

Г. А. АРЗУМАНЯН, М. А. ЗЕЙТУНЯН

О ВОЗМОЖНОСТЯХ ЛЮМИНЕСЦЕНТНО-ЦИТОЛОГИЧЕСКОЙ
ДИАГНОСТИКИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В современном клиническом лечении злокачественных новообразований молочной железы хирургический метод остается основным.

Объем хирургического вмешательства в основном решается характером опухолевого процесса.

Большинство клиницистов [16, 21 и др.] считает, что к моменту операции диагноз рака молочной железы обязательно должен быть подтвержден патогистологически, так как клиническая симптоматология, особенно в начальной стадии его развития, сравнительно бедна.

Однако некоторые хирурги [5, 15 и др.] отрицательно относятся к биопсии, производимой за несколько дней до операции, считая, что она может способствовать ускорению метастазирования.

Выходом из положения является срочная гистологическая диагностика во время операции с изготовлением срезов на замораживающем микротоме. Но этот метод не может широко применяться, так как не во всех лечебных учреждениях имеется соответственно оборудованная патогистологическая лаборатория.

За последние 2—3 десятилетия определенное место в срочной диагностике новообразований во время операций завоевал другой морфологический метод — цитологический. Техническая легкость, минимальные сроки выполнения и большая достоверность обеспечили его успех.

Применение же люминесцентной микроскопии, занявшей, согласно литературным данным [10, 20, 22], определенное место среди других оптических методов диагностики новообразований, расширило возможности цитологического метода.

В настоящее время опубликовано много работ, посвященных выяснению эффективности люминесцентного метода в диагностике рака.

М. Н. Мейсель и А. В. Гуткина [13] использовали метод прижизненного флюорохромирования мазков акридином оранжевым в оториноларингологической практике. В дерматологии его описали А. В. Брайцев [2], М. А. Штейнберг [28], Г. С. Цераидис [23].

Чрезвычайно перспективным оказалось использование люминесцентного метода для диагностики рака в акушерско-гинекологической практике [8, 9, 11, 12, 17]. В. Е. Черникова [3], Н. А. Быкова [25] успешно пользовались этим методом при исследовании мокроты, мочи, промывных вод.

По данным приведенных авторов, люминесцентно-цитологическая диагностика рака была достаточно достоверной.

Однако в доступной нам литературе не имеется сообщений, которые касались бы вопроса диагностики рака молочной железы люминесцентно-цитологическим методом.

За последние 3 года у 358 больных с подозрением на опухолевые процессы молочной железы произведено 378 цитологических исследований. Из 358 обследованных больных 166 имели рак молочной железы, 138—дисгормональные гиперплазии, 54—воспалительные процессы.

В связи с особо важной ролью дисгормональных гиперплазий в возникновении довольно значительного процента рака молочной железы [6, 18 и др.] своевременная диагностика представляет большой практический интерес.

У 166 женщин с клиническим диагнозом рак молочной железы в 96 случаях материалом для цитологического исследования являлся пунктат, полученный из патологического очага, в 70—отпечатки с опухолей ампутированных молочных желез.

Изучая цитограммы отпечатков с опухолей молочных желез разной гистоструктуры и сопоставляя их с гистологическими картинами, мы пришли к заключению, что при соответствующем навыке данные цитологического исследования не только указывают на наличие или отсутствие злокачественного новообразования [7, 19, 24, 26], но в 97% случаев по отпечаткам и в 88 — по пунктатам дают возможность определить и ее гистологическую разновидность [1].

У 62 больных пунктаты и отпечатки параллельно исследовались в люминесцентном микроскопе типа МЛ-2 с целью выяснения возможности использования этого метода для выявления рака молочной железы, а также срочной субоперационной диагностики.

Препараты для просмотра в этом микроскопе готовились так же, как простые цитологические, а для возбуждения люминесценции окрашивались флуорохромом акридиновым оранжевым в разведении 1 : 40 000.

Люминесцентная микроскопия является в определенной мере цитохимическим исследованием, так как клеточная люминесценция обусловлена наличием в них нуклеиновых кислот (ДНК и РНК), которые в присутствии акридин оранжевого дают разное свечение: ДНК—зеленое, а РНК—красное [15, 29]. Интенсивность этого свечения позволяет судить об их количестве в клетках.

Контролем достоверности данных цитологического и люминесцентного исследований являлось гистологическое изучение опухолей удаленных кусочков тканей или молочных желез.

При цитологическом определении разновидности рака мы исходили из морфологических особенностей клеточных элементов, степени их дифференциации и характера расположения группировок: диффузно или в виде структур железистоподобных, сосочковых, слепков протоков [1].

При определении разновидности рака молочной железы мы придерживались общепринятой классификации С. А. Холдина [21], разделяющего рак этой локализации по степени дифференцировки клеток опухоли на 2 группы: на элементы, состоящие из сплошных клеточных скоплений без тенденции к образованию железистых структур (рак-мозговик), и на типичные железистые раки (аденокарцинома, плоскоклеточный, папиллярный).

В случае аденокарциномы при люминесцентной микроскопии так же, как и в окрашенных по Паппенгейму цитологических препаратах, выявляются железистые комплексы атипических эпителиальных клеток без выраженного полиморфизма. Ядра, занимающие почти весь объем клеток, отсвечивают чаще белесовато-желтым цветом, реже—белесо-зеленым. Большинство ядер имеет рыхлую сетчато-зернистую структуру, меньшая часть—грубо-петлистую, глыбчатую. Хорошо различаются оранжевые или красные ядрышки. Протоплазма отмечается не во всех клетках и флуоресцирует желто-оранжевым или оранжевым цветом.

Клеточные элементы менее дифференцированных форм аденокарцином (солидные раки) имеют тенденцию к отсвечиванию темно-оранжевыми или красными тонами. Отмечается большой полиморфизм клеток и ядер. Последние светятся желтовато-оранжевым цветом, занимают почти всю клетку и содержат крупные ядрышки (3—5), светящиеся красным цветом. Иногда ядра имеют большое количество диффузно-рассеянных маленьких красных ядрышек, которые придают им огненно-оранжевый отлив. Протоплазма одних клеток представлена в виде узкого оранжевого ободка, в других—довольно обширна.

При раке-мозговике эпителиоклеточные элементы не имеют тенденции к образованию комплексов и структур, они диффузно рассеяны по всему препарату. В отсвечивании описанных клеток также отмечается прямая зависимость интенсивности оранжевого свечения от степени дифференциации клеточных элементов. Там, где отмечалось скопление дифференцированных клеток, красный цвет в протоплазме превалировал над оранжевым. Однако при наименее недифференцированных формах, клетки которых более уподобляются недифференцированным соединительнотканым элементам, в препарате преобладает зеленовато-желтый тон. Это объясняется тем, что ядра, занимающие почти весь объем клеток, в результате накопления в них ДНК отсвечивают зеленовато-желтым цветом, а ядрышки — ярко-красным.

При скирре цитологические препараты вследствие разрастания плотной рубцовой стромы, как правило, бедны клеточными элементами. Атипические эпителиальные клетки, встречающиеся в виде небольших групп или тяжей, могут быть 3 видов: а) мелкие, с лимфоцит, мноморфные с незаметным ободком протоплазмы, б) более крупные вытянутые, неправильной формы, в) крупные полиморфные по форме и величине.

При люминесцентном исследовании цитологических препаратов скирра элементы фиброзной ткани светились зелеными тонами. Группы тесно расположенных мелких скиррозных клеток, ввиду преобладания

в них площади ядер над протоплазмой, имели белесовато-желтое отсвечивание. В скоплениях более крупных полиморфных скirrosных клеток отмечался сдвиг свечения в сторону красных тонов, так как в последних площадь протоплазмы, светящейся оранжевыми тонами, сравнительно большая.

При плоскоклеточной метаплазии отмечалось особенно интенсивное оранжевое свечение, так как в метаплазированных клетках увеличивается площадь протоплазмы, которая в результате накопления в ней РНК люминесцирует оранжевым цветом. Увеличение РНК в ядрышках вызывает их красное свечение, а накопление ДНК в ядрах—зелено-желтое. В результате получается яркая красочная картина, весьма характерная для этой разновидности рака молочной железы.

При люминесцентной микроскопии во всех комплексах раковых клеток отмечалось более интенсивное свечение их по периферии и менее интенсивное—в центре. При наличии желтизны по периферии центр светился зеленым цветом, при оранжевом—желтым, а при красном—оранжевым. Это зависело от степени дифференциации опухолевых элементов.

В флуорохромированных препаратах клеточные элементы сохраняют характерные особенности группировок. Хорошо определяется структура ядер, соотношение ядра и протоплазмы, но хуже, чем в окрашенных препаратах, видна структура протоплазмы: не удается выявить жировую дистрофизацию и прочие признаки клеточной дегенерации. Поэтому для детального изучения структуры раковых клеток недостаточно одного люминесцентного исследования.

При исследовании отпечатков (43) и пунктатов (19) 62 больных раком молочной железы полное совпадение заключений гистологического, цитологического и люминесцентного методов исследования по отпечаткам имело место в 42 случаях из 43, а по пунктатам—в 16 случаях из 19.

В одном случае несовпадения при клиническом диагнозе рак молочной железы гистологическим исследованием был выявлен доброкачественный процесс. Цитологически было высказано подозрение на малигнизацию. Данные люминесцентной микроскопии также говорили в пользу этого заключения.

В 3 случаях (исследовались пунктаты) при клиническом диагнозе рака молочной железы цитологическим исследованием установлена только атипизация клеточных элементов, недостаточная для положительного заключения. В этих случаях при люминесцентной микроскопии выявлены железистые эпителиоклеточные комплексы с желтым отсвечиванием по периферии, что обуславливалось наличием увеличенных ядер, занимающих почти весь объем клетки. Эти наблюдения согласуются с указаниями некоторых авторов [4, 14, 27] о том, что при малигнизации клеток вначале идет накопление ДНК в ядрах, а с развитием процесса—увеличение РНК в цитоплазме.

В литературе имеются указания о преимуществе люминесцентного метода исследования (точность, быстрота) перед исследованием окрашенных препаратов при срочной субоперационной диагностике [25]. Од-

нако наши наблюдения привели нас к иному заключению: люминесцентная микроскопия не может заменить экспресс-метод окрашенных препаратов, который дает возможность лучше изучить морфологию клеток и требует значительно меньше времени, чем люминесцентное исследование. То обстоятельство, что при флуорохромировании препаратов акридиновым оранжевым не всегда получается хорошая дифференциальная окраска клеточных элементов, лишней раз подтверждает наше заключение.

В ы в о д ы

1. Люминесцентная микроскопия может быть использована как вспомогательный метод для распознавания рака молочной железы.

2. При срочной субоперационной цитологической диагностике рака молочной железы люминесцентное исследование не может заменить экспресс-метод окрашенных препаратов, который не уступает в быстроте люминесцентному исследованию, но обеспечивает более детальное морфологическое изучение клеточных элементов.

Институт рентгено-радиологии и
онкологии АМН СССР

Поступило 13/V 1965 г.

Գ. Ա. ԱՐԶՈՒՄԱՆՅԱՆ, Մ. Ա. ԶԵՅԹՈՒՆՅԱՆ

ԿՐԾՔԱԳԵՂՁԻ ՔԱՂՑԿԵՂԻ ԼՅՈՒՄԻՆԵՍԿԵՆՏԱՅԻՆ ՑԻՏՈՒՈՒԳԻԱԿԱՆ ԱԽՏՈՐՈՇՄԱՆ ՄԱՍԻՆ

Ա մ փ ո փ ու լ մ

Վերջին երեք տարիների ընթացքում մեր կողմից կրծքագեղձի կասկածելի ուռուցքային հիվանդություններով տառապող 358 հիվանդների մոտ կատարվել է 378 բջջաբանական քննություն: Հետազոտված 358 հիվանդներից 166-ը ունեցել են կրծքագեղձի քաղցկեղ, 138-ը դիոհորմոնալ հիպերպլազիա, 54-ը բորբոքային հիվանդություններ:

Նպատակ ունենալով պարզաբանելու լյումինեսցենտային մեթոդի հնարավորությունները կրծքագեղձի քաղցկեղի հայտնաբերման և շտապ սուբօպերացիոն ախտորոշման գործում, 62 հիվանդների մոտ պունկտատները և այտատպուկները զուգահեռ ուսումնասիրվել են № 1-2 տիպի լյումինեսցենտային միկրոսկոպով:

Նյութի վերլուծումից հանգել են հետևյալ եզրակացություններին՝

1. Կրծքագեղձի քաղցկեղի ախտորոշման մեջ լյումինեսցենտային հետազոտությունը կարող է կիրառվել միայն որպես օժանդակ մեթոդ:

2. Կրծքագեղձի քաղցկեղի շտապ սուբօպերացիոն ցիտոլոգիական ախտորոշման մեջ, լյումինեսցենտային հետազոտությունը չի կարող փոխարինել ներկած քսուկների-էքսպրես մեթոդին, որն իր արագությամբ չի զիջում լյումինեսցենտային հետազոտության արագությանը, բայց ապահովում է բջջային էլեմենտների ազելի մանրակրկիտ կառուցվածքային ուսումնասիրությունը:

ЛИТЕРАТУРА

1. Арзуманян Г. А. Журнал экспериментальной клинической медицины, 1963, 6, стр. 35.
2. Брайцев А. В. Вестник дерматологии и венерологии, 1962, 10, стр. 13.
3. Быкова И. А. Архив патологии, 1963, 1, стр. 75.
4. Габуня У. А. Архив патологии, 1963, 8, стр. 23.
5. Герцен А. И. В кн.: Злокачественные новообразования. Киев, 1937, стр. 280.
6. Гольберт З. В. Вопросы экспериментальной и клинической онкологии. М., 1953, стр. 226.
7. Гурвич М. Я. Хирургия, 1949, 2, стр. 3.
8. Деражне А. В. Труды Ленинградского санитарно-гигиенического медицинского института, 1963, т. 83, стр. 88.
9. Железнов Б. И. Акушерство и гинекология, 1963, 2, стр. 76.
10. Закржевский Е. Б. и Васильева Л. Г. Военно-медицинский журнал, 1958, II, стр. 30.
11. Зайцев Н. А. Научные записки Ужгородского университета, 1962, т. 47, стр. 121.
12. Макаренко И. А. Здравоохранение Белоруссии, 1962, 3, стр. 12.
13. Мейсель М. Н. и Гуткина А. В. ДАН СССР, 1953, 91, 3, стр. 647.
14. Носалевич О. М. и Колесников Г. С. Архив патологии, 1957, 4, стр. 40.
15. Петров Н. Н. Новости медицины АМН СССР, 1951, 21, стр. 1.
16. Ратнер Л. М. Диагностические ошибки и диагностика рака грудной железы. Свердловск, 1949.
17. Свиндлер Е. А. Акушерство и гинекология, 1963, 2, стр. 61.
18. Слоним И. Я. В кн.: Мастопатия. Киев, 1955, стр. 78.
19. Станкевич М. И. Лабораторное дело, 1961, 2, стр. 3.
20. Ступко А. И. и Брусьяникова Л. Н. Вопросы онкологии, 1960, 9, стр. 66.
21. Холдин С. А. В кн.: Злокачественные опухоли, т. III, ч. 1. Л., 1962, стр. 97.
22. Хохлов А. В. и Опалева Е. Ф. Лабораторное дело, 1961, 2, стр. 12.
23. Цераидис Г. С. Вестник дерматологии и венерологии, 1962, 10, стр. 22.
24. Цыбенко Н. А. Лабораторное дело, 1961, 2, стр. 36.
25. Черникова В. Е. Автореферат. Харьков, 1960.
26. Шиллер-Волкова Н. Н. и Агамова К. А. Вопросы онкологии, 1962, 12, стр. 41.
27. Шумова И. А. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1959, 7, стр. 68.
28. Штейнберг М. А. Вестник дерматологии и венерологии, 1962, 10, стр. 13.
29. Л. Фон Берталанффи. Труды VIII международного противоракового конгресса, т. IV, 1963, стр. 75.