

# ПАТОМОРФОЛОГІЯ

© Ніколенко Д. Є.

УДК 618.193-006.6-07-091.8

Ніколенко Д. Є.

## ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ МАРКЕРИ p63 ТА $\alpha$ -SMA В ДІАГНОСТИЦІ НЕІНВАЗИВНОГО ПРОТОВОКОВОГО РАКА МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Вищій державний навчальний заклад України

«Українська медична стоматологічна академія»

(м. Полтава)

Дана робота виконана в рамках Угоди про науково-практичне співробітництво між Дніпропетровською державною медичною академією і Вищим державним навчальним закладом України «Українська медична стоматологічна академія», № державної реєстрації 0101U4001002.

**Вступ.** Рак молочної залози (РМЗ) продовжує залишатись у світі однією з найбільш частих пухлин у жінок. В Україні він складає за рік до 60 випадків на 100 тис. жіночого населення, при цьому летальність 2/3 хворих виникає на фоні прогресування хвороби, незважаючи на лікування [3,4,6]. Останнє обумовлено тим, що діагностика РМЗ відбувається частіше на 2-3 стадіях розвитку, ускладнених наслідками інвазивного росту пухлини, появою віддалених метастазів. Досконала патоморфологічна діагностика РМЗ суттєво знизить ступінь інвалідизації пацієнтів при своєчасному лікуванні.

Визначення морфологічних змін базальної мембрани канцеризованої протоки молочної залози, як передумови до радикального лікування пацієнта із злоякісною неоплазією, складає певні труднощі. Останнє виникає через надто малу товщину базальної мембрани проток даної залози, що складає близько 1 мкм [2, 10, 12] та обумовлює нечіткість її обрисів при спостереженні у світловому мікроскопі.

Сучасна медична наука при патоморфологічних дослідженнях пропонує орієнтуватися на клітинний склад вистелки протоки МЗ. Для клітинного типування останнього є інформативним каріометричне дослідження [5]. Разом з цим виявлені імуногістохімічні маркери стійкої верифікації клітинних елементів, які не зникають в них навіть за умов неопластичної трансформації [7, 11].

**Мета дослідження.** За допомогою комплексного морфологічного дослідження з'ясувати клітинний склад вистелки протоки МЗ в нормі і порівняти останній з елементами вистелки стінки канцеризованої протоки залози з патоморфологічно встановленою неінвазивною формою росту протокового раку молочної залози.

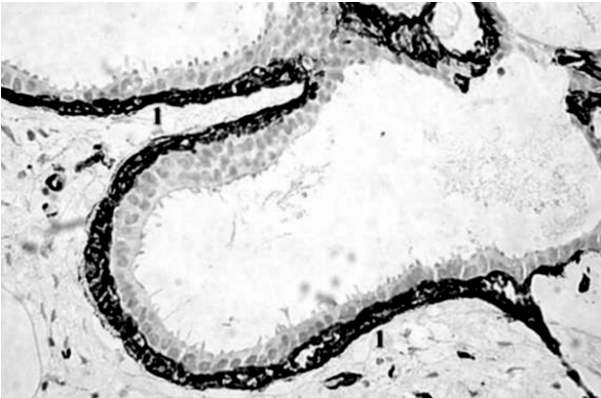
**Об'єкт і методи дослідження.** Вивчали серійні зрізи гістологічних препаратів товщиною 5-6 мкм, забарвлені гематоксиліном та еозином за загальноприйнятою методикою, архівного матеріалу Полтавського обласного патологоанатомічного бюро – 14 випадків захворювань на РМЗ із верифікованою псевдопапілярною формою даної неоплазії (жінки від 30 до 70 років), 8 випадків аутопсійного матеріалу тканини нелактуючої молочної залози (жінки від 20 до 40 років).

Дослідження проведено з дотриманням основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2008 рр.), а також наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Імуногістохімічні реакції виконані на парафінових зрізах товщиною 4-5 мкм з використанням антитіл згідно протоколів рекомендованих фірмою – виробником моноклональних антитіл та додатковим фарбуванням гематоксиліном Майєра в сертифікованій лабораторії патологоанатомічного бюро (м. Дніпропетровськ). Використані первинні моноклональні мишачі антитіла до маркеру базальних клітин проток – p63 (клон 4A4, 1:100, Dako, Данія) і до маркеру мікрофіламентів міоепітеліальних клітин проток –  $\alpha$ -sma (клон 1A4, 1:50, Dako, Данія). Система візуалізації – EnVision (Dako, Данія).

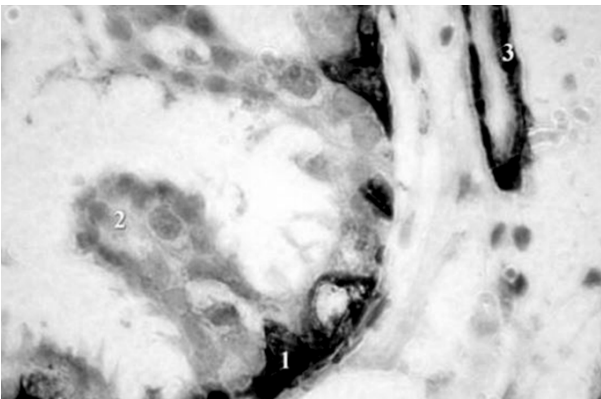
Маркер p63 – індикатор малодиференційованих клітин, їх стовбурових варіантів в ході ембріогенезу, та камбіальних клітин ектодермального походження. Переважне місце його експресії – ядра клітин. Маркер  $\alpha$ -sma виявляє гладком'язовий актин в цитоплазмі гладком'язових клітин, в тому числі міоепітелії молочної залози [7, 11].

Вивчення забарвлених мікропрепаратів проведено за допомогою світлового мікроскопу фірми «Olympus BX 41» з об'єктивами x10, x20, x40, x100. Фотозйомка здійснена цифровою фотокамерою



**Рис. 1. Експресія  $\alpha$ -sma епітелієм міжчасточкової протоки молочної залози. ІГХ реакція, дофарбування гематоксиліном Майєра. 36. x 200:**

1- базальнорозташовані клітини з вираженою цитоплазматичною експресією маркера.



**Рис. 2. Експресія  $\alpha$ -sma в сосочкових вегетаціях канцеризованої протоки молочної залози. ІГХ реакція, дофарбування гематоксиліном Майєра. 36. X1000:**

1- клітина, що експресує маркер до гладком'язового актину;  
2- відсутня експресія маркера в неопластичних вегетаціях;  
3- позитивна реакція ендотелію судин до маркера.

фірми «Olympus С 3040-А DAP» до мікроскопу з використанням програми «Олимпус ДП Софт».

Каріометричне дослідження проведено згідно рекомендацій Автандилова Г. Г., (1990); Jacobi W., (1935).

#### Результати досліджень та їх обговорення.

Комплексним патоморфологічним методом досліджений епітеліальний склад вистелки міжчасточкового відділу протоки молочної залози і порівняний з виявленим раніше [9] її малігнізованим гістогенетичним еквівалентом – псевдопапілярним типом протокового РМЗ. Встановлений гістогенетичний зв'язок даної форми пухлини з вставними клітинами протоки, що експресують маркери р63 і  $\alpha$ -sma епітеліальною вистелкою канцеризованої протоки в пухлині. Остання також виявляє ознаки часткового диференціювання клітин наявністю мікрворсинки на апікальній поверхні.

Морфологічна цілісність вистелки міжчасточкової протоки в нормі деталізована каріометричним,

гістохімічним та імуногістохімічним методами. Подальший ядерний клас клітин міжчасточкової протоки з LgV 0,9 належав епітелію з мікрворсинками на апікальній поверхні, що мав негативну експресію р63. Епітелій протоки з LgV ядра 0,75 має кутасту форму, розташований безперервним шаром вздовж базальної мембрани протоки, експресує р63, та виявляє вміст гладком'язового актину з  $\alpha$ -sma (рис. 1). Останній, на нашу думку, відноситься до міоепітелію, котрий за даними вітчизняної літератури [2] описаний лише в альвеолярній частині молочної залози. Насамкінець, епітелій протоки МЗ з LgV ядра 0,55 має парабазальне розташування, експресує маркер р63, виднесений до резервного.

При комплексному дослідженні псевдопапілярної форми росту внутрішньопотокового РМЗ виявлене порушення ритмічного росту клітин у вигляді LgV ядер 0,55; 0,9; 1,05 та 1,45, спостерігаються чисельні фігури патологічних мітозів. Незначна частина клітин епітеліальної вистелки атипичних сосочків канцеризованої протоки зберігає ознаки диференційованої форми похідного епітелію у вигляді мікрворсинчастих структур на апікальній поверхні. Клітини кутастої форми, що експресують маркери р63 та  $\alpha$ -sma мають переривчасте розташування на відміну від аналога у нормі (рис. 2), що, на наш погляд, створює передумови для подальшої інвазійної форми росту даної неоплазії. Разом з цим спостерігаються атипичні папілярні вегетації в стінці канцеризованої протоки, спрямовані до її просвіту.

На порушення цілісності епітеліального шару вистелки протоків передміхурової залози, як передумови інвазивного росту її пухлини, вказує і Е. О. Левицький (2007).

Пропонується для визначення цілісності базальної мембрани канцеризованої протоки МЗ, відсутності інвазивного росту внутрішньопотокового РМЗ користуватися сироваткою до гладком'язового актину  $\alpha$ -sma та р63, контуруючих шар глядком'язових клітин.

Таким чином, на підставі проведеного сучасного комплексного морфологічного дослідження епітеліальної вистелки стінки протоки МЗ та її гістогенетичного неопластичного еквіваленту – псевдопапілярної форми протокового РМЗ можна зробити наступні висновки:

1. Епітеліальна вистелка міжчасточкових протоків молочної залози в нормі складається з трьох видів епітелію: базальнорозташованого міоепітелію, парабазальнорозташованого – резервного епітелію, та контактуючого з просвітом протоки – мікрворсинчастого епітелію.

2. Імуногістохімічні маркери р63 та  $\alpha$ -sma дозволяють виключити наявність інвазивного росту протокового раку МЗ у разі утворення безперервного шару маркованими клітинами.

**Перспективи подальших досліджень.** Вивчити ознаки відсутності інвазивного росту пухлини при інших морфологічних варіантах протокового рака молочної залози.

## Література

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия: Руководство / Автандилов Г. Г. – М. : Медицина, 1990. – С. 240-260.
2. Афанасьев Ю. И. Гистология, цитология и эмбриология: Учебник / Афанасьев Ю. И., Юрина Н. А., Котовский Е. Ф. – М. : Медицина, 1999. – С. 138 – 155.
3. Билынский Б. Т. Рак молочной железы как общемедицинская проблема / Б. Т. Билынский // Международный медицинский журнал. – 2002. – № 4. – С. 11–117.
4. Волченко Н. Н. Внутривидовый рак молочной железы / Н. Н. Волченко // Архив патологии. – 2000. – № 2. – Т. 62. – С. 22 – 26.
5. Голубев О. А. Морфометрические и иммуногистохимические маркеры прогрессии рака молочной железы / О. А. Голубев, С. Ю. Абросимов, О. А. Шистерова // Архив патологии. – 2001. – № 4. – Т. 63. – С. 57 – 60.
6. Захарцева Л. М., Чешук В. Е., Майструк Г. П. Рак молочной железы: как обеспечить в Украине надлежащее качество диагностики и лечения? / Л. М. Захарцева, В. Е. Чешук, Г. П. Майструк // Здоров'я України. – 2007. – № 6 (163). – С. 56–57.
7. Заридзе Д. Г. Канцерогенез / Подред. Д. Г. Заридзе. – М. : Медицина, 2004 – 576с.
8. Левицький Е. О. Сучасні алгоритми діагностики пухлин передміхурової залози. Монографія. – Житомир: «Полісся», 2007. – С. 50 – 64.
9. Ніколенко Д. Є. Особливості сосочкового типу внутрішньопроктового раку молочної залози в аспекті онтогенезу / Д. Є. Ніколенко // Актуальні проблеми сучасної медицини. Полтава, 2009. – Т. 9. – вип. 2 (26). – С. 168-172.
10. Barbara Young, James S. Lowe, Alan Stevens, John W. Heath. Wheather's Functional Histology. A Text and Color Atlas. Fifth edition. Churchill Livingstone. Elsevier. 2006. – P. 70.
11. Jacobi W. Uber das rhythmisches Waschtum der Cellen durch Verdoppelung ihres volumens / W. Jacobi // Arch. Entwicklungsmech. – 1935. – Bd. 10. – S. 124 -126.
12. Luiz Carlos Junqueira, Jose Carneiro. Basic histology. Tenth Edition. The McGraw-Hill Companies. 2003. – P. 69-70.

УДК 618. 193-006. 6-07-091. 8

### **ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ МАРКЕРИ p63 ТА a-SMA В ДІАГНОСТИЦІ НЕІНВАЗИВНОЇ ПРОТОВОЇ КАРЦІНОМИ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ**

**Ніколенко Д. Є.**

**Резюме.** Мета даного дослідження – пошук морфологічних критеріїв виключення інвазивного росту протокового раку молочної залози. Встановлено, що маркером цілісності стінки канцеризованої протоки молочної залози може слугувати базальнорозташований епітелій, експресуючий маркери a-sma та p63 у разі його безперервного розташування. Шар клітин, що вистеляють міжчасточкову протоку залози складається з мікрворсинчастого, резервного та міоепітелію.

**Ключові слова:** молочна залоза, неінвазивний протоковий рак, імунні маркери.

УДК 618. 193-006. 6-07-091. 8

### **ИМУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ p63 И a-SMA В ДИАГНОСТИКЕ НЕИНВАЗИВНОЙ ФОРМЫ ПРОТОВОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

**Ніколенко Д. Є.**

**Резюме.** Цель данного исследования – поиск морфологических критериев исключения инвазивного роста внутривидового рака молочной железы. Установлено, что маркером целостности стенки канцеризованного протока молочной железы может служить базальнорасположенный эпителий, который экспрессирует иммуногистохимические маркеры a-sma и p63 при условии его непрерывного расположения. Слой клеток, выстилающий междольковый проток молочной железы, состоит из микроворсинчатого, резервного и миоэпителия.

**Ключевые слова:** молочная железа, неинвазивный протоковый рак, иммунные маркеры.

UDC 618. 193-006. 6-07-091. 8

### **Immunohistochemical Markers p63 and a-sma in Diagnostics of Non-Invasive Ductal Carcinoma of Mammary Gland**

**Nikolenko D.**

**Abstract. Objective.** To search and compare peculiarities of duct lining cellular composition of both healthy mammary gland duct and pathomorphological diagnosed non-invasive ductal carcinoma.

**Results.** There is high level of morbidity associated with mammary gland cancer among women in the world. In addition, in Ukraine there is a tendency to the elevation of death rate among women (up to 60 the occurrence of cancer per 100 thousandths of female population) caused by the neoplasia which, in its turn, is connected with late diagnostics and complications of the tumor invasive grow.

Investigation of mammary duct cell composition in case of both norma and tumor of mammary gland is realized on the histologic specimen from the Poltava regional pathology anatomy department archives. All the material was examined by means of histochemical (hematoxylin-eosin-stained sections) and immunohistochemical (immunohistochemical staining with p63 and a-sma) methods, histological samples were prepared from certain

preparations. Photographies of histological slides were taken with digital camera and microscope «Olympus» company.

The following variants of the normal mammary gland duct epithelium were found in the women of 20 – 40 years old: myoepithelium, reserve and microvillous epithelium. Mathematical investigation has showed rhythmical cells growth in form of cell nucleus LgV 0,55; 0,75; 0,9. Myoepithelium is characterized with continuous basal disposition as well as p63 and a-sma expression. Reserve epithelium is located in parabasal region of the mammary gland duct and expresses p63. Microvillous epithelium doesn't express p63 and a-sma, it characterizes with microvillous structures on it apical surface.

Integrated study of pseudopapillary intraductal carcinoma has revealed disturbance in intermittent cells growth in form of cell nucleus LgV 0,55; 0,9; 1,05; 1,45. For the tumor version among the variants of malignant duct epithelium cells expresses features of derivative epithelium are found. Those are microvillous cells and myoepithelium shows p63 and a-sma expression. Last ones noncontinuous located in contrast to their normal analog. On our opinion, these factors play important role in following tumor invasive growth.

*Conclusions.* Thus, modern complex morphological investigation of both epithelial lining of mammary gland duct and its hystogenetic neoplastic equivalent – pseudopapillary form of ductal mammary gland carcinoma permits us to do following conclusions:

Epithelial layer of interlobular mammary gland ductules consists of three kinds of cells. Those are microvillous cells, reserve epithelium and basal situated myoepithelium.

It is possible to use immunohistochemical markers p63 and a-sma in presses of mammary gland cancer invasive growth exclusion provided that marked cells compose uninterrupted epithelial layer.

*Prospects for further research.* To explore absence invasive tumor growing characters in other morphological alternate version of ductal mammary gland carcinoma.

**Keywords:** mammary gland, non-invasive ductal carcinoma, immune markers.

*Рецензент – проф. Гасюк А. П.*

**Стаття надійшла 19. 08. 2014 р.**