интраэпителиальные неоплазии (cervical intraepithelial neoplasia)

Kağız formatı 60x84 ¹/₁₆.
Sifariş 468 Tiraj 100.

Azərbaycan Tibb Universitetinin
mətbəəsində çap edilmişdir.

Tel.: 595-55-76

AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASI
SƏHIYYƏ NAZİRLİYİ

AZƏRBAYCAN TİBB UNİVERSİTETİ

Əlyazması hüququnda

ŞƏLALƏ HƏMİD QIZI BAĞİROVA

**SERVİKAL İNTRAEPİTELİAL NEOPLAZİYALARIN AĞIRLIQ
DƏRƏCƏSİNİN PROQNOZLAŞDIRILMASI ÜÇÜN
KOLPOSKOPİK VƏ MORFOLOJİ TƏDQIQATLAR**

3215.01 – Mamalıq və ginekologiya

Tibb üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi
almaq üçün təqdim edilmiş dissertasiyanın

A V T O R E F E R A T I

Bakı – 2015