

Т.Н. Туганова
Л.С. Болгова
М.Г. Махортова
О.И. Алексеенко

Институт онкологии
АМН Украины, Киев, Украина

ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ АЛГОРИТМ ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ФИБРОАДЕНОМ И РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Ключевые слова: железистый рак молочной железы, фиброаденома молочной железы, диагностический алгоритм, ядрышки, аргентофильные гранулы.

Резюме. Показаны возможности применения диагностического алгоритма цитологических исследований для проведения дифференциальной диагностики злокачественных и доброкачественных опухолей молочной железы на основе качественного типирования и количественного определения основных морфофункциональных типов ядрышек, особенностей распределения аргентофильных гранул.

ВВЕДЕНИЕ

В подавляющем большинстве цитологических исследований новообразований молочной железы (МЖ) можно установить точный морфологический диагноз с определением характера биологического процесса, гистологического типа и степени дифференцировки опухоли [8, 15, 16]. Но в некоторых наблюдениях признаки дисгерминальных гиперплазий, диспластических изменений, пролиферации эпителия при фиброаденомах (ФАД) настолько выражены, что сложно провести дифференциальную диагностику с клетками рака молочной железы (РМЖ), которым к тому же часто свойственны и дистрофические изменения [5]. В таких случаях значительным подспорьем в цитологической диагностике являются дополнительные методы исследования. Одним из них, способствующих идентификации опухолевого процесса, может служить изучение структуры ядрышек (Яд).

Известно, что анализ основных компонентов Яд, их пространственной организации и функционировании, связанных с процессами биогенеза рибосом, ядрышкообразующих регионов (ЯОР) хромосом и ассоциированными с ними негистоновыми белками, позволяет выявлять определенные различия между степенью и характером пролиферативных процессов, распознать малигнизацию. В последнее время широко применяют методику серебрения кислых негистоновых белков ЯОР хромосом, выявляемых при световой микроскопии в виде аргентофильных гранул (АГ), на основе структурной и размерной характеристики которых идентифицируются различные морфофункциональные типы Яд [7, 14]. Характер распределения АГ, их размерная характеристика являются отражением степени интенсивности внутриклеточных метаболических реакций, определенной природы патологического процесса. Так, отмечают выраженную тенденцию увеличения количества АГ при злокаче-

ственных процессах в различных тканях и органах [1, 3, 4, 6, 7, 9–14, 17, 18].

Индивидуальные особенности, различия в проявлении и характере распределения ЯОР хромосом при злокачественных и доброкачественных опухолях молочной железы (МЖ) предопределяют последовательное применение разработанного нами диагностического алгоритма цитологических исследований для более точной идентификации природы новообразований.

Цель работы — представить возможности дифференциальной цитологической диагностики доброкачественных и злокачественных процессов МЖ на основании применения диагностического алгоритма изучения ЯОР хромосом.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цитологические исследования проводили на пункционном материале больных с гистологически установленным железистым РМЖ II, III степени злокачественности (25 пациентов) и ФАД МЖ преимущественно с высокой степенью пролиферации эпителия (25 больных). Из полученного при пункции содержимого иглы и шприца отбирали макроскопически наиболее информативный материал, который наносили в виде тонкого равномерного мазка на предварительно обезжиренные предметные стекла. При изучении цитологических препаратов учитывали анамнез заболевания и особенности клинико-рентгенологических данных.

Пункционный материал изучали в окраске по методу Паппенгейма, ЯОР — в препаратах, окрашенных по методу W. Howell, D. Black (с рекомендациями Z. Likowsky, K. Smetana) в нашей модификации [2]. В каждом случае изучено по 100 опухолевых клеток, всего — более 40 000 морфофункциональных типов Яд и множество внеядрышковых АГ. На основании качественного типирования основных форм Яд согласно классификации П.В. Челидзе и О.В. Зацепиной (1988), используя разработанные на ее основе рабочие

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

схемы (рис. 1, 2), определяли их общее и среднее количество в Яд и процентное соотношение.

Краткое описание основных морфофункциональных типов Яд: компактные — большого размера (3–4 мкм), почти гомогенные, имеют развитый гранулярный аппарат, который преобладает над фибриллярным компонентом, АГ часто сливаются, вакуоли практически не определяются; нуклеолонемные — чаще большого размера (2–4 мкм), со светлым матриксом, имеют характерную нитчатую структуру, основной компонент — гранулярный, АГ распределяются по всей площади ядрышек или по полюсам, периферически; кольцевидные — мелкие (до 1 мкм), в виде кольца с оптически светлой центральной зоной фибриллярного центра, окруженного очень мелкими, точечными и пылевидными АГ; микроядрышки — мелкие (до 1 мкм и меньше) с высокой оптической плотностью из-за слияния, компактного расположения АГ, сферической и неправильной формы с относительно ровными контурами.

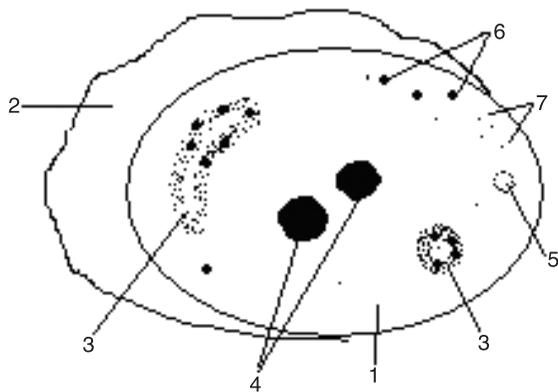


Рис. 1. Схема морфофункциональных типов Яд эпителиальных клеток МЖ, выявляемых при световой микроскопии: 1 — ядро исследуемой клетки; 2 — цитоплазма; 3 — варианты высокоактивных нуклеолонемных Яд; 4 — варианты высокоактивных компактных Яд; 5 — малоактивные кольцевидные Яд; 6 — неактивные микроядрышки; 7 — внеядрышковые АГ

При изучении топографии, размерных градаций и количественного соотношения АГ в Яд нуклеолонемного типа впервые на пункционном материале МЖ выявляли процентное содержание высокоактивных Яд переходного — нуклеолонемно-компактного типа (см. рис. 2), а также количество и характер распределения внеядрышковых гранул.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно вышеупомянутой классификации в зависимости от степени активности выделены 4 основных морфофункциональных типа Яд эпителиальных клеток. Содержание АГ в них является условно абсолютным, качественно визуализируемым числовым выражением дисперсности, дает возможность проводить оценку количества, топографии АГ и выявлять на их основе определенные типы Яд в качестве объективных показателей степени пролиферации и малигнизации клеток при ФАД и РМЖ.

В разработанной нами рабочей классификационной схеме (рис. 1) представлены основные типы Яд, которые после серебрения цитологических препаратов четко визуализируются в ядрах исследуемых клеток при световой микроскопии. Это разные варианты высокоактивных Яд нуклеолонемного типа и классические или типичные варианты высокоактивных Яд компактного типа. Кроме того, благодаря высокой разрешающей способности иммерсионной системы микроскопа, позволяющей увеличивать изображение в 1000, 1440 раз, возможна визуализация малоактивных Яд кольцевидного типа и неактивных микроядрышек. При дифференциальной диагностике пролиферативных процессов, определении степени их активности имеет значение исследование переходных вариантов высокоактивных форм от типичных нуклеолонемных до классических — компактных, так называемых нуклеолонемно-компактных Яд (см. рис. 2).

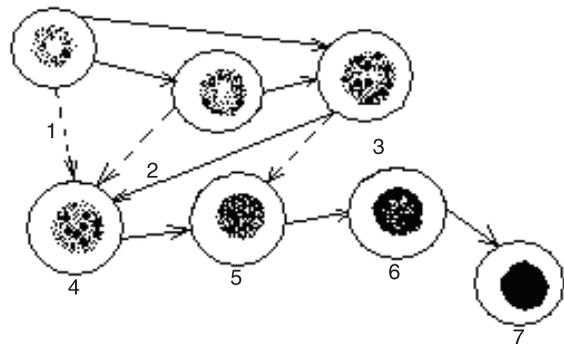


Рис. 2. Схема перехода нуклеолонемных Яд в типичные Яд компактного типа: 1 — нуклеолонемные Яд с преимущественно периферическим распределением мелких АГ; 2, 3, 4, 5, 6 — разные варианты Яд переходного типа; 7 — типичное компактное Яд

Установлено, что среднее содержание всех основных морфофункциональных типов Яд в эпителиальных клетках при ФАД достоверно ниже ($6,530 \pm 0,2800$) в сравнении с умереннодифференцированным ($9,150 \pm 0,550$) и низкодифференцированным ($12,54 \pm 0,027$) РМЖ (рис. 3–5).

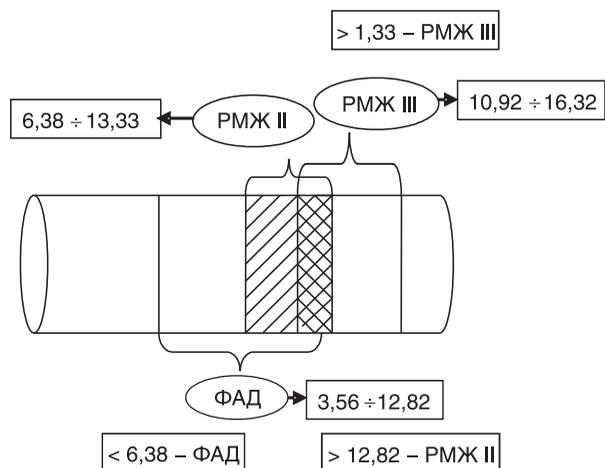


Рис. 3. Содержание основных морфофункциональных типов Яд в клетках ФАД и РМЖ II и III степени злокачественности

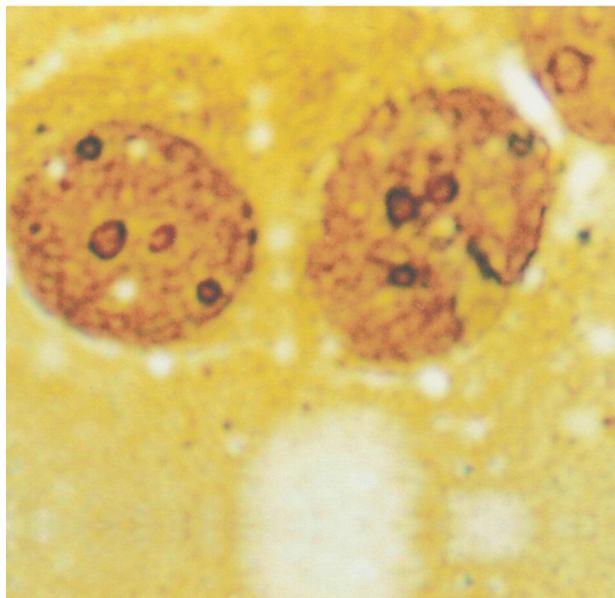


Рис. 4. Препарат пункта ФАД МЖ. Высокоактивные Яд нуклеолонемного типа с преимущественно периферическим расположением мелких, средних и единичных крупных АГ. Умеренное количество неактивных микроядрышек и внеядрышковых АГ. Модифицированный метод окраски серебром по W. Howell, D. Black. Увел. х 2500

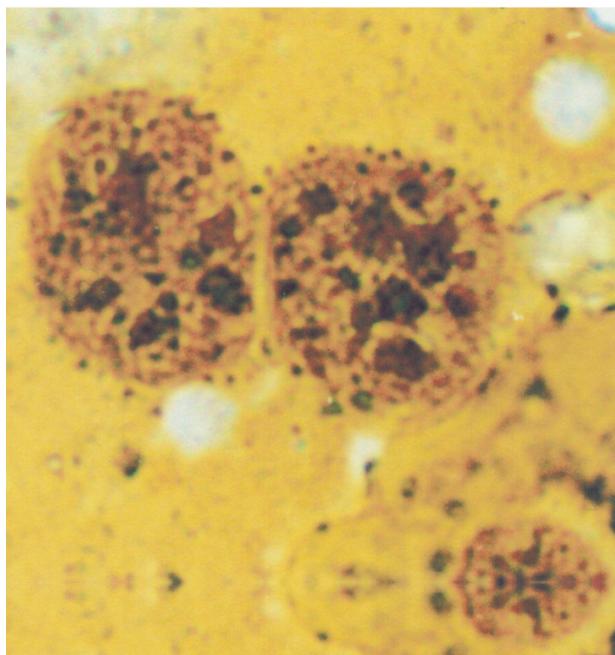


Рис. 5. Препарат пункционного материала низкодифференцированного железистого РМЖ. Высокоактивные Яд переходного и компактного типа. Значительное количество неактивных микроядрышек и внеядрышковых АГ. Модифицированный метод окраски серебром по W. Howell, D. Black. Ув. х 2500 .

Однако индивидуальные состояния данных показателей в группах исследуемых больных намного шире, что приводит к наслоению их значений (см. рис. 3). Показатели среднего содержания всех основных морфофункциональных типов Яд ниже 6,38 соответствуют доб-

рокачественному характеру процесса (ФАД), выше 12,82 и 13,33 — злокачественному (соответственно РМЖ II и III степени злокачественности) — 1-й этап алгоритма (рис. 6). Однако в интервале значений от 6,38 до 12,82 (см. рис. 3) для определения природы патологических процессов в МЖ необходимо проводить типирование и количественное исследование высокоактивных Яд компактного типа — 2-й этап алгоритма (см. рис. 6).

Установлено, что при умереннодифференцированном и низкодифференцированном железистом РМЖ показатели компактных Яд достоверно более высокие (соответственно $0,040 \pm 0,005$ (0,4%) и $0,350 \pm 0,014$ (2,8%)), чем при ФАД ($0,020 \pm 0,001$ (0,2%)). Если на данном этапе диагностики полученные показатели не позволяют определить характер патологического процесса в исследуемом цитологическом материале МЖ, необходимо перейти к исследованию среднего содержания высокоактивных Яд нуклеолонемного типа — 3-й этап диагностического алгоритма (см. рис. 6). На основании особенностей структурного распределения в них АГ (топографии АГ) выявляется определенное процентное содержание Яд переходного типа, составляющее при ФАД — 10%, при РМЖ II степени злокачественности — 65%, III степени — 72%.

При проведении дифференциальной диагностики необходимо также учитывать характер изменений размерных градаций АГ в высокоактивных нуклеолонемных Яд. Так, пылевидные гранулы характерны для ФАД, в то время как при РМЖ II, III степени злокачественности данные градации практически отсутствуют. По мере нарастания пролиферативной активности и малигнизации клеток происходит достоверное снижение содержания мелких гранул и повышение содержания гранул среднего и крупного размера, что также является дополнительным дифференциально-диагностическим признаком.

При исследовании малоактивных Яд кольцевидного типа количество их в пункционном материале ФАД составляет $1,340 \pm 0,032$ (20,5%), при РМЖ II степени злокачественности — $1,570 \pm 0,070$ (17,2%), III степени — $1,740 \pm 0,003$ (13,9%) 4-й этап диагностического алгоритма.

Показатели неактивных микроядрышек достоверно выше при РМЖ II, III степени злокачественности (соответственно $6,240 \pm 0,480$ (68,2%) и $9,140 \pm 0,030$ (72,9%)), чем при ФАД ($3,990 \pm 0,289$ (61,1%)) — 5-й этап алгоритма (см. рис. 6). При этом их количество увеличи-

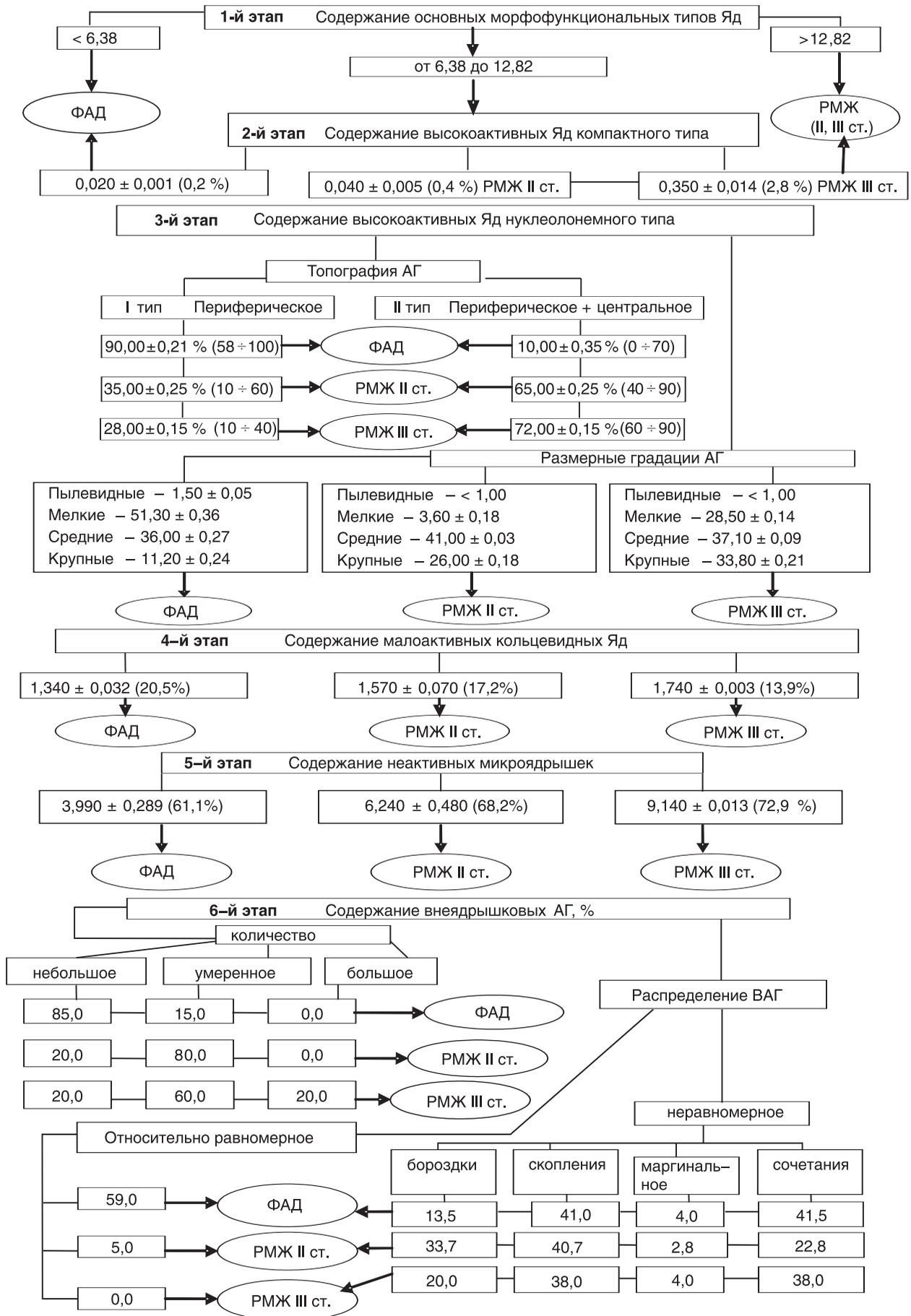


Рис. 6. Алгоритм цитологической диагностики доброкачественных и злокачественных опухолей

ваются соответственно нарастанию дистрофических изменений в клетках.

На 6-ом (заключительном (см. рис. 6)) этапе диагностического алгоритма происходит оценка количества, особенностей распределения внеядрышковых АГ, небольшое количество которых и относительно равномерное распределение характерно для доброкачественного процесса, в то время как при РМЖ преобладает умеренное количество и неравномерное распределение в виде сочетания бороздок, скоплений и маргинального расположения.

Таким образом известная сложность дифференциальной цитологической диагностики злокачественных и доброкачественных опухолей МЖ с выраженной пролиферацией эпителиальных клеток обосновала необходимость использования дополнительных методических приемов. Одним из них является изучение структуры ядрышек и ЯОР. В специальной литературе есть единичные исследования, посвященные изучению общего количества Яд и АГ в ядрах клеток железистого эпителия МЖ, содержание которых выше при злокачественных заболеваниях МЖ, чем при доброкачественных [7]. Однако авторы не изучали морфофункциональные типы Яд. В данном исследовании мы не только их идентифицировали, но и по АГ выделили переходные нуклеоломно-компактные их формы и изучили внеядрышковые АГ в ядре, что позволило выявить четкие отличительные особенности этих показателей в эпителиальных клетках ФАД и РМЖ, и на основании этого разработать алгоритм дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований МЖ.

ВЫВОДЫ

1. В наблюдениях, сложных для дифференциальной цитологической диагностики злокачественных и доброкачественных опухолей МЖ по рутинным методам окраски, целесообразно применять цитогенетический метод, который позволяет на основе объективной и последовательной интерпретации показателей морфофункциональных типов Яд определить степень пролиферации и малигнизацию исследуемых эпителиальных клеток.

2. Установлено, что количество высокоактивных Яд компактного типа при РМЖ II и III степени злокачественности достоверно выше, чем при пролиферирующих ФАД.

3. Процентное содержание высокоактивных нуклеоломно-компактных типов Яд повышается по мере нарастания степени проли-

ферации эпителия при ФАД (10,0%) и степени злокачественности при умереннодифференцированном (65%) и низкодифференцированном (72%) железистом РМЖ.

4. При определении природы новообразований МЖ диагностическое значение имеет уточнение содержания различных размерных градаций АГ гранул в Яд нуклеолономного типа; при этом средние и крупные АГ преобладают при РМЖ, а гранулы мелких, точечных и пылевидных градаций — при ФАД.

5. Последовательно проведенные в соответствии с разработанным диагностическим алгоритмом цитологические исследования качественного типирования и количественного определения основных морфофункциональных типов Яд позволяют объективно выявить степень пролиферативной активности и злокачественной трансформации эпителия МЖ и более точно на качественно высоком уровне установить морфологический диагноз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болгова ЛС, Лобода ВИ, Туганова ТН. Ядрышковые организаторы в процессе малигнизации бронхиального эпителия. Цитол и генет 1998; 32 (1–2): 79–82.
2. Болгова ЛС, Туганова ТН, Кузина ИС. Модификация окраски по W. Howell, D. Black на выявление ядрышкообразующих регионов хромосом при лимфолиферативных заболеваниях. N Д-26735. Рукопись депонирована в ГЦНМБ (Россия) 20.04.01.www SCS MU. PSSi – 24.
3. Боташова ВС. Показатели активности ядрышковых организаторов при патологии щитовидной железы. Арх патол 2000; 62 (1): 21–4.
4. Бучинская ЛГ, Полищук ЛЗ. Районы ядрышкового организатора в клетках эндометрия при железистой гиперплазии и раке. Эксперим онкология 2001; 23 (3): 157–60.
5. Головин ДИ. Атлас опухолей человека (гистологическое строение). Ленинград: Медицина, 1975. 319 с.
6. Дубровский АЧ, Клюкина ЛБ. Зоны организаторов ядрышка и митотическая активность неходжкинских лимфом. Арх патологии 1997; 59 (1): 25–30.
7. Лебекова ЖТ, Шибанова АИ. Определение активности ядрышкоорганизующих зон в дифференциальной диагностике заболеваний молочной железы. Новости клин цитол России 2000; 4 (3–4): 90–2.
8. Мельник АН. Цитоморфологическая диагностика опухолей. Киев: Здоров'я, 1983. 240 с.
9. Туганова ТН. Гранулярный аппарат нуклеолономных ядрышек незрелых лимфоидных клеток при лимфолиферативных заболеваниях. Клиническая лабораторная диагностика 2003; (7): 23–4, 33–4.
10. Туганова ТН, Болгова ЛС, Алексеенко ОИ. Цитогенетические показатели в дифференциальной диагностике пролимфоцитарных лимфом и доброкачественных лимфолиферативных заболеваний. Онкология 2003; 5 (1): 14–9.
11. Туганова ТН, Болгова ЛС, Махортова МГ, Алексеенко ОИ. Морфофункциональные типы ядрышек в цитологической диагностике фиброаденом и рака молочной

ной железы. Новости клин цитол России 2004; **8** (1–2): 27–30.

12. Туганова ТН, Болгова ЛС, Алексеенко ОИ, Мажортова МГ. Качественные и структурные особенности проявления ядрышкообразующих регионов хромосом в клетках рака молочной железы. Цитол и генет 2005; **39** (4): 57–63.

13. Упоров АВ, Цирлина ЕВ, Пожариский КМ. Сравнительное изучение пролиферации (по выявлению антигена Ki-67) и активности ядрышковых организаторов клеток рака молочной железы. Вопросы онкологии 1998; **44** (3): 316–24.

14. Фролова ОЕ. Морфофункциональная характеристика моноцитов. Значение исследования нуклеолярного аппарата (обзор литературы). Клин лаб диагност 1998; (10): 3–8.

15. Цитологическая диагностика опухолей и предопухолевых процессов. Под ред АС Петровой. Москва: Медицина, 1985. 304 с.

16. Шабалова ИП, Джангирова ТВ, Волченко НН, Пугачев КК. Цитологический атлас: Диагностика заболеваний молочной железы. Москва, Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2005. 119 с.

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

18. Ceccarelli C, Trere D, Santini D, *et al.* AgNORs in breast tumors. Micron 2000; **31** (2): 143.

DIAGNOSTIC ALGORITHM OF CYTOLOGIC EXAMINATION OF FIBROADENOMAS AND BREAST CANCER

*T.N. Tuganova, L.S. Bolgova,
M.G. Makhortova, O.I. Alekseenko*

Summary. *The paper describes the prospects of the application of an diagnostic algorithm for cytologic examinations in differentiated diagnostics of malignant and benign breast tumors based on qualitative typing and quantitative assessment of the main morphofunctional types of nuclei and distribution patterns of argentophilic granules.*

Key Words: glandular breast cancer, breast fibroadenoma, diagnostic algorithm, nuclei, argentophilic granules.

Адрес для переписки:

Болгова Л.С.
03022, Киев, ул. Ломоносова, 33/43
Институт онкологии АМН Украины