

Г. А. АРЗУМАНЯН, М. А. ЗЕЙТУНЯН

О РОЛИ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ
ЦИТОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И
ПРЕДРАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ

Изучение особенностей цитоморфологических картин разнообразнейших воспалительно-предраковых и раковых заболеваний шейки матки, которые могли бы служить критерием для цитологического распознавания их, является основной задачей наших изысканий.

В ходе исследований, проведенных нами, стало очевидным, что при цитологической диагностике предопухолевых заболеваний этого органа нередко встречаются случаи, трудные в дифференциально-диагностическом отношении. В поисках вспомогательного теста мы обратились к другому оптическому методу—люминесцентному, т. к. в литературе имеются указания на то, что при помощи флюоресценции можно легко отличить клетки нормальной ткани от клеток ткани, подвергшейся злокачественному превращению, не только по морфологическим признакам, но и по характеру свечения [1, 4, 5, 12 и др.].

Поэтому задачей данной работы явилось изучение характера свечения клеточных элементов и структурных группировок при воспалительно-предраковых заболеваниях шейки матки и выяснение дифференциально-диагностических возможностей метода люминесцентной микроскопии.

С этой целью произведены параллельное цитологическое и люминесцентное исследования поверхностных соскобов с пораженного участка у 64 женщин, страдающих воспалительно-предраковыми заболеваниями шейки матки. Из соскоба готовились тонкие препараты на обезжиренных предметных стеклах [3—5]. Часть мазков окрашивалась по Крюкову-Паппенгейму для цитологического исследования, другая—после фиксации в смеси Никифорова (3—5 мин.) флюорохромировалась акридиновым оранжевым в разведении 1:40000 (2 мин.) и исследовалась в люминесцентном микроскопе типа МЛ-2.

Контролем достоверности цитологических и люминесцентных исследований служили данные изучения гистологических срезов биопсированных кусочков тканей с пораженных участков шейки матки.

В настоящее время наиболее широкое практическое применение получила клинико-анатомическая классификация предраковых заболеваний шейки матки А. И. Сереброва [6], которой в основном придерживаемся и мы, включив в нее состояние эпителия этой локализации, характеризующееся в свете современных данных как «базальнокле-

точная гиперактивность». Последняя может сопутствовать нижеуказанным воспалительно-гиперпластическим процессам и представляет наибольшую угрозу ракового перерождения.

Произведенное нами параллельное изучение соскоба цитологическим, люминесцентным и гистологическим методами позволило нам отметить следующие особенности люминесцентограмм этих заболеваний.

При воспалительных заболеваниях слизистой шейки матки основными элементами соскоба являются эритроциты, лейкоциты, гистциты, плазматические и иногда гигантские многоядерные клетки воспаления. Часто отмечается обильная микрофлора. Эритроциты не флуоресцируют и определяются в виде коричневатых или черных теней. Ядра нейтрофилов имеют изумрудно-зеленое свечение. Цитоплазма—светло-зеленая, в некоторых клетках она содержит включения в виде оранжевых или красных гранул.

При длительно и вяло текущих воспалительных процессах лейкоциты подвергаются дегенеративным изменениям, вследствие чего ядра приобретают оранжевое, а цитоплазма красноватое свечение.

При хроническом воспалительном процессе количество гистоцитарных элементов увеличивается. Они становятся полиморфными и иногда, располагаясь группами в виде симпластов, могут быть источником ошибочных заключений о наличии карциномы. Однако тщательное изучение морфологии их ядер позволяет отметить признаки, отличающие эти клетки от раковых [9]. Как показали наши наблюдения, дополнительным критерием может служить и характер свечения их в люминесцентном микроскопе. В отличие от яркой желто-оранжевой люминесценции раковых клеток гистоцитарные элементы флуоресцируют зеленовато-желтыми тонами.

Поводом для диагностических ошибок при исследовании окрашенных цитологических препаратов могут быть гигантские многоядерные клетки, выявляемые при воспалительных процессах. Однако в отличие от многоядерных раковых клеток их ядра мономорфны, хроматин распределен равномерно, единичные ядрышки не гипертрофированы [9]. Согласно нашим наблюдениям, люминесценция этих клеток выдержана в зеленовато-желтом тоне в отличие от желто-оранжевого яркого свечения раковых клеток. Следовательно, люминесцентная микроскопия может оказать услугу при интерпретации этих клеток.

Элементы грануляционной ткани, иногда встречающиеся в препаратах, тоже могут быть приняты за раковые клетки благодаря крупным ядрам. Люминесцентная микроскопия при этом также не может оказать определенную помощь, т. к. элементы грануляционной ткани имеют зеленовато-желтоватое свечение.

Таким образом, люминесцентная микроскопия может служить вспомогательным тестом при воспалительных заболеваниях шейки матки для правильного распознавания характера процесса.

В некоторых случаях хронические воспалительные процессы шей-

ки матки сопровождаются метаплазией цилиндрического эпителия. В цитологических препаратах они иногда трактуются как раковые. Это является причиной наибольшего количества ложноположительных заключений.

Люминесценция метаплазированных клеток цилиндрического эпителия в наших наблюдениях была аналогична свечению раковых элементов—желто-оранжевая с красноватым отливом. В этих случаях необходимо производить повторные исследования после противовоспалительной терапии. Исчезновение метаплазированных клеток позволяет дифференцировать доброкачественный характер процесса, и наоборот [11].

Истинная эрозия встречается довольно редко, т. к. за короткий промежуток времени (до двух недель) она переходит в псевдоэрозию. Распознавание этих двух патологических процессов не лишено практического значения, ибо метод лечения их неодинаков.

Цитограмма при истинной эрозии представлена теми же элементами, что и при воспалительных заболеваниях, разница заключается лишь в количественном соотношении их. Чаще встречаются фиброциты, реже фибробласты. Последние по своей форме нередко напоминают веретенообразно вытянутые эпителиальные клетки, встречающиеся при хронических воспалениях, реже—приобретают сходство с змеевидными атипическими эпителиальными клетками, которые отмечаются при зрелой форме плоскоклеточного рака. Отсутствие грубых структурных изменений хроматина ядер позволяет дифференцировать их от раковых клеток при исследовании окрашенных цитологических препаратов. Зеленое свечение соединительнотканых элементов в люминесцентном микроскопе значительно облегчает дифференциацию их от вышеописанных метаплазированных эпителиальных и раковых клеток, светящихся желто-оранжевыми тонами.

Нередко истинная эрозия сопровождается выраженными воспалительными явлениями. В этих случаях в цитограмме отмечаются группы и комплексы клеток парабазального и базального слоев с признаками атипизации (дискариоз, умеренно выраженный полиморфизм) и жировой дегенерации. Люминесценция этих элементов выдержана в желто-оранжевых тонах и поэтому не может служить критерием отличия их от раковых клеток. В этих случаях также возникает необходимость повторных цитологических исследований, т. к. отсутствие этих элементов после соответствующего лечения будет свидетельствовать о доброкачественном характере процесса.

Очень часто истинная эрозия переходит в псевдоэрозию. Различают три вида псевдоэрозий: простую, железистую и папиллярную. В чистом виде они не встречаются, а обычно сочетаются, образуя псевдоэрозии железисто-папиллярного строения [8].

В цитологических препаратах при псевдоэрозии, кроме элементов многослойного плоского эпителия, отмечается большое количество цилиндрических эпителиальных клеток, располагающихся разрозненно.

группами в виде «частокола», пластами, имеющими вид пчелиных сот и структурных тканевых единиц (в виде железистоподобных и сосочковидных образований). Железистоподобные структуры крупных размеров состоят из кубического эпителия, иногда лишены просвета и заполнены хаотично расположенными мелкими клетками. На периферии этих комплексов клетки более крупных размеров, расположены типично и иногда сохраняют кубическую или цилиндрическую форму. Редко встречаются железистые ячейки со свободным просветом в виде розеток.

При папиллярном виде псевдоэрозии сосочковидные клеточные образования, состоящие из клеток кубического эпителия, имеют соединительнотканную осевую нить, которая определяется редко из-за находящих друг на друга клеток.

Во флюорохромированных препаратах железистоподобные и сосочковидные образования светятся зелеными тонами. Морфология клеток различима только по периферии.

Цитограмма при длительно не заживающих эрозиях отражает морфологические изменения эпителия, выражающиеся в увеличении размеров клеток, дискариозе, некотором полиморфизме, появлении дегенеративных явлений в цитоплазме. Это может стать причиной ложноположительного цитологического заключения. Наши наблюдения показывают, что в таких случаях и люминесцентная микроскопия не может служить опорным тестом для дифференциации атипизированных клеток разросшегося многослойного плоского эпителия от раковых, т. к. дает аналогичное свечение. Более надежен цитологический метод исследования окрашенных препаратов, позволяющий отметить ряд тонких морфологических особенностей структуры хроматина ядер, отличающих их от злокачественных клеток, которые неуловимы в люминесцентном микроскопе.

При полипах шейки матки цитологическая картина очень напоминает таковую при псевдоэрозии. Выявляется большое количество цилиндрических эпителиальных клеток, расположенных разрозненно, группами и скоплениями в виде «частокола», железистоподобных и сосочковидных структур без признаков атипизации. Фоном при этом служат элементы воспаления. Люминесценция этих элементов такая же, как при псевдоэрозии. Поэтому ни цитологическим, ни люминесцентным исследованием дифференцировать эти близкие по строению и происхождению патологические процессы без учета клинических данных невозможно.

Иногда полипы эрозируются, и язвенная поверхность их состоит в основном из грануляционной ткани с разрушенными железистыми элементами. В цитограмме при этом преобладают молодые, незрелые клетки соединительной ткани с крупными ядрами и базофильной цитоплазмой, которые легко принять за раковые. Во флюорохромированных препаратах свечение клеток грануляционной ткани выдержано в зеленовато-желтых тонах в противоположность раковым элементам,

люминесцирующим желто-оранжевыми тонами. Ядра дегенеративно-измененных цилиндрических клеток светятся зеленовато-желтым, желтым цветом, а ядрышки и цитоплазма—оранжевым. Следовательно, при эрозированных полипах параллельное изучение препарата-соскоба в люминесцентном микроскопе может служить опорным тестом для распознавания характера процесса.

При эктропионе (выворот слизистой шеечного канала) в цитологических препаратах выявляются клетки цилиндрического эпителия в виде ячеистых структур, напоминающих пчелиные соты с признаками некробиоза. Если давность эктропиона небольшая, некробиотические процессы выражены нерезко и ячеистые структуры цилиндрического эпителия окрашиваются интенсивно в голубоватые и зеленые тона. Границы клеток и ядер определяются сравнительно четко. Последние сохраняют свою морфологию. Но при эктропионе большой давности с выраженными некробиотическими процессами в эктропированной слизистой границы клеток становятся расплывчатыми, контуры ядер нечеткими, рисунок хроматина рыхлым с ахроматическими участками, свидетельствующими о лизисе ядра, вплоть до полного его исчезновения. Цитоплазма окрашивается в серо-голубые тусклые тона. Во флюорохромированных препаратах клеточные группировки эктропированной слизистой светятся тускло-зеленовато-желтоватыми тонами. Структурные компоненты отдельных клеток имеют один тон свечения, тускнеющий к ядру. Контуры ядер нечеткие, строение хроматина не определяется. В ячеистых структурах свечение элементов тускнеет от периферии к центру. Клетки, расположенные в середине, почти не флюоресцируют. Кроме них, в препаратах присутствуют элементы воспаления и клетки многослойного плоского эпителия, свечение которых описано выше.

Таким образом, наши наблюдения показали, что распознавание эктропиона во флюорохромированных препаратах также не представляет трудностей, т. к. патогномоничные для этого заболевания ячеистые структуры в виде пчелиных сот, наделенные признаками некробиоза, резко выделяются своим тусклым свечением.

На фоне эктропиона часто развивается гиперплазия железистого эпителия слизистой шеечного канала и подлежащей мышечной ткани [6]. Цитограмма соскобов при данной патологии имеет довольно пестрый клеточный состав. Кроме вышеописанных элементов, встречающихся при эктропионе, выявляются железистоподобные и сосочковидные комплексы из клеток кубического эпителия, в которых иногда можно отметить некоторый дискариоз. Последние свидетельствуют о разрастании железистого эпителия.

Наблюдениями ряда авторов доказано, что на почве эрозированного эктропиона иногда возникают злокачественные опухоли. В цитологических препаратах при этом выявляются клетки цилиндрического эпителия увеличенных размеров с дискариозом и некоторым поли-

морфизмом. В элементах многослойного плоского эпителия отмечается дискариоз, ядрышkovость и дегенеративные явления в цитоплазме.

Г. А. Арзуманян с соавт. [2] указывает, что на основании данных цитологического исследования описанное состояние эпителия трудно отличить от интраэпителиальной карциномы.

Наши исследования показали, что во флюорохромированных препаратах в обоих случаях отмечается сдвиг свечения в сторону желто-оранжевых тонов: ядра клеток светятся ярким белесо-желтым, ядрышки—оранжевым, цитоплазма—желто-оранжевым цветом. То есть характер свечения клеток приближается люминесценцией к элементам рака. Последнее отмечено также Л. В. Берталанффи с соавт. [10].

Следовательно, люминесцентная микроскопия в этих случаях не может служить дифференциальным тестом. Поэтому при выявлении клеток с высокой концентрацией РНК в цитоплазме (если это сопровождается еще и морфологической атипией) надо прибегнуть к повторному исследованию и при необходимости произвести биопсию.

При лейкоплакии происходит утолщение многослойного плоского эпителия, больше за счет мальпигиева, слоя и появление зернистого (каратогнального) и рогового слоев. Поэтому цитограмма при лейкоплакиях богата плоскоэпителиальными ороговевающими и ороговевшими клетками (чешуйки) с преобладанием последних. Элементов более глубоких слоев эпителия мало, или они вовсе отсутствуют. В редких наблюдениях отмечаются в большом количестве промежуточные и парабазальные клетки и элементы сопутствующего воспаления. Располагаются эти клетки в виде отдельных экземпляров, групп и многослойных пластов. Признаков атипизации в морфологии клеточных элементов в большинстве случаев нет. Во флюорохромированных препаратах отмечается большая яркость свечения этих элементов. На темном фоне большое количество ороговевших безъядерных клеток люминесцирует гомогенно ярко-зеленым цветом, ороговевающие клетки имеют более тусклое зеленое свечение цитоплазмы разной интенсивности, реже оранжевое, зависящее, по-видимому, от степени кератизации. Ядра люминесцируют зеленовато-желтым цветом.

Яркость свечения и наличие оранжевого цвета несколько затрудняют интерпретацию цитограммы, т. к. пестрота и яркость люминесцентной картины с наличием оранжевых тонов обычно характеризует люминесцентограмму злокачественного процесса (плоскоклеточного ороговевающего рака).

Таким образом, распознать лейкоплакию в окрашенных препаратах легче, чем во флюорохромированных.

«Базальноклеточная гиперактивность» эпителия шейки матки является предраковым состоянием, наиболее чреватой опасностью перехода в рак. При этом состоянии многослойный плоский эпителий в срезе состоит как бы из двух слоев. Верхний слой окрашен в более светлые тона, без признаков атипизации клеточных элементов, а нижний, более темноокрашенный, занимает большую часть толщины эпи-

телиального покрова. В последних отмечается полиморфизм ядер клеток базального, парабазального слоев и фигуры митоза. Однако мембрана basilaris не нарушена [3].

В цитологических препаратах преобладающими элементами являются базальные, парабазальные клетки плоского многослойного эпителия. Последние увеличены в размерах, несколько полиморфны. В некоторых клетках отмечается дискариоз. Контуры ядер четкие, структура хроматина нежно-сетчатая, содержит 1—2 увеличенных ядрышка. Цитоплазма узкая. Все компоненты клетки красятся интенсивно. Располагаются разрозненно, группами и обширными пластами. Границы клеток четкие. В некоторых пластах отмечается хаотическое расположение клеток. Кроме этих клеток, всегда присутствуют элементы промежуточного и поверхностного слоев нормальной морфологии, элементы крови и воспаления.

Во флюорохромированных препаратах в клетках пролиферирующего базального и парабазального слоев отмечается сдвиг свечения в сторону желтовато-оранжевых тонов: ядра светятся белесо-зеленым или белесо-желтым цветом, а цитоплазма — желтоватыми, реже оранжевыми тонами. Это говорит о большем содержании в них ДНК и РНК, по сравнению с аналогичными клетками нормального многослойного плоского эпителия. Клетки поверхностных и промежуточных слоев имеют те же цвета свечения, какие отмечаются в нормальном эпителии.

Иногда при выраженной «базальноклеточной гиперактивности» в цитологических препаратах наблюдаются комплексы однотипных эпителиальных клеток малых размеров, расположенных хаотично в несколько слоев. Ядра их крупные и гиперхромные. Эти образования напоминают железистоподобные и сосочковидные структуры из кубического эпителия, встречающиеся при псевдоэрозиях. Это может привести к ошибочному заключению о наличии псевдоэрозии, что чревато несвоевременным распознаванием такого опасного состояния, как «базальноклеточная гиперактивность».

При сочетании этих двух процессов в цитологических препаратах, кроме вышеописанных мелкоклеточных гиперхромных структур, отмечается большое количество железистого эпителия, сохранившего свою цилиндрическую форму. В этих случаях люминесцентная микроскопия может оказать некоторую услугу. Свечение эпителиальных клеток базального слоя желто-оранжеватыми тонами позволяет отметить повышенное содержание ДНК и РНК, что свойственно «базальноклеточной гиперактивности».

Очень затруднительной становится цитологическая диагностика этого состояния, если в препаратах отмечается выраженный дискариоз клеток базального слоя и фигуры митотического деления, т. к. все это наблюдается и при внутриэпителиальном раке. Поэтому довольно часто люминесцентно-цитологическая дифференциация этих двух процессов не представляется возможной, т. к. в обоих случаях имеет место

атипизация клеточных элементов, сдвиг свечения цитоплазмы в сторону оранжевого цвета и яркость люминесценции.

Однако это несколько не умаляет ценности цитологического исследования при этих заболеваниях, т. к. как выявление «базальноклеточной гиперактивности», так и внутриэпителиального рака диктует необходимость серийных гистологических срезов и безотлагательного соответствующего лечения.

Исходя из вышеизложенного, мы приходим к выводу, что люминесцентная микроскопия, произведенная параллельно с классическим цитологическим исследованием, может способствовать цитологической дифференциации воспалительных и некоторых предраковых заболеваний шейки матки, в частности: псевдоэрозии, эрозированной полипов, «базальноклеточной гиперактивности».

Армянский институт
рентгенологии и онкологии

Поступило 11/XI 1968 г.

Գ. Ա. ԱՐԶՈՒՄԱՆՅԱՆ, Մ. Ա. ԶԵՅՌՈՒՆՅԱՆ

ԱՐԳԱՆԴԻ ՊԱՐԱՆՈՅԻ ԲՈՐԲՈՔԱՅԻՆ ԵՎ ՆԱԽԱՔԱՂՅԿԵՂԱՅԻՆ
ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԲԶՋԱԲԱՆԱԿԱՆ ԱԽՏՈՐՈՇՄԱՆ ՄԵՋ
ԼՅՈՒՄԻՆԵՍԿԵՆՏԱՅԻՆ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ԴԵՐԻ ՄԱՍԻՆ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Արգանդի վզիկի նախառուցքային հիվանդությունների բջջաբանական ախտորոշման ժամանակ քիչ չեն համեմատական ախտորոշման հարցերում և դաժ դժվարությունները:

Դիմելով լյումինեսցենտային միկրոսկոպի օգնությանը, որպես օժանդակ մեթոդի, ղուգահեռաբար տարել ենք բջջաբանական և լյումինեսցենտային հետազոտություններ 64 կանանց մոտ, որոնք տառապել են արգանդի վզիկի բորբոքային նախաբաղցկեղային հիվանդություններով:

Ստացված հետազոտությունների արդյունքները ցույց են տվել, որ լյումինեսցենտային միկրոսկոպիան չի կարող ծառայել որպես այդ հիվանդությունների ախտորոշման ինքնուրույն մորֆոլոգիական մեթոդ: Այն պետք է ղուգակցել կլասիկ բջջաբանական քննության հետ, որը կարող է նպաստել արգանդի վզիկի բորբոքային և նախաբաղցկեղային հիվանդությունների դիֆերենցիալ ախտորոշմանը (պակերոզիաներ, էրոզիայի վերածված պոլիպներ, բազալարբջջային հիպերակտիվություն):

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Анестиади В. Л. и Григорьева Н. П. Здравоохранение, Кишинев, 1958, 2, стр. 58.
2. Арзуманян Г. А., Даян-Барсегян О. А. Журнал акушерства и гинекологии, 1967, 4, стр. 8.
3. Гольберт З. В., Гош Т. Е. Труды VIII Международного противоракового конгресса. М.—Л., 1963, 5, стр. 328

4. Гладков А. А. Диссертация Л., 1950.
5. Гуткина А. В. Труды Всесоюзной конференции патанатомов. М., 1955, стр. 362.
6. Серебров А. И. Рак шейки матки. М., 1948.
7. Серебров А. И. Рак матки. М., 1957.
8. Старцева Л. Н. Акушерство и гинекология, 1951, 3, стр. 39.
9. Шиллер-Волкова Н. Н., Никитина Н. И., Агамова К. А. и Гош Т. Е. Цитологическая диагностика злокачественных новообразований. Атлас. М., 1964, стр. 161.
10. Bertalanffy L. V., Masin F., Masin M. Cancer, 1958, 11, 5, 873.
11. Graham R. M. Progress in gynecology (Meigs S. V. a. Stargis S. H. Edidors) New-York, 1950, 2, 133.
12. K rbler S. Strahlentherapie, 1931, 41, 510.