

УДК 618.146-007.17-076.5

Т.Н. Туганова

## ЯДРЫШКОВЫЕ ОРГАНИЗАТОРЫ В ЭПИТЕЛИИ ШЕЙКИ МАТКИ С ПРИЗНАКАМИ СЛАБОЙ И УМЕРЕННОЙ ДИСПЛАЗИИ

Научно-исследовательская лаборатория  
клинической цитологии,  
Национальный институт рака, г. Киев

Цитологическое исследование является одним из важнейших этапов в выявлении самых ранних стадий развития диспластических процессов и рака шейки матки. Часто, когда клинически заболевание еще не проявляется, цитологическое исследование позволяет морфологически верифицировать диспластические изменения разной степени выраженности. В то же время изучение цито-гистологических сопоставлений свидетельствует об определенной сложности при диагностике дисплазий шейки матки разной степени [5]. При этом неоднозначно клиническое значение слабо выраженных внутриэпителиальных изменений. У большинства женщин они исчезают без лечения, у части — персистируют, а у 15% — прогрессируют во внутриэпителиальный рак [6, 8].

Слабовыраженная дисплазия является и одним из наименее воспроизводимых цитологических диагнозов. В то же время, установленный на основе максимально объективного выявления всех характерных цитоморфологических признаков диагноз слабой дисплазии предопределяет тактику врача, направленную на тщательное наблюдение за пациенткой. Применение дополнительных методов исследования диспластических процессов направлено на расширение диагностических возможностей цитологического метода. Так, определенные закономерности количественной и качественной вариабельности ядрышкового аппарата, связанные с активацией рибосомальных генов, отражают не только пролиферативную активность при различных диспластических изменениях, но и проявления признаков ранней малигнизации, начального этапа злокачественной трансформации клеток [1, 9–11, 13, 14].

Цель исследования — изучить степень количественных и структурных изменений ядрышковых организаторов (ЯО) при слабой и умеренной дисплазии плоского эпителия шейки матки.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выявления структурных особенностей ядрышек препараты окрашивали азотнокислым серебром по модифицированной методике Howell W., Black D. [3, 12]. Аргирофилия ЯО, являясь своеобразным цитохимическим маркером активных зон, прямо пропорциональна потенциальной активности ядрышка, а интенсивность окраски указывает на степень функциональной активности клетки.

Исследование основных вариантов ЯО проводили в соответствии с классификацией П.В. Челидзе, О.В. Зацепиной (1988) и рабочей схемой идентификации морфофункциональных типов ядрышек при 1000-кратном увеличении иммерсионной системы светового микроскопа OLYMPUS CX 41 [4, 7]. Результаты исследования статистически обработаны с использованием t-критерия Стьюдента с уровнем вероятности  $p < 0,05$  [2].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучен материал 34 больных с признаками слабой (16) и умеренной (18) дисплазии плоского эпителия шейки матки. Проведено качественное типирование морфофункциональных типов ядрышек (5402) в 520 ядрах клеток с проявлениями слабой дисплазии (2133) и основных типов ядрышек в 850 ядрах клеток плоского эпителия с признаками умеренной (3269) дисплазии в мазках из шейки матки (табл. 1).

В результате проведенных исследований установлено, что в плоском эпителии с признаками слабой дисплазии визуально воспринимаемое среднее содержание всех выявляемых морфофункциональных типов ядрышек в ядре составило  $4,10 \pm 0,059$  при варьировании данных показателей от  $2,60 \pm 0,047$  до  $4,90 \pm 0,046$ . Компактные ядрышки в ядрах клеток плоского эпителия с дисплазией легкой степени преимущественно отсутствовали и были выявлены лишь в трех случаях. Поэтому их показатели варьировали

Количество качественно типированных ядрышек в зависимости от степени дисплазии плоского эпителия

Вид эпителия	Степень дисплазии	Количество больных	Количество ядер	Количество качественно типированных ядрышек
Плоский эпителий	Слабая	16	520	2133
Плоский эпителий	Умеренная	18	750	3269
ВСЕГО		34	1270	5402

от 0 до  $0,20 \pm 0,110$  при ( $M=0,01 \pm 0,002$ ; 0,2%). Среднее содержание нуклеолонемных ядрышек составило  $1,470 \pm 0,074$ , при варьировании показателей от  $1,000 \pm 0,110$  до  $1,820 \pm 0,024$ ; (36,0%). Содержание малоактивных кольцевидных ядрышек варьировало от  $0,08 \pm 0,024$  до  $1,60 \pm 0,220$  ( $M=1,00 \pm 0,057$ ; 24,4%), неактивных микроядрышек — от  $1,25 \pm 0,024$  до  $2,20 \pm 0,056$  ( $M=1,62 \pm 0,064$ ; 39,4%). У 75,4% исследуемых ядрышек нуклеолонемного типа гранулы располагались периферически, в 24,6% — периферически и центрально, образуя высокоактивные ядрышки переходного типа. Преобладало содержание мелких гранул (62,3%). Гранулы пылевидных (точечных) градаций составили 4,1%, средних — 28,9%; крупных — 4,7%.

Внеядрышковые гранулы (ВАГ) выявлялись в умеренном (63,5%) и небольшом (36,5%) количестве, распределялись преимущественно равно-

мерно (86,9%), значительно реже — неравномерно (13,1%) в виде скоплений (7,5%), бороздок (3,8%) и сочетания скоплений и бороздок (1,8%) (табл. 1, 2; рис. 1, 3).

Общее содержание морфофункциональных типов ядрышек в ядре клеток с умеренной дисплазией, при сравнении со слабой, варьирует в интервале более высоких показателей — от  $3,17 \pm 1,230$  до  $5,40 \pm 0,132$ , соответственно, выше и среднее значение данного индекса ( $M=4,360 \pm 0,083$ ) в эпителии с умеренной дисплазией. При качественном типировании содержание компактных ядрышек в ядрах умеренно измененных диспластических клеток варьировало также в пределах от 0 до  $0,2 \pm 0,012$ , но среднее содержание данной формы ядрышек в пределах исследуемой группы при умеренной дисплазии было выше ( $M=0,020 \pm 0,023$ ; 0,6%). Индексы ядрышек нуклеолонемного типа

Таблица 2

Показатели основных морфофункциональных типов ядрышек плоского эпителия с признаками слабой дисплазии ( $M \pm m$ ); %

Количество больных	Количество клеток	Компактные ядрышки	Нуклеолонемные ядрышки (количество, распределение, размерная градация аргентофильных гранул (%))	Кольцевидные ядрышки	Микроядрышки	Общее количество основных типов ядрышек, среднее содержание в ядре	Внеядрышковые аргентофильные гранулы, количество, распределение (%)
16	520	4 $0,010 \pm 0,003$ $0,200 \pm 0,010\%$	767 $1,47 \pm 0,074$ $36,000 \pm 0,123\%$ п — 75,4; п+ц — 24,6; п/т — 4,1; м — 62,3; с — 28,9; к — 4,7	521 $1,00 \pm 0,057$ $24,400 \pm 0,130\%$	841 $1,62 \pm 0,064$ $39,400 \pm 0,145\%$	2133 $4,10 \pm 0,084$	умеренное — 63,5; небольшое — 36,5 относительно равномерно — 86,9; неравномерно — 13,1; ск. — 7,5; б — 3,8; ск.+б — 1,8

**Примечание:** п — периферическое распределение аргентофильных гранул в ядрышках нуклеолонемного типа; п+ц — периферическое и центральное расположение гранул; м — мелкие гранулы; с — гранулы средних размеров; ед.к — единичные крупные гранулы; к — крупные гранулы; \*\*б — распределение внеядрышковых гранул в виде бороздок различной ширины; ск. — плотные и рыхлые скопления гранул.

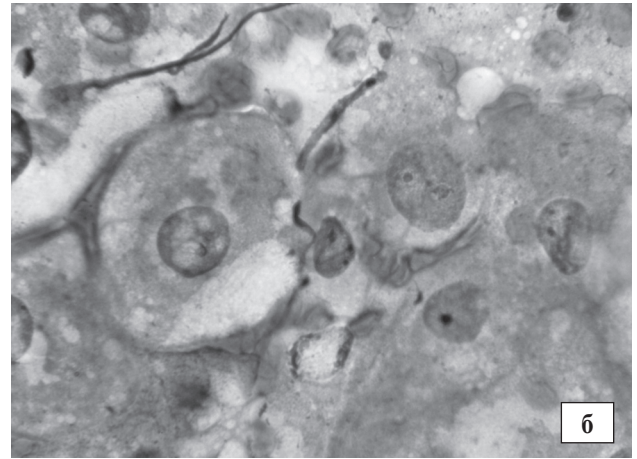
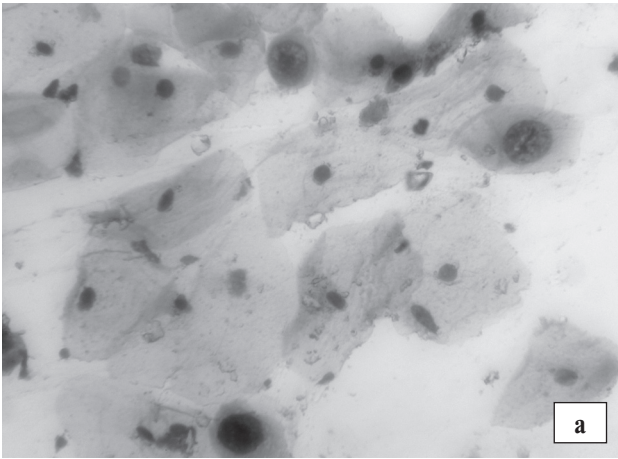


Рис. 1. Препарат с признаками слабой дисплазии плоского эпителия: а — окраска по Паппенгейму. Ув. 400; б — окраска по Howel W., Black D. Ув. 1000

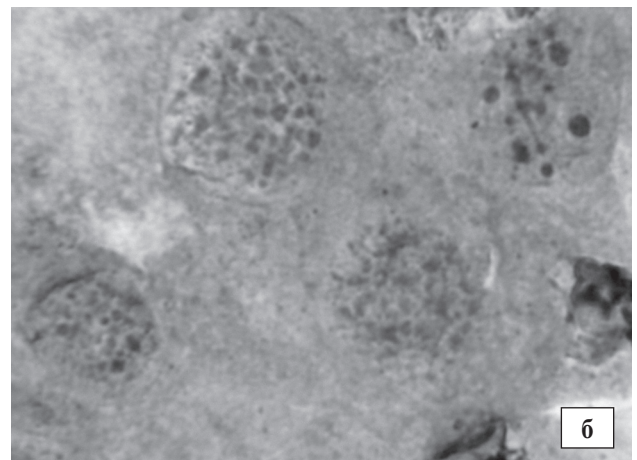
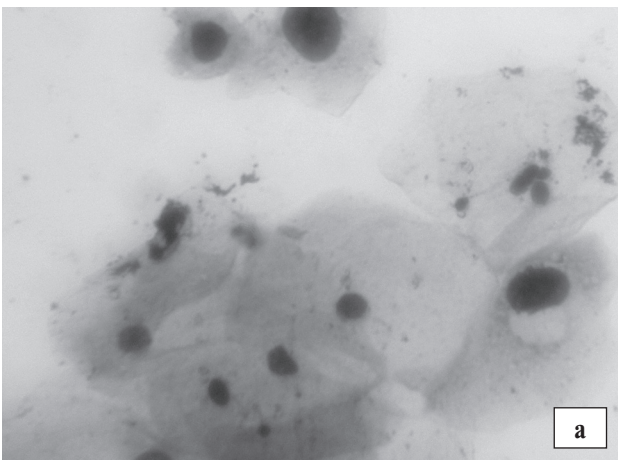


Рис. 2. Препарат умеренной дисплазии плоского эпителия: а — окраска по Паппенгейму. Ув. 400; б — окраска по Howel W., Black D. Ув. 1000

при умеренной дисплазии находились в диапазоне показателей от  $1,18 \pm 0,012$  до  $2,15 \pm 0,048$  ( $M=1,56 \pm 0,048$ ; 36,00%). Количественная оценка данных индексов не выявила достоверной разницы в показателях, но при этом в 33,0% исследуемых ядрышек аргентофильные гранулы (АГ) располагались периферически и центрально, образуя высокоактивные ядрышки переходного типа. Таким образом, процент ядрышек пере-

ходного типа был выше при умеренной дисплазии плоского эпителия, что отражает большую степень функциональной активности исследуемых клеток (рис. 3). В ядрышках переходного типа преобладало содержание мелких (51,6%) и средних (37,1%) гранул. Крупные гранулы определялись в 9,5%, пылевидно-точечные — в 1,8% ядрышек. Содержание малоактивных кольцевидных ядрышек варьировало от  $0,18 \pm 0,120$  до

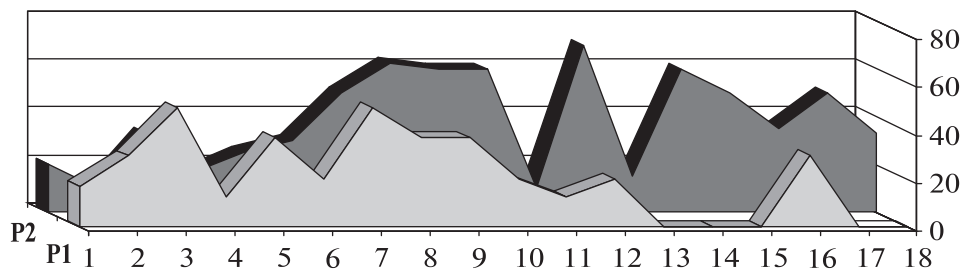


Рис. 3. Содержание ядрышек переходного типа в плоском эпителии шейки матки с признаками слабой (P1) и умеренной (P2) дисплазии. Примечание: ось X — количество больших; ось Y — процентное содержание ядрышек переходного типа

Показатели основных морфофункциональных типов ядрышек плоского эпителия с признаками умеренной дисплазии ( $M \pm m$ ); %

Количество больных	Количество клеток	Компактные ядрышки	Нуклеолонемные ядрышки (количество, распределение, размерная градация аргентофильных гранул (%))	Кольцевидные ядрышки	Микроядрышки	Общее количество основных типов ядрышек, среднее содержание в ядре	Внеядрышковые аргентофильные гранулы, количество, распределение (%)
18	750	16 $0,020 \pm 0,012$ $0,600 \pm 0,010\%$	1171 $1,56 \pm 0,048$ $36,000 \pm 0,088\%$ п — 70,8; п+ц — 29,2; п/т — 3,5; м — 45,3; с — 38,1; к — 13,1	743 $1,00 \pm 0,066$ $21,800 \pm 0,023\%$	1339 $1,78 \pm 0,055$ $41,600 \pm 0,135\%$	3269 $4,36 \pm 0,083$	умеренное — 65,0; небольшое — 35,0; относительно равномерно — 85,5; неравномерно — 14,5; ск. — 4,8; б — 2,8; м — 2,8; б+м — 3,8; б+ск. — 0,3

**Примечание:** п — периферическое распределение аргентофильных гранул в ядрышках нуклеолонемного типа; п+ц — периферическое и центральное расположение гранул; м — мелкие гранулы; с — гранулы средних размеров; ед.к — единичные крупные гранулы; к — крупные гранулы; \*\*б — распределение внеядрышковых гранул в виде бороздок различной ширины; ск. — плотные и рыхлые скопления гранул; м/г — маргинальное расположение гранул.

$1,60 \pm 0,220$  ( $M=1,00 \pm 0,047$ ; 21,8%), неактивных микроядрышек — от  $1,04 \pm 0,042$  до  $2,08 \pm 0,042$  ( $M=1,78 \pm 0,055$ ; 41,6%).

Преобладало относительно равномерное (85,5%) расположение внеядрышковых аргентофильных гранул в умеренном количестве (65,0%). Неравномерное распределение гранул (14,5%) выявлялось в виде рыхлых скоплений (4,8%), бороздок (2,8) маргинального расположения (2,8%) и сочетания бороздок и маргинального расположения (3,8%), скоплений и бороздок (0,3%) (табл. 1, 3, рис. 2, 3).

## ВЫВОДЫ

Выявленное изменение степени визуализации различных вариантов морфофункциональных типов ядрышек их количество при слабой и умеренной дисплазии плоского эпителия является опосредованным отражением степени усиления функциональной активации на уровне рибосомальных генов.

Содержание основных морфофункциональных типов ядрышек в плоском эпителии шейки матки с признаками слабой и умеренной дисплазии, отражающее степень активности процессов клеточной трансформации, является в пределах исследуемых групп неравномерным, составляя в среднем  $4,10 \pm 0,059$  при слабой и  $4,36 \pm 0,083$  при умеренной дисплазии эпителия шейки матки.

Наличие ядрышек переходного типа, увеличение их количества с 24,6% при слабой дисплазии до 33% — при умеренной, с содержанием в них АГ крупных градаций, (соответственно, 4,7% и 9,5%), является показателем нарастания внутриклеточных метаболических процессов. Подобные проявления активных форм ядрышек являются отражением усиления функциональной клеточной активности, приводящие к качественной трансформации клеток до появления в них начальных признаков малигнизации.

Появление единичных активных ядрышек переходного и компактного типа в эпителии с признаками слабой дисплазии и увеличение их количества в эпителии с умеренной дисплазией свидетельствует о качественной перестройке ядрышкового аппарата, характерного для процессов клеточной малигнизации.

Установлено, что в исследованных группах больных количество внеядрышковых аргентофильных гранул и неравномерный характер распределения аргентофильных гранул в виде бороздок, рыхлых скоплений и их сочетаний в большей степени проявлялись при умеренной дисплазии плоского эпителия.

Проведенные нами исследования зон ЯО могут быть применены в качестве дополнительного дифференциально-диагностического критерия при цитологическом исследовании слабой и

умеренной дисплазий в плоском эпителии шейки матки для выявления степени прогрессии предопухолевых процессов, начальных признаков малигнизации клеток.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Аргирофильные белки областей ядрышковых организаторов — маркеры скорости клеточной пролиферации / Н.Т. Райхлин, И.А. Букаева, Н.А. Пробатова, Е.А. Смирнова // *Арх. патологии.* — 2006. — № 3. — С. 47–51.
2. Бойко И.И. Математическая обработка данных медицинских исследований / И.И. Бойко, Э.А. Стаховский. — К.: ИД “Вета-Прес”, 2008. — 232 с.
3. Болгова Л.С. Модификация окраски по Howell W., Black D. на выявление ядрышкообразующих регионов хромосом при лимфопролиферативных заболеваниях / Л.С. Болгова, Т.Н. Туганова, И.С. Кузина // № Д-26735. Рукопись депонирована в ГЦНМБ (Россия). — 20.04.01.
4. Морфофункциональные типы ядрышек в цитологической диагностике фиброаденом и рака молочной железы / Т.Н. Туганова, Л.С. Болгова, М.Г. Махортова, О.И. Алексеенко // *Новости клинической цитологии России.* — 2004. — Т. 8, №1–2. — С. 27–30.
5. Причины цито-гистологических расхождений в определении степени дисплазии эпителия шейки матки / Т.Н. Туганова, Л.С. Болгова, О.И. Алексеенко, Н.Ф. Лигирда // *Клин. лаб. диагностика* — 2009. — № 2. — С. 46–50.
6. Цитологический скрининг рака шейки матки. Пособие для врачей / Л.С. Болгова, Т.Н. Туганова, Л.И. Воробьева, Н.Я. Жилка, М.Г. Махортова — К.: СПД Коляда О.П., 2007. — 148 с.
7. Челидзе П.В. Морфофункциональная классификация ядрышек / П.В. Челидзе, О.В. Зацепина // *Успехи совр. биологии.* — 1988. — Т. 105, № 2. — С. 252–268.
8. Шабалова И.П. Критерии диагностики заболеваний шейки матки. Цитологический атлас. — М.: Губернская медицина, 2001. — 117 с.
9. AgNOR polymorphism associatioin with squamous intraepithelial lesions and invasive carcinoma with HPV infection / С. Alarcon-Romero Ldel et al. // *Salud Publica Mex.* — 2009. — Vol. 51, № 2. — P. 134–140.
10. AgNOR counts in cervical smears under normal and other cytopathologic conditions / J.S. Misra et al. // *Anal. Quant. Cytol. Histol.* — 2005. — Vol. 27, № 6. — P. 337–340.
11. Derenzini M. Silver-stained nucleolar organizer regions (AgNOR) / M. Derenzini, D. Trerè // *Pathologica.* — 2001. — Vol. 93, № 2. — P. 99–105.
12. Howell W.M. Controlled silver staining of nucleolar regions with protective colloidal developer: a one step method / W.M. Howell, D.A. Black // *Experientia.* — 1980. — Vol. 36. — P. 1014.
13. Silver-stained nucleolar organizer regions in normal and dysplastic cervical lesions: correlation with DNA ploidy and S-phase fraction by flow cytometry / M. Singha et al. // *Oncology.* — 2006. — Vol. 71, № 5–6. — P. 411–416.
14. Zervixkarzinome trotz Früherkennungsprogramm / K. Marquardt, U. Broschweitz, H.H. Büttner, M. Barten // *Cyto-Info.* — 2006. — Vol. 25, № 2. — P. 46–51.

#### ЯДЕРЦЕВІ ОРГАНІЗАТОРИ В ЕПІТЕЛІЇ ШИЙКИ МАТКИ З ОЗНАКАМИ СЛАБКОЇ І ПОМІРНОЇ ДИСПЛАЗІЇ

Т.М. Туганова

На основі дослідження морфофункціональних типів ядерця (5402) при слабкій і помірній дисплазії плоского епітелію шийки матки установлені достовірні цитогенетичні відмінності, на основі яких можлива їх диференційна діагностика, визначення ступеня проліферації епітелію і початкових ознак малигнізації. Визначена реальна діагностична значимість дослідження ядерцевих організаторів для морфологічної верифікації передпухлинних процесів, передуючих пухлинній трансформації.

#### NUCLEOLAR ORGANIZERS IN CERVICAL EPITHELIUM WITH THE SIGNS OF WEAK AND MODERATE DYSPLASIA

Т.М. Tuganova

On the basis of the study of morphofunctional types of nucleoli (5402) in weak and moderate dysplasia of squamous cervical epithelium there have been revealed significant cytogenetic differences that allow their differential diagnostics, determination of the degree of proliferation of epithelium, and initial signs of malignization. The real diagnostic significance of the study of nucleolar organizers for morphological verification of precancerous processes that precede malignant transformation, has been determined.