

А. Г. БЕГЛЯРЯН, Г. А. АРЗУМАНЯН, Л. С. ГЕВОРКЯН

ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НУКЛЕОПРОТЕИДОВ В НОРМАЛЬНОЙ ТКАНИ, В УЗЛАХ ДИСГОРМОНАЛЬНЫХ ГИПЕРПЛАЗИЙ И РАКОВЫХ ОПУХОЛЯХ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ

Всякая опухоль в зависимости от степени дифференциации характеризуется более или менее выраженной морфологической, функциональной и биохимической анаплазией. Последние предшествуют морфологической перестройке опухолевой ткани. Поэтому естественно стремление исследователей к изучению биохимических особенностей, характеризующих раковое перерождение ткани. Особое значение при этом придается вопросу синтеза белка, определяющего специфичность опухолевых клеток. Л. А. Зотиков утверждает, что синтез белка является обязательным условием для роста, воспроизведения и развития клеток ткани.

Предположение, высказанное В. И. Збарским [6] и развитое И. Б. Збарским [7], что в основе опухолевого роста лежит нарушение и извращение биосинтеза белка, было подтверждено работами целого ряда авторов [1, 9, 10, 13]. Они наблюдали также, что рост и деление клеток, в которых происходит усиленный синтез белка, сопровождается соответственным накоплением нуклеиновых кислот, тогда как старение и гибель клеток, характеризующиеся снижением функциональной деятельности, сопровождаются уменьшением их содержания, вплоть до исчезновения. В настоящее время накопилось много данных, свидетельствующих о важной роли нуклеиновых кислот в осуществлении разнообразных процессов, связанных с синтезом белка.

Известно существование двух типов нуклеиновых кислот: дезоксирибонуклеиновой (ДНК), которая входит в состав ядерного хроматина и находится в тесной связи с процессами деления, и рибонуклеиновой кислоты (РНК), содержащейся в цитоплазме и ядрышках клеток и участвующей в процессах синтеза белка.

Общее повышение НК в опухолевых тканях было констатировано Е. Е. Погосянц [12], Е. Е. Бресслером [4], Т. О. Касперсоном [19] и многими другими.

Однако дальнейшие исследования Стоуэла [22] показали, что отмеченное в опухолевой ткани повышение содержания нуклеиновых кислот в основном относилось к РНК, тогда как содержание ДНК, наоборот, было пониженным. Аналогичные данные получены А. Даунсем

[20], Е. Каудри [18] и др. Увеличение количества нуклеиновых кислот за счет ДНК отмечено в работах Л. Ф. Ларионова [10] и др.

Касперсон [19], Стоуэл [22] с помощью ультрафиолетового микроскопа, Даунсе [20] и Е. Е. Бресслер [4] гистохимическими методами установили также более высокое содержание РНК в клетках опухолевой ткани по сравнению с клетками соответствующей нормальной ткани.

Ледфорд (1928), Эккерт и Купер (1937) и др. (цит. по Е. Е. Погосянц) не обнаружили различия в содержании НК в клетках опухолевой и нормальной ткани.

Непрерывное увеличение РНК в предраковом периоде отмечают Касперсон [19], Каудри [18], Стоуэл [22], Эрипрейс [16] и др. О накоплении ДНК в начальных стадиях малигнизации и РНК в более поздних сообщают Л. Ф. Ларионов [10], И. А. Шумова [15], У. А. Габуния [5]. К противоположному заключению пришел Амистани [17], изучив злокачественные и доброкачественные опухоли молочной железы.

По его данным, содержание РНК как в цитоплазме, так и в ядрышках клеток выше в доброкачественных опухолях и ниже в злокачественных.

Обзор периодической печати показал, что данные автора о роли и содержании нуклеиновых кислот в опухолях весьма неоднородны.

Исходя из вышеизложенного, мы поставили перед собой задачу изучить особенности обмена нуклеиновых кислот в ткани нормальной молочной железы, в дисгормональных и раковых опухолях, а также определить, какие из их патоморфологических проявлений по содержанию и распределению НК наиболее близки к раковой опухоли.

Для изучения гистохимии нуклеиновых кислот в нормальной ткани нами исследованы молочные железы 10 женщин, умерших не от рака, в возрасте 25 — 60 лет. Секционный материал брался в первые 6 — 12 ч. после смерти.

На возможность гистохимического исследования в сроки 12 — 48 ч. после смерти указывают И. А. Шумова [15], У. А. Габуния [5], В. С. Ханелидзе и А. Л. Поздняков [14].

Гистохимические особенности НК в дисгормональных и раковых очагах изучены на 74 удаленных опухолях молочных желез, гистологическое исследование которых установило в 17 наблюдениях фиброаденому, в 32 — фиброаденоматоз, в 25 — рак. В каждом случае брали 2—4 кусочка ткани из центральной и периферической части. Исследуемый материал немедленно погружался в фиксирующую смесь Карнуа, а затем заливался парафином. ДНК выявлялась методом Фельгена, РНК — методом Браше по Пирсу. Наличие РНК контролировалось обработкой параллельных срезов рибонуклеазой.

На основании изучения серийных парафиновых срезов, окрашенных методом Браше по Пирсу, нами установлено, что в нормальной ткани молочной железы как в эпителиальных, так и соединительнотканых элементах содержится незначительное количество РНК с некоторым

преобладанием их в эпителиальных клетках. Соединительнотканье волокна РНК не содержат.

В дисгормональных и раковых опухолях мы отметили нарастание содержания РНК, которое тем нагляднее, чем менее дифференцирована опухолевая ткань.

В фиброаденомах содержание РНК больше, чем в узлах фиброаденоматоза, что выражается в более интенсивной пиронинофилии цитоплазмы паренхиматозных элементов. Более интенсивная окраска отмечается вокруг ядер и на периферии клеток. Ядрышки окрашены в темно-розовый цвет. Содержание РНК в клетках фиброаденомы неоднородное. Это зависит от степени ее зрелости. Цитоплазма эпителиальных клеток участков ацинозно-лобулярного строения дает слабо-розовое окрашивание. Участки аденоматозного строения отличаются большим накоплением РНК, а следовательно, и большей пиронинофилией, еще более выраженной в фиброаденомах, имеющих тубулярное строение. Максимальное накопление РНК отмечается в внутрипротоковых клеточных пролифератах. Цитоплазма пролиферирующих клеток окрашена в интенсивно-розовый цвет, однако в одних клетках хорошо выделяются более яркие ядрышки, в других — ядрышки окрашены бледнее, чем цитоплазма. Это указывает на различное содержание РНК в структурных компонентах клеток.

Волокна соединительной ткани фиброаденом пиронинофильны. В строме, особенно вокруг железистых образований, отмечаются тучные клетки с крупными красными гранулами в цитоплазме, пиронинофилия которых не снимается при обработке срезов рибонуклеазой. Это говорит о том, что пиронинофилия гранул тучных клеток является результатом их метахроматической окраски [5].

В фиброаденоматозных узлах также интенсивная пиронинофилия отмечается со стороны паренхиматозных элементов. Содержание рибонуклеопротеидов в фиброаденоматозных узлах зависит также от степени зрелости и функционального состояния паренхиматозных элементов. Эпителиальные клетки начального проявления фиброаденоматоза — фиброзной стадии — содержат наименьшее количество РНК; эпителиальные элементы, выстилающие железистые структуры участков железистой гиперплазии, более пиронинофильны. Выраженная пиронинофилия присуща элементам эпителиальной выстилки кист. Особенно много РНК в виде едва заметных пиронинофильных зерен, глыбок и больших капель наблюдалось в апокринных клетках. Отмечается также интенсивная пиронинофилия ядрышка. В просветах кист, выстланных апокринным эпителием, РНК содержится в бесструктурной массе, заполняющей их, состоящей из обрывков цитоплазмы апокринных клеток.

В многослойных и сосочковидных пролифератах уплощенного эпителия наблюдается выраженная пиронинофилия цитоплазмы в виде диффузного прокрашивания и рассеянных по всей цитоплазме зерен, а так-

же интенсивно розове окрашивание ядрышек. В солидных и криброзных пролифератах анаплазированного кубического эпителия отмечается самое большое содержание РНК, приближающееся по интенсивности пиронинофилии цитоплазмы и ядрышек к раковым опухолям. Среди пиронинофильно окрашенных элементов солидных и криброзных пластов встречаются клетки, не содержащие РНК. Эти элементы пребывают в состоянии некробиоза. В эпителиальных элементах, выстилающих внутрикистные железистые разрастания, пиронинофилия никогда не доходила до такой выраженности, как в внутрикистных клеточных пролифератах. Последнее говорит о том, что железистые внутрикистные разрастания не являются результатом активации эпителия кист и расширенных протоков и поэтому таят в себе значительно меньшую угрозу озлокачествления. Об этом свидетельствуют и очень редкие случаи их малигнизации.

В раковых опухолях молочной железы содержание РНК также больше в элементах паренхимы, чем в строме. При этом количество и характер распределения РНК в раковых опухолях неодинаковое не только в различных наблюдениях, но и в различных участках одной и той же опухоли. Последнее зависит от степени зрелости клеток паренхимы и опухоли в целом, характера стромы и наличия в ней некробиотических участков. И чем ниже степень зрелости опухолевых клеток, тем интенсивнее пиронинофилия, и наоборот. Так, содержание и распределение РНК в элементах криброзного и угревидного рака совершенно аналогично выраженности и характеру пиронинофилии солидных и криброзных клеточных пластов пролиферативного фиброаденоматоза. Это еще раз говорит о близости этих пролифератов к раковому перерождению.

В элементах аденокарциномы сильной пиронинофильией отличаются ядрышки, цитоплазма менее пиронинофильна. Более выраженная пиронинофилия наблюдается вокруг ядер и на периферии цитоплазмы.

Наибольшей пиронинофильией характеризуются клеточные элементы скirrosных раков, что должно быть объяснено не большим содержанием РНК, а увеличением их концентрации в результате уменьшения размеров эпителиальных клеток вследствие сдавления разросшейся плотной соединительной тканью. При первом взгляде на гистохимический препарат мелкоклеточного скirrosного рака, окрашенный методом Браше по Пирсу, создается впечатление, что паренхиматозные элементы его бедны РНК. Это объясняется тем, что большинство клеток, вследствие сдавления разросшейся соединительной тканью, малых размеров. Основную массу их составляют ядра, и они не имеют видимой цитоплазмы, дающей пиронинофильную реакцию. Ядрышки окрашиваются в интенсивно-розовый цвет.

В солидных и диффузных раках содержание РНК в элементах паренхимы крайне разнообразно (рис. 1). При этом различаются элементы, характеризующиеся выраженной или слабой пиронинофильией и пол-

ным отсутствием ее. Это зависит как от степени дифференциации опухолевых элементов, так и наличия в них некробиотических процессов.

Исходя из вышеизложенного, мы разделяем мнение Т. Касперсона и Л. Сантенсона [21], которые на основании гистохимического изучения целого ряда злокачественных опухолей пришли к заключению о существовании двух типов клеток: А и В. Клетки типа А отличаются



Рис. 1. Солидный рак. Большое содержание РНК в ядрышках и цитоплазме раковых клеток.

высоким содержанием нуклеопротеидов и сосредоточены в активно растущих участках опухоли, а клетки типа В характеризуются низким содержанием нуклеопротеидов и сосредоточены в медленно растущих участках ее. Исследования многих авторов [2, 10] подтвердили существование этих двух крайних типов клеток опухолевой ткани и целого ряда переходных форм.

При этом отмечается также зависимость степени пиронинофилии цитоплазмы от ее размеров. В клетках округлой формы с большим ядром и узкой цитоплазмой пиронинофилия наиболее выражена. Однако большей пиронинофилией характеризуются ядрышки, которые достигают иногда больших размеров и увеличиваются в числе. Крупные клетки с обильной цитоплазмой характеризуются менее выраженной пиронинофилией последней, что мы склонны объяснять не уменьшением содержания РНК, а понижением их концентрации соответственно размерам цитоплазмы. Она окрашена в бледно-розовый цвет и притом не диффузно, а только местами, вследствие чего создается впечатление о ее соевом или зернистом строении. Участки некроза лишены РНК.

Наши наблюдения показали, что дезоксирибонуклеопротейды (ДНК) содержатся в нормальной ткани молочной железы, равно как в дисгормональных и раковых опухолях только в ядрах клеточных элементов как паренхимы, так и стромы (рис. 2). Однако большее содержание их отмечается в ядрах эпителиальных клеток по сравнению с ядрами соединительнотканых и эндотелиальных клеток. Цитоплазма и ядрышко, как правило, не содержат ДНК. В ядрах они представлены более или менее крупными зернами, распределенными равномерно в кариоплазме.

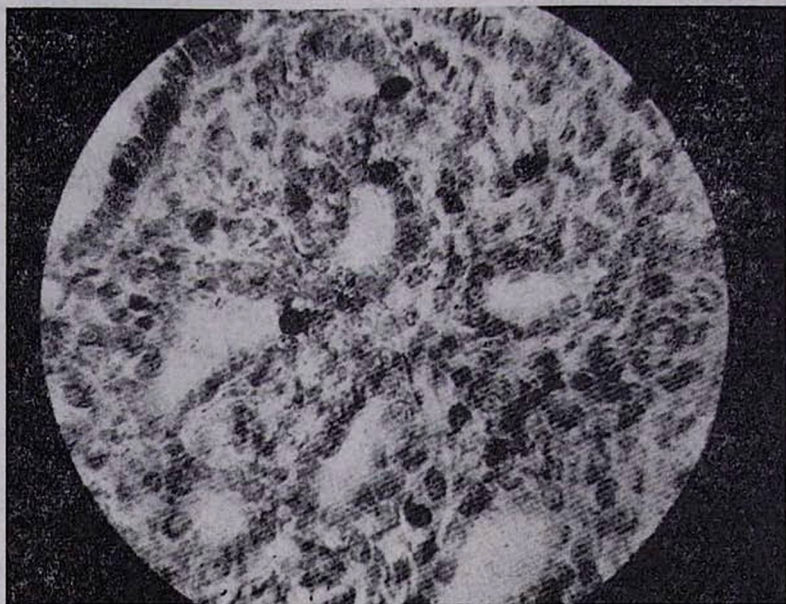


Рис. 2. Нормальная ткань молочной железы. Отмечается незначительное содержание ДНК в ядрах эпителиальных клеток.

В фиброаденомах ДНК содержится также больше в ядрах клеток паренхимы, чем стромы. Причем содержание и распределение их зависит от степени зрелости клеточных элементов и гистологического строения опухоли. В участках ацинозно-лобулярного строения, напоминающих ткань нормальной молочной железы, содержание ДНК в ядрах клеточных элементов почти не превышает количества их в ядрах клеток нормальной ткани. Чуть в большем количестве они содержатся в эпителии аденоматозных структур. Значительно больше их в фиброаденомах тубулярного строения. Особенно большое количество фельген-положительных структур содержится в клетках пролиферирующего эпителия. По мере атипизации опухолевой ткани отмечается укрупнение и более яркая окрашиваемость фельген-положительных зерен, неравномерное их распределение в кариоплазме эпителиальных клеток и полиморфизм. Эта же закономерность наблюдается и в фиброаденоматозных узлах.

Однако в этих случаях интенсивность фелъген-положительной реакции зависит не только от степени зрелости клеточных элементов и гистологического строения фиброаденоматозного узла, но и функционального состояния клеток. Так, в ядрах «сдавленных» эпителиальных клеток фиброзного фиброаденоматоза отмечается более сильное фелъген-положительное прокрашивание по сравнению с ядрами эпителиальных клеток нормальной молочной железы. При железистой форме фиброаденоматоза содержание ДНК по сравнению с элементами нормальной ткани молочной железы несколько больше, но не превышает количества их в участках фиброзного фиброаденоматоза. Ядра уплощенных эпителиальных элементов, выстилающих кисты и расширенные протоки, несящие в себе признаков апокринизации, содержат приблизительно та-

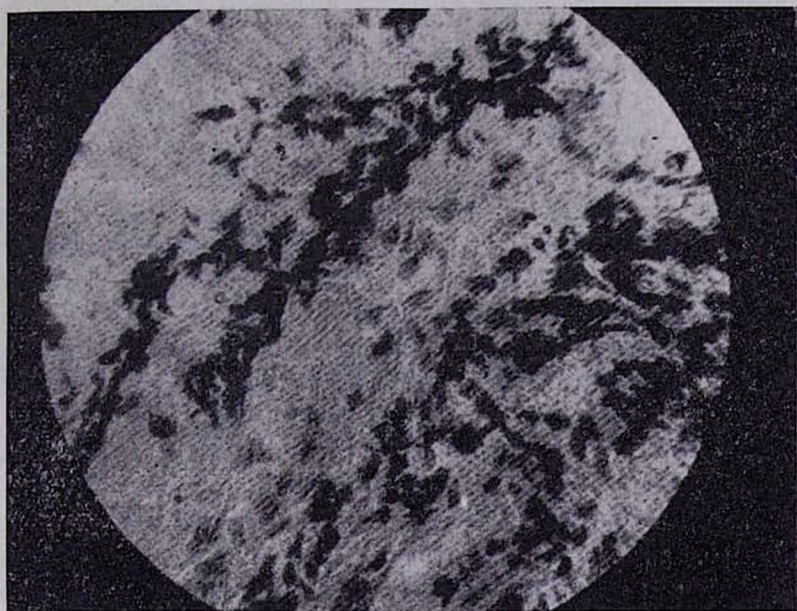


Рис. 3. Рак скirrosного типа с высоким содержанием ДНК в ядрах клеток.

кое же количество фелъген-положительных веществ. В ядрах апокринных клеток их количество значительно больше, при этом отмечается укрупнение и более яркая окраска зерен. Еще больше их в пролифератах уплощенных и апокринных клеток (многослойных пластах и сосочковидных образованиях). В кариоплазме одних клеток они распределены равномерно, в других — преимущественно концентрируются вокруг ядрышек или на периферии ядра, оставляя центральную часть его фелъген-отрицательной. Однако особенно большое содержание ДНК, увеличение размеров зерен и полиморфизм их отмечается в ядрах клеток солидных и крибозных пролифератов. В ядрах узких клеток, являющихся третьей морфологической разновидностью элементов солидных и крибозных пролифератов [3], также отмечается большое количество фелъ-

ген-положительных веществ в виде диффузно рассеянных зерен, среди которых встречаются и более крупные глыбки. Это позволяет причислить их к активно растущим опухолевым элементам, а не к дистрофическим, как полагают некоторые авторы, так как в последних равно как в клетках, подвергшихся некробиозу, ДНК содержится в очень незначительном количестве. Еще больше нарастает количество фельген-положительных внутриядерных структур в раковых опухолях, в которых разнообразие содержания и распределения их в основном зависит от степени зрелости элементов и гистологического строения опухоли. В криброзных и угревидных раках гистохимические особенности ДНК аналогичны солидным и криброзным клеточным пластам пролиферативного фиброаденоматоза с признаками атипизации. При аденокарциноме кариоплазма содержит большое количество фельген-положительных веществ в виде зерен неодинаковой величины, но диффузно распределенных по всему ядру. В скиррозных раках отмечается более компактное расположение фельген-положительных зерен и глыбок, в результате чего создается впечатление об их большом содержании (рис. 3). Это не противоречит данным О. М. Носалевиц и Г. С. Колесникова [11], также отметивших наибольшую концентрацию ДНК в ядрах клеток скиррозного рака. При солидной и диффузной формах отмечается разное содержание фельген-положительных веществ в кариоплазме различных элементов. В одних ядрах их очень много и они представлены в виде зерен, глыбок, нитей, распределенных то диффузно, то вокруг ядрышка или по периферии ядра, в других — их значительно меньше, они мельче, окрашены менее интенсивно. Еще меньше содержится ДНК в элементах, подвергшихся некробиозу.

Участки некроза всегда содержат фельген-положительные зерна и глыбки, по-видимому, освободившиеся из ядер при их распаде.

Данные литературы [5] и собственные исследования свидетельствуют о том, что наибольшая концентрация ДНК наблюдается в митотически делящихся опухолевых клетках. При этом наряду с увеличением содержания ДНК увеличены размеры и количество хромосом; они отчетливо различаются в виде глыбок, окрашенных в красно-фиолетовый цвет.

Анализ нашего материала показал, что не во всех формах рака молочной железы содержание РНК совпадает с концентрацией ДНК. При солидном и диффузном раке выявляются клетки с более высоким содержанием РНК по сравнению с ДНК, и наоборот.

В ы в о д ы

1. В нормальной ткани молочной железы как в эпителиальных, так и в соединительнотканых элементах содержится незначительное количество РНК и ДНК с некоторым преобладанием их в эпителиальных клетках.

2. Содержание ДНК и РНК в дисгормональных и раковых опухолях молочной железы нарастает от узлов фиброаденоматоза к фиброаденомам и раковым опухолям и зависит от степени зрелости опухолевой ткани.

3. В фиброаденомах отмечается увеличение РНК от ацинозно-лобулярных участков к аденоматозным и участкам тубулярного строения.

4. В узлах фиброаденоматоза интенсивность пиронинофилии в большей степени, чем реакция Фельгена, зависит от зрелости паренхиматозных элементов, а также их функционального состояния.

5. Наибольшее количество НК, приближающееся к раковым опухолям, мы наблюдали в солидных и криброзных внутриклеточных и внутрипротоковых пролифератах кубического эпителия. Следовательно, последние по содержанию нуклеопротейдов стоят ближе других проявлений дисгормональных гиперплазий к раковому перерождению.

6. Самое высокое содержание как РНК, так и ДНК мы наблюдали в раковых опухолях. В последних наибольшее содержание РНК отмечается в цитоплазме и ядрышках эпителиальных клеток низкодифференцированных раков солидной и диффузной формы, а ДНК — в раковых очагах скirroзного типа.

Армянский институт
рентгенологии и онкологии

Поступило 14/XII 1967 г.

Ա. Գ. ՔԵՎԼԱՐՅԱՆ, Գ. Ա. ԱՐՁՈՒՄԱՆՅԱՆ, Լ. Ս. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ

ՆՈՒԿԼԵՈՊՐՈՏԵԻՆՆԵՐԻ ՀԻՍՏՈՔԻՄԻԱԿԱՆ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏՎՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ
ԿՐԾՔԱԳԵՂՁԻ ՆՈՐՄԱԼ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՈՒՄ ԵՎ ԴԻՍՀՈՐՄՈՆԱԼ ՈՒ
ՔԱՂՅԿԵՂԱՅԻՆ ՀԱՆԳՈՒՅՑՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Կրծքագեղձի նորմալ հյուսվածքների նուկլեոպրոտեինների հիստոքիմիան մեր կողմից ուսումնասիրվել է 10 ոչ քաղցկեղային հիվանդությունից մահացած կանանց մոտ, իսկ դիսհորմոնային և քաղցկեղային հանգույցներինը՝ կրծքագեղձերից հեռացված 74 ուռուցքների վրա:

Մեր ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ կրծքագեղձի նորմալ էպիթելային և շարակցական հյուսվածքի էլեմենտները պարունակում են անշշան քանակությամբ ըրբոնուկլեինային թթու, որը մի փոքր գերակշռում է էպիթելային հյուսվածքում:

Դիսհորմոնային և քաղցկեղային ուռուցքներում ըրբոնուկլեինային և դեզօքսիըրբոնուկլեինային թթուների քանակությունը աճում է ֆիբրոադենոմատոզի հանգույցներից դեպի ֆիբրոադենոման և քաղցկեղային ուռուցքները՝ կապված ուռուցքային հյուսվածքի հասունացման աստիճանի հետ:

Ֆիբրոադենոմայի դեպքում նկատվում է ըրբոնուկլեինային թթվի քանակի ավելացում՝ ացինոզաբլաստներից դեպի ադինոմատոզ և տուբուլյար կառուցվածքի տեղամասերը:

Ֆիրրոտղեննամատողի հանգույցներում պիրոնինֆլիխայի ինտենսիվությունը, ավելի բան ֆյուզենի բեակցիան, կախված է պարենխիմատող էլեմենտների հասունացման աստիճանից:

Նուկլեինաթթուների բանադոսթյան պարունակությամբ բաղկեղային ուռուցքներին են մոտենում խորանարդաձև էպիթելի սուրիդ և կրիբրոններկիտային ու ներծորանային գերաճի դեպքերը: Հետևապես, մյուս դիսհորմոնային փոփոխությունների հետ համեմատած, վերջիններն ավելի մոտ են կանգնած բաղկեղային կազմափոխությանը: Նշված նուկլեինաթթուների ամենամեծ բանակություն մենք նկատել ենք բաղկեղային ուռուցքներում, ըստ որում, բիբոնուկլեինային թթուն ավելի շատ է ցածր դիֆերենցված սուրիդ և դիֆուզ տարատեսակների բջիջների ցիտոպլազմայում, իսկ դեզոքսիբիբոնուկլեինային թթուն՝ սկիռոզ տիպի բաղկեղային հանգույցներում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алов И. А. Вопросы онкологии, 1959, I, стр. 7.
2. Андрос А. Г. и Перевощикова К. А. Архив патологии, 1951, 2, стр. 39.
3. Арзуманян Г. А. Диссертация. Ереван, 1967.
4. Бресслер Е. Е. Успехи современной биологии, 1950, 30, стр. 90.
5. Габуния У. А. Морфология и гистохимия предрака и рака молочной железы человека. Тбилиси, 1964.
6. Збарский Б. И. Труды 4-й сессии АМН СССР, 1948, стр. 185.
7. Збарский И. Б. Успехи современной биологии, 1946, 22, 2, стр. 219.
8. Зотиков Л. А. Диссертация. Киев, 1963.
9. Кедровский Б. В. Успехи современной биологии, 1951, 31, I, стр. 38.
10. Ларионов Л. Ф. Труды 4-й сессии АМН СССР, 1948, стр. 193.
11. Носалевич О. М. и Колесников Г. С. Архив патологии, 1957, 7, стр. 40.
12. Погосянц Е. Е. Злокачественные опухоли. Ереван, 1948, стр. 86.
13. Роскин Г. И. Труды V Всесоюзного съезда анатомов, гистологов и эмбриологов. Ленинград, 1951, стр. 424.
14. Ханелидзе В. С. и Поздняков А. Л. Архив патологии, 1961, I, стр. 29.
15. Шумова И. А. Цитология, 1959, I, стр. 436.
16. Эрипрейс Я. Г. Труды Института экспер. медицины АН Латв. ССР, 1955, стр. 143.
17. Amistani В. Tumori, 1951, 37, 227.
18. Cowdry E. Раковые клетки. М., 1958.
19. Caspersson Т. О. Symposia Soc. Exptl. Biol., 1947, 1, 25.
20. Dounce. Нуклеиновые кислоты. М., 1957, 51.
21. Caspersson F., Sautesson D. Acta radiologia, Sypl., 1942, 1, 46.
22. Stowell R. E. Cancer Res., 1946, 6, 426.