Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ`Я УКРАЇНИ

КРИМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ім. С.І. ГЕОРГІЄВСЬКОГО

**Гульков Юрій Костянтинович**

 УДК 616.33 – 006 - 003.935 – 037

**Структурна Гетерогенність раку шлунка: фактори прогнозу**

14.03.02 - патологічна анатомія

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

]

Сімферополь – 2008

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі патологічної анатомії Донецького національного медичного університету ім. М. Горького МОЗ України.

**Науковий керівник:**

доктор медичних наук, професор **Василенко Інна Василівна**, Донецький національний медичний університет ім. М.Горького МОЗ України, завідуюча кафедри патологічної анатомії.

**Офіційні опоненти:**

- доктор медичних наук, професор **Садчиков Віктор Дмитрович**, Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України, кафедра патологічної анатомії;

- доктор медичних наук, професор **Загорулько Олександр Кімович**, Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського МОЗ України, завідувач кафедри патологічної анатомії.

 Захист дисертації відбудеться «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2008 р. о \_\_\_\_\_\_годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 52.600.02 при Кримському державному медичному університеті ім. С.І. Георгієвського МОЗ України (95006, Україна, АР Крим, м. Сімферополь, бул. Леніна, 5/7)

 З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Кримського державного медичного університету ім. С.І. Георгієвського МОЗ України (95006, Україна, АР Крим, м. Сімферополь, бул. Леніна, 5/7).

Автореферат розісланий «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2008 р.

Вчений секретар

спеціалізованої ради Г.О. Мороз

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність роботи.** Захворюваність на злоякісніновоутворення та смертність в наслідок них зростають, результати лікування не задовольняють клінічних онкологів. В Україні, за даними інституту онкології АМН України (С.О. Шалімов та співавт., 2007 р.) у загальній структурі захворюваності на злоякісні новоутворення рак шлунка займає трете місце у чоловіків (9,8%) та п’яте місце у жінок (6,4%), у структурі смертності – друге місце (12,7% у чоловіків, після раку легень, та 10,1% у жінок після раку молочної залози).

 Морфологічна діагностика та прогноз раку якої завгодно локалізації ґрунтується на виразності атипізму – тканинного, клітинного та функціонального. У випадках раку шлунка труднощі діагностики та прогнозу полягають у тому, що виразність кожного з трьох видів атипізму часто не співпадає. Зараз є зрозумілими причини цього: два основних гістологічних типи раку шлунка кишковий та дифузний за P. Lauren відрізняються один від одного своїм патогенезом.

 Рак кишкового типу розвивається в наслідок активації онкогенів (c-erb B2, ras) (M. Kimura et al., 2005) чи делеції, мутації генів-супресорів (p53, APC) (A.A. Langerod et al., 2007), як наслідок у нього переважає активація синтезу ДНК, проліферація епітелію, звідси часта поліплоїдія, анеуплоїдія ядер (K.H. Lee et al., 2001) і морфологічно виявляться виразний клітинний атипізм. А тканинний атипізм слабко виражений, клітини різною мірою виразності будують залозисті структури.

 Рак дифузного типу пов’язаний з мутацією чи інактивацією гену Е-кадгерина (В.А. Крутовских, 2000, J.C. Machado et al., 2001) – молекули клітинно-клітинної адгезії. Як наслідок у першу чергу порушується тканинна диференціація, виражений тканинний атипізм, розвивається низькодиференційована аденокарцинома або недиференційований (на тканинному рівні) рак, коли пухлинні клітини відокремлені одна від одної. Відсутність на перших етапах розвитку активації онкогенів, або інактивації генів-супресорів веде до слабкої проліферації клітин цього раку, клітини часто диплоїдні (K.H. Lee et al., 2001), з слабкою виразністю клітинного та функціонального атипізму.

 Таким чином, діагностика раку шлунка до теперішнього часу є однією з найбільш актуальних та одночасно складних проблем через розбіжності в патогенезі та морфології основних типів його. Не з’ясовані шляхи прогресії кожного з цих типів пухлин, що призводить до труднощів оцінки злоякісності пухлини за морфологічною картиною. Тривалість життя після оперативного, комбінованого чи комплексного лікування у випадках раку шлунка є нетривалим у зав’язку з швидким прогресуванням патологічного процесу. Залишається невирішеною одна з найважливіших проблем пухлинної прогресії – метастазування.

 Зараз діагностичний комплекс досліджень має променеві методи, ендоскопічні дослідження зі взяттям біопсії, а також морфологічні методи (макроскопічні, гістологічні, гістохімічні, імуноморфологічні дослідження), які спрямовані на більш точну діагностику й оцінку прогнозу, та на адекватну терапію. Значна кількість досліджень, й щодо раку шлунка, спрямована на пошук критеріїв оцінки біологічної поведінки пухлини, її прогнозу. Однак при цьому не завжди враховується гістологічна гетерогенність пухлин, яка часто зустрічається у раку шлунка (І.А. Данилова, 2005), вона недостатньо досліджена у плані причин її виникнення у різних варіантах пухлин та її значення для інвазії, яка значно впливає на прогноз.

**Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами.** Робота є фрагментом наукової дослідної роботи "Морфологічні особливості основних гістологічних форм раку шлунка на різних етапах їх виникнення та прогресії" (№ держреєстрації 0103U007878, шифр теми УН 04.01.20), що виконується кафедрою патологічної анатомії Донецького національного медичного університету, клінічною базою якої є Донецьке обласне клінічне територіальне медичне об’єднання.

**Мета дослідження –** оцінити гетерогенності рака шлунка на тканинному, клітинному та функціональному рівні та визначити вплив гетерогенності на інвазію судин у пухлині.

**Завдання дослідження:**

1. Гістотопографічно дослідити три основних типи рака шлунку, для виявлення частоти гетерогенності.

2. Оцінити ступінь виразності гетерогенності кишкового типу рака шлунку на тканинному, клітинному та функціональному рівнях та вплив її на інвазію судин.

3. Оцінити ступінь виразності гетерогенності дифузного типу рака шлунка на тканинному, клітинному та функціональному рівні та вплив її на інвазію судин.

4. Оцінити ступінь виразності гетерогенності змішаного типу рака шлунка на тканинному, клітинному та функціональному рівні та вплив її на інвазію судин.

5. Співставити ступінь виразності гетерогенності на тканинному, клітинному та функціональному рівні, а також іммуно- та лектиногістохімічні особливості та вплив їх на інвазію судин при основних типах рака шлунку, виявити розбіжності між ними.

*Об’єкт дослідження:* Гістологічна гетерогенність основних типів раку шлунка, інвазія судин.

*Предмет дослідження*: Тканинна, клітинна та функціональна гетерогенність різних гістологічних типів раку шлунка, у різних ділянках пухлини та зв’язок гетерогенності з інвазією судин.

*Методи дослідження:* Макроскопічний, гістотопографічний, гістологічний, гістохімічний, імуногістохімічний, статистичний методи (для виявлення достовірності розбіжностей та ступеня кореляційних зв’язків).

**Новизна дослідження та одержаних результатів.** Вперше встановлено розбіжність у частоті гетерогенності раку шлунка при оцінюванні на тканинному, клітинному та функціональному рівні в основних гістологічних типах його.

Вперше з’ясовано, що у раку шлунка кишкового типу на інвазію судин впливає тканинна гетерогенність пухлини, особливо значно при переході від слабкої до помірної та виразної.

Вперше з’ясовано, що у раку шлунка дифузного типу на інвазію судин впливає клітинна та функціональна гетерогенність пухлини, особливо у разі переходу від слабкої до помірної та виразної.

Показано, що зростання гетерогенності у раку шлунка з прогресуванням пухлини веде до зближенню морфології при різних типах його.

**Практичне значення результатів дослідження.** Виявлена залежність інвазійних потенцій раку шлунка від виразності різних рівнів гетерогенності. У різних типах раку шлунка вони можуть бути критеріями інвазійності їх, необхідними для морфологічної оцінки прогнозу раку шлунка за матеріалом гастробіопсій при первинній діагностиці та при дослідженні резекційних препаратів для з’ясування ступеня агресивності та методів подальшого лікування.

**Результати впровадження наукових досягнень у практику та їх значущість для народного господарства.** Результати роботи впроваджені в практику патологоанатомічних відділень Донецького обласного клінічного територіального медичного об`єднання, Донецького обласного протипухлинного центру, Інституту невідкладної та відновної хірургії ім. В.К. Гусака АМН України, Запорізького обласного патологоанатомічного бюро. Результати дослідження використовуються при читанні курсу лекцій та проведенні практичних занять на кафедрі патологічної анатомії Донецького національного медичного університету ім. М. Горького, на кафедрі патологічної анатомії Луганського державного медичного університету, в науково-дослідній роботі відділу патоморфології Центральної науково-дослідної лабораторії Донецького національного медичного університету ім. М. Горького.

Результати дослідження можуть бути використані в практиці не тільки онкологічних диспансерів, патологоанатомічних відділень, але й в хірургічних клініках загального профілю. Отримані результати кількісних та якісних показників структурних змін в пухлинній тканині дозволяють використовувати їх у практиці патологоанатомічних відділень онкологічних диспансерів, клінічних лікарень та науково-дослідних лабораторій. Основні положення дисертації можуть бути впроваджені в науковий та навчальний процес вищих медичних навчальних закладів.

**Особистий внесок дисертанта в одержання наукових результатів, що виносяться на захист.** Пошукувачем самостійно обґрунтована актуальність виконаних досліджень, їх мета, задачі, проаналізовані дані наукової літератури. Автор самостійно зібрав та систематизував операційний та секційний матеріал, зроблені морфологічні дослідження, проведено аналіз, статистична обробка та інтерпретація одержаних результатів, сформульовані висновки та практичні рекомендації. Самостійно написані всі розділи дисертаційної роботи, автореферат, підготовлені наукові матеріали до публікацій. Автором не були використанні наукові результати та ідеї, які належать співавторам надрукованих робіт.

**Апробація роботи**. Результати дослідження були представлені й обговорені на засіданні Донецької обласної Асоціації патологів України (Донецьк, 2007), Всеукраїнській науково-практичній конференції (Чернівці, 2007).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 8 наукових праць, з них 7 статей у фахових виданнях, затверджених ВАК України (з них 3 – одноосібні).

**Структура та обсяг дисертації**. Дисертація викладена на 201 сторінках тексту, складається із вступу, 6 розділів (у тому числі огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження), висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел літератури, що містить 250 найменувань (59 кирилицею й 191 латиницею). Робота проілюстрована 9 таблицями й 92 рисунками (що займають 16 сторінки).

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріал та методи дослідження.** Досліджено 263 випадки раку шлунка на операційному та секційному матеріалі, з них 89 (33,8%) випадків кишкового типу, 129 (49,1%) випадків дифузного та 45 (17,1%) випадків змішаного або некласифікованого типу.

Частота випадків з інвазією судин та метастазами незначно відрізнялась у дифузному та змішаному типі раку шлунка: відповідно з інвазією – 66 випадків (51,1%) та 20 (44,4%) випадків, однак різко відрізнялась від кишкового типу раку шлунка: з інвазією у 22 випадках (24,7%). Залежно від наявності пухлинних емболів у судинах ми оцінювали інвазивний потенціал пухлини, виходячи з роботи T. Mita, T. Shimoda (2001), відповідно до якої інвазія пухлиною лімфатичних судин у випадках раку шлунка була найзначнішою детермінантою (OR 8,68) для метастазів у лімфатичні вузли, які різко погіршують прогноз.

Уражені раком шлунки описувались макроскопічно, а далі виконували гістотопографічне дослідження пухлини. Для цього вирізувались та нумерувались шматочки пухлини, які фіксували у 10% и 4%-ному розчині формаліну, рідинах Карнуа та Севки, нефіксовані шматочки швидко заморожувалися для приготування кріостатних зрізів.

З фіксованого матеріалу виготовлялись парафінові блоки. Зрізи фарбувалися гематоксиліном та еозином. Для виявлення колагенових волокон використовували фарбування пікрофуксином за ван-Гізоном. Для підрахунку кількості мітозів використовували виявлення нуклеїнових кислот шляхом фарбування галоціаніном та хромовими квасцями, кількість мітозів підраховувалась як середнє число мітотичних фігур у полі зору під великим збільшенням (х400) з 10 послідовно взятих полів зору.

У кріостатних зрізах методом сполучення виявлялась активність неспецифічної естерази, лужної фосфатази, активність пероксидази у лейкоцитах виявлялася діамінобензидіном, неспецифічної естерази, яка характерна для апудоцитів, а також для кишкового епітелію.

У оцінці виразності гетерогенності пухлини на тканинному рівні виходили з класифікації P. Lauren. Для кишкового типу раку шлунка характерна високодиференційована аденокарцинома, яка складається з великих залоз з рівним апікальним краєм клітин, чітким широким отвором. Помірнодиференційована аденокарцинома характеризувалась дрібними залозами, частіше близько розташованими одна від одної, з вузькими отворами. До низькодиференційованих аденокарцином віднесені ділянки з дрібними залозами та залозисто-подібними структурами майже без отворів, кріброзними, солідними структурами. Рак шлунка дифузного типу характеризувався різким зниженням або відсутністю зв’язків пухлинних клітин – вони відокремленні одна від однієї, або формували дрібні групи, тобто характеризувались низькою тканиною диференціацією. До змішаного типу раку шлунка віднесені пухлини, де мало місце поєднання ділянок кишкового типу раку шлунка та дифузного, або пухлина мала будову солідного раку. Наявність в пухлині одного ступеня диференціювання на тканинному рівні оцінювалась як слабка гетерогенність, двох – як помірна, трьох – як висока гетерогенність.

Ґрунтуючись на виразність клітинного атипізму, виділені три основних типу пухлинних клітин. Клітини з дрібними мономорфними гіперхромними ядрами та значною кількістю цитоплазми розцінювались, як клітини зі слабким клітинним атипізмом (високим клітинним диференціюванням). Клітини з помірно виразним атипізмом характеризувалися крупними світлими з ядерцями або помірно гіперхромними ядрами з помірною кількістю цитоплазми. Пухлинні клітини з різко поліморфними гіперхромними ядрами та малою кількістю цитоплазми віднесені до різко атипових клітин. Наявність одного типу клітин у пухлині розцінювалась як слабка гетерогенність, двох типів клітин – як помірна гетерогенність, усіх трьох типів клітин – як висока гетерогенність на клітинному рівні.

Ступінь виразності функціонального диференціювання оцінювалась на основі виразності секреції муцину та ендокринного диференціювання пухлинних клітин. Для виявлення секреції муцину препарати фарбувалися альціановим синім при рН=2,6 та 1,0, ставилася ШИК-реакція.

Для виявлення ендокринного диференціювання використовувались методи імпрегнації сріблом за методом Гримеліуса та Масона, фарбування за методом Севкі, яке виявляє біогенні аміни. У певному числі випадків було застосовано імуногістохімічне дослідження з моноклональними антитілами до нейронспецифічної енолази (NSE), гастрину.

В основу класифікації ступеня виразності ендокринного диференціювання (ЕКД), були покладені критерії E. Tahara (1988), І.К. Дерижанової (1991).

Були виділені ендокриноклітинні раки (ЕКР), коли від 50% до 100% пухлинних клітин мали ендокринні гранули та ці клітини були рівномірно розподілені у пухлині. Вони у свою чергу розподілялись на високо-, помірно- та низькодиференційовані ЕКР залежно від кількості ендокринних гранул у цитоплазмі пухлинних клітин.

Крім того, виділена група пухлин з невеликою кількістю клітин з ЕКД від половини до поодиноких, але які рівномірно розподілялись у всій пухлині, а також групи з ділянковою ЕКД та без ЕКД.

 Для виявлення глюкоконьюгатів ми застосували панелі з 8 лектинів, мічених пероксидазою. Застосовувались такі лектини: лектин зав’язі пшениці (WGA), специфічний до глюкозаміну та сіалових кислот; лектин арахісу (PNA), специфічний до D-галактози, галактозаміну; лектин виноградного равлика (HPA), специфічний до галактозаміну та глюкозаміну; лектин сої (SBA), специфічний до D-галактози, галактозаміну; лектин бузини чорної (SNA), специфічний до сіалових кислот та галактозаміну; лектин золотого дощу (LAL), специфічний до L-фукози; лектин омели (VAL), специфічний до галактози; лектин сочевиці (LCA), специфічний до маннози, глюкози, глюкозаміну.

Імуногістохімічно для дослідження експресії цитокератинів використовували мишачі моноклональні антитіла АЕ1\АЕ3 та МNF-116. Для визначення проліферативної активності застосовувався Ki-67, виявлялася експресія білка р53. Для оцінки особливостей паренхіми застосовувались моноклональні антитіла до виментину.

Гістологічні препарати були досліджені під світлооптичним мікроскопом Olympus ВХ-40, мікрофотографування проводилось цифровою фотокамерою Olympus U-TV1X з програмним забезпеченням Olympus DP-Soft.

Статистична обробка отриманих результатів досліджень виконана на персональному комп’ютері у пакеті MedStat з застосуванням базових методів математичної статистики. Статистичний аналіз показників, одержаних за результатами обробки стабілограм, виявив, що їх розподіл відрізняється від нормального (на рівні р<0,001), залежно до чого, при проведенні подальшого статистичного аналізу, використовувались непараметричні критерії. Виявлялась достовірність зв’язку або різниця показників (р), для оцінки ступеня та достовірності зв’язку двох пов’язаних вибірок застосовувався коефіцієнт нелінійної кореляції Кендалла (Tau) та коефіцієнт рангової кореляції Спірмена (Ro). Порівняння тенденцій двох незалежних виборок (порівнювались ступені різних рівнів гетерогенності між собою в залежності від наявності або вудсутності інвазії пухлинних кліток у судини) проводилась із застосуванням W-критерію Вілкоксона.

**Результати дослідження та їх обговорення**. Рак шлунка за клініко-морфологічними особливостями є неоднорідним. Основні гістологічні типи його – рак кишкового, дифузного та змішаного типу – відрізняються один від одного й за даними літератури, й на нашому матеріалі. У нашому матеріалі, серед усіх раків шлунка, рак кишкового типу зустрічався у 89 випадках, або 33,8%, у раку кишкового типу декілька частіше зустрічався ранній рак (12,4%), чим серед раку дифузного типу (7,8%) и раку змішаного типу (2,6%).

Одночасно у нашому дослідженні встановлено, що у раку шлунка кишкового типу значно менше у гістологічних препаратах зустрічалася інвазія судин пухлинними клітинами (24,7%), ніж у раку шлунка дифузного (51,2%) та змішаного (44,4%) типів.

Нами виділено критерії оцінки гетерогенності раку шлунка на тканинному та клітинному рівні, а також за функціональною активністю пухлинних клітин на слабку, помірну та виразну. У всіх типах раку шлунка найчастіше зустрічалася помірно виразна гетерогенність пухлин, значно менше гетерогенність була слабкою та виразною, коливання частоти її, залежно від рівня оцінки, були незначними. Так на тканинному рівні слабка гетерогенність спостерігалася у 81 випадку (30,8%), помірна – у 123 випадках (46,8%), виразна – у 59 випадках (22,4%). На клітинному рівні слабка гетерогенність спостерігалась у 84 (31,9%), помірна – у 143 випадках (55,4%), виразна – у 36 випадках (13,7%). Функціональна гетерогенність пухлинних кліток була слабкою у 76 випадках (28,8%), помірна – у 146 випадках (55,5%), виразна – у 41 випадку (15,6%).

Така тенденція виразності гетерогенності очевидно зумовлена характером матеріалу: в основному це були просунуті, тобто з інвазією всіх слоїв стінки шлунка, раки, але у більшості все ж видалені оперативно, приблизно на одному рівні прогресії.

Однак ступінь гетерогенності в різних типах раку шлунка (у кишковому, дифузному та змішаному) відрізнялась залежно від рівня її – на тканинному, клітинному та функціональному.

На тканинному рівні гетерогенність у разі дифузного раку шлунка виявлялася практично з однією частотою – слабкою (48%) та помірною (49,6%), це був недиференційований рак з розсипним типом росту, відокремленістю клітин одна від одної (слабка гетерогенність), або поряд з таким ростом зустрічалися ділянки низькодиференційованої аденокарциноми, тяжи клітин, групки клітин, тобто була тенденція до поєднанням клітин між собою. Дуже рідко (2,4%) зустрічалась виразна гетерогенність, коли були знайдені дрібні зони, інколи поодинокі залози помірно – або високодиференційованої аденокарциноми.

 У випадках раку кишкового типу частота гетерогенності на тканинному рівні значно зростала від слабкої (21,3%), коли пухлина мала будову високо- та помірнодиференційованої аденокарциноми, до помірної (38,2%), коли у пухлині з’являлися ділянки низькодиференційованої аденокарциноми, але все ж таки зберігався зв’язок пухлин між собою, незначно, в порівнянні з помірною, зростала частота високої гетерогенності (40,5%), коли з’являлися дрібні групи пухлинних кліток та відокремлені клітини, були порушені зв’язки клітин між собою.

У випадках змішаного типу рака шлунка на тканинному рівні не було випадків зі слабкою гетерогенністю, що визначається з самого характеру пухлини, коли присутні структури, які характерні й для кишкового, й для дифузного типу рака, або проміжного (типу солідного) раку. Гетерогенність була в основному помірною (55,6%) та виразною (44,4%).

Була порівняна частота інвазії судин у пухлині при різному ступеню гетерогенності її на тканинному рівні в основних типах раку шлунка. Рак шлунка дифузного типу визначався високою частотою інвазії судин, але вона незначно збільшувалась від слабкої (48,4%) до помірної (53,1%) гетерогенності на тканинному рівні. Частота високої гетерогенності у цього раку була незвичайно мала (2,4%), але в цій групі значно зростала інвазивність (66,7%).

У випадках раку шлунка кишкового типу інвазія судин незначно збільшувалась від слабкої (15,8%) до помірної (17,6%) гетерогенності, але різко зростала, практично вдвічі, у групі з виразною гетерогенністю (36,1%) в порівнянні з помірною.

У випадках раку змішаного типу частота інвазії судин мало змінюється від помірної (40%) до виразної (44,4%) гетерогенності на тканинному рівні.

Гетерогенність на клітинному рівні у разі дифузного раку шлунка найчастіше була помірною (60,5%), тобто виявлялися два типи клітин з низьким та помірним атипізмом, значно рідше зустрічалась слабка гетерогенність (22,5%) та виразна (17%), коли з’являлись різко атипові пухлинні клітини. При цьому частота інвазії судин незначно зростала при переході від слабкої гетерогенності (37,9%) до помірної (46%). Різко, практично вдвічі, зростала частота інвазії судин у пухлинах з виразною гетерогенністю клітинного складу (81,8%).

У випадках кишкового типу раку шлунка переважала слабка гетерогенність пухлинних клітин (53,9%), ці випадки характеризувалися низькою частотою інвазії судин (20,8%). З високою частотою (40,5%) зустрічалась також помірна гетерогенність клітинного складу цього типу раку шлунка, коли одночасно були клітини з високим та помірним атипізмом (24 випадки) або значно рідше випадки зі слабким та помірним атипізмом (12 випадків). У цій групі частота інвазії судин була дещо вищою й становила 33,3%. Випадків з високою гетерогенністю клітин було мало, усього 5 (5,6%) у них не було інвазії судин.

У разі раку змішаного типу, як у дифузному, частіше усього зустрічались випадки з помірною гетерогенність клітин (64,4%), значно рідше з низькою (15,6%) та високою (20%) клітинною гетерогенністю. Також, як і при дифузному ракові, частота інвазії судин помірно зростала від слабкої гетерогенності (28,6%) до помірної (37,9%), й різко, більш ніж у два рази, при виразній гетерогенності (77,8%) в порівнянні з помірною.

У нашому матеріалі у випадках дифузного раку шлунка, частіше в глибоких шарах його, виявлялися пухлинні клітини, які зберегли експресію цитокератинів, секрецію муцину, продукцію нейроендокринних гранул, але вони мали продовгувату фібробластоподібну форму. Іноді виявлялася експресія виментину у них й у перснеподібних клітинах, що є прямим доказом епітеліально-мезенхімальної трансформації.

Функціональна гетерогенність пухлинних кліток різних типів раку шлунка найчастіше була помірно вираженою. Тільки у випадках раку шлунка кишкового типу слабка гетерогенність функціональної активності пухлинних клітин за частотою наближалася до помірної (47,2% та 48,3%). У разі дифузного та змішаного типів раку шлунка слабка функціональна гетерогенність пухлинних клітин зустрічалася приблизно однаково (19,4% та 20%). Виразна гетерогенність функціональної активності пухлинних клітин значно частіше зустрічалася у випадках дифузного типу раку (24%), ніж у випадках змішаного типу (13,3%) й мінімальною була її частота у разі раку кишкового типу (4,5%).

Це зумовлено тим, що у разі дифузного раку шлунка пухлинні клітини частіше продукують значну кількість муцину, характеризуються виразним ендокринним диференціюванням, але по мірі прогресії та зростання клітинного атипізму функціональна активність пухлинних клітин знижується, тоді у пухлині виявляються значні коливання її. У раках кишкового типу функціональна активність пухлинних клітин слабка, або підвищується до помірної й дуже рідко бува високою у слизових раках. У раку змішаного типу є розбіжності поєднання такої виразності секреції пухлинними клітинами.

 Ступінь функціональної активності пухлинних клітин може впливати на інвазивність пухлини. Було з’ясовано, що у раках шлунка з високою продукцією муцину (слизових) частіше зустрічається глибока інвазія та метастази у лімфатичні вузли (K. Yasuda et al., 2001). Імовірно частково з цим пов’язаний й більш високий рівень частоти інвазії судин у випадках дифузного типу раку в порівнянні з кишковим. У дифузному раку шлунка частіше зустрічається й більш виразне й ендокринне диференціювання клітин.

Інвазія судин у раку шлунка залежить не тільки від кількості муцину, який синтезується пухлинними клітинами, але й від якісного складу його. Лектинна гістохімія дозволила виявити окремі вуглеводні специфічності й порівняти зв’язування лектинів у групах з інвазією судин і без неї. У всіх гістологічних типах раку шлунка частіше зустрічається інвазія судин при зв’язуванні клітин з фукозоспецифічним лектином золотого дощу (LAL).

У раку шлунка кишкового типу частіше інвазія судин спостерігалась також за наявності у пухлинних клітинах рецепторів до галактозо- та галактозамінспецифічних лектинів арахісу (PNA) та сої (SBA). У дифузному типі раку шлунка зв’язок з інвазією судин спостерігається у разі високого та помірного вмісту в пухлинних клітинах рецепторів до лектину виноградного равлика (НРА – галактозамін та глюкозамінспецифічний) та лектину бузини чорної (SNA – специфічної до сіалової кислоти).

Підводячи підсумки дослідження слід зазначити, що рак шлунка відрізняється високою частотою гетерогенності, яка виявляється морфологічними методами дослідження, як на тканинному, так й на клітинному рівні, включаючи функціональну активність пухлинних клітин, а також імуногістохімічні особливості їх. Від ступеня виразності різних типів гетерогенності у різних типах раку шлунка залежить інвазивний потенціал пухлини, її прогноз. Гістотопографічний метод дослідження, який дає змогу прослідкувати зміни морфології пухлини по мірі росту її від слизової оболонки до більш глибоких шарів стінки шлунка й від центру до латерального краю інвазії, дав змогу з’ясувати, що у більшості випадків гетерогенність пухлини пов’язана з її прогресією, інколи (у 17 випадках раку шлунка кишкового типу) різними шляхами канцерогенезу.

**ВИСНОВКИ**

У дисертації дано теоретичне узагальнення та нове вирішення наукової задачі, яка полягає у визначенні критеріїв ступеня виразності гістологічної та цитологічної гетерогенності раку шлунка, її частоти у основних типах його та визначення закономірностей зв’язку ступеня виразності гетерогенності з частотою інвазії пухлиною судин.

1. У всіх випадках раку шлунка має місце гетерогенність тканинної та клітинної структури його, функціональної активності пухлинних клітин різного ступеня виразності.

Гетерогенність раку шлунка на тканинному рівні була слабкою у 30,8%, помірною – у 69,2% та високою – у 22,4% випадків. На клітинному рівні слабка гетерогенність зустрічається у 31,9%, помірна – 54,4% та висока – у 13,7%. Функціональна активність пухлинних клітин була слабо гетерогенною у 28,9%, помірною – у 55,5% та високою – у 13,7% випадків.

2. Виявлена залежність ступеня виразності різних видів гетерогенності від гістологічного типу раку шлунка.

У випадках раку шлунка кишкового типу висока гетерогенність частіше зустрічається на тканинному рівні (40,5%), висока клітинна та функціональна гетерогенність зустрічається рідко (5,6% та 4,5%) й навпаки слабко виражена гетерогенність частіше зустрічається на клітинному (53,9%) та функціональному рівні (47,2%) та рідко на тканинному (21,3%).

3. У раку шлунка дифузного типу на тканинному рівні частіше зустрічається слабка (48%) та помірна (49,6%) гетерогенність і дуже рідко висока (2,4%), клітинна та функціональна гетерогенність частіше була помірною (60,5% та 56,6%), рідко слабка (22,5% та 19,4%) та висока (17% та 24%).

4. Змішаний тип раку шлунка характеризується тим, що на тканинному рівні не зустрічається слабо виразна гетерогенність, вона була помірною (55,6%) та високою (44,4%), клітинна та функціональна гетерогенність була частіше помірною (64,4% та 66,7%), рідко слабкою (15,6 % та 20%) та високою (20% та 13,3%).

5. Існує залежність частоти інвазії судин від ступеня гетерогенності у різних типах раку шлунка.

У випадках раку шлунка кишкового типу частота інвазії судин була низькою при слабкій (15,8%) та помірній (17,6%) тканинній гетерогенності та різко (вдвічі) збільшувалася при високій тканинній гетерогенності (36,1%). Чіткої залежності частоти інвазії судин від клітинної гетерогенності немає, вона незначно збільшується від слабкої до помірної гетерогенності та відсутня при високій. Частота інвазії судин значно збільшується при високій функціональній гетерогенності в порівнянні з помірною.

6. У раку шлунка дифузного типу нема чіткої залежності частоти інвазії судин від ступеня гетерогенності на тканинному рівні. Частота інвазії залежить від ступеня клітинної та функціональної гетерогенності, вона різко збільшується при високій (до 81,8% та 67,7%) в порівнянні з помірною (46% та 45,2%).

7. Відсутня залежність частоти інвазії судин від ступеня виразності гетерогенності на тканинному рівні у випадках змішаного типу раку шлунка. Вона різко збільшується при високій клітинній та функціональній гетерогенності (77,8% та 83,3%) в порівнянні з помірною гетерогенністю (37,9 та 40%).

8. Виявлена гетерогенність раку шлунка за вуглеводним складом муцину, що продукується пухлинними клітинами та за імуногістохімічними особливостям пухлинних кліток, які також впливають на інвазивність раку шлунка.

**Практичні рекомендації**

1. Виявлена нами залежність між гетерогенністю та інвазивністю пухлини може бути врахована при біопсійній діагностиці раку шлунка шляхом взяття матеріалу з декількох ділянок пухлини.

2. При гістологічній діагностиці за операційним матеріалом слід враховувати, що інвазивний потенціал раку шлунка кишкового типу залежить від ступеня гетерогенності на тканинному рівні, тоді як гетерогенність на клітинному та функціональному рівнях суттєво не впливає на інвазію.

3. При гістологічній діагностиці раку шлунка дифузного типу, перш за все, необхідно враховувати гетерогенність на клітинному та функціональному рівнях, тому що вони обумовлюють частоту інвазії судин.

4. При оцінці біологічної поведінки та прогнозу раку шлунка слід виконувати імуногістохімічні методи дослідження, що дасть змогу виявити особливості пухлинних клітин, таких як їх проліферативна активність (Ki–67) та поява віментинпозитивних клітин, які відрізняються більшою інвазивністю.

**СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. *Василенко И.В.,* Кондратюк Р.Б., Брук Б.Б., Гульков Ю.К., Запорожченко Н.А. Эндокринная дифференцировка в опухолевых клетках и клеточная инфильтрация стромы в раке желудка. // Патологія. – 2005. - №1. – С. 46-50. (Здобувач забезпечив виготовлення гістологічних препаратів, описав їх та проаналізував результати дослідження).

2. *Василенко И.В.,* Кондратюк Р.Б., Гульков Ю.К., Сургай Н.Н., Галкин Д.Ю., Запорожченко Н.В., Кривенко А.Н. Зависимость количества стромы и инвазивности рака желудка от морфологических и функциональных особенностей опухолевых клеток. // Патологія. – 2006. – Т.3, №1. – С. 66-69. (Здобувач приймав участь у зборі матеріалу проведенні аналізу результатів мікроскопічного дослідження, співставленні особливостей пухлини з інвазивністю).

3. *Гульков Ю.К*. Морфологічні особливості раку шлунка дифузного типу. //Вісник наукових досліджень. – 2006. - №3 – С. 135-136.

4. *Гульков Ю.К.,* Морфологические особенности рака желудка кишечного типа. // Вісник проблем біології і медицини. – 2006. – Вип. 2. – С. 367-369.

5. *Василенко И.В.,* Гульков Ю.К., Запорожченко Н.В. Влияние морфологической гетерогенности рака желудка кишечного типа на его инвазивность. // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2007. – Т. 8, №1. – С. 70-78. (Здобувачем проведений літературний пошук та аналіз різних рівнів гетерогенності кишкового типу раку шлунка, та вплив її на инвазивний потенціал пухлини).

6. *Гульков Ю.К.,* Василенко И.В. Инвазивность смешанного типа рака желудка при разной степени его гетерогенности // Патологоанатоміч-на діагностика хвороб людини: здобутки, проблеми, перспективи: Матер. Всеукр.наук.-практ.конф., присв. 100-річчю з дня народж. Проф. Н.М. Шінкермана (21-22 тр. 2007 р.). – Чернівці, 2007. – С. 79-81. (Здобувачем проведен літературний пошук та аналіз різних рівнів гетерогенності змішаного типу раку шлунка, та вплив її на инвазивний потенціал пухлини).

7. *Гульков Ю.К*., Діагностика и проноз рака желудка: сравнительная характеристика кишечного и дифузного рака // Питання експериментальної та клінічної медицини: Збірник статей. – Донецьк: ДонНМУ. – 2007. – С. 118-122.

8. *Гульков Ю.К.,* Василенко И.В., Гистологическая гетерогенность в диффузном типе рака желудка // Таврический медико-биологический вестник. - 2007. – Т. 10, №4. (Здобувачем проведений літературний пошук та аналіз різних рівнів гетерогенності дифузного типу раку шлунка, та вплив її на инвазивний потенціал пухлини).

**АНОТАЦІЯ**

**Гульков Ю.К. Структурна гетерогенність шлунка: фактори прогнозу. – Рукопис.**

 Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія. – Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського МОЗ України, Сімферополь, 2008.

Виявлено, що у раку шлунка кишкового типу висока гетерогенність частіше зустрічається на тканинному рівні (40,5%), висока клітинна та функціональна гетерогенність зустрічається рідко (5,6% та 4,5%) й навпаки слабко виражена гетерогенність частіше зустрічається на клітинному (53,9%) та функціональному рівні (47,2%) й рідко на тканинному (21,3%). У раку шлунка дифузного типу на тканинному рівні частіше зустрічається слабка (48%) та помірна (49,6%) гетерогенність й дуже рідко висока (2,4%); клітинна та функціональна гетерогенність частіше була помірною (60,5% та 56,6%), рідко слабка (22,5% та 19,4%) та висока (17% та 24%). У разі змішаного типу раку шлунка на тканинному рівні не зустрічається слабо виражена гетерогенність, вона була помірною (55,6%) та високою (44,4%), клітинна та функціональна гетерогенність була частіше помірною (64,4% та 66,7%), рідко слабкою (15,6 % та 20%) та високою (20% та 13,3%).

Існує залежність частоти інвазії судин від ступеня гетерогенності у різних типах раку шлунка. У раку шлунка кишкового типу частота інвазії судин була низькою при слабкій (15,8%) та помірній (17,6%) тканинній гетерогенності та збільшувалася при високій тканинній гетерогенності (36,1%). Чіткої залежності частоти інвазії судин від клітинної гетерогенності немає, вона незначно збільшується від слабкої до помірної гетерогенності, та відсутня при високій. Частота інвазії судин значно збільшується при високій функціональній гетерогенності. У раку шлунка дифузного та змішаного типів нема чіткої залежності частоти інвазії судин від ступеня гетерогенності на тканинному рівні. Частота інвазії залежить від ступеня клітинної та функціональної гетерогенності, вона різко збільшується при високій.

Виявлена гетерогенність раку шлунка за вуглеводним складом муцину, який продукується пухлинними клітинами та імуногістохімічними особливостям пухлинних кліток, які також впливають на інвазивність раку шлунка.

**Ключові слова:** рак шлунка, тканинна гетерогенність, клітина гетерогенність, функціональна гетерогенність, інвазія судин.

**АННОТАЦИЯ**

**Гульков Ю.К. Структурная гетерогенность рака желудка: факторы прогноза. – Рукопись.**

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия. – Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского МЗ Украины, Симферополь, 2008.

Материалом исследования послужили 263 случая рака желудка (89 кишечного типа, 129 диффузного и 45 случаев смешанного или неклассифицированного типа), на которых изучена тканевая, клеточная и функциональная гетерогенность каждого типа опухоли, ее выраженность и связь с инвазией сосудов.

Нами выделены критерии оценки гетерогенности рака желудка на тканевом, клеточном уровне, а также согласно функциональной активности опухолевых клеток на слабую, умеренную и выраженную степень. Так, на тканевом уровне слабая гетерогенность встретилась в 81 случае (30,8%), умеренная в 123 случаях (46,8%), выраженная в 59 случаях (22,4%). На клеточном уровне слабая гетерогенность наблюдалась в 84 случае (31,9%), умеренная в 143 случаях (55,4%), выраженная в 36 случаях (13,7%). Функциональная гетерогенность опухолевых клеток была слабой в 76 случаях (28,9%), умеренной в 146 случаях (55,5%) выраженной в 41 случае (15,6%).

Однако степень гетерогенности в разных типах рака желудка отличалась в зависимости от уровня – тканевого, клеточного и функционального.

На тканевом уровне гетерогенность в диффузном раке желудка была практически с одинаковой частотой слабой (48%) и умеренной (49,6%), очень редко (2,4%) была выраженной. В раке кишечного типа частота гетерогенности на тканевом уровне возрастала значительно от слабой (21,3%), до умеренной (38,2%). Незначительно по сравнению с умеренной возрастала частота высокой гетерогенности (40,5%). В смешанном типе рака желудка на тканевом уровне не было случаев со слабой гетерогенностью, что определяется самим характером опухоли, гетерогенность была в основном умеренная (55,6%) и выраженная (44,4%).

Была сопоставлена частота инвазии сосудов в опухоли при разной степени гетерогенности ее на тканевом уровне в основных типах рака желудка. Рак желудка диффузного типа отличается высокой частотой инвазии сосудов, но она незначительно возрастала от слабой (48,4%) до умеренной (53,1%) гетерогенности на тканевом уровне. Частота высокой гетерогенности в этом раке была слишком мала (2,4%), но в этой группе значительно возрастает инвазивность (66,7%). В раке желудка кишечного типа частота инвазии сосудов незначительно возрастает от слабой (15,8%) до умеренной (17,6%), но резко увеличивается, практически вдвое, в группе с выраженной гетерогенностью (36,1%) по сравнению с умеренной. В раке смешанного типа частота инвазии сосудов мало изменяется при переходе от умеренной (40%) к выраженной (44,4%) гетерогенности на тканевом уровне.

Гетерогенность на клеточном уровне в диффузном раке желудка чаще всего была умеренной (60,5%), реже встречалась слабая гетерогенность (22,5%) и выраженная (17%). При этом частота инвазии сосудов незначительно возрастает при переходе от слабой гетерогенности (37,9%) к умеренной (46%). Резко, почти вдвое, увеличивается частота инвазии сосудов в опухолях с выраженной гетерогенностью клеточного состава (81,8%).

В кишечном типе рака желудка преобладала слабая гетерогенность опухолевых клеток (53,9%), эти случаи характеризовались низкой частотой инвазии судов (20,8%). С высокой частотой (40,5%) встречалась умеренная гетерогенность клеточного состава, в этой группе частота инвазии сосудов была несколько выше и составила 33,3%. Случаев с высокой гетерогенностью клеток было мало, всего 5 (5,6%) и в них не было инвазии сосудов.

В раке смешанного типа, как и в диффузном, чаще всего встречались случаи с умеренной гетерогенностью клеток (64,4%), значительно реже с низкой (15,6%) и высокой (20%) клеточной гетерогенностью. Так же, как и в диффузном раке, частота инвазии сосудов возрастала нерезко от слабой гетерогенности (28,6%) к умеренной (37,9%) и резко при выраженной гетерогенности (77,8%).

В нашем материале в диффузном раке желудка, чаще в глубоких слоях его, обнаруживаются опухолевые клетки, сохраняющие экспрессию цитокератинов, секрецию муцина, продукцию нейро-эндокринных гранул, но имеющие вытянутую фибробластоподобную форму. Иногда обнаруживается экспрессия виментина в них, и даже в перстневидных клетках, т.е. имеются прямые доказательства эпителиально-мезенхимальной трансформации. Опухоли с такими клетками отличаются более высокой инвазивностью.

Функциональная гетерогенность опухолевых клеток различных типов рака желудка чаще всего была умеренно выраженной. Лишь в раке желудка кишечного типа слабая гетерогенность функциональной активности опухолевых клеток по частоте приближалась к умеренной (47,2% и 48,3% соответственно). В диффузном и смешанном типе рака желудка слабая функциональная гетерогенность опухолевых клеток встречалась примерно одинаково часто (19,4% и 20%). Выраженная гетерогенность функциональной активности опухолевых клеток более часто встречалась в диффузном типе рака (24%), реже в смешанном типе (13,3%) и минимальной была ее частота в раке кишечного типа (4,5%).

При всех гистологических типах рака желудка чаще наблюдается инвазия сосудов при связывании с фукозоспецифичным лектином бобовника анагиролистного (LAL). В раке желудка кишечного типа чаще инвазия сосудов наблюдалась также при наличии в опухолевых клетках рецепторов к лектинам арахиса (PNA) и сои (SBA). В диффузном раке желудка связь с инвазией сосудов обнаружена при высоком и умеренном содержании рецепторов к лектину улитки (НРА) и лектину бузины черной (SNA).

 **Ключевые слова:** рак желудка, тканевая гетерогенность, клеточная гетерогенность, функциональная гетерогенность, инвазия сосудов.

**Annotation**

**Gulkov Y.K. Structural heterogeneity of gastric carcinoma: prognostic factor. – Manuscript.**

The dissertation is performed to obtain degree of candidate of medical science in a specialty 14.03.02 – Pathologic Anatomy. – Crimean State Medical University named after S.I. Georgievskiy MOZ Ukraine, Simferopol, 2008.

We have revealed that in intestinal type gastric carcinoma high degree tissue heterogeneity is more commonly encountered (40.5%), high degree cellular and functional heterogeneity is met rarely (5.6% and 4.5%, respectively) and vise versa mild heterogeneity is met more often on cellular (53.9%) and functional level (47.2%) and rarely on tissue level (21.3%). In diffuse type gastric carcinoma on tissue level we mainly encountered mild (48%) and moderate (49.6%) heterogeneity and very rarely high degree heterogeneity (2.4%); cellular and functional heterogeneity more often was moderate (60.5% and 56.6%, respectively), rarely mild (22.5% and 19.4%, respectively) and high (17% and 24%, respectively). In mixed type gastric carcinoma there was no mild tissue heterogeneity, in 55.6% of cases it was moderate and high in 44.4% of cases, cellular and functional heterogeneity more often was moderate (64.4% and 66.7%, respectively), and rarely mild (15.6% and 20%, respectively) and high (20% and 13.3%, respectively).

There is linkage between vascular invasion by the tumor and degree of its heterogeneity in different types of gastric carcinoma. In intestinal type gastric carcinoma the frequency of vascular invasion is low in mild (15.8%) and moderate (17.6%) tissue heterogeneity and increases to 36.1% in cases with high degree of tissue heterogeneity. There is no certain linkage between vascular invasion and cellular heterogeneity, the frequency of vascular invasion increases insignificantly form mild to moderate degree of cellular heterogeneity, and linkage is absent in cases with high degree of cellular heterogeneity. The frequency of vascular invasion increases significantly in cases with high functional heterogeneity. In diffuse and mixed types of gastric carcinoma there is no certain linkage between frequency of vascular invasion and degree of tissue heterogeneity. The frequency of vascular invasion depends on cellular and functional heterogeneity, it increases significantly in cases with high degree heterogeneity.

Also, we have revealed heterogeneity of gastric carcinoma by carbohydrate composition of mucin, produced by tumor cells, and immunohistochemical features of tumor cells, which also affect invasiveness of gastric carcinoma.

**Key words**: gastric carcinoma, tissue heterogeneity, cellular heterogeneity, functional heterogeneity, vascular invasion.

**список умовних скорочень**

ЕКД – ендокринно-клітинне диференціювання

ЕКР – ендокринно-клітинний рак

Tau – коефіцієнт нелінійної кореляції Кендалла

Ro – коефіцієнт рангової кореляції Спірмена

 Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>