

Т.Н. Туганова  
Л.С. Болгова  
Т.М. Ярошук

Национальный институт рака  
МОЗ Украины, Киев, Украина

**Ключевые слова:** рак легкого (железистый), степень дифференцировки, ядрышковые организаторы хромосом, гистогенез.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЯДРЫШКОВЫХ ОРГАНИЗАТОРОВ ХРОМОСОМ В ЭПИТЕЛИИ ПАРЕНХИМЫ ЛЕГКОГО ДЛЯ УТОЧНЕНИЯ ГИСТОГЕНЕЗА ЖЕЛЕЗИСТОГО РАКА

**Резюме.** Представлен спектр variability гистогенетических показателей альвеолярного эпителия условной нормы, эпителия с выраженной пролиферацией и клеток железистого рака легкого. Установлено, что проведенные на уровне ядрышковых организаторов исследования позволяют выявлять признаки и потенциальные возможности пролиферации, малигнизации клеток раньше их светооптических проявлений. Показан последовательный рост активности ядрышковых организаторов хромосом в процессе развития злокачественной трансформации альвеолярных клеток, что подтверждает возможность развития железистого рака легкого из эпителия альвеол.

Уточнение гистогенеза эпителиальных опухолей определяет возможность профилактических мероприятий и эффективность патогенетического лечения. Это касается и наиболее частого злокачественного заболевания у мужчин — рака легкого (РЛ) [13]. До настоящего времени гистогенез РЛ изучен недостаточно. В ряде публикаций изложены сведения о предраковых изменениях в легком (Л). По данным разных авторов, началом развития РЛ является трансформация незрелых резервных эпителиальных клеток (ЭК) [1, 2], эпителия бронхов и выстилки альвеол [3, 8], эпителия подслизистых бронхиальных желез [7]. Некоторые авторы неопределенность гистогенеза и патогенеза РЛ объясняют нестабильностью хромосомных структур ЭК [19]. Ультраструктурные исследования позволили утверждать, что наибольшую пролиферативную активность имеют пневмоциты II типа, и назвать их стволовыми клетками Л, из которых может развиваться РЛ [6]. О возможности определения признаков пролиферации и малигнизации на субклеточном уровне свидетельствуют многочисленные исследования ядрышковых организаторов (ЯОР) хромосом при доброкачественных и злокачественных опухолях различных локализаций [4, 5, 9, 10, 12, 14, 15, 17, 18]. Некоторые исследователи называют ЯОР маркерами степени злокачественности [11]. Вышеизложенные данные свидетельствуют о неоднозначной трактовке гистогенеза РЛ и о возможности его уточнения по наличию и структурным особенностям ЯОР хромосом в эпителиальной ткани паренхимы Л.

Цель работы — выявить особенности распределения ЯОР в неизменном и резко пролиферирующем альвеолярном эпителии (АЭ), а также в опухолевых клетках (ОК) железистого РЛ для уточнения гистогенеза опухоли.

### ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследованы гистологические препараты операционного материала 22 больных с железистым РЛ в возрасте от 37 до 73 лет (средний возраст — 62,0 года). Изучены морфофункциональные типы 41 025 ядрышек (Я) в 6150 ядрах клеток опухоли, пограничных с ней резко пролиферирующих участков легочной ткани, а также в неизменном АЭ, находящемся на максимальном расстоянии от опухоли. На основе размерной, количественной и пространственной характеристики аргентофильных гранул (АГ) проведена качественная интерпретация ЯОР, типирование основных морфофункциональных типов Я. Препараты изучали при окраске гематоксилином и эозином и по W. Howell, D. Black. На основании изучения особенностей распределения АГ выявляли абсолютное, процентное и общее содержание разных по степени активности ЯОР в ОК, резко пролиферирующем АЭ (РПАЭ) и эпителии условной нормы (АЭУН). На основе изучения топографии, размерной градации и процентного соотношения АГ в Я нуклеолонемного типа выявляли процентное содержание активных Я переходного — нуклеолонемно-компактного типа. Проведено также исследование количества и характера распределения внеядрышковых гранул (ВАГ). Количество исследованных Я в АЭ и ОК при умеренно и низкодифференцированном железистом РЛ представлено в таблице.

Типирование основных вариантов ЯОР проводили в соответствии с классификацией П.В. Челидзе, О.В. Зацепиной (1988г.) и рабочей схемой [12] идентификации морфофункциональных типов Я при последовательном 900- и 1440-кратном увеличении иммерсионной оптической системы светового микроскопа МБИ-15-2 и при 1000-кратном увеличе-

нии микроскопа OLYMPUS CX41. Весь исследованный материал верифицирован согласно международной гистологической классификации ВОЗ (2004 г.) [16]. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента с уровнем вероятности  $p < 0,05$ .

Таблица

Количество исследованных Я в АЭ и ОК при умеренно и низкодифференцированном железистом РЛ

| Степень дифференцировки железистого РЛ | Количество больных | Вид исследованных ЭК |       |         |       |         |       |
|--|--------------------|----------------------|-------|---------|-------|---------|-------|
|  |                    | ОК                   |       | РПАЭ    |       | АЭУН    |       |
|  |                    | ядра, n              | Я, n  | ядра, n | Я, n  | ядра, n | Я, n  |
| Умеренно дифференцированный            | 14                 | 1400                 | 11451 | 1450    | 8312  | 1250    | 6864  |
| Низкодифференцированный                | 8                  | 800                  | 6543  | 600     | 3561  | 650     | 2394  |
| ВСЕГО                                  | 22                 | 2200                 | 17994 | 2050    | 11873 | 1900    | 11158 |

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

При сравнении общего количества основных типов Я в АЭУН, РПАЭ и ОК при умеренно дифференцированном железистом РЛ отмечен широкий диапазон колебаний показателей с их наслаением в промежутке от  $6,41 \pm 0,063$  (минимальное значение показателей в ОК) до  $8,07 \pm 0,074$  (максимальное значение — в РПАЭ). Подсчет процентного содержания Я переходного типа в промежутке наслаения показателей позволяет выявлять наличие опухолевой трансформации клеток. По данным проведенных исследований, в РПАЭ этот показатель повышается до 45% ( $M = 32,00 \pm 0,024\%$ ). Активные Я компактного типа были выявлены как в ОК, так и в РПАЭ и АЭУН. Однако их среднее содержание и диапазон показателей в ОК более значительны, чем в РПАЭ и АЭУН. Наличие в последних небольшого количества активных Я компактного типа может свидетельствовать о начальном этапе малигнизации АЭ. В РПАЭ выше количество высокоактивных Я нуклеолонемного типа. Малоактивные кольцевидные Я и неактивные микроядрышки были характерны для ОК (преобладание максимальных значений, более высокое среднее содержание). Таким образом, выявлены достоверные различия в содержании и распределении основных морфофункциональных типов Я в ядрах опухолевых и пролиферирующих клеток (рис. 1, 2).

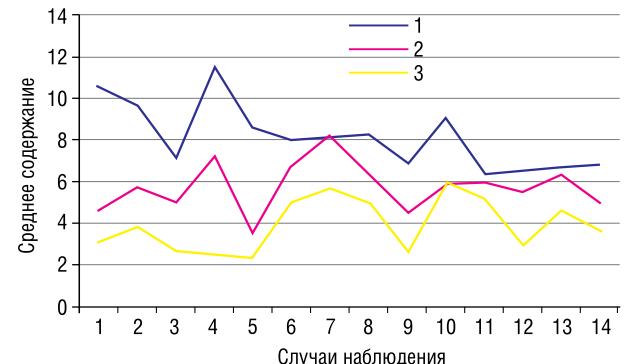


Рис. 1. Показатели морфофункциональных типов Я в ОК (1), РПАЭ (2) и АЭУН (3) при умеренно дифференцированном железистом РЛ

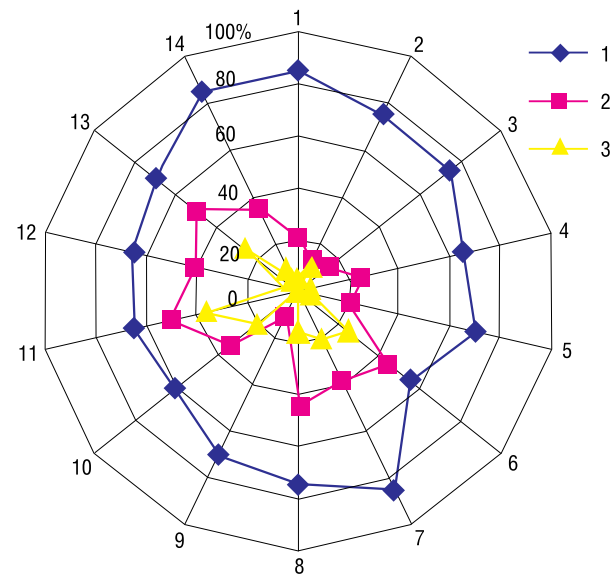


Рис. 2. Показатели высокоактивных Я переходного типа в ядрах ОК (1), РПАЭ (2) и АЭУН (3) при умеренно дифференцированном железистом РЛ: 1-14 — случаи наблюдения

При сравнении показателей в РПАЭ и АЭУН также отмечали определенное расхождение количественного соотношения, с преобладанием значений в пролиферирующем АЭ.

Кроме того, было установлено, что по мере усиления пролиферации, и особенно при злокачественной трансформации АЭ, повышается количество АГ крупных градаций от единичных крупных в АЭУН до  $28,90 \pm 0,032\%$  в ОК.

Аналогичным образом изменяется также количество клеток с умеренным содержанием ВАГ (рис. 3).

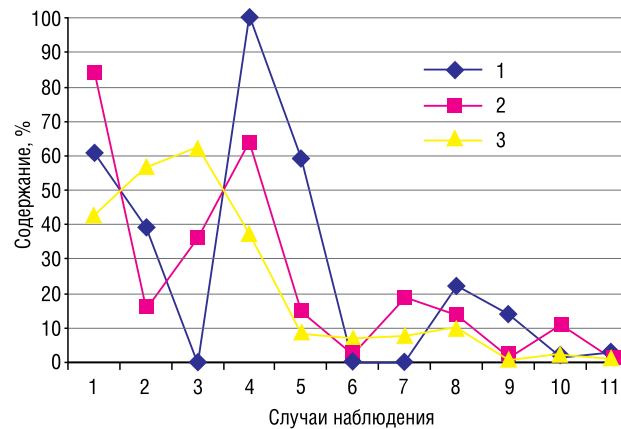


Рис. 3. Показатели ВАГ в ОК (1), РПАЭ (2), АЭУН (3) при умеренно дифференцированном железистом РЛ

Хотя в ОК и РПАЭ этот показатель находится приблизительно на одном уровне (соответственно 83,7 и 84,3%), однако в ОК ВАГ располагаются в 100% клеток неравномерно (чаще в виде узких и широких бороздок и их различных сочетаний со скоплениями и маргинальным расположением гранул), в то время как в РПАЭ сохраняется определенный процент относительно равномерного распределения (36,3%), а неравномерное расположение ВАГ (63,7%) преобладает в виде скоплений различной плотности. В АЭУН на фоне преимущественно равномерного распределения ВАГ (62,6%) появляются неравномерно располо-

женные гранулы (37,4%) в виде относительно небольшого процента бороздок, скоплений, маргинального расположения и их сочетаний. Таким образом, данные о количественном и качественном распределении ВАГ в АЭУН, РПАЭ и ОК являются объективным отражением уровня метаболических процессов, пролиферации, наличия злокачественной трансформации и также применимы для их оценки (рис.1-5).

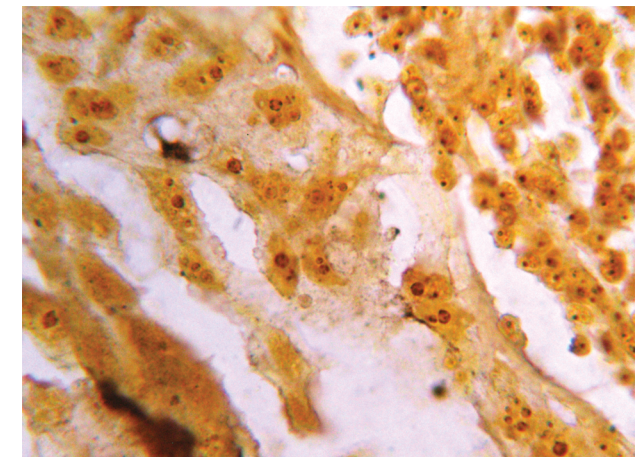


Рис. 4. Умеренно дифференцированный железистый РЛ: основные морфофункциональные типы Я. Опухолевая ткань, пролиферирующий АЭ. Окраска по W. Howell, D. Black; x1000

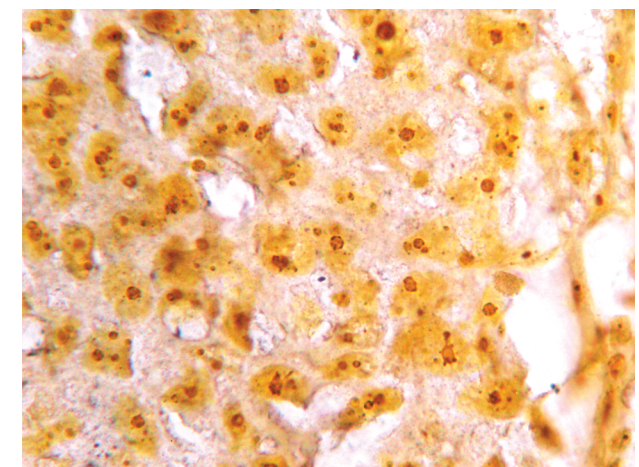


Рис. 5. Умеренно дифференцированный железистый РЛ: основные морфофункциональные типы Я в ОК. Окраска по W. Howell, D. Black; x1000

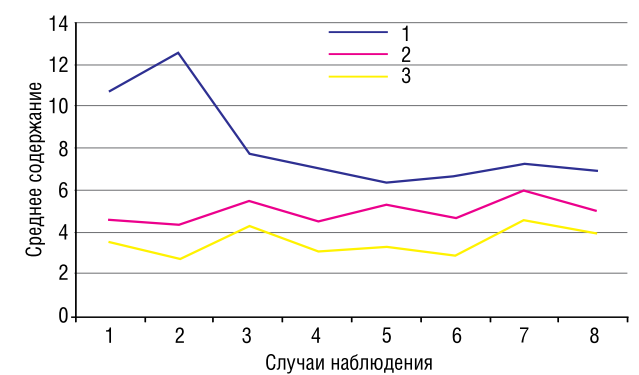


Рис. 6. Показатели основных морфофункциональных типов Я в ОК (1), РПАЭ (2) и АЭУН (3) при низкодифференцированном железистом РЛ

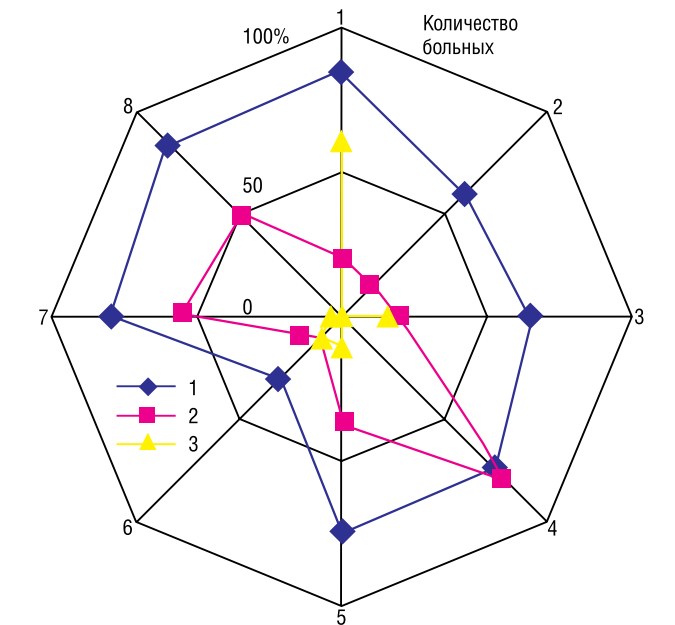


Рис. 7. Показатели высокоактивных Я переходного типа в ОК (1), РПАЭ (2) и АЭУН (3) при низкодифференцированном железистом РЛ: 1-8 случаи наблюдения

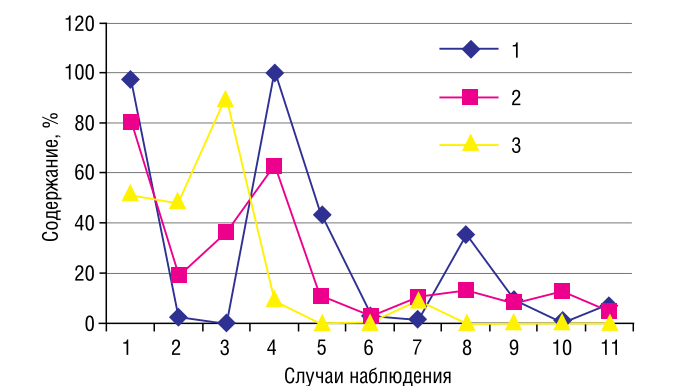


Рис. 8. Показатели ВАГ в ОК (1), РПАЭ (2) и АЭУН (3) при низкодифференцированном железистом РЛ

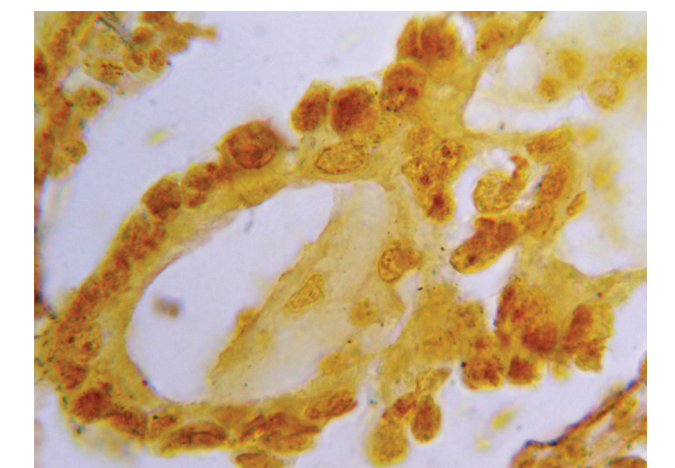


Рис. 9. Низкодифференцированный железистый РЛ: РПАЭ с признаками малигнизации. Окраска по W. Howell, D. Black; x1000

При сравнении показателей общего количества основных типов Я в АЭУН, РПАЭ и ОК при низкодифференцированном железистом РЛ отмечен более широкий диапазон колебаний зна-

чений в опухолевой ткани. В отличие от умеренно дифференцированного рака — без наслаения показателей: максимальные значения общего количества Я в РПАЭ ( $5,99 \pm 0,064$ ) достоверно ниже минимальных значений в ОК ( $6,38 \pm 0,060$ ). Подсчет процентного содержания Я переходного типа показал, что в РПАЭ данный показатель повышен до 50% ( $M = 35,3 \pm 0,018\%$ ). Активные Я компактного типа при низко дифференцированном железистом РЛ выявляются в ОК, РПАЭ и АЭУН. Диапазон их показателей и среднее содержание в клетках опухоли больше, чем в РПАЭ и АЭУН. В то же время количество нуклеолонемных Я в ОК и РПАЭ существенно не различается. В ОК повышено количество Я переходного типа. Увеличение количества Я переходного типа сопровождается при низко дифференцированном РЛ появлением компактных Я не только в ОК и РПАЭ, но и в АЭУН. Выявлено также, что по мере нарастания пролиферации, и особенно при злокачественной трансформации АЭ, повышается количество АГ крупных градаций от единичных крупных в АЭУН до  $31,2 \pm 0,062\%$  в ОК. Малоактивные кольцевидные Я и неактивные микроядрышки отличались преобладанием максимальных значений и более высоким средним содержанием в ОК. Таким образом, несмотря на достоверные различия в содержании и распределении основных морфофункциональных типов Я в ядрах ОК, РПАЭ и АЭУН, тенденция увеличения показателей активных форм Я прослеживается в последних.

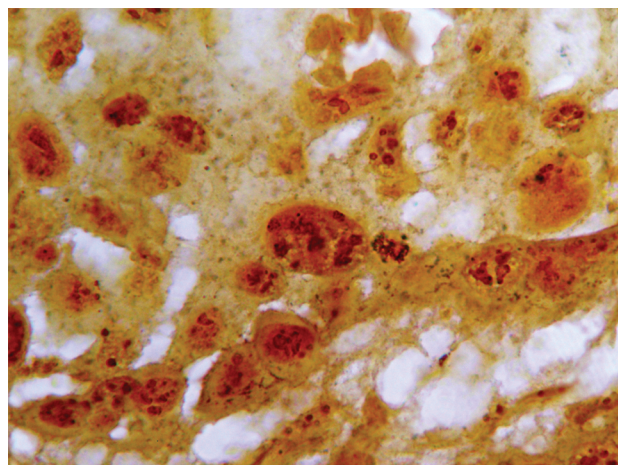


Рис. 10. Низкодифференцированный железистый РЛ: основные морфофункциональные типы Я в ОК. Окраска по W. Howell, D. Black;  $\times 1000$

По мере усиления пролиферации, появления злокачественной трансформации клеток увеличиваются также показатели умеренного содержания ВАГ с более выраженной степенью неравномерного распределения. Так, в 100% ОК ВАГ располагаются неравномерно, чаще в виде узких и широких бороздок и различных сочетаний бороздок со скоплениями и маргинальным расположением гранул, в то время как в РПАЭ сохраняется определенный процент относительно равномерного распределения (36,7%), но преобладает неравномерное расположение ВАГ (63,3%) в виде скоплений

различной плотности. Признаки злокачественной трансформации клеток в виде наличия высокоактивных компактных, нуклеолонемных и переходных типов Я и неравномерного распределения ВАГ (9,2%) выявляются и в АЭУН (рис. 6–10).

Таким образом, проведенные исследования ЯОР хромосом в ЭК паренхимы Л позволили получить объективную информацию о степени структурных и качественных изменений морфофункциональных типов Я по мере нарастания атипии в АЭ и прийти к следующим выводам.

### ВЫВОДЫ

Выявлена вариабельность ЯОР во всех клетках АЭ, начиная от морфологически неизмененных клеток до опухолевых, что подтверждает пролиферативный потенциал исследованной ткани и склонность к злокачественной трансформации. Проведенные на уровне ЯОР исследования позволяют выявлять потенциальные возможности и признаки пролиферации, малигнизации клеток раньше их светооптических проявлений.

При наслаении индивидуальных показателей основных типов Я диагностическое значение приобретает исследование высокоактивных Я переходного типа, при этом наличие единичных Я компактного и переходного типа в неизмененном АЭ отражает его переход в качественно новое, более активное состояние, потенциальную готовность к процессу малигнизации.

При сопоставлении характера распределения ВАГ в ОК, РПАЭ и АЭУН отмечено нарастание количества ядер с умеренным содержанием гранул и доминированием неравномерного их распределения (преимущественно в виде бороздок, реже — их сочетаний со скоплениями и маргинальным расположением гранул) в ОК.

Выявлена зависимость среднего количества основных типов Я в ядре от степени дифференцировки опухоли — достоверно более высокое их содержание отмечено при низкодифференцированных вариантах железистого РЛ.

Преобладающее количество неактивных (кольцевидных и микроядрышек) форм Я в клетках РЛ отражает дистрофические изменения, характерные для ОК.

Полученный спектр вариабельности гистогенетических показателей при РЛ позволяет объективно оценить динамику выявляемых в АЭ структурных изменений, отражает последовательный рост активности морфофункциональных типов Я в процессе развития злокачественной трансформации клеток, что подтверждает возможность развития РЛ из эпителия альвеол.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Аничков НМ. О патогенезе опухолевого процесса. Арх патол 1988; (1): 3–11.
2. Аничков НМ. Биомеханизмы прогрессии злокачественных опухолей. Арх патол 1989; (7): 3–10.
3. Болгова ЛС. О гистогенезе рака легкого. Онкология 1999; (3): 195–8.

4. Боташова ВС. Показатели активности ядрышковых организаторов при патологии щитовидной железы. Арх патол 2000; 62 (1): 21–4.

5. Букаева ИА, Смирнова ЕА, Павловская АИ и др. Значение аргирофильных белков области ядрышковых организаторов в разграничении доброкачественного и злокачественного роста эпителиальных опухолей щитовидной железы. Арх патол 2001; 63 (3): 15–8.

6. Загорюлько АК, Аскари ТА. Атлас ультраструктурной морфологии респираторного отдела легких. Симферополь: AZ-PRESS, CONAT, 2002. 144 с.

7. Коваленко ВЛ. Гистоэнзимологическая характеристика первичного рака легкого. Арх патол 1974; (2): 8–13.

8. Коган ЕА, Кодолова ИМ. Морфология предрака и рака легкого. — Итоги науки и техники. Серия «Патологическая анатомия», Москва: ВИНТИ 1989; (7): 84–115.

9. Корнеев ИА. Изучение ядрышкообразующих районов хромосом в карциномах мочевого пузыря. Вопр онкол 2004; 50 (4): 449–53.

10. Лебекова ЖТ, Шибанова АИ. Определение активности ядрышкообразующих зон в дифференциальной диагностике заболеваний молочной железы. Новости клин цитол России 2000; 4 (3–4): 90–2.

11. Райхлин НТ, Букаева ИА, Пробатова НА и др. Значение аргирофильных областей ядрышковых организаторов как маркеров степени злокачественности анапластической крупноклеточной лимфомы и лимфомы Ходжкина. Арх патол 2004; 66 (5): 30–5.

12. Упоров АВ, Цырлина ЕВ, Пожариский КМ. Сравнительное изучение пролиферации (по выявлению антигена Ki-67) и активности ядрышковых организаторов клеток рака молочной железы. Вопр онкол 1998; 44 (3): 316–24.

13. Федоренко ЗП, Гайсенко АВ, Гулак ЛЮ та ін. Рак в Україні, 2008–2009. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. Бюл нац канцер-реєстру України 2010; (11): 42.

14. Derenzini M, Sirri V. Nucleolar organizer regions in tumors cells. Cancer J 1994; 7 (2): 71–7.

15. Derenzini M, Trete D. AgNOR protein as a parameter of the rapidity of cell proliferation. Zbl Pathol 1994; 140 (1): 7–10.

16. Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. / Ed: WD Travis, E Brambilla, H Konrad Müller-Hermelink, CC Harris / Lyon, 2004: 10–1.

17. Guski H, Hufnagl P, Kaufmann O, et al. AgNOR analysis of atypical ductal hyperplasia and intraductal carcinoma of the breast. Anal Quant Cytol Histol 2000; 22 (3): 206–12.

18. Madeira Levi, Tarantino Affonso B, Lauzi Marco. Alqumas verdades sobre. Câncer do pulmão 1994; 109 (4): 129–31.

19. Tomida Shuta, Yatabe Yasushi, Yanagisawa Kiyoshi, et al. Throwing new light on lung cancer pathogenesis: Update on three recents topics. Cancer Sci [КЭ] 2005; 96 (2): 63–8.

### THE STUDY OF CHROMOSOMAL NUCLEOLAR ORGANIZERS IN LUNG PARENCHYMA EPITHELIUM FOR SPECIFICATION OF ADENOCARCINOMA HISTOGENESIS

T.N. Tuganova, L.S. Bolgova, T.M. Yarostchuk

**Summary.** The spectrum of variability of histogenetic indexes of alveolar epithelium of conventionally normal epithelium, epithelium with expressed proliferation, and lung adenocarcinoma is presented. It has been shown that the studies performed at the level of nucleolar organizers, allow detect the signs and potential probabilities of proliferation and cell malignization prior to their light-optic manifestations. Gradual growth of activity of chromosomal nucleolar organizers during the development of malignant transformation of alveolar cells has been demonstrated, what may support the possibility of lung adenocarcinoma development from alveolar epithelium.

**Key Words:** lung adenocarcinoma, differentiation grade, chromosomal nucleolar organizers, histogenesis.

Адрес для переписки:

Туганова Т.Н.  
03022, Киев, ул. Ломоносова, 33/43  
Национальный институт рака