

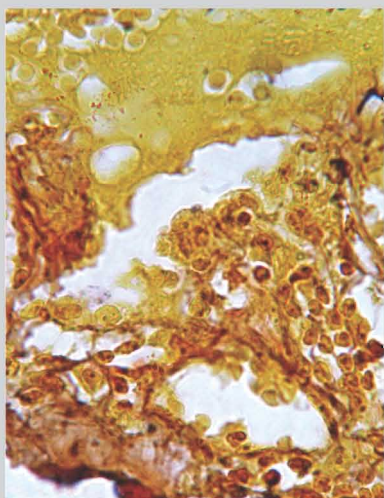
Национальный институт рака, Киев

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ЭПИТЕЛИЯ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО



Т.Н. Туганова, Л.С. Болгова

Туганова Тамара Николаевна
03022, Киев, Ломоносова, 33/43
Национальный институт рака
Тел.: 380 (44) 257-51-59



Ключевые слова: легкие, плоскоклеточный рак, альвеолярный эпителий, ядрышки, малигнизация.

Цель — выявить цитогенетические показатели эпителия альвеол в процессе малигнизации. Изучены морфофункциональные типы ядрышек, окрашенные по W. Howell, D. Black, в клетках альвеолярного эпителия условной нормы, с признаками пролиферации, малигнизации на гистологических препаратах 17 больных. Полученные данные отражают качественные и количественные изменения основных типов ядрышек, нарастающих по мере усиления пролиферации, злокачественной трансформации при плоскоклеточном раке легкого.

Высокая заболеваемость раком легкого (РЛ) у мужчин и возрастающая — у женщин ставит задачи по более эффективной диагностике и лечению этого недуга. Изучение гистогенеза РЛ может способствовать решению вопросов снижения заболеваемости, ранней диагностики и повышения эффективности лечения. В то же время, аспекты гистогенеза РЛ остаются во многом проблематичными и неоднозначными, требующими обоснования и уточнения на уровне морфологических и цитогенетических исследований. Сравнительное изучение процессов пролиферации, злокачественной трансформации эпителиальной ткани легкого и опухолевых клеток позволит более глубоко изучить различные морфологические проявления развития опухоли [8].

Применяемый в последнее время метод выявления ассоциированных с ядрышками аргентофильных белков позволяет проводить дифференциальную диагностику доброкачественных и злокачественных процессов, выявлять степень пролиферации и малигнизации [2–4, 11–14]. Функциональная активность ядрышкового аппарата, являющаяся отражением транскрипции рибосомных генов, различных процессов пролиферации и дифференцировки клеток, проявляется в изменении количественной и качественной характеристики, в распределении ядрышкообразующих регионов (ЯОР) хромосом и самих ядрышек [6]. Изучение структурных особенностей ЯОР хромосом, варибельности их проявления в неизменном эпителии, при процессах пролиферации и малигнизации в легком позволит не только выявить качественные

и количественные различия ядрышек, но и проследить определенную динамику выявляемых в них изменений в процессе злокачественной трансформации [1–18].

Цель — провести сравнительное исследование цитогенетических показателей эпителия альвеол в процессе малигнизации при плоскоклеточном РЛ.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследованных гистологических препаратах операционного материала плоскоклеточного РЛ идентифицировали ядрышкового аппарат, определяли морфофункциональные типы ядрышек в трех основных полях зрения — в зоне условной нормы, за которую был принят неизменный альвеолярный эпителий (АЭ), находящийся на определенном расстоянии от опухоли, в пролиферирующем АЭ (ПАЭ) и в клетках опухолевой ткани (ОТ). При этом проводили качественное типирование основных морфофункциональных типов ядрышек — компактных, нуклеолонемных, кольцевидных и микроядрышек, исследовали их количественный состав и процентное соотношение. Изучен материал гистологических препаратов 17 больных с морфологическим диагнозом умеренно- и низкодифференцированного плоскоклеточного РЛ. Исследование ЯОР проведено в гистологических препаратах с Ag-положительными гранулами после реакции серебрения, что позволило на основании особенностей их распределения уточнить абсолютное, процентное и общее содержание различных по степени активности морфо-

функциональных типов ядрышек. Проведена качественная и количественная характеристика 28 311 ядрышек. Из них 15 047 ядрышек исследовано в 1740 ядрах ОТ, 10 107 – в 1600 ПАЭ и 3157 ядрышек в 700 ядрах клеток АЭ в неизменных альвеолах (табл. 1).

Выявлено распределение высокоактивных ядрышек переходного типа в ОТ, ПАЭ и неизменном АЭ.

То, что содержание ядрышек являлось условно абсолютным числовым выражением визуально воспринимаемых аргентофильных гранул, определенным образом расположенных в пределах ядрышек и вне их – по внеядрышковой поверхности, не препятствовало их оценке в качестве объективного показателя степени пролиферации и злокачественной трансформации исследуемых клеток [7].

Гистологические препараты окрашивались гематоксилином и эозином. Для выявления ЯОР проводили окраску серебром по W. Howell, D. Black. ЯОР хромосом исследовали в соответствии с классификацией П.В. Челидзе, О.В. Зацепиной (1988) и схемой идентификации морфофункциональных типов ядрышек [12] при 1000-кратном увеличении иммерсионной системы светового микроскопа OLYMPUS CX 41.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием t-критерия Стьюдента ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Установлено, что в опухолевых клетках больных с диагнозом умереннодифференцированного плоскоклеточного РЛ общее количество морфофункциональных типов ядрышек варьировало в среднем от $6,62 \pm 0,077$ до $10,34 \pm 0,148$ в ядре ($M = 8,05 \pm 0,018$) (табл. 2, рис. 1–4). Из них высокоактивные ядрышки компактного типа определяли в некоторых ядрах опухолевых клеток в среднем от $0,03 \pm 0,008$ до $0,19 \pm 0,012$ ($M = 0,10 \pm 0,001$), нуклеолонемного типа – от $1,21 \pm 0,012$ до $1,60 \pm 0,020$ ($M = 3,37 \pm 0,002$), малоактивные кольцевидные ядрышки – от $1,11 \pm 0,008$ до $2,91 \pm 0,048$ ($M = 1,49 \pm 0,002$) и неактивные микроядрышки – от $6,45 \pm 0,136$ до $7,45 \pm 0,160$ ($M = 5,08 \pm 0,004$).

При сравнении данных показателей с аналогичными показателями в ядрах ПАЭ легкого полученные колебания значений общего содержания ядрышек в ядре в среднем от $4,34 \pm 0,04$ до $9,49 \pm 0,131$ ($M = 5,69 \pm 0,026$), компактных ядрышек –

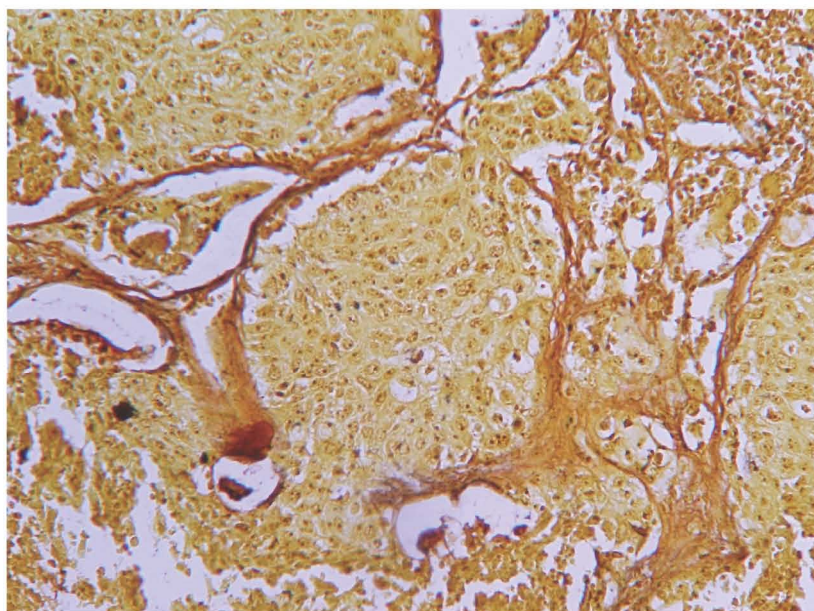


Рис. 1. Препарат умереннодифференцированного плоскоклеточного РЛ. Основные морфофункциональные типы ядрышек. Окраска по W. Howell, D. Black; x200

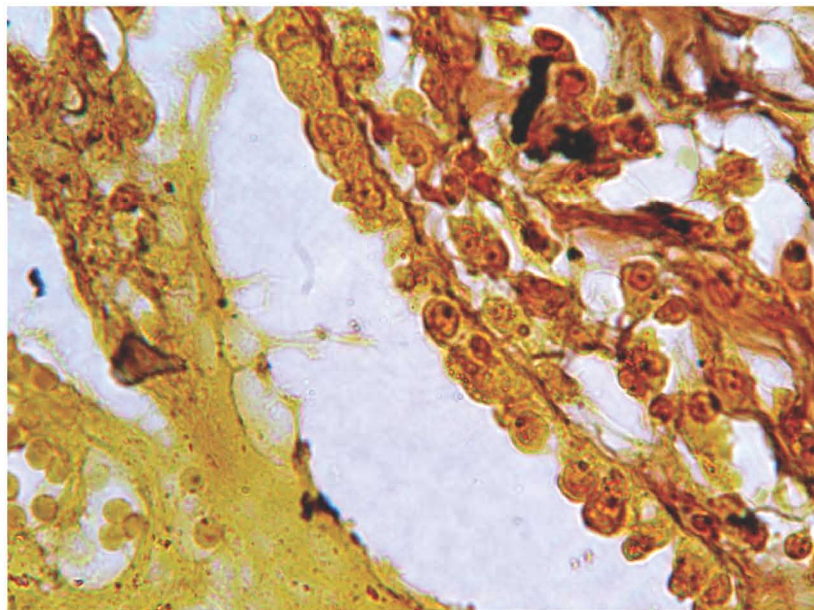


Рис. 2. Препарат умереннодифференцированного плоскоклеточного РЛ. Участок пролиферирующего АЭ. Окраска по W. Howell, D. Black; x1000

от 0 до $0,04 \pm 0,004$ ($M = 0,02 \pm 0,001$), нуклеолонемных – от $1,09 \pm 0,008$ до $1,52 \pm 0,020$ ($M = 1,27 \pm 0,001$), малоактивных кольцевидных – от $1,101 \pm 0,008$ до $1,69 \pm 0,024$ ($M = 1,28 \pm 0,003$) и неактивных микроядрышек – от $1,005 \pm 0,020$ до $6,61 \pm 0,112$ ($M = 3,11 \pm 0,032$). При этом отмечено перекрытие числовых значений индивидуальных показателей основных

типов ядрышек, в то время как среднее их содержание в пределах исследуемых групп достоверно выше в опухолевых клетках. Выше также показатели активных ядрышек компактного типа и среднее их содержание в клетках опухоли.

Количество нуклеолонемных ядрышек в опухолевых и пролиферирующих клетках варьирует в пределах прибли-

Таблица 1. Общее количество исследованных ядер и ядрышек в ОТ, ПАЭ и неизменном АЭ легкого при плоскоклеточном РЛ

Гистологический тип РЛ	ОТ		ПАЭ		АЭ (условная норма)	
	Количество исследованных					
	ядер	ядрышек	ядер	ядрышек	ядер	ядрышек
Умереннодифференцированный плоскоклеточный РЛ	1200	9657	1150	7397	300	1523
Низкодифференцированный плоскоклеточный РЛ	540	5390	450	2710	400	1634
ВСЕГО	1740	15 047	1600	10107	700	3157

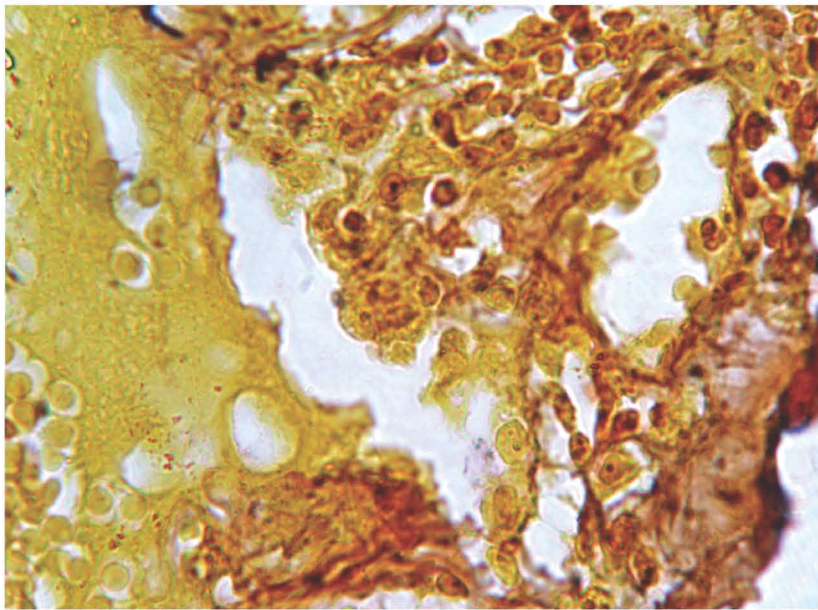


Рис. 3. Препарат умереннодифференцированного плоскоклеточного РЛ. Переход АЭ с выраженными признаками пролиферации в опухолевые клетки. Окраска по W. Howell, D. Black; x1000

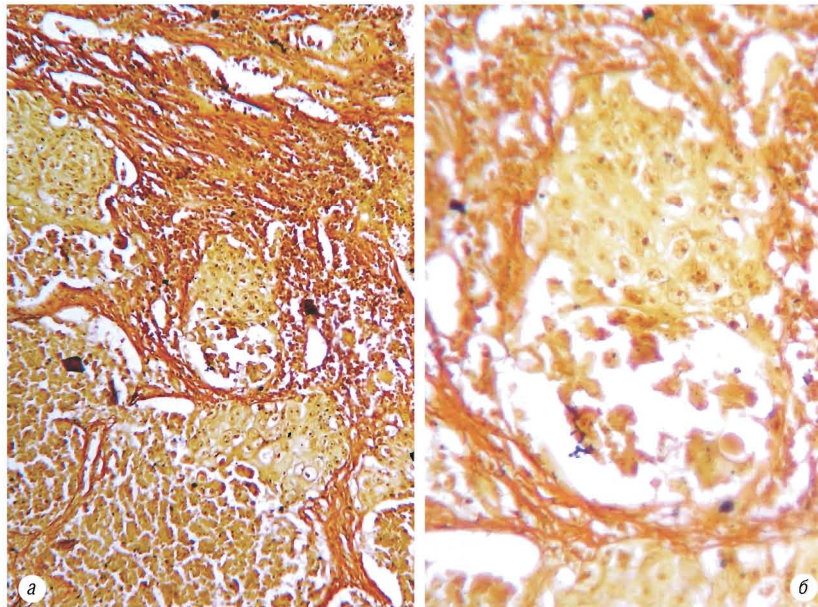


Рис. 4. Препарат умереннодифференцированного плоскоклеточного РЛ. Рост опухоли в альвеолах, ПАЭ. Окраска по W. Howell, D. Black; x100 (а); x200 (б)

зительно равных показателей, тогда как среднее их содержание достоверно выше в клетках опухоли. При сравнении количества малоактивных ядрышек кольцевидного типа выявлено, что, несмотря на более высокое максимальное значение вариационного ряда в пролиферирующем эпителии, среднее их содержание выше в клетках опухоли. Неактивные микроядрышки опухолевых клеток отличались превалированием показателей максимальных значений и более высоким средним содержанием. Полученные различия в содержании и распределении основных морфофункциональных типов ядрышек в ядрах опухолевых и пролиферирующих клеток являются основанием для каче-

ственной оценки исследуемого эпителия по материалам групп больных. В пределах исследуемых групп пациентов возможны как колебания, так и наложение числовых значений, а сами показатели основных типов ядрышек имеют гетерогенный характер. При индивидуальной оценке среднего содержания ядрышек установлено, что показатели минимальных значений в среднем от $4,34 \pm 0,041$ в ПАЭ до $6,62 \pm 0,077$ — в ОТ и максимальных значений в очень небольшом диапазоне показателей в среднем от $9,49 \pm 0,131$ в ПАЭ до $10,3 \pm 0,148$ в клетках ОТ, имеют конкретные отличия, вне которых происходит перекрытие числовых значений показателей, не позволяющее

дифференцировать характер изменений клеток. Подобное перекрытие показателей происходит и при подсчете каждого отдельного типа ядрышек, при этом диапазон корректных значений невелик. Это вызывает необходимость поиска дополнительных критериев злокачественной трансформации, объективно отражающих индивидуальные проявления качественных изменений морфофункциональной структуры исследуемых ядрышек опухолевой и пролиферирующей ткани. Одним из дополнительных критериев является количественное определение активных ядрышек переходного типа. Установлено, что процентное содержание ядрышек переходного типа в ПАЭ не превышает $57,2\%$ при колебании значений от $20,0$ до $57,2\%$ при $M=32,7 \pm 0,186\%$, в то время как в ОТ минимальное содержание составляет 65% при варьировании показателей от 5 до 95% при $M=76,2 \pm 0,150\%$. Таким образом, показатели ядрышек переходного типа свыше 65% характерны в наших наблюдениях для клеток умереннодифференцированного плоскоклеточного РЛ.

В неизменном АЭ, принятом за условную норму, ядрышки компактного типа отсутствовали, нуклеолонемные — варьировали в среднем от $1,04 \pm 0,006$ до $1,20 \pm 0,0012$ ($M=1,09 \pm 0,001\%$), кольцевидные — от $0,24 \pm 0,030$ до $1,24 \pm 0,018$ ($M=0,78 \pm 0,005\%$), микроядрышки — от $1,28 \pm 0,030$ до $3,29 \pm 0,048$ ($M=2,12 \pm 0,010\%$), общее количество основных типов ядрышек в ядре — от $3,54 \pm 0,060$ до $4,10 \pm 0,019$ ($M=3,78 \pm 0,003\%$). Для АЭ было характерно отсутствие ядрышек переходного типа.

Исследование гистологических срезов низкодифференцированного плоскоклеточного РЛ показало, что в данной группе больных все средние показатели морфофункциональных типов ядрышек также были достоверно выше по сравнению с таковыми в ПАЭ и АЭ без патологических изменений. Но, если в препаратах умереннодифференцированного РЛ в определенном диапазоне отмечали совпадение показателей общего количества ядрышек, то в препаратах низкодифференцированного РЛ выявлена четкая градация, согласно которой максимальные показатели ПАЭ ($5,78 \pm 0,115$) значительно ниже минимальных показателей в ОТ ($7,05 \pm 0,136$) (рис. 5, 6). При сравнении с умереннодифференцированным в ядрах низкодифференцированного РЛ повышено как общее количество ядрышек, так и отдельных их типов — компактных ($M=0,15 \pm 0,002\%$), кольцевидных ($M=1,75 \pm 0,006\%$) и микроядрышек ($M=6,33 \pm 0,048\%$), в отличие от ядрышек нуклеолонемного типа, содержание которых выше при умеренной степени дифференцировки плоскоклеточного рака. При сопоставлении индивиду-

Таблица 2. Показатели основных морфофункциональных типов ядрышек в гистологических препаратах плоскоклеточного РЛ различной степени дифференцировки (n=17), (M±m)

Компактные ядрышки	Нуклеолонемные ядрышки	Кольцевидные ядрышки	Микроядрышки	Общее количество ядрышек в ядре
Плоскоклеточный умереннодифференцированный РЛ (опухолевые клетки), n=12				
0,10±0,001	3,37±0,002	1,49±0,001	5,08±0,004	8,05±0,018
1,5±0,010%	17,3±0,035%	18,7±0,070%	62,6±0,103%	
Плоскоклеточный умереннодифференцированный РЛ (пролиферирующий АЭ)				
0,02±0,001	1,27±0,001	1,28±0,003	3,11±0,032	5,69±0,026
0,5±0,004%	22,9±0,064%	23,7±0,099%	49,7±0,131%	
Плоскоклеточный умереннодифференцированный РЛ (АЭ – условная норма)				
–	1,09±0,001	0,78±0,005	2,12±0,010	3,78±0,003
	22,0±0,021%	20,4±0,134%	50,5±0,143%	
Плоскоклеточный низкодифференцированный РЛ (опухолевые клетки), n=5				
0,15±0,002	1,43±0,004	1,75±0,006	6,33±0,048	9,69±0,045
1,8±0,013%	15,1±0,071%	18,7±0,142%	64,3±0,222%	
Плоскоклеточный низкодифференцированный РЛ (пролиферирующий АЭ)				
0,02±0,002	1,26±0,003	1,22±0,012	2,41±0,009	4,92±0,022
0,5±0,006%	26,3±0,117%	23,9±0,195%	49,2±0,119%	
Плоскоклеточный низкодифференцированный РЛ (АЭ – условная норма)				
–	1,18±0,009	0,72±0,008	2,00±0,009	4,05±0,012
	28,9±0,200%	21,7±0,127%	49,0±0,161%	

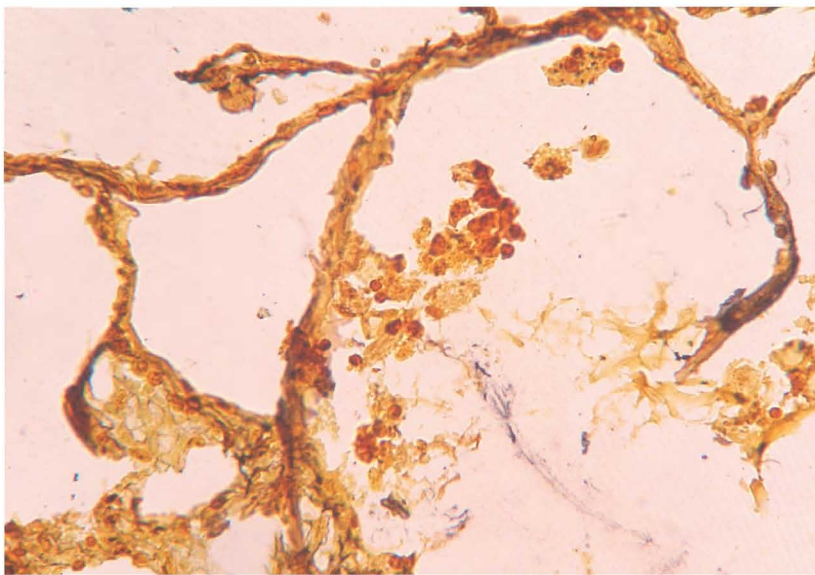


Рис. 5. Препарат умереннодифференцированного плоскоклеточного рака легкого. Непосредственно исходящие от базальной мембраны опухолевые клетки. Окраска по W. Howell, D. Black; x400

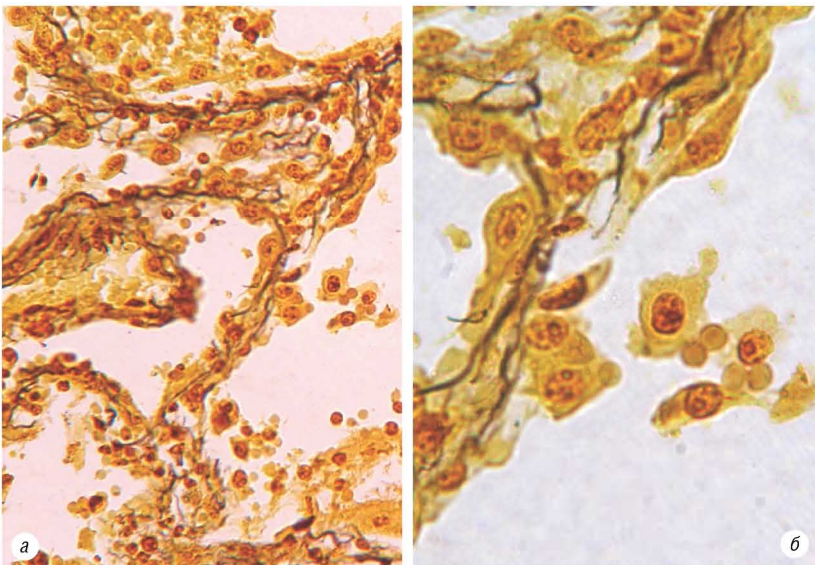


Рис. 6. Препарат умереннодифференцированного плоскоклеточного рака легкого. Среди пролиферирующего альвеолярного эпителия единичные опухолевые клетки, растущие от базальной мембраны. Окраска по W. Howell, D. Black; x200 (а); x1000 (б)

альных показателей основных типов ядрышек, которые проявляли определенную гетерогенность распределения основных морфофункциональных типов ядрышек в неизменном АЭ, ПАЭ и ОТ в пределах исследуемой группы, отмечали некоторую идентичность полученных количественных значений. В данных наблюдениях четко дифференцировать наличие и степень злокачественной трансформации АЭ помогает определение процентного содержания высокоактивных ядрышек переходного типа, которое в низкодифференцированном плоскоклеточном РЛ варьировало от 60,0 до 80% (M=70,4±0,200%), в ПАЭ — от 10,0 до 30,0% (M=16,7±0,200%), АЭ без патологических изменений — от 0 до 10,0% (M=2,5±0,100%). Прослеживается определенная тенденция распределения ядрышек переходного типа, согласно которой их показатели повышаются по мере перехода от неизменного АЭ, условно принятого за норму, к АЭ, проявляющему признаки различной степени пролиферации, и к злокачественно трансформированному эпителию — ОТ легкого.

При исследовании высокоактивных ядрышек переходного типа в ОТ, ПАЭ и АЭ условной нормы также выявлены значительные различия с максимальными показателями в клетках опухоли (рис. 7).

Таким образом, результаты проведенных исследований отразили индивидуальный и вариабельный характер распределения морфофункциональных типов ядрышек в неизменной ткани и ОТ легкого. Полученные данные позволяют судить не только о степени структурных изменений морфофункциональных типов ядрышек, но и их увеличении по мере усиления пролиферативных процессов и проявлений злокачественной трансформации АЭ легкого.

Выявленные изменения цитогенетических показателей АЭ условной нормы, эпителия с различной степенью пролиферации и ОТ отразили последовательный

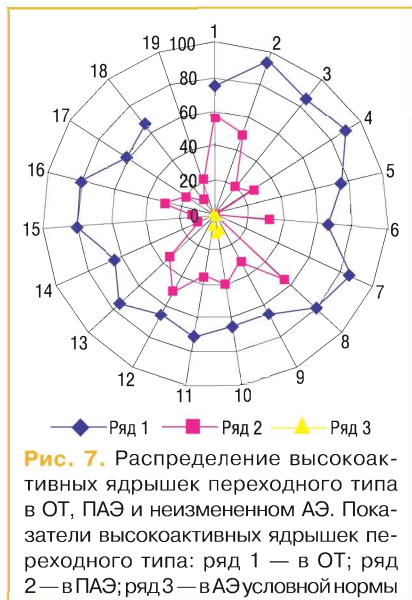


Рис. 7. Розподілення високоактивних ядрішків перехідного типу в ОТ, ПАЕ і незміненому АЕ. Показатели високоактивних ядрішків перехідного типу: ряд 1 — в ОТ; ряд 2 — в ПАЕ; ряд 3 — в АЕ умовної норми

рост активності морфофункціональних типів ядрішків в процесі розвитку злоякісної трансформації кліток.

Выводы

Установлено, що рівень середніх значень числа морфофункціональних типів ядрішків підвищується по мірі наростання процесів проліферації, малигнізації АЕ і являється максимальним в клітках РЛ, послідовально відображає ступінь опухолівої трансформації.

Активні ядрішки компактного типу не виявляються в АЕ без морфологічних змін, вони з'являються в ПАЕ (0,02±0,001), в клітках ОТ їх значення більше — при умірній ступені диференції (0,10±0,001), низької (0,15±0,002).

При порівнянні показателів двох досліджуваних груп плоскоклітинного РЛ з різним ступенем диферен-

ції злоякісним потенціалом опухолі встановлено певні особливості основних морфофункціональних типів ядрішків, які проявилися в переобладнанні показателів їх загального вмісту (M=9,69±0,045%), а також ядрішків компактного (M=0,15±0,002%), кільцевого (M=1,75±0,006%) типу і мікроядрішків (M=6,33±0,048%) в ядрах кліток низкодиференційованого плоскоклітинного РЛ порівняно з показателями помірно диференційованого плоскоклітинного РЛ, відповідно — M=8,05±0,018; M=0,10±0,001; M=1,49±0,001; M=5,08±0,004.

Відсоток вмісту високоактивних ядрішків перехідного типу значно вище в ОТ низької (76,2±0,150) і помірної (70,4±0,200) ступені диференції, чим, відповідно, в ПАЕ — (32,7±0,186) і (16,7±0,200).

Наявність окремих активних ядрішків перехідного і компактного типу в незміненому АЕ свідчить про можливість виявлення цитогенетичних ознак проліферації раніше світлооптичних, а потенціальних можливостей проліферації і, не виключається, малигнізації.

Порівняльне дослідження основних морфофункціональних типів ядрішків дозволяє об'єктивно оцінити динаміку виявляються структурних змін в процесі проліферації, малигнізації АЕ і в ОТ легкого.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боташова В.С. (2000) Показатели активности ядрішковых организаторов при патологии щитовидной железы. Архив патологии, 62(1): 21–24.
2. Букаева И.А., Смирнова Е.А., Павловская А.И. и соавт. (2001) Значение аргирофильных белков области ядрішковых организаторов в разграничении доброкачественного и злокачественного роста эпителиальных опухолей щитовидной железы. Архив патологии, 63(3): 15–18.
3. Бучинская Л.Г., Полищук Л.З. (2001) Районы ядрішкового организатора в клетках эндометрия при железистой гиперплазии и раке. Экспериментальная онкология, 23(3): 157–160.

4. Галахин К.А., Лобода В.И., Логинова Е.А. (2002) Значение активности ядрішковых организаторов в диагностике предраковых изменений бронхиального эпителия. Матер. 3 научно-практич. конф. «Проблемы онкогенетики: научные и прикладные аспекты. 23–24 мая, Киев, Украина. В. 4: 11–12.
5. Исакова Л.М., Джевадова И.В. (2001) Структурно-функциональные особенности ядрішковых образующих районов интерфазных ядер клеток при гематобластазах. Цитология и генетика, 6: 55–63.
6. Корнеев И.А. (2004) Изучение ядрішкообразующих районов хромосом в карциномах мочевого пузыря. Вопросы онкологии, 50(4): 449–453.
7. Лебекова Ж.Т., Шибанова А.И. (2000) Определение активности ядрішкообразующих зон в дифференциальной диагностике заболеваний молочной железы. Новости клинической цитологии России, 4(3–4): 90–92.
8. Петров С.В., Райхлин Н.Т. (2004) Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / Под ред. С.В. Петрова, Н.Т. Райхлина. 3-е изд. Казань: 38–54.
9. Райхлин Н.Т., Букаева И.А., Пробатова Н.А. и др. (2004). Значение аргирофильных областей ядрішковых организаторов как маркеров степени злокачественности анапластической крупноклеточной лимфомы и лимфомы Ходжкина. Архив патологии, 66(5): 30–35.
10. Райхлин Н.Т., Букаева И.А., Баронин А.А. и др. (2002) Экспрессия аргирофильных белков областей ядрішкового организатора как показатель степени зрелости, доброкачественных и злокачественных опухолей надпочечника. Архив патологии, 64(3): 26–31.
11. Туганова Т.Н., Болгова Л.С., Алексеенко О.И. (2003) Цитогенетические показатели в дифференциальной диагностике пролимфоцитарных лимфом и доброкачественных лимфолифферативных заболеваний. Онкология, 5(1): 14–19.
12. Туганова Т.Н., Болгова Л.С., Махортова М.Г. и др. (2004) Морфофункциональные типы ядрішків в цитологической диагностике фиброаденом и рака молочной железы. – Новости клинической цитологии России, 8(1–2): 27–30.
13. Упоров А.В., Цырлина Е.В., Пожариский К.М. (1998) Сравнительное изучение проліферації (по выявлению антигена Ki-67) и активности ядрішковых организаторов клеток рака молочной железы. Вопросы онкологии, 44(3): 316–324.
14. Guski H., Hufnagl P., Kaufmann O. et al. (2000) AgNOR analysis of atypical ductal hyperplasia and intraductal carcinoma of the breast. Anal. and Quant. Cytol. and Histol., 22(3): 206–212.
15. Derenzini M., Sirri V. (1994) Trere Nucleolar organizer regions in tumors cells. Cancer J., 7(2): 71–77.
16. Derenzini M., Trere D. (1994) AgNOR protein as a parameter of the rapidity of cell proliferation. Zbl. Pathol., 140(1): 7–10.
17. Madeira Levi., Tarantino Affonso B., Lauzi Marco. (1994) Alqumas verdades sobre câncer do pulmão, 109(4): 129–131.
18. Monrad W.A., Erkman-Balis B., Livingston S. et al. (1992) Argyrophilic nucleolar organizer regions in breast carcinoma. Cancer, 69(6): 1739–1744.

Порівняльні дані цитогенетичних показників альвеолярного епітелію та пухлинних клітин при плоскоклітинному раку легені

Т.М. Туганова, Л.С. Болгова

Національний інститут раку, Київ

Резюме. Мета — виявити цитогенетичні показники епітелію альвеол у процесі малигнізації. Вивчені морфофункціональні типи ядерців, пофарбовані за W. Howell, D. Black, в клітинах альвеолярного епітелію умовної норми, з ознаками проліферації та малигнізації на гістологічних зрізах 17 хворих. Отримані дані відображають якісні та кількісні зміни основних типів ядерців, які зростають у міру підвищення проліферації, злоякісної трансформації при плоскоклітинному раку легені.

Ключові слова: легені, плоскоклітинний рак, альвеолярний епітелій, ядерця, малигнізація.

Comparative study of cytogenetic indexes of alveolar epithelium and tumor cells of squamous cell lung cancer

T.N. Tuganova, L.S. Bolgova

National cancer institute, Kiev

Summary. The aim of the work was to reveal cytogenetic indexes of alveolar epithelium during the process of malignization. Using histologic tissue slides of conventionally normal tissue with the signs of proliferation and malignization from 17 patients, morphofunctional types of nucleoli in the alveolar epithelial cells stained by W. Howell, D. Black have been studied. The obtained data reflect the qualitative and quantity changes of the main types of nucleoli that became more expressed along with increase of proliferation and malignant transformation of squamous cell lung cancer.

Key words: lung, squamous cell carcinoma, alveolar epithelium, nucleoli, malignization.