

ЦИТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 618.146-006.6-076.5

Л. С. Болгова, Т. Н. Туганова, О. И. Алексеенко

ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ДИСПЛАЗИИ И ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ЯДРЫШКООБРАЗУЮЩИХ РЕГИОНОВ ХРОСОМ

Национальный институт рака Минздрава Украины, Киев

Проведено исследование ядрышкообразующих регионов хромосом в клетках диспластически измененного плоского эпителия и плоскоклеточного рака шейки матки (ПРШМ). Выявлено последовательное нарастание количественного содержания основных морфофункциональных типов ядрышек, в том числе активных компактных и переходных нуклеолонемно-компактных, в соответствии с усилением диспластических изменений и появлением признаков ПРШМ. Установлено преобладание процентного содержания крупных аргентофильных гранул в ядрышках нуклеолонемного типа при ПРШМ при сравнении с дисплазией. Разработан алгоритм дифференциальной цитологической диагностики степени дисплазии и ПРШМ, отражающий степень структурно-функциональных изменений ядрышкообразующих регионов хромосом.

Ключевые слова: шейка матки, дисплазия, плоскоклеточный рак, ядрышкообразующие регионы хромосом, алгоритм диагностики

L.S. Bolgova, T.N. Tuganova, O.I. Alekseyenko

THE CYTOLOGICAL DIAGNOSTICS OF DYSPLASIA AND EPIDERMOID CANCER OF CERVIX IN STUDYING THE NUCLEOLAR-ORGANIZING REGIONS OF CHROMOSOMES

The study of the nucleolar-organizing regions of chromosomes in the cells of dys-plastically modified squamous epithelium and epidermoid cancer of cervix was carried out. The successive increase of quantitative content of main morphofunctional types of nucleoli is established including active compact and transient nucleolonemic-compact ones in accordance with increase of dysplastic modifications and appearance of signs of epidermoid cancer of cervix. The dominance of percentage content of large argyrophilic granules in nucleoli of nucleolonemic type under epidermoid cancer of cervix as compared with dysplasia is established. The algorithm of differentiating cytological diagnostics of the degree of dysplasia and epidermoid cancer of cervix is developed. This algorithm reflects the degree of structural functional modifications of nucleolar-organizing regions of chromosomes.

Key words: cervix, dysplasia, epidermoid cancer, nucleolar-organizing regions of chromosomes, algorithm of diagnostics

В последние годы отмечается рост заболеваемости раком шейки матки (РШМ) у молодых женщин детородного возраста и высокая смертность в течение года с момента установления диагноза [17]. В 17–20% наблюдений РШМ выявляется в запущенной стадии [5]. В то же время четко, грамотно организованный скрининг РШМ и адекватное своевременное лечение фоновых, предраковых состояний и начальных стадий РШМ в экономически развитых странах позволяет снизить заболеваемость инфильтративными формами до минимальных показателей [3, 4, 8–11, 20]. Наш опыт исследования цитогистологических сопоставлений результатов [14–16] двух морфологических методов диагностики свидетельствует о сложности цитологического определения уровня дисплазии эпителия шейки матки. Для качественного цитологического скрининга необходимо уточнение диагностических морфологических признаков эпителиальных клеток при предраковых состояниях. Известно, что сама структура ядра, выраженность дискариоза являются определяющими в распознавании степени малигнизации клеток. Одним из методов, позволяющих на светооптическом уровне выявить состояние

генетического аппарата ядра, является изучение ядрышкообразующих регионов (ЯОР) хромосом. Такие параметры, как количество, размер, распределение ЯОР и ядрышек, являются морфологическим отражением транскрипции рибосомных генов в клетке [7, 12, 21, 22, 24–26]. Применение указанного метода направлено на более объективную оценку уровня пролиферативных процессов в отдельных популяциях клеток и выявление по возможности признаков начальной их малигнизации.

Цель исследования – выявить характер проявления ЯОР хромосом в клетках диспластически измененного плоского эпителия и плоскоклеточного РШМ (ПРШМ).

Материалы и методы. Объектом цитологического исследования были мазки с поверхности шейки матки и цервикального канала 49 больных с легкой, умеренной, тяжелой степенью дисплазии плоского эпителия и 22 больных с ПРШМ. Для выявления ЯОР хромосом цитологические препараты окрашивали раствором азотнокислого серебра по методу W. Howell и D. Black [23] в модификации Л. С. Болговой и соавт. [2]. Исследование и типирование основных вариантов морфофункциональных типов ядрышек (МФТЯ) проводили в соответствии с классификацией П. В. Челидзе и О. В. Зацепиной [19] и разработанной нами рабочей схемой [13] при 1000-кратном увеличении иммерсионной системы светового микроскопа OLYMPUS-CX 41.

В разработанной схеме представлены основные типы ядрышек (рис. 1), которые после реакции серебрения визуализируются в ядрах исследуемых клеток при световой

Для корреспонденции:

Болгова Лидия Севастьяновна, д-р мед. наук, проф., зав. НИЛ клин. цитологии

Адрес: 03022, Киев-22, ул. Ломоносова, 33/43

Телефон: (044) 257-51-59

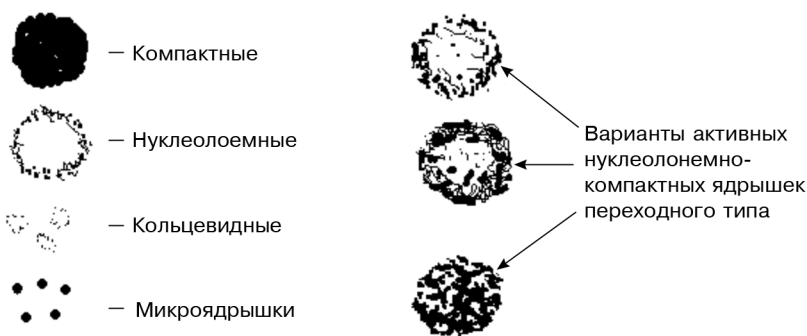


Рис. 1. Схематическое изображение основных МФТЯ, выявляемых на светоптическом уровне.

микроскопии. Это высокоактивные компактные ядрышки, различные варианты активных ядрышек нуклеолоемного, переходного типа, малоактивные кольцевидные и неактивные микроядрышки [24].

Изучение ЯОР хромосом проводили в цитологических препаратах с Ag-положительными гранулами, на основании размера и особенностей распределения которых определяли степень активности и количественное содержание МФТЯ при дисплазии и ПРШМ (табл. 1).

Кроме выявления основных типов ядрышек, исследовали высокоактивные ядрышки переходного типа, которые имеют важное значение для оценки степени внутриклеточных мета-

Таблица 1

Общая характеристика исследованного материала при дисплазии и ПРШМ

Морфологический диагноз	Количество		
	больных	ядер	качественно типированных Ag-позитивных ядрышек
Слабая дисплазия (CIN I)	16	520	2 133
Умеренная дисплазия (CIN II)	18	750	3 269
Тяжелая дисплазия (CIN III)	15	1076	5 876
Всего ...	49	2346	11 278
Плоскоклеточный рак	22	2280	17 254
Итого ...	71	4626	28 532

Таблица 2

Среднее содержание основных типов ядрышек в клетках плоского эпителия шейки матки с признаками дисплазии и плоскоклеточного рака ($\bar{X} \pm m$)

Морфологический диагноз	Среднее содержание основных типов ядрышек в ядре (показатели колебаний)
Слабая дисплазия	4,100 ± 0,059 (2,600 ± 0,047) – (4,900 ± 0,046)
Умеренная дисплазия	4,360 ± 0,083 (3,170 ± 1,230) – (5,400 ± 0,132)
Тяжелая дисплазия	5,470 ± 0,040 (5,100 ± 0,040) – (5,860 ± 0,020)
Плоскоклеточный рак	7,600 ± 0,071 (6,090 ± 0,423) – (9,640 ± 0,107)

болических реакций, происходящих при пролиферативных, диспластических процессах и малигнизации.

Для количественной оценки среди вариационных рядов показателей у каждой больной в группе с проявлениями дисплазии разной степени и ПРШМ вычисляли среднее арифметическое значение, на основе которого определяли амплитуду показателей, значения доверительных границ и степень достоверности.

При статистической обработке полученных результатов вариационных рядов использован *t*-критерий Стьюдента с уровнем вероятности $p < 0,001$ [1].

Результаты и обсуждение. При серебрянии белков ЯОР были представлены не всегда четко выраженными, очерченными ядрышками, содержащими определенное количество в

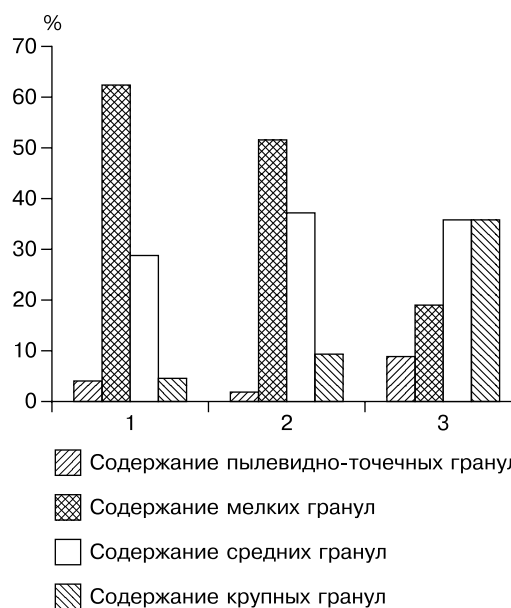


Рис. 2. Процентное содержание АГ определенных размерных градаций в высокоактивных ядрышках нуклеолоемного типа при дисплазиях и ПРШМ.

Таблица 3

Основные морфофункциональные типы ядрышек в клетках плоского эпителия шейки матки с признаками дисплазии и плоскоклеточного рака ($\bar{X} \pm m$)

Морфологический диагноз	Основные морфофункциональные типы ядрышек среднее содержание (показатели колебаний)			
	компактные	нуклеолоемные	кольцевидные	микроядрышки
Слабая дисплазия	0,010 ± 0,003 (0,000 – 0,200)	1,470 ± 0,074 (1,000 – 1,820)	1,000 ± 0,057 (0,080 – 1,600)	1,620 ± 0,064 (1,250 – 2,200)
Умеренная дисплазия	0,020 ± 0,023 (0,000 – 0,200)	1,560 ± 0,048 (1,180 – 2,150)	1,000 ± 0,047 (0,180 – 1,600)	1,780 ± 0,055 (1,040 – 2,080)
Тяжелая дисплазия	0,060 ± 0,010 (0,000 – 0,210)	1,550 ± 0,020 (0,900 – 2,410)	1,470 ± 0,010 (0,790 – 1,800)	2,390 ± 0,030 (1,600 – 3,240)
Плоскоклеточный рак	0,230 ± 0,027 (0,110 – 0,450)	1,700 ± 0,030 (1,070 – 2,000)	1,700 ± 0,032 (1,220 – 2,070)	3,930 ± 0,096 (2,420 – 5,770)

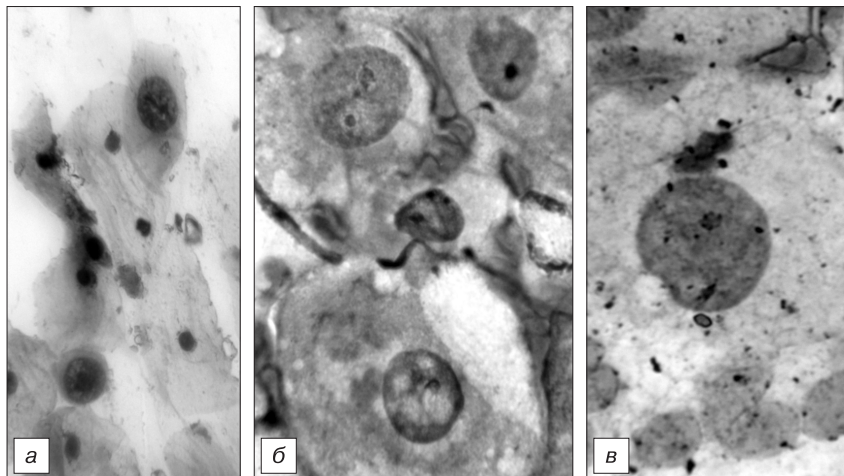


Рис. 3. Цитологический препарат. Плоский эпителий шейки матки с признаками слабой дисплазии.

a – окраска по Паппенгейму. $\times 400$; *б, в* – окраска по W. Howell и D. Black [23] (модиф.). $\times 1000$.

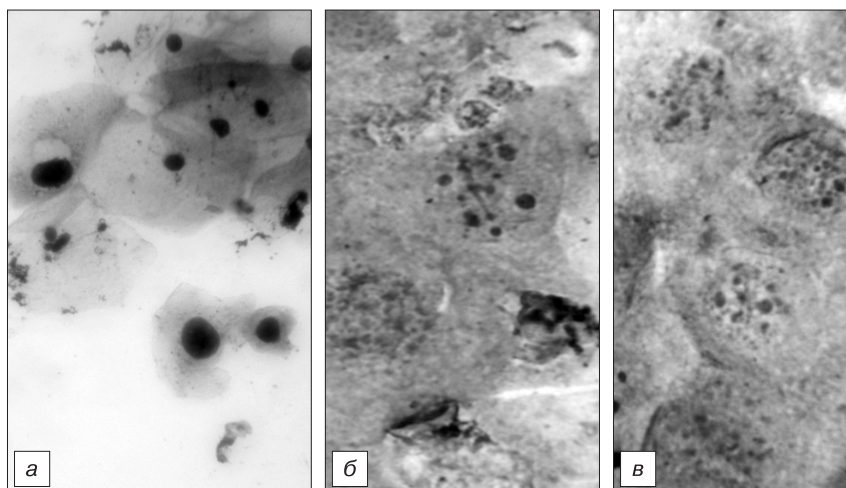


Рис. 4. Цитологический препарат. Плоский эпителий шейки матки с признаками умеренной дисплазии.

a – окраска по Паппенгейму. $\times 400$; *б, в* – окраска по W. Howell и D. Black [23] (модиф.). $\times 1000$.

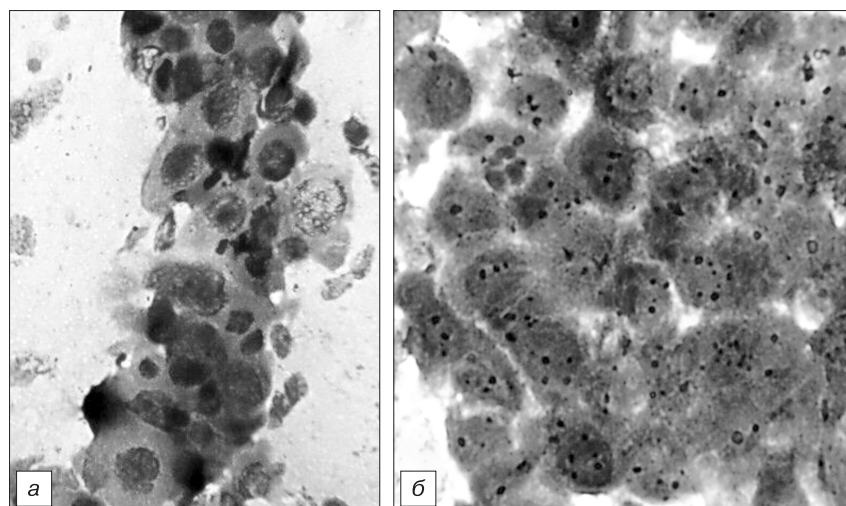


Рис. 5. Цитологический препарат. Плоский эпителий шейки матки с признаками тяжелой дисплазии.

a – окраска по Паппенгейму, $\times 400$; *б* – окраска по W. Howell и D. Black [23] (модиф.). $\times 1000$.

разной степени различных аргентофильных гранул (АГ) разной величины и степени окраски. Для оценки активности ЯОР определяли числовые показатели средних значений всех выявляемых ядрышек, количество и размерные градации гранул в ядрышках нуклеолонемного типа.

При сравнении показателей среднего содержания всех основных МФТЯ в ядре отмечено постепенное достоверное нарастание числовых значений от легкой ($4,100 \pm 0,059$), умеренной ($4,360 \pm 0,083$), тяжелой ($5,470 \pm 0,040$) дисплазии до ПРШМ ($7,600 \pm 0,071$). В пределах исследуемых групп больных с диспластическими проявлениями и признаками злокачественной трансформации показатели ЯОР хромосом имели гетерогенный характер, варьировали по количественному содержанию. При этом если в варьирующих показателях при дисплазии отмечалось перекрещивание определенных числовых значений, то при ПРШМ эти показатели существенно различались и перекреста числовых значений с показателями дисплазии не отмечалось (табл. 2).

При проведенном качественном типировании ЯОР эпителиальных клеток с признаками слабой дисплазии компактные ядрышки в ядрах преимущественно отсутствовали. Максимальное среднее содержание их в ядре составило $0,200 \pm 0,110$, среднее – $0,010 \pm 0,002$ (0,2%). При умеренной дисплазии среднее количество компактных ядрышек в одном ядре было несколько увеличено – $0,020 \pm 0,023$ (0,6%), становилось больше при тяжелой дисплазии – $0,060 \pm 0,010$ (1,2%) и значительно увеличивалось при ПРШМ – $0,230 \pm 0,027$ (3,2%).

По мере нарастания диспластических изменений и проявлений злокачественной трансформации плоского эпителия наблюдалось увеличение количества ядрышек нуклеолонемного типа: соответственно при слабой дисплазии – $1,470 \pm 0,074$ (36%), при умеренной – $1,560 \pm 0,048$ (36%), при тяжелой – $1,550 \pm 0,020$ (28,4%), при ПРШМ – $1,700 \pm 0,038$ (22,4%). При этом при слабой дисплазии в 75,4% исследованных ядрышек нуклеолонемного типа АГ располагались периферически, в 24,6% – периферически и центрально, образуя высокоактивные ядрышки переходного типа. В них преобладало содержание мелких гранул (62,3%). Гранулы пылевидно-точечных градаций составили 4,1%, средних – 28,9%, крупных – 4,7%. При умеренной дисплазии высокоактивные ядрышки переходного типа имели место в 33%, при тяжелой – в 56,8%, при ПРШМ – в 88,9%. В ядрышках нуклеолонемного типа при умеренной дисплазии преобладало содержание мелких (51,6%) и средних (37,1%) АГ. Крупные гранулы определялись в 9,5%, пылевидно-точечные градации составили 1,8%. При ПРШМ в отличие от дисплазий в ядрышках нуклеолонемного типа преобладали крупные и средние (72%) АГ. Мелкие гранулы определялись в 19%, пылевидно-точечные – в 9% нуклеолонемных ядрышек (рис. 2).

Алгоритм исследования морфофункциональных типов ядрышек при дифференциальной цитологической диагностике дисплазий и плоскоклеточного рака шейки матки





Количественные показатели малоактивных кольцевидных ядрышек оказались достоверно связаны со степенью проявления признаков атипии в плоском эпителии, их количество увеличивалось при тяжелой дисплазии ($1,470 \pm 0,010$) и ПРШМ ($1,700 \pm 0,032$). Показатели неактивных микроядрышек также нарастали по мере усиления степени дисплазии и появления признаков злокачественной трансформации (табл. 3, рис. 3–6). В связи с тем что повышение этих показателей при тяжелой дисплазии и ПРШМ связано преимущественно с деструкцией клеточных элементов, возможно предположение о необратимости на этом уровне изменений структуры ядрышек, констатации неадекватности данного МФТЯ, в то время как весь диапазон изменений активных ядрышек положительно коррелирует со степенью их функционирования (см. алгоритм).

В результате проведенных исследований выявляется достоверная корреляция между степенью проявления активности ядрышек, размерными градациями АГ нуклеолонемных ядрышек, диспластическими изменениями и ПРШМ. Это подтверждает то, что морфофункциональные особенности ядрышка отражают сложные метаболические процессы, происходящие в клетке, а количественное и определенное топографическое состояние его структурных компонентов является критерием функционального состояния, степени пролиферации и малигнизации клеток.

Выводы. 1. Изучение цитогенетических параметров при определении степени диспластических изменений плоского эпителия и с проявлениями злокачественной трансформации в качестве дополнительного дифференциально-диагностического признака выявило варибельность показателей количественного содержания основных МФТЯ в виде их нарастания при усилении дисплазии от слабой ($4,100 \pm 0,084$) до умеренной ($4,360 \pm 0,083$) и тяжелой ($5,470 \pm 0,040$) и проявления признаков ПРШМ ($7,600 \pm 0,071$), что свидетельствует о более высокой функциональной и потенциальной пролиферативной активности процессов в последнем.

2. Установлено, что в клетках плоского эпителия с признаками легкой дисплазии выявляются единичные активные компактные ядрышки, которые могут свидетельствовать о возможной начальной малигнизации, что является основанием для наблюдения за пациенткой гинекологом и проведением повторных цитологических исследований.

3. По мере усиления степени дисплазии от слабой до умеренной и тяжелой нарастает абсолютное содержание высокоактивных компактных (соответственно $0,010 \pm 0,003$, $0,020 \pm 0,012$ и $0,060 \pm 0,010$) и переходных нуклеолонемно-компактных (24,6, 33 и 56,8%) типов, которые достигают максимальных зна-

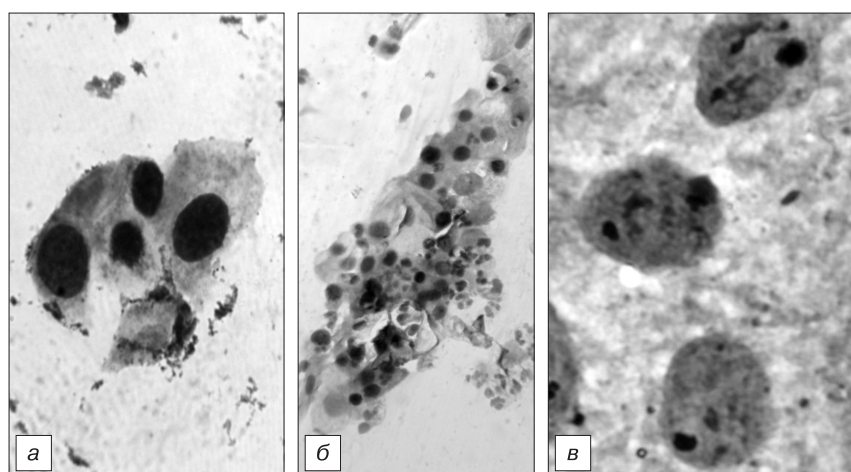


Рис. 6. Цитологический препарат. Плоскоклеточный рак шейки матки. а – окраска по Паппенгейму. $\times 400$; б – окраска по Папаниколу. $\times 400$; в – окраска по W. Howell и D. Black [23] (модиф.). $\times 1000$.

чений при злокачественной трансформации ($0,230 \pm 0,027$; 88,9%) плоского эпителия шейки матки, что является отражением повышенного уровня нуклеопротеидного обмена.

4. Выявлено значительное преимущество процентного содержания крупных АГ в ядрышках нуклеолономного типа при ПРШМ (36%) в сравнении с проявлениями слабой (4,7%) и умеренной (9,5%) дисплазии плоского эпителия шейки матки.

5. Проведенное исследование МФТЯ позволило разработать алгоритм дифференциальной цитологической диагностики степени дисплазии и ПРШМ, различные уровни которого отражают качественное типирование и количественное содержание ядрышек, степень их структурно-функциональных изменений.

6. Приведенный метод оценки МФТЯ при дисплазии и ПРШМ расширяет возможности цитологической диагностики, позволяет принять более точное диагностическое решение, способствует проведению соответствующей терапии и не требует больших материальных затрат.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойко И. И., Стаховский Э. А. Математическая обработка данных медицинских исследований. – Киев, 2008.
2. Болгова Л. С., Туганова Т. Н., Кузина И. С. // № Д-26735. Рукопись депонирована в ГЦНМБ (Россия). – 20.04.01.
3. Болгова Л. С. // Репрод. здоровье женщин. – 2007. – № 3 (32), ч. 1. – С. 221–224.
4. Воробьева Л. И., Лигурда Н. Ф., Болгова Л. С. // Репрод. здоровье женщин. – 2007. – № 3 (32), ч. 2. – С. 33–35.
5. Воробьева Л. И., Лигурда Н. Ф., Федоренко З. П. и др. // Сучасні принципи діагностики та лікування візуальних форм геніального раку у жінок. – Киев, 2002. – С. 11–13.
6. Воробьева Л. И. // Репрод. здоровье женщин. – 2007. – № 3 (32), ч. 2. – С. 19–23.
7. Дубенская Л. И., Баженов С. М. // Арх. пат. – 1992. – Т. 54, № 4. – С. 40–43.
8. Залуцкий И. В., Вишневецкая Е. Е., Курьян Л. М. // Вопр. онкол. – 2006. – Т. 52, № 1. – С. 74–77.
9. Клюкина Л. Б., Ерохина О. А. // Репрод. здоровье женщин. – 2007. – № 3 (32), ч. 1. – С. 245–246.
10. Миллер А. Б. Программа скрининга на рак шейки матки: организационные мероприятия. – Женева: ВОЗ, 1994.
11. Полищук Л. З., Собко Н. В. // Репрод. здоровье женщин. – 2007. – № 3 (32), ч. 2. – С. 29–32.
12. Райхлин Н. Т., Букаева И. А., Пробатова Н. А., Смирнова Е. А. // Арх. пат. – 2006. – № 3. – С. 47–51.
13. Туганова Т. Н., Болгова Л. С., Махортова М. Г., Алексеенко О. И. // Новости клин. цитол. России. – 2004. – Т. 8, № 1–2. – С. 27–30.
14. Туганова Т. Н., Болгова Л. С., Алексеенко О. И. и др. // Репрод. здоровье женщин. – 2007. – № 3 (32), ч. 1. – С. 234–235.
15. Туганова Т. Н., Болгова Л. С., Алексеенко О. И. и др. // Новости клин. цитол. России. – 2008. – Т. 12, № 3–4. – С. 11–12.
16. Туганова Т. Н., Болгова Л. С., Алексеенко О. И., Лигурда Н. Ф. // Клин. лаб. диагн. – 2009. – № 2. – С. 46–50.
17. Федоренко З. П., Гайсенко А. В., Гулак Л. О. та ін. // Бюл. Національного канцер-реєстру України № 10. – Киев, 2009.
18. Цитологический скрининг рака шейки матки: Пособие для врачей / Болгова Л. С., Туганова Т. Н., Воробьева Л. И. и др. – Киев, 2007.
19. Челидзе П. В., Зацепина О. В. // Успехи соврем. биол. – 1988. – Т. 105, № 2. – С. 252–268.
20. Шабалова И. П. Критерии диагностики заболеваний шейки матки. Цитологический атлас. – М., 2001.
21. Alarcon-Romero C., Illades-Aguiar B., Flores-Alfaro E. et al. // Salud Publ. Mex. – 2009. – Vol. 51, N 2. – P. 134–140.
22. Derenzini M., Treter D. // Pathologica. – 2001. – Vol. 93, N 2. – P. 99–105.
23. Howell W. M., Black D. A. // Experientia. – 1980. – Vol. 36. – P. 1014.
24. Marquardt K., Broschweitz U., Büttner H. H., Barten M. // Cyto-Info. – 2006. – Vol. 25, N 2. – P. 46–51.
25. Misra J. S., Das V., Srivastava A. et al. // Anal. Quant. Cytol. Histol. – 2005. – Vol. 27, N 6. – P. 337–340.
26. Singh M., Prasad S., Karla N. et al. // Oncology. – 2006. – Vol. 71, N 5–6. – P. 411–416.

Поступила 19.07.11

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 616.379-008.64-092:612.017.11-078:33

Г. Г. Байбурина, Л. М. Фархутдинова, Д. У. Аллабердина, Г. Х. Мустафина, Р. Т. Зиганшина, Г. А. Гвоздева

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИТЕЛ К ТКАНЯМ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ТИПАХ САХАРНОГО ДИАБЕТА

ГОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет, Уфа

Исследованы иммунологические маркеры сахарного диабета, их взаимосвязь с клиническими проявлениями в дебюте заболевания. Обследованы больные с впервые выявленным сахарным диабетом. Иммунологические маркеры в зависимости от клинического типа и возраста пациентов играют различную роль в характере манифестации заболевания и в сохранности функции β-клеток.

Ключевые слова: сахарный диабет, иммунологические маркеры, антитела, аутоиммунный латентный диабет взрослых

G.G. Bayburina, L.M. Farkhutdinova, D.U. Allaberdina, G.Kh. Mustafina, R.T. Zyganshyna, G.A. Gvozdeva
THE STUDY OF ANTIBODIES TO TISSUES OF PANCREAS UNDER DIFFERENT CLINICAL TYPES OF DIABETES MELLITUS

The immunologic markers of diabetes mellitus are studied including their relationship with clinical manifestations at debut of disease. The patients with primarily diagnosed diabetes mellitus are examined. The immunologic markers, depending the clinical type and age of patients, play different role in the mode of manifestation of disease and in preservation of β-cells.

Key words: diabetes mellitus, immunologic marker, antibody, autoimmune latent diabetes mellitus