

Координаты для связи с авторами: Гордиенко Виктор Петрович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии АГМА, тел. 8–(4162)–53–90–89, e-mail: gen-45@gambler.ru; Сапегина Ольга Владиславовна – главный врач Амурского областного онкологического диспансера, тел.: 8–(4162)–51–55–13, 49–11–90; Коробкова Татьяна Николаевна – ассистент кафедры онкологии АГМА, тел. 8–(4162)–53–90–89; Ролько Евгения Михайловна – заведующая оргметодотделом (ОМК) Амурского областного онкологического диспансера, тел. 8–(4162)–49–10–78.



УДК 618.19.–006.46–036–053–07:616–076.5].001.8

А. С. Шайкина¹, Б. Я. Рыжавский²

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ В НОРМЕ И ПРИ НЕКОТОРЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

¹Краевой клинический центр онкологии,
680042, ул. Воронежское шоссе, 164, тел. 8–(4212)–41–60–72, e-mail: kkco@mail.ru;
²Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8–(4212)–32–63–93, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск

Резюме

Проведены исследования возрастных изменений размеров эпителиоцитов внутридольковых и междольковых протоков и концентрации нуклеиновых кислот (НК) в нормальной молочной железе (МЖ) женщин в возрастном интервале от 14 до 88 лет, а также – у новорожденных детей. Установлено, что максимальные размеры ядрышек и ядер в эпителии протоков приходится на возрастные группы 14-30 лет и 31-40 лет, максимальная концентрация НК – на 14-30 лет. В климактерическом периоде данные показатели уменьшаются, что можно связать с происходящим в этот период снижением концентрации в крови яичниковых стероидов. В ткани МЖ, не пораженной опухолевым процессом при раке (средний возраст – 52,53±1,9 года), происходит достоверное увеличение площади сечения эпителиоцитов и концентрации НК в них, то есть эти показатели сравниваются с таковыми в МЖ более молодых женщин. В группе женщин с наличием в ткани МЖ фиброзно-кистозной мастопатии или фиброаденомы (средний возраст – 40,35±1,8 лет) выявлены аналогичные отклонения от «возрастного контроля» – достоверное увеличение площади сечения ядер эпителиоцитов внутри- и междольковых протоков, а также увеличение концентрации НК в последних. Высказывается предположение, что выявленные особенности морфометрических и гистохимических показателей у женщин с этой патологией обусловлены повышением в крови уровня эстрогенов.

Ключевые слова: молочная железа, морфометрия, нуклеиновые кислоты, возраст, рак, мастопатия.

A. S. Shaikin¹, B. Ya. Ryzhavskii²

MORPHOMETRIC AND HISTOCHEMICAL ANALYSIS OF EPITHELIOCYTES OF MAMMARY GLANDS IN HEALTHY PATIENTS AND IN PATIENTS WITH SOME PATHOLOGICAL PROCESSES.

¹Far Eastern State Medical University;
²Regional cancer center, Khabarovsk

Summary

The evaluation of age-related changes of size of intralobular and interlobular epitheliocytes and levels of nucleic acids in healthy women (age 14-88 years) and infants was performed. We found that maximum nucleolus and nucleus size of intralobular and interlobular epitheliocytes was observed in patients aged 14-30 years and 31-40 years and maximum level of nucleic acid was observed in patients aged 14-30 years. These values decreased in climacterical period, that was probably caused by decreased blood concentration of ovarian steroids. We found significantly increased size of cross-sectional area of epitheliocytes and levels of nucleic acids in nontumorous tissues of mammary gland in patients with breast cancer. The significantly increased size of cross-sectional area of nuclei of intralobular and interlobular epithelial cells and increased level of nucleic acids in interlobular epithelial cells were found in patients (mean age 40,35±1,8 years) with fibrocystic mastopathy. We assumed that these finding were caused by increased level of estrogens in studied patients.

Key words: mammary gland, morphometry, nucleic acids, age, cancer, mastopathy.

Молочные железы (МЖ), являющиеся мишенью для многих гормонов, находятся под сложным контролем эндокринной системы, подвергаются закономерным изменениям, обусловливаемых гормональным статусом [2, 3, 6]. Строение МЖ в норме варьируемо у одной и той же женщины в зависимости от возраста, постоянной смены процессов пролиферации, дифференцировки и инволюции, связанных с периодом жизни (пубертатный, репродуктивный, постменопауза), фазой менструального цикла и выполнением репродуктивной функции. При рождении девочки молочные железы недоразвиты, формируются только главные протоки [1]. У половозрелой женщины доли состоят из долек, образованных многократно ветвящимися млечными протоками, которые вне лактации заканчиваются слепыми трубочками – млечными альвеолярными протоками. Из протоков в период лактации развиваются альвеолы. По окончании лактации молочные железы подвергаются физиологической инволюции. Клетки железистых долек нормальной ткани молочной железы формируют ацинусы и внутридольковые протоки, которые расположены в рыхлой соединительной ткани и образованы одним-двумя слоями клеток [9].

Морфологические исследования МЖ посвящены преимущественно ее состоянию при раке (РМЖ), а также – при мастопатии [8, 10, 13]. В то же время, МЖ в норме изучена в гораздо меньшей степени, чем при опухолях и предопухолевых процессах в ней, хотя знание морфологии нормальной ткани МЖ является одним из условий адекватной оценки их изменений при различных видах дисплазий, доброкачественных опухолях, а также при РМЖ [5, 7, 14]. Ранее нами [11, 12] были проведены сопоставления рецепторов к эстрогенам и прогестерону в паренхиматозных клетках МЖ у женщин разного возраста в норме, нормальной ткани МЖ при РМЖ и при мастопатии. Настоящая работа является продолжением данных исследований и посвящена изучению возрастной динамики эпителиоцитов МЖ в норме у женщин разного возраста, а также – при РМЖ и мастопатии.

Материалы и методы

Исследованы молочные железы 175 женщин, среди которых – 48 женщин, погибших в результате травм и 7 новорожденных и мертворожденных детей женского пола. При их судебно-медицинских вскрытиях не было обнаружено патологических изменений молочной железы, органов репродуктивной и эндокринной систем. У 53 женщин с диагнозом «рак молочной железы» исследованию подвергалась нормальная ткань железы из операционного материала от этих пациенток. У 62 женщин с диагностированными фиброаденомами и фиброзно-кистозными мастопатиями исследовался очаг поражения.

Материал, представленный нормальной тканью молочной железы, разделен на несколько групп по возрасту: 1-я группа – новорожденные, в том числе мертворожденные (n=7); 2-я группа – от 14 до 30 лет (n=6); 3-я группа – от 31 до 40 лет (n=4); 4-я группа – от 41 до 50 лет (n=11); 5 группа – от 51 до 65 лет (n=13); 6 группа – от 66 до 88 лет (n=14). Ткань молочной железы с патологическими процессами была разделе-

на на две группы: 7 группа – РМЖ (возраст от 22 до 85 лет), средний возраст – $52,53 \pm 1,9$ года (n=53), и 8 группа – фиброзно-кистозная мастопатия (ФКМ) и фиброаденомы (ФА) от 18 до 71 года, средний возраст – $40,35 \pm 1,8$ (n=62).

Полученный материал был фиксирован в 10% нейтральном забуференном формалине. После заливки в парафин готовили срезы толщиной 4 мкм. Препараты окрашивали галлоцианином по Эйнарсону [4] на нуклеиновые кислоты. Интенсивность реакции измеряли на аппарате «Мекос» ($\lambda=550$ нм) в эпителиоцитах внутридольковых и междольковых протоков, причем в последних исследованию подвергался внутренний слой многослойного эпителия, наиболее близкий к просвету протока. В каждом случае измерения проводили не менее чем в 20 эпителиоцитах каждой локализации. Статистическая обработка количественных данных проводилась при помощи пакета программ «Statistica 6.0».

Результаты и обсуждение

Возрастные особенности эпителиоцитов МЖ в норме. Полученные результаты (таблица) свидетельствуют о том, что как размерные характеристики исследованных эпителиоцитов МЖ, так и концентрация в них НК, не претерпевают в норме резких онтогенетических изменений. Это дает основание предполагать, что без применения морфометрии и цитоспектрофотометрии они не могли бы быть выявлены.

Проведенные исследования показали, что размеры ядрышек в клетках внутридольковых протоков МЖ максимальны в 3-й группе ($3,58 \pm 0,18$ мкм²), у 31-40-летних женщин. Они достоверно больше, чем у женщин в климактерическом периоде (5-я и 6-я группы). У женщин 3-й группы максимальны и размеры ядрышек в клетках междольковых протоков ($3,88 \pm 0,12$ мкм²) и достоверно превосходят таковые во 2-й, 4-6-й группах (P<0,05). Концентрация НК в ядрышках клеток внутридольковых протоков была наибольшей у женщин 2-й группы (14-30 лет), достоверно превышая ее в 6-й. Аналогичные результаты получены при изучении НК в ядрышках междольковых протоков: концентрация НК в них была более высокой, чем в 4-6-й группах (p<0,05). Таким образом, размеры ядрышек и концентрация в них НК были максимальными у женщин 14-30 и 31-40 лет. Учитывая функциональную роль ядрышек [9], можно полагать, что полученные данные отражают максимальную интенсивность синтеза рибосомальных РНК в эпителии протоков МЖ женщин данного возраста.

Размеры ядер клеток внутри- и междольковых протоков, как и размеры ядрышек, были максимальны в МЖ женщин 31-40 лет (3-я группа), однако, отличия от 2-й, 4-6-й групп были статистически недостоверны (табл.). Максимальная концентрация НК в ядрах эпителиоцитов протоков наблюдалась в МЖ женщин 2-й группы. Она была здесь достоверно большей, чем у женщин 6-й группы во внутридольковых протоках и 4-6-й групп в междольковых протоках.

Размеры цитоплазмы эпителиоцитов протоков МЖ женщин 2-6-й групп не имели достоверных межгрупповых различий. Концентрация НК в ней была

максимальной у женщин 2-й группы (как и в ядрах и ядрышках). В 3-й группе она достоверно снижалась, в 4-6-й группах она не имела достоверных отличий со 2-й группой.

Таким образом, в репродуктивном и пострепродуктивном периоде онтогенеза эпителиоциты МЖ претерпевают изменения размерных характеристик, а также концентрации в них НК. Данные литературы [2, 3, 6] позволяют считать, что важнейшим фактором, обуславливающих их, являются изменения концентрации половых гормонов, для которых МЖ – орган-мишень. По-видимому, гормоны, циркулирующие в системе мать-плацента-плод, а также гормоны, продуцируемые яичниками плода и новорожденной, поступающие с молоком матери, могли обуславливать особенности, выявленные нами в МЖ новорожденных (таблица).

Особенности эпителиоцитов в неизмененных участках МЖ при РМЖ. Изучение характера реакции проводилось в участках, не пораженных опухолевым процессом. Полученные показатели сравнивали с показателями 5-й группы контроля, близкой по возрасту. Морфометрический анализ показал, что площадь сечения и концентрация НК в ядрышках и ядрах во внутريدольковых протоках в сравнении с контролем достоверно увеличены (таблица). Концентрация НК в ядрышках эпителиоцитов эпителия междольковых протоков равняется $0,79 \pm 0,02$ усл. ед. (у контрольных $0,49 \pm 0,028$ усл. ед.), то есть имеет ее достоверное увеличение по сравнению с контролем. Достоверных межгрупповых отличий в показателях размеров эпителиоцитов междольковых протоков не обнаружено.

Особенности реакции в очагах мастопатии и фиброаденомы. Характер реакции сопоставлялся с реакцией в 4-й группе, близкой по возрасту. Было установлено, что площадь сечения ядер эпителиоцитов внутريدольковых и междольковых протоков достоверно превышает контрольные показатели. Концентрация

НК ядрышка и ядра эпителиоцитов междольковых протоков достоверно возросла по сравнению с контрольной группой, во внутريدольковых протоках различия концентрации НК с контролем были не достоверны.

Выводы

Таким образом, проведенные исследования позволили получить новые данные о возрастных изменениях размеров эпителиоцитов внутريدольковых и междольковых протоков и концентрации НК в МЖ женщин в возрастном интервале от 14 до 88 лет, а также их особенности у новорожденных детей. Установлено, что максимальные размеры ядрышек и ядер в эпителии протоков приходится на возрастные группы 14-30 лет и 31-40 лет, максимальная концентрация НК – на 14-30 лет. В климактерическом периоде данные показатели уменьшаются, что можно связать с происходящим в этот период снижением концентрации в крови яичниковых стероидов [3].

В ткани МЖ, не пораженной опухолевым процессом при РМЖ (средний возраст – $52,53 \pm 1,9$ года), происходит достоверное увеличение площади сечения эпителиоцитов и концентрации НК в них, то есть эти показатели сравниваются с таковыми в МЖ более молодых женщин. В группе женщин с наличием в ткани МЖ фиброзно-кистозной мастопатии или фиброаденомы (средний возраст $40,35 \pm 1,8$ лет) выявлены аналогичные отклонения от «возрастного контроля» – достоверное увеличение площади сечения ядер эпителиоцитов внутри- и междольковых протоков, а также увеличение концентрации НК в последних. Учитывая данные литературы [8, 10, 13] о роли гиперэстрогении в развитии РМЖ и мастопатии, можно полагать, что выявленные особенности морфометрических и гистохимических показателей у женщин с этой патологией обусловлены именно повышением уровня эстрогенов.

Таблица

Морфометрические и гистохимические показатели в эпителиоцитах молочной железы

Группы Показатели	Новорожденные (1)	Норма, 14–30 лет (2)	Норма, 31–40 лет (3)	Норма, 41–50 лет (4)	Норма, 51–65 лет (5)	Норма, 66–88 лет (6)	РМЖ (7)	ФКМ+ФА (8)
Площадь сечения, мкм ² , внутридольковые протоки:								
ядрышко	-	$3,2 \pm 0,27$	$3,58 \pm 0,18^{5,6*}$	$2,93 \pm 0,28$	$3 \pm 0,12$	$2,82 \pm 0,11$	$3,56 \pm 0,08^5$	$3,4 \pm 0,08$
ядро	-	$11,97 \pm 0,83$	$12,2 \pm 0,55$	$10,8 \pm 0,88$	$11,09 \pm 0,76$	$10,8 \pm 0,52$	$13,54 \pm 0,31^5$	$14,13 \pm 0,26^{4*}$
цитоплазма	-	$19,25 \pm 2,0$	$20,5 \pm 1,92$	$23,6 \pm 1,58$	$23,5 \pm 1,16$	$22,02 \pm 0,86$	$18,99 \pm 0,49$	$22,55 \pm 0,73$
междольковые протоки, мн. р. эп:								
ядрышко	-	$3,3 \pm 0,19$	$3,88 \pm 0,12^{4,5,6*}$	$2,87 \pm 0,27$	$3,25 \pm 0,2$	$3,11 \pm 0,13$	$3,57 \pm 0,09$	$3,5 \pm 0,097$
ядро	-	$12,05 \pm 1,1$	$13,3 \pm 1,14$	$11,68 \pm 0,87$	$11,45 \pm 0,91$	$11,59 \pm 0,62$	$13,8 \pm 0,35$	$14,4 \pm 0,25^{4*}$
цитоплазма	-	$20,3 \pm 2,7$	$20,58 \pm 2,04$	$23,89 \pm 1,53$	$25,5 \pm 1,24$	$24,19 \pm 1,26$	$19,3 \pm 0,51$	$23,34 \pm 0,67$
главные протоки:								
ядрышко	$2,9 \pm 0,14$	-	-	-	-	-	-	-
ядро	$11,6 \pm 0,43$	-	-	-	-	-	-	-
цитоплазма	$14 \pm 0,349$	-	-	-	-	-	-	-
Концентрация НК, усл. ед., внутридольковые протоки:								
ядрышко	-	$0,7 \pm 0,11^{6*}$	$0,6 \pm 0,09$	$0,56 \pm 0,06$	$0,47 \pm 0,03$	$0,45 \pm 0,03$	$0,77 \pm 0,02^{5*}$	$0,68 \pm 0,018$
ядро	-	$0,66 \pm 0,06^{6*}$	$0,498 \pm 0,07$	$0,56 \pm 0,05$	$0,517 \pm 0,03$	$0,49 \pm 0,03$	$0,66 \pm 0,014^{5*}$	$0,59 \pm 0,014$
цитоплазма	-	$0,57 \pm 0,05^{3*}$	$0,43 \pm 0,02$	$0,54 \pm 0,06$	$0,56 \pm 0,05$	$0,47 \pm 0,03$	$0,505 \pm 0,012$	$0,48 \pm 0,01$
междольковые протоки, мн. р. эп:								
ядрышко	-	$0,76 \pm 0,14^{5,6*}$	$0,64 \pm 0,06$	$0,47 \pm 0,06$	$0,49 \pm 0,028$	$0,44 \pm 0,03$	$0,79 \pm 0,02^{5*}$	$0,72 \pm 0,02^{4*}$
ядро	-	$0,69 \pm 0,07^{4,5,6*}$	$0,54 \pm 0,05$	$0,48 \pm 0,05$	$0,5 \pm 0,03$	$0,45 \pm 0,02$	$0,67 \pm 0,16$	$0,62 \pm 0,01^{4*}$
цитоплазма	-	$0,58 \pm 0,04^{3*}$	$0,44 \pm 0,02$	$0,46 \pm 0,06$	$0,54 \pm 0,04$	$0,48 \pm 0,035$	$0,52 \pm 0,01$	$0,51 \pm 0,01$
главные протоки:								
ядрышко	$0,729 \pm 0,04$	-	-	-	-	-	-	-
ядро	$0,579 \pm 0,05$	-	-	-	-	-	-	-
цитоплазма	$0,45 \pm 0,04$	-	-	-	-	-	-	-

Примечание. * – обозначены показатели, достоверно отличающиеся от показателей 2-й группы; ^{3,4,5,6} – достоверные отличия от соответствующих групп.

Литература

1. Бурдина Л. М. Дисгормональные гиперплазии молочных желез – особенности развития, дифференциальная диагностика // Радиология – практика. – 2007. – № 3. – С. 44–61.
2. Гильмутдинова М. Р., Гагауллин И. Г., Петров С. В. Особенности гормонального статуса женщин, больных раком молочной железы, при наличии отдаленных метастазов // Казанский медицинский журнал. – 2007. – Т. 88, № 5. – С. 463–465.
3. Кира Е. Ф., Бескровный С. В., Ильин А. Б. Влияние препаратов гестагенного ряда на морфофункциональное состояние молочных желез // Журнал акушерства и женских болезней. – 2000. – Т. 49, № 2. – С. 75–84.
4. Кисели Д. Практическая микротехника и гистохимия. – М.: Медицина, 1965. – 400 с.
5. Леягина В. П. Первичные опухоли молочной железы // Практическое руководство. – Москва: Миклош, 2005. – 332 с.
6. Прилепская В. Н., Швецова О. Б. Доброкачественные заболевания молочных желез: принципы терапии // Гинекология. – 2000. – № 6. – С. 201–204.
7. Розин Д. Л. Опухоли молочных протоков. – Баку, 1989. – 332 с.
8. Сидоренко Л. Н. Мастопатия. – 2-е изд. – Л.: Медицина, 1991. – 264 с.
9. Хадыров Э. А. Ультраструктурные особенности паренхиматозных клеток молочных желез в норме, при фиброаденоме и при фиброзно-кистозной болезни // Морфологические ведомости. – 2010. – № 1. – С. 102–104.
10. Хамитова Г. В., Гилязутдинов И. А., Гилязутдинова З. Ш., Тухватуллина Л. М. Дисгормональные заболевания молочных желез центрального генеза // Казанский медицинский журнал. – 1998. – № 2. – С. 102–113.
11. Шайкина А. С., Рыжавский Б. Я., Беков С. В. Иммуногистохимический анализ рецепторов к прогестерону в молочных железах в норме и при некоторых патологических процессах // Дальневосточный медицинский журнал. – 2012. – № 2. – С. 72–74.
12. Шайкина А. С., Рыжавский Б. Я., Беков С. В. Иммуногистохимический анализ рецепторов к эстрогенам в молочных железах в норме и при некоторых патологических процессах // Дальневосточный медицинский журнал. – 2012. – № 4. – С. 48–50.
13. Kubista E., Muller G., Spona J. Die conservative therapie der Mastopathie // Zbl. Gynecol. – 1983. – Vol. 105, № 18. – P. 1153–1162.
14. Robin C., Jungers C. Epidemiologie des affections mammaires // Rev. med. Bruxelles. – 1982. – Vol. 3, № 9. – P. 629–636.

Координаты для связи с авторами: Шайкина Александра Сергеевна – врач-патологоанатом КГБУЗ «Краевого клинического центра онкологии», тел. 8-(4212)-41-06-29; Рыжавский Борис Яковлевич – заведующий кафедрой гистологии ДВГМУ, тел. 8-(4212)-32-63-93.

