

различного размера, формы, плотности (клетки с небольшим количеством эндокринных гранул преобладают также в опухолях с плохим прогнозом); 5) специализированные контакты, в том числе десмосомы (их значительно меньше в менее дифференцированных опухолях с плохим прогнозом). Перечисленные признаки в отдельности, но особенно при частичной или полной совокупности и определяют степень анаплазии опухоли и прогноз заболевания. При этом достоверность неблагоприятного прогноза повышается с 87% при одном наиболее информативном признаке до 93% при всех четырех признаках.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код 99-04-50026).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Бомаш Н. Ю. Морфологическая диагностика заболеваний щитовидной железы. — М., 1981.
2. Вапник В. Н., Глазкова Т. Г., Кошечев В. А. и др. Алгоритмы и программы восстановления зависимостей. — М., 1984.
3. Глазкова Т. Г., Бондарев Н. Г. // Конференция «Методы обучения распознавания образов»: Материалы. — М., 1993. — С. 23—27.
4. Глазкова Т. Г. Оценка информации в классификации и прогнозировании. Учебное пособие. — М., 1997.
5. Пачес А. И., Пропп Р. М. Рак щитовидной железы. — М., 1995.
6. Райхлин Н. Т. // Вopr. онкол. — 1983. — № 8. — С. 84—96.
7. Райхлин Н. Т., Смирнова Е. А. // Арх. пат. — 1984. — № 8. — С. 3—13.
8. Fuchshuber P., Loree T., Hicks W. et al. // Ann. Surg. Oncol. — 1998. — Vol. 5, N 1. — P. 81—86.
9. Papotti M., Negro F., Carney J. A. et al. // Virch. Arch. — 1997. — Vol. 430, N 5. — P. 397—405.
10. Raikhlin N. // Acta histochem. — 1986. — Bd 33, Suppl. — P. 243—245.
11. Schmid K. W. // Schweiz. Rundsch. Med. Prax. — 1998. — Vol. 11, N 87. — P. 367—374.
12. Schroder S., Bocker W., Baisch H. et al. // Cancer. — 1988. — Vol. 61. — P. 806—816.

Поступила 28.10.99 / Submitted 28.10.99

© Коллектив авторов, 2000
УДК 616.24-006.86-092

Н. Т. Райхлин, Е. А. Смирнова, Б. Х. Бебезов, М. И. Давыдов,
Б. Е. Полоцкий, Т. Г. Глазкова

ЭНДОКРИННО-КЛЕТОЧНЫЕ ОПУХОЛИ ЛЕГКОГО: УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ И КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ

НИИ клинической онкологии

В соответствии с Международной гистологической классификацией опухолей легкого ВОЗ [3], эндокринно-клеточные опухоли апудомы, называемые карциноидами, делят на типичные и атипичные. Ряд авторов [5, 13] не без основания предлагают выделять три типа карциноидов легкого — высокодифференцированный (типичный),

Patients from group 1 presented with nuclear invagination in 75%, nucleolonemata in 63%, endocrine granules in 25%, organelle-rich cells in 13%, desmosomes in 25% and preponderance of differentiated cells in 12%. Patients from group 2 had nuclear invagination in 28%, nucleolonemata in 36%, endocrine granules in 64%, organelle-rich cells in 78%, desmosomes in 72% and preponderance of differentiated cells in 57% (fig.4).

We attempted assessment of correlation of most important prognostic factors. Nuclear invagination was seen in 100% of organelle-poor cells. Small endocrine granular count correlated with nucleolonemata (41%), preponderance of undifferentiated cells (41%) and low desmosome count (88%). While preponderance of differentiated cells correlated with high endocrine granular count (96%), no nucleolonemata (91%) and compact location of tumor cells (76%).

The electron microscopy and multifactor analysis determined clear-cut ultrastructural signs reflecting MTC cell maturity and predictive of disease course. The most informative signs are (1) differentiated/undifferentiated cell ratio (preponderance of undifferentiated cells correlated with poor prognosis), (2) tumor cell cytoplasm organoid count (low organoid count correlated with poor prognosis), (3) nuclear polymorphism, nuclear invagination, clear-cut nucleoli including nucleolonemata (preponderance of these signs corresponded to poor prognosis), (4) endocrine granules of different size, shape, density (cells with small endocrine granule count preponderated in poor prognosis cases), (5) specialized contacts including desmosomes (much lower prevalence in poorly differentiated tumors with poor prognosis). These signs especially if present together reflect tumor anaplasia and are predictive of disease course. Significance of poor prognosis increases from 87% in the presence of a single informative sign to 93% in the presence of all four signs.

This study was supported by the Russian Fundamental Study Foundation (grant 99-04-50026).

N.T.Reihlin, E.A.Smirnova, B.H.Bebegov, M.I.Davydov,
B.E.Polotsky, T.G.Glazkova

ENDOCRINE-CELL TUMORS OF LUNG: ULTRASTRUCTURAL PECULIARITIES AND CLINICAL COURSE

Institute of Clinical Oncology

The WHO International Histological Classification of Lung Tumors [3] classifies endocrine-cell tumors (apudomas or carcinoids) as typical and atypical. Some authors [5,13] suggest that three types of lung carcinoids should be specified, i.e. well differentiated (typical), moderately differentiated (atypical) and poorly differentiated (anaplastic) tumors.

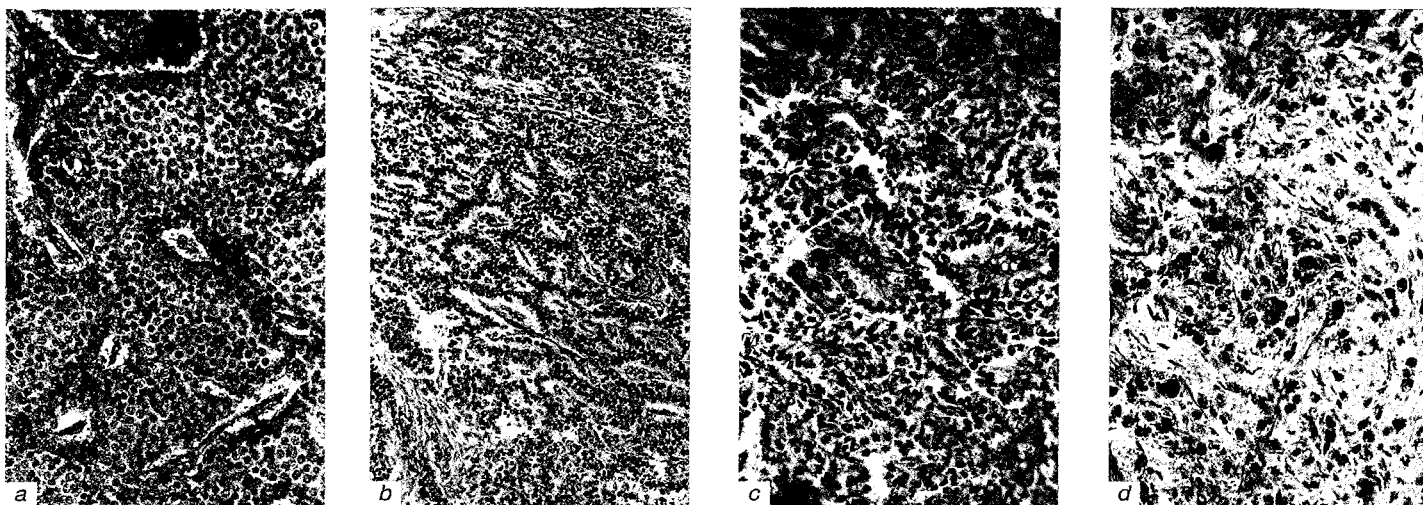


Рис. 1. Гистологическое строение типичных и атипичных карциноидов легкого. Окраска гематоксилин-эозином.

a — солидное строение типичного карциноида. Клетки мономорфные с округлыми ядрами и светлой гомогенной цитоплазмой. $\times 250$;
b — альвеоларно-трабекулярное строение типичного карциноида. Клетки призматической формы с гиперхромными ядрами. $\times 160$;
c — солидно-железистоподобное строение типичного карциноида. В железистоподобных структурах клетки цилиндрической формы со светлой цитоплазмой. $\times 250$;
d — дисконкомплексация структур в атипичном карциноиде. Выраженный ядерный и клеточный полиморфизм. $\times 250$.

Fig. 1. Typical and atypical carcinoids of the lung. Histological structure.

a, solid structure of typical carcinoid. The cells are monomorphous with round nuclei and light homogenous cytoplasm. $\times 250$;
b, alveolotrabeacular structure of typical carcinoid. The cells of prismatic shape with hyperchromous nuclei. $\times 160$;
c, solid or glandular-like structure of typical carcinoid. The glandular elements contain cylindrical cells with light cytoplasm $\times 250$;
d, structural discomplexation in atypical carcinoid. Marked nuclear and cellular polymorphism. $\times 250$.

умеренно дифференцированный (атипичный) и низко-дифференцированный (анаплазированный).

Точная оценка степени карциноида легкого имеет важное практическое значение, однако при гистологическом исследовании часто возникают большие диагностические трудности, связанные с решением вопроса о принадлежности данной опухоли легких к новообразованиям эндокринного типа, определением степени атипичности новообразования, установлением прогноза и в итоге с выработкой дальнейшего оптимального ведения больного. Подробно методические аспекты идентификации эндокринных клеток АПУД-системы обсуждаются в ряде работ [14, 19, 21]. Из существующих методов в этом плане наиболее информативны два — электронная микроскопия и иммуногистохимия (хромогранин А, синаптофизин).

Учитывая сказанное выше и принимая во внимание возможности электронной микроскопии, мы ставили целью данной работы поиск ультраструктурных диагностических критериев, определяющих степень дифференцировки опухолевых клеток карциноидов легких, уровень их злокачественности, прогноз.

Материалы и методы. Гистологически исследовали 123 карциноида легких, полученные у больных при операции или бронхоскопии в НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН с 1965 по 1997 г. У 32 из них (у 21 — типичный карциноид и у 11 — атипичный) опухоли были изучены электронно-микроскопически с использованием стандартных способов обработки. Ультраструктурную оценку карциноидов проводили на основании ранее разработанной классификации опухолевых клеток [9].

Для объективизации полученных результатов был использован математический многофакторный анализ [2, 4].

Результаты. 1. Гистологическое исследование. Типичные карциноиды (рис. 1, *a—c*). Опухолевые клетки округлые, полигональные или призматические. Ядра иногда располагаются апикально, чаще центрально, овально-округлой

It is important from the practical standpoint to assess degree of lung carcinoid atypia, however the histological diagnosis has to solve a number of serious problems, i.e. to decide whether the tumor in question belongs to endocrine neoplasms, to measure degree of tumor atypia, to make prognosis of disease clinical course and to give recommendations on the optimal treatment. Methodological aspects of identification of endocrine cells as belonging to the APUD system are discussed in detail in [14,19,21]. Electron microscopy and immunohistochemical assay (chromogranin A, synaptophysin) are thought to be most informative cell identification techniques.

The purpose of this study was to find ultrastructural diagnostic tests to measure differentiation degree and malignancy grade of lung carcinoid cells as well as to make disease prognosis.

Materials and Methods. The histological study was performed in 123 surgical or bronchoscopic specimens of lung carcinoids from patients managed at the Institute of Clinical Oncology, N.N.Blokhin Memorial Cancer Research Center during 1965 to 1997. Of this number 32 tumors (21 typical and 11 atypical carcinoids) were studied by standard electron microscopy. The tumors' ultrastructural features were assessed according to a tumor cell classification described elsewhere [9].

Mathematical multifactor analysis [2,4] was used to make more objective evaluation.

Results. 1. Histological Study. Typical Carcinoids (figs.1,*a-c*). The tumor cells were round, polygonal or prismatic. The nuclei were sometimes located apically or (more frequently) centrally, had oval or round shape, contained 1 to 2 nucleoli, small heterochromatin areas. The nuclear membrane was usually smooth, less frequently had small invaginations. The cytoplasm was well marked, eosinophilic, light, might be small-granular, vacuolated or contained lipids. The cells united into alveolar, trabecular, glandular and/or solid

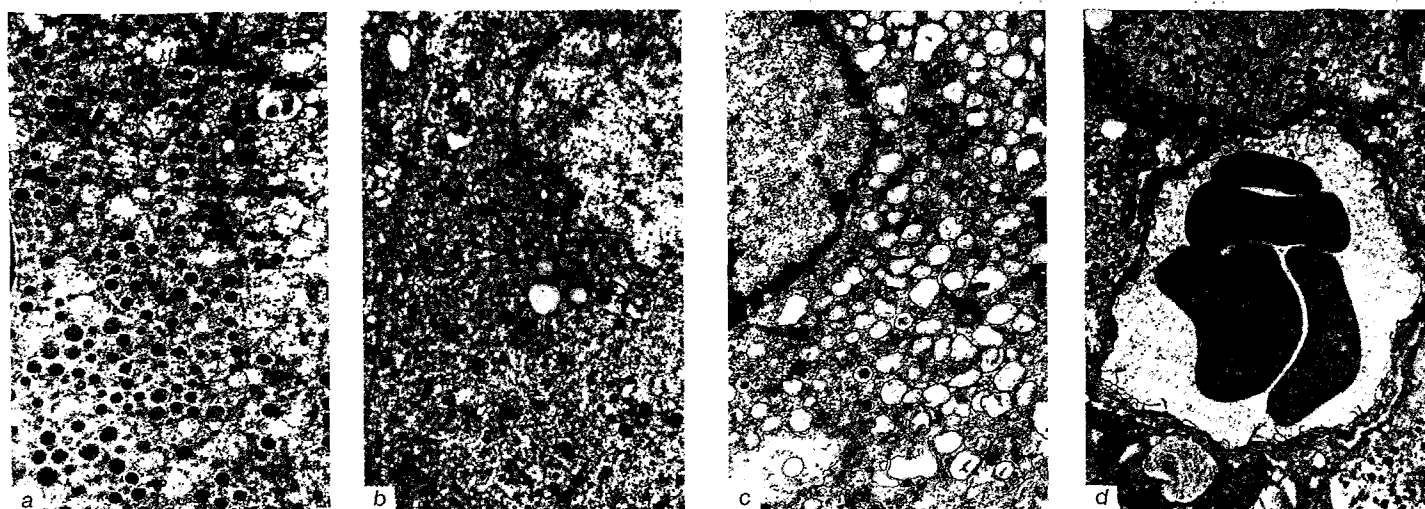


Рис. 2. Ультраструктурное строение типичного карциноида легкого.

a — дифференцированная опухолевая клетка с большим содержанием в цитоплазме темных мелких, округлых, гомогенного вида эндокринных гранул. $\times 6000$;
b — дифференцированная опухолевая клетка с умеренным содержанием в цитоплазме эндокринных гранул, митохондрий и единичных липидных включений. Ядро округлой формы со слегка фестончатым контуром. Хроматин частично конденсирован в виде глыбок. $\times 4000$;
c — дифференцированная опухолевая клетка с большим количеством везикулярных структур и единичными эндокринными гранулами с темной сердцевинкой и со светлым ореолом. $\times 6000$;
d — фрагменты темных и светлых опухолевых клеток, расположенные вокруг сосуда с эритроцитами. В цитоплазме видны множественные эндокринные гранулы. $\times 4000$.

Fig. 2. Typical carcinoid of the lung. Ultrastructure.

a, differentiated tumor cell with cytoplasm containing a large amount of dark, small, round, homogenous endocrine granules. $\times 6,000$;
b, differentiated tumor cell with cytoplasm containing a moderate amount of endocrine granules, mitochondria and solitary lipid elements. Round nucleus with a slightly scalloped outline. Partly condensed chromatin. $\times 4,000$;
c, differentiated tumor cell with a large amount of vesicular structures and solitary endocrine granules with a dark core and a light halo. $\times 6,000$;
d, fragments of dark and light tumor cells around a vessel with erythrocytes. There are lots of endocrine granules in the cytoplasm. $\times 4,000$.

формы, содержат 1–2 ядрышка, небольшие участки гетерохроматина. Ядерная мембрана обычно гладкая, реже с небольшими инвагинациями. Цитоплазма выражена, эозинофильная, светлая, может быть мелкозернистой, вакуолизированной или содержать липиды. Клетки образуют альвеолярные, трабекулярные, железистоподобные и/или солидные структуры, которые могут преобладать в опухоли или встречаться в различном сочетании, образуя смешанные гистологические типы карциноида. Часто в типичных карциноидах встречаются розетки из высоких призматических клеток, псевдожелезистые структуры и перипитоподобные комплексы в виде муфт вокруг кровеносных сосудов. Участки некрозов и митозов встречаются редко, инфильтративный рост отсутствует. Строма опухоли, как правило, богата соединительнотканскими элементами и сосудами.

Атипичные карциноиды (рис. 1, *d*). Опухолевые клетки характеризуются выраженным полиморфизмом, дискомплексацией альвеолярных, трабекулярных, железистоподобных структур, образованием солидных скоплений. Ядра преимущественно неправильной формы с неровной поверхностью, ядрышками, глыбками хроматина. Эти изменения в разных карциноидах и в различных участках одной и той же опухоли выражены неодинаково. Розетки, псевдожелезистые образования, перипитоподобные комплексы встречаются редко. Наблюдаются выраженные в разной степени от опухоли к опухоли участки некроза, митозы. В ряде опухолей отмечен инфильтративный рост. Опухоли богаты сосудами и содержат развитую строму.

structures that were found in various combinations thus forming mixed histological types. In many cases the typical carcinoids contained rosettes of high prismatic cells, pseudoglandular structures and pericyte-like clusters surrounding blood vessels like muffs. Necrosis and mitosis areas were rare, there was no infiltrative growth. The tumor stroma was as a rule rich of connective tissue elements and vessels.

Atypical Carcinoids (fig. 1, *d*). The tumor cells demonstrated marked polymorphism, discomplexation of alveolar, trabecular, glandular-like structures, formation of solid structures. The nuclei mainly had irregular shape and uneven surface, nucleoli, chromatin blocks. These changes were differently marked in different carcinoids and in different segments of the same tumors. Rosettes, pseudoglandular or pericyte-like structures were rarely encountered. There were areas of necrosis and mitosis that were differently marked in different specimens. Some tumors presented with infiltrative growth. The tumors were heavily vascularized and had well developed stroma.

2. Electron Microscopy. Typical Carcinoids (figs. 2, *a–d*). Electron microscopy of the tumors discovered two types of cells, i.e. differentiated (group 1) cells with cytospecific ultrastructural characteristics of endocrine-cell differentiation and undifferentiated (group 2) cells free from ultrastructural cytospecific features. Tumor cells from group 1 had round-oval, cylindrical or polygonal shape. The cytoplasm was as rule well developed and contained endocrine granules of various shapes, sizes and numbers. Some cells had many mitochondria that filled the cytoplasm

2. *Электронно-микроскопическое исследование.* Типичные карциноиды (рис. 2, *a—d*). При электронно-микроскопическом исследовании в опухолях обнаруживается две группы клеток: дифференцированные (1-я группа) с цитоспецифическими ультраструктурными признаками эндокринно-клеточной дифференцировки и недифференцированные (2-я группа) без ультраструктурных цитоспецифических признаков. Опухолевые клетки 1-й группы округло-овальной, цилиндрической или полигональной формы. Цитоплазма обычно развита хорошо и содержит эндокринные гранулы различной формы, размера и количества. В некоторых клетках много митохондрий, иногда они полностью заполняют цитоплазму. Цистерны шероховатого эндоплазматического ретикулаума развиты умеренно, в отдельных клетках располагаются параллельно. Встречаются рибосомы, везикулярные структуры. Ядра опухолевых клеток округлые или овальные, с ровной или слегка волнистой поверхностью. Хроматин распределен диффузно и в виде небольших глыбок. Встречаются отдельные ядрышки. Клетки лежат преимущественно компактно, между ними часто видны специализированные контакты, в том числе десмосомы. Опухолевые клетки 2-й группы (недифференцированные) имеют примерно такое же общее ультраструктурное строение, как клетки 1-й группы (размер, форма клетки и ядра, развитие органоидов), но в их цитоплазме не обнаруживаются эндокринные гранулы. Соотношение клеток 1-й и 2-й групп от опухоли к опухоли варьирует, но, как правило, преобладают клетки 1-й группы, расположенные компактно, с умеренным или большим количеством десмосом, с ядром, имеющим относительно ровную поверхность, с развитой цитоплазмой, с низким ядерно-цитоплазматическим отношением. Иногда встречаются темные клетки. Из 21 больного с карциноидами, имевшими типичное гистологическое строение, при электронно-микроскопическом исследовании у 3 было обнаружено резкое преобладание клеток 2-й группы

completely in some specimens. Rough endoplasmic reticular cisterns were moderately developed and located in parallel in some cells. There were ribosomes and vesicular structures. Tumor cell nuclei were round or oval, had even or slightly wavy surface. Chromatin was distributed in a diffuse manner as small blocks. There were individual nucleoli. The cells formed rather compact clusters with specialized contacts including desmosomes. Tumor cells from group 2 (undifferentiated) had a similar general ultrastructure (size, cell and nucleus shape, organoid development), but had no endocrine granules. Group 1 to 2 cell ratios were different in different tumors though there was a preponderance of compact clusters of group 1 cells with a moderate to big number of desmosomes and nuclei with rather even surface, well developed cytoplasm and low nucleus/cytoplasm ratio. Dark cells were encountered in some cases. Electron microscopy discovered a marked predominance of group 2 (undifferentiated) cells with invaginated nuclei and a small number of specialized contacts in 3 of the 21 carcinoids with typical histology. These 3 specimens presented with poor to moderate development of organoids including endocrine granules in group 1 cells. Some cells demonstrated mitoses. Of the 3 patients with these tumors 1 died from postoperative bleeding, 1 was lost from follow-up and the 3rd one underwent surgery 10 months ago.

Atypical Carcinoids (fig.3, *a,b*). These tumors presented with a considerable preponderance of group 2 cells without specific ultrastructural characteristics (endocrine granules). Their cytoplasm as a rule had few organoids and many ribosomes. The nuclei were large, had uneven or invaginated surface. Nucleus/cytoplasm ratios in cells of group 1 was lower than in group 2. The number of endocrine granules was variable and rather low. There were dark cells too. In some areas the cells did not form compact groups. Specialized contacts were rare, while mitoses were

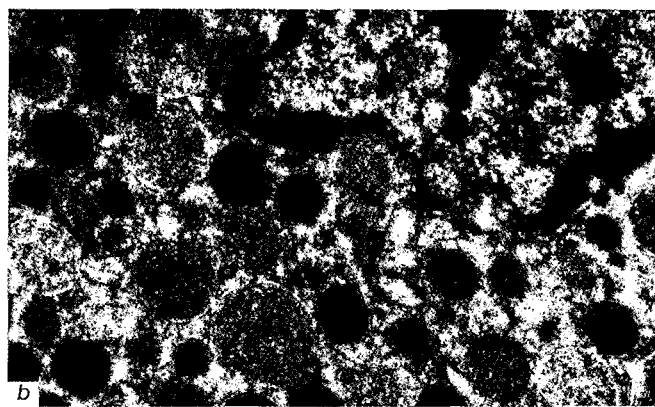
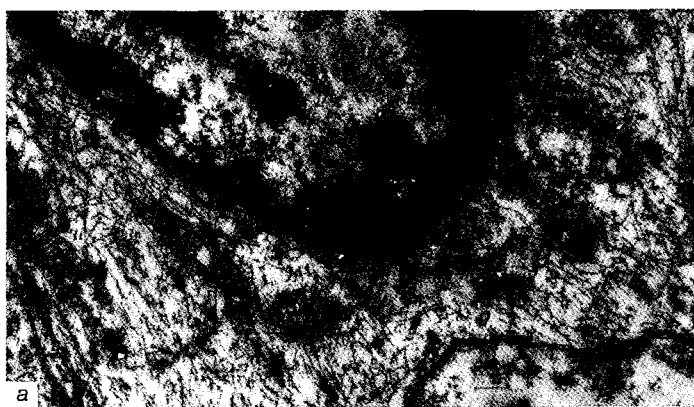


Рис. 3. Атипичный карциноид легкого. Ультраструктурное строение.

a — недифференцированная опухолевая клетка. Цитоплазма бедна органоидами, содержит отдельные группы полирибосом, единичные митохондрии и микрофиламенты. В левом углу фрагмент опухолевой клетки с единичными эндокринными гранулами. $\times 1,000$; *b* — дифференцированная опухолевая клетка. В цитоплазме имеются эндокринные гранулы различного размера и электронной плотности. $\times 1,500$.

Fig.3. Atypical carcinoid of the lung. Ultrastructure.

a, undifferentiated tumor cell. The cytoplasm is poor of organoids, contains few groups of polyribosomes, solitary mitochondria and microfilaments. In the left corner: a tumor cell fragment with solitary endocrine granules. $\times 1,000$; *b*, differentiated tumor cell. The cytoplasm has endocrine granules of different size and electron density. $\times 1,500$.

(недифференцированных) с инвагинированными ядрами, незначительным количеством специализированных контактов. Развитие органоидов в опухолевых клетках этих трех карциноидов, в том числе эндокринных гранул в клетках 1-й группы, обычно было незначительным или умеренным. Встречались в этих карциноидах митозы. Из 3 больных с такими опухолями один умер от кровотечения в послеоперационном периоде, второй не прослежен, а третий прооперирован 10 мес назад.

Атипичные карциноиды (рис. 3, а, б). В этих опухолях значительно преобладают клетки 2-й группы без ультраструктурных специфических признаков (эндокринных гранул). Цитоплазма клеток, как правило, бедна органоидами, часто скудная, в ней много рибосом. Ядра крупные, с неровной или инвагинированной поверхностью. Ядерно-цитоплазматическое отношение в клетках 1-й группы меньше, чем во 2-й. Количество эндокринных гранул в них колеблется, во многих клетках оно незначительно. Местами видны темные клетки. В отдельных участках клетки не всегда плотно прилегают друг к другу. Специализированные контакты встречаются редко. Митозы наблюдаются часто. В опухолях имеются участки некроза. У 11 больных с карциноидами, имевшими атипичное гистологическое строение, у 3 опухоли состояли преимущественно из ультраструктурно дифференцированных клеток (1-я группа) с развитой цитоплазмой, содержащей много эндокринных гранул и других органоидов, в том числе митохондрий. Ядра в клетках этих карциноидов были небольших размеров, как правило, с ровной или слегка волнистой поверхностью. Ядерно-цитоплазматическое отношение было низким. Клетки располагались компактно, между ними было видно достаточно много десмосом. Один из этих троих больных живет более 11 лет, второй прослежен на протяжении 8 лет и третий не прослежен.

Количественная характеристика электронно-микроскопических особенностей типичных и атипичных карциноидов, полученная на основе статистического анализа 54 различных ультраструктурных признаков, позволила выделить 9 наиболее высокоинформативных (табл. 1).

До операции (табл. 2) цитологически из 9 больных с исследованными атипичными карциноидами (у 2 исследование не проводили) правильный диагноз был поставлен только у 1 (11,1%). Гистологически до операции диагноз карциноидной опухоли был поставлен правильно у 1 (12,5%) из 8 больных (3 больным биопсия не проводилась). После операции гистологический диагноз карциноида не был поставлен в 6 (54,6%) случаях и еще в 1 (9,1%) случае был поставлен диагноз эндокринно-клеточного рака. Электронная микроскопия позволила правильно поставить диагноз карциноида у всех 11 (100%) больных и, как было сказано выше, у 3 (27,3%) пациентов уточнить степень атипии и злокачественного потенциала (т. е. определить вариант карциноида).

При цитологическом исследовании типичных карциноидов (табл. 3) диагноз до операции был правильно поставлен в 60% (6 из 10) случаях, а гистологически — в 75,0% (12 из 16). После операции гистологический диагноз карциноида легкого был поставлен во всех случаях (100,0%).

Т а б л и ц а 1

T a b l e 1

Информативность ультраструктурных признаков
Informative value of ultrastructural characteristics

Признак	Коэффициент информативности
Количество клеток 2-й группы (недифференцированных) Group 2 (undifferentiated) cell number	0,320
Компактный характер расположения клеток Compact cell location	0,301
Ядерно-цитоплазматическое отношение Nucleus-cytoplasm ratio	0,300
Свободные рибосомы / Free ribosomes	0,276
Десмосомы / Desmosomes	0,250
Преобладание клеток 1-й группы (дифференцированных) Group 1 (differentiated) cell preponderance	0,242
Митохондрии / Mitochondria	0,234
Наличие клеток, бедных органеллами Presence of organelle-poor cells	0,196
Инвагинированные ядра Invaginated nuclei	0,163
Characteristic	Coefficient of informative value

encountered frequently. The tumors had necrosis areas. Of the 11 carcinoids with atypical histology 3 consisted mainly of differentiated cells (group 1) with well developed cytoplasm containing many endocrine granules and other organoids including mitochondria. The nuclei were small and as a rule had even or slightly wavy surface. Nucleus/cytoplasm ratio was low. The cells formed compact groups with a rather big number of desmosomes. One of these 3 patients is alive for more than 11 years, another one is under follow-up for 8 years and the third patient was lost to follow-up.

Statistical analysis of the electron microscopic findings was performed with respect to 54 ultrastructural characteristics and specified 9 most informative of them (table 1).

Preoperative cytological study of 9 cases with atypical carcinoids (the remaining 2 cases failed to undergo the study) resulted in correct diagnosis in 1 (11.1%) case only (table 2). Preoperative histological study resulted in correct diagnosis of carcinoid in 1 (12.5%) of 8 cases (biopsy was not performed in 3 patients). Postoperatively the histological diagnosis of carcinoid was not made in 6 (54.6%) cases and endocrine-cell cancer was diagnosed in 1 (9.1%) case. Electron microscopy resulted in correct diagnosis of carcinoid in all the 11 (100%) patients and a more accurate assessment of atypia and malignancy (i.e. establishment of carcinoid type) in another 3 (27.3%) patients.

При электронно-микроскопическом исследовании диагноз карциноида был подтвержден у всех больных и, как уже было сказано, в 3 случаях удалось выявить несоответствие гистологической и ультраструктурной картины типичного карциноида легкого.

Пятилетняя выживаемость больных карциноидом легкого после хирургического лечения составила в целом 88%. Один из главных факторов прогноза после хирургического лечения является гистологический вариант опухоли (табл. 4).

Продолжительность жизни свыше 5 лет отметили у 43,7% больных с атипичным карциноидом легкого, при типичном карциноиде 5-летняя выживаемость статистически достоверно была выше и составила 100% ($p < 0,05$). Вторым существенным прогностическим фактором при хирургическом лечении больных карциноидом легкого следует называть состояние внутригрудных лимфоузлов. Пятилетняя выживаемость у больных с атипичным карциноидом легкого без метастазов в лимфоузлы составила 75%, а с их поражением — 12%. Для больных с типичным гистологическим вариантом метастазы в лимфоузлы корня легкого не повлияли на отдаленные результаты.

Обсуждение. Источником развития эндокринно-клеточных опухолей (апудом) являются клетки АПУД-системы (диффузной эндокринной системы), так называемые апудоциты [11]. В легочной ткани апудоциты располагаются диффузно среди бронхиального эпителия в виде отдельных клеток или небольших скоплений, так называемых нейроэпителиальных телец. Количество апудоцитов нарастает в дистальном направлении вдоль бронхиального дерева, что отражает и частоту локализации апудом в легочной ткани, которые значительно чаще (в 4—5 раз) встречаются в центральных отделах легкого и реже на периферии [5]. Локализация опухоли часто определяет объем оперативного вмешательства [18] и оказывает влияние на прогноз [23].

В зависимости от направленности функциональной дифференцировки опухолевых клеток апудомы могут сопровождаться рядом эндокринных расстройств, формирующих определенные синдромы. Чаще это карциноидный синдром, связанный с гиперпродукцией серотонина (сердечно-сосудистые расстройства — приливы, эндокардит, отеки и др.; диарея, вздутие живота, нарушение моторики желудочно-кишечного тракта; головокружение, обмороки, дерматозы, артриты и другие симптомы), реже — синдром Иценко — Кушинга, обусловленный гиперпродукцией адренокортикотропного гормона (ожирение лица, шеи, туловища, живота, похудание ног, красно-багровый цвет лица и др.) и другие нарушения, вызванные иными гормонами [1, 10, 11]. Есть основание предполагать, что характер гормональной активности апудом и опухолевых апудоцитов в раковых новообразованиях также оказывает влияние на скорость и характер роста опухоли, ее клиническое течение и прогноз [7, 11, 12, 15]. Так, например, известно, что серотонин, мелатонин подавляют пролиферацию клеток, а гастрин, соматостатин усиливают ее [15, 17].

По данным литературы [12, 24], эндокринно-клеточные опухоли легких составляют от 3 до 5% всех новообразований легких, однако использование электронной микроскопии, гистохимии и иммуногистохимии свидетельствует

Таблица 2

Table 2

Результаты до- и послеоперационной морфологической диагностики 11 атипичных карциноидов легкого
Results of pre- and postoperative morphological diagnosis of 11 atypical carcinoids of the lung

Метод	Диагноз	Число больных
До операции / Before surgery		
Цитологический Cytology	Карциноид / Carcinoid	1
	Мелкоклеточный рак Small cell carcinoma	2
	Рак или карциноид Carcinoma or carcinoid	2
	Клетки злокачественного новообразования Malignant neoplasm cells	3
Гистологический Histology	Карциноид / Carcinoid	1
	Мелкоклеточный рак Small cell carcinoma	2
	Подозрение на рак Suspicion of cancer	5
После операции / After surgery		
Гистологический Histology	Карциноид / Carcinoid	6
	Эндокринно-клеточный рак Endocrine-cell carcinoma	1
	Опухоль без уточнения формы Tumor, type not specified	4
Электронно-микроскопический Electron microscopy	Карциноид / Carcinoid	11
Method	Diagnosis	No. of cases

Preoperative cytological study of typical carcinoids (table 3) was a success in 60% (6/10) while histological study resulted in correct diagnosis in 75.0% (12/16) cases. Postoperative histological diagnosis of carcinoid of lung was made in all (100%) the cases. Electron microscopy confirmed the diagnosis of carcinoid in all the cases and as said above discovered discrepancy of the histological findings and ultrastructural pattern of lung carcinoid in 3 cases.

The 5-year survival of cases with lung carcinoid undergoing surgery was 88.0%. Tumor histology was a main postoperative factor of prognosis (table 4).

Of the patients with atypical carcinoid 43.7% survived 5 and more years, the 5-year survival of patients with typical

о том, что в легких такие опухоли в действительности встречаются значительно чаще, по данным некоторых авторов до 17,11% [5]. При электронно-микроскопическом и иммуногистохимическом исследовании с моноклональными антителами РНЕ-5 (хромогранин А) эндокринноклеточная дифференцировка выявляется в 12–20% случаев мелкоклеточного рака легкого [16]. До операции диагноз карциноида в среднем ставится в 50% случаев [22].

Результаты проведенного электронно-микроскопического исследования и последующего многофакторного анализа позволили установить четкие ультраструктурные критерии, указывающие на степень атипичии карциноидов и уровень их зрелости и определяющие дифференциальную диагностику и прогноз. Выделено несколько наиболее информативных ультраструктурных признаков. К ним относятся: 1) соотношение дифференцированных и недифференцированных клеток (т. е. клеток 1-й и 2-й групп), последние преобладают в атипичных карциноидах; 2) количество органоидов в цитоплазме опухолевых клеток как 1-й, так и 2-й группы (клеток, бедных органоидами, больше в атипичных карциноидах); 3) ядерно-цитоплазматическое отношение (клетки с высоким отношением преобладают в атипичных карциноидах); 4) полиморфизм ядер, инвагинация ядерной мембраны, глыбчатость хроматина, четкие ядрышки (клеток с такими признаками больше в атипичных карциноидах); 5) эндокринные гранулы различного размера, формы, плотности (клетки с небольшим количеством в цитоплазме эндокринных гранул преобладают в атипичных карциноидах); 6) специализированные контакты, в том числе десмосомы (их значительно меньше в атипичных карциноидах); 7) митозы (значительно чаще наблюдаются в атипичных карциноидах). Перечисленные признаки в отдельности, но особенно при частичной или полной совокупности и определяют степень анаплазии опухоли и отношение ее к тому или иному варианту карциноида.

Из 21 исследованного нами карциноида, имевшего типичное гистологическое строение, в 3 была обнаружена ультраструктурная картина, характерная для атипичных вариантов карциноида со значительным преобладанием недифференцированных клеток, бедных цитоплазмой и органоидами, с полиморфными и инвагинированными ядрами и т. д. В то же время из 11 больных, у которых гистологически был диагностирован атипичный карциноид, один жив 11 лет, второй прослежен 8 лет и третий больной не прослежен. При электронно-микроскопическом исследовании этих трех опухолей было обнаружено строение, характерное для типичных вариантов.

Таким образом, по нашим данным, электронная микроскопия позволяет на основании установленных ультраструктурных критериев более чем в 18% случаев уточнить степень анаплазии карциноида, уровень его дифференцировки, определять вариант и делать прогностические выводы. В отношении атипичных карциноидов этот показатель возрастает до 27,2%.

Следует подчеркнуть, что, как видно из приведенных данных, в карциноидах легкого, как и в других опухолях различных органов и тканей, может не существовать корреляции между степенью дифференцировки на гистологическом

Таблица 3

Table 3

Результаты до- и послеоперационной морфологической диагностики 21 типичного карциноида легкого

Results of pre- and postoperative morphological diagnosis of 21 typical carcinoids of the lung

Метод	Диагноз	Число больных
До операции / Before surgery		
Цитологический Cytology	Карциноид / Carcinoid	6
	Кровь, цилиндрический эпителий Blood, cylindrical epithelium	3
	Затруднение при определении природы опухоли Tumor origin not specified	1
Гистологический Histology	Карциноид / Carcinoid	12
	Элементов опухоли не найдено No tumor elements	3
	Необходимость повторной биопсии Second biopsy is needed	1
После операции / After surgery		
Гистологический Histology	Карциноид / Carcinoid	21
Электронно-микроскопический Electron microscopy	Карциноид / Carcinoid	21
Method	Diagnosis	No. of cases

carcinoid of lung was significantly higher (100%, $p < 0.05$). Intrathoracic lymph node involvement was another important prognostic factor. The 5-year survival of patients with atypical carcinoid of lung without lymph node involvement was 75% versus 12% in node-positive cases. The lymph node involvement of the root of lung was not significant for follow-up results in cases with typical carcinoid histology.

Discussion. Endocrine-cell tumors (apudomas) originate from cells of the APUD system (diffuse endocrine system) or apudocytes [11]. In lung tissue the apudocytes are diffusely located in bronchial epithelium as single cells or small clusters referred to as neuroepithelial bodies. The apudocyte number increases distally along the bronchial tree which corresponds to prevalence of lung apudomas that develop more frequently (4-5-fold) in central and much less frequently in peripheral segments of the lung [5]. Tumor site is often a determinant factor of extent of surgical intervention [18] and disease prognosis [23].

The apudomas may be accompanied by endocrine lesions and syndromes depending upon functional differentiation lineage of tumor cells. The most common carcinoid syndrome (cardiovascular disorders such as hot flashes, endocarditis,

Таблица 4

Table 4

Отдаленные результаты хирургического лечения
Follow-up results of surgery

Гистологический вариант	Продолжительность жизни, годы		
	1	3	5
Типичный Typical	76 из 76 100%	68 из 68 100%	59 из 59 100%
Атипичный Atypical	14 из 16 87,5 ± 8,3%	8 из 16 50,0 ± 12,5%	7 из 16 43,7 ± 12,4%
Всего ... Total ...	90 из 92 97,8 ± 1,5%	76 из 84 90,5 ± 3,2%	66 из 75 88,0 ± 3,7%
Histology	1	3	5
	Years of life		

и ультраструктурном уровне. Именно эта особенность и позволяет использовать электронную микроскопию для гистогенетической верификации опухолей, особенно низкодифференцированных [8].

Наряду с уточнением степени анаплазии карциноидов легкого и установлением их варианта электронная микроскопия позволяет выявлять эндокринную дифференцировку в других видах раковых новообразований легкого, особенно в мелкоклеточных, овсяноклеточных, недифференцированных и др. [5, 6, 9, 10, 12, 13]. Без электронно-микроскопического исследования часть карциноидов, имеющая наиболее анаплазированное строение, растворяется в группе недифференцированного рака [5] и не диагностируется. Не диагностируются также и смешанные опухоли одновременно с эндокринно-клеточной и эпителиальной дифференцировкой. Наличие эндокринно-клеточной дифференцировки может оказывать влияние на клиническое течение опухоли, прогноз, выбор оптимального способа хирургического, комбинированного или комплексного лечения [5, 13].

Карциноидные опухоли легкого, по Международной гистологической классификации опухолей легкого ВОЗ [3] и в соответствии с клинико-анатомическими наблюдениями [5, 13], относятся к группе злокачественных опухолей, но с разным уровнем злокачественности. Клиническая и гистологическая оценка этого уровня в каждом конкретном случае достаточно часто наталкивается, как было показано выше, на объективные трудности, которые могут быть преодолены с помощью электронно-микроскопического исследования на основании ультраструктурных критериев определения степени клеточной анаплазии опухоли. Электронная микроскопия способна выявить эндокринные клетки с незначительным количеством гранул, иногда 3—5, что недоступно иммуногистохимии в силу чувствительности метода. Так, в специальном сравнительном исследовании из 20 карциноидов легкого иммуногистохимически диагноз не был подтвержден в 4 (20%) случаях, а при электронно-микроскопическом исследовании диагноз подтвердился в 100%), т. е. во всех 20 наблюдениях [20].

В заключение надо сказать о терминологии эндокринно-клеточных опухолей [11]. Термин «апудома» — это групповое понятие, обозначающее все опухоли из апудоцитов.

edema, etc.; diarrhea, meteorism, gastrointestinal motility disorder; dizziness, syncope, dermatosis, arthrosis and other symptoms) is related to serotonin hyperproduction, the less frequent Cushing's syndrome (moon face, centripetal obesity, leg leanness, etc.) is due to adrenocorticotrophic hormone hyperproduction, other lesions due to secretion of other hormones may also be found [1,10,11]. There is good reason to suppose that hormonal activity of apudoma and tumor apudocytes influences cancer growth rate and character, disease clinical course and prognosis [7,11,12,15]. For instance, it is known that serotonin and melatonin inhibit while gastrin and somatostatin enhance cell proliferation [15,17].

According to the published data [12,24] endocrine-cell tumors of the lung are 3% to 5% of all lung tumors, while analysis of electron microscopy, histochemistry and immunohistochemistry findings demonstrate that actual incidence of these tumors is much higher and reaches 17.11% [5]. Electron microscopy and immunohistochemical assay with monoclonal antibody PHE-5 (chromogranin A) discover endocrine-cell differentiation in 12% to 20% of small-cell lung carcinoma [16]. Preoperatively the diagnosis of carcinoid is made in 50% of the cases [22].

The electron microscopic study followed by multifactor analysis established clear-cut ultrastructural criteria of carcinoid atypia and maturity, differential diagnosis and prognosis. The most informative characteristics are (1) differentiated/ undifferentiated cell ratio (group 1 to 2 cells) the latter predominate in atypical carcinoids; (2) cytoplasm organoid number in group 1 and 2 cells (there are more organoid-poor cells in atypical carcinoids); (3) nucleus/cytoplasm ratio (cells with a high ratio preponderate in atypical carcinoids); (4) nuclear polymorphism, nuclear membrane invagination, chromatin blocks, clear nucleoli (cells with such characteristics preponderate in atypical carcinoids); (5) endocrine granules of different size, shape, density (cells with a small number of endocrine granules in cytoplasm preponderate in atypical carcinoids); (6) specialized contacts including desmosomes (few in atypical carcinoids) (7) mitosis (much more frequent in atypical carcinoids). These characteristics may be present separately, in part or in full and determine tumor anaplasia and belonging to this or that carcinoid type.

Three of the 21 carcinoids with typical histology considered in our study had ultrastructural characteristics of atypical carcinoids with a considerable preponderance of undifferentiated cells, poor of cytoplasm and organoids, with polymorphous and invaginated nuclei, etc. As mentioned above electron microscopy discovered typical carcinoid features in 3 of the 11 patients with atypical carcinoids as determined histologically. Of these patients 1 is alive for 11 years, 1 is followed up for 8 years and the 3rd one is lost to follow-up.

Thus, electron microscopy allowed a more accurate assessment of carcinoid anaplasia, differentiation, type and disease course as based on the established ultrastructural characteristics in more than 18% of the cases. As to atypical carcinoids this percentage reaches 27.2.

It should be emphasized that cell differentiation of lung carcinoids (like in other tumors of various organs and tissues) as established by histological findings may differ from that

Для апудом определенного гистологического строения существуют отдельные термины, например карциноиды, феохромоцитомы, парангангиомы, инсулиномы и др. Существует и функциональная терминология отдельных видов апудом в зависимости от синтезируемого ими гормона — гастринома, соматостатинома, глюкагонома, випома и т. д. Для обозначения злокачественных апудом часто используют термин «эндокринно-клеточный рак».

Выводы. 1. Найдены ультраструктурные признаки, указывающие на степень атипии карциноидов и уровень их злокачественности и определяющие дифференциальную диагностику и прогноз.

2. Наиболее информативными ультраструктурными признаками являются: соотношение дифференцированных и недифференцированных клеток; насыщенность цитоплазмы органоидами, в том числе эндокринными гранулами, степень полиморфизма ядер, ядерно-цитоплазматическое соотношение, развитие специализированных контактов, митозов.

3. Установлено, что часть карциноидов с типичным гистологическим строением имеет ультраструктурные признаки, характерные для опухоли, состоящей из клеток с низкой степенью дифференцировки, и соответственно плохой прогноз. Среди гистологически атипичных карциноидов встречаются также ультраструктурно-дифференцированные опухоли с хорошим прогнозом.

4. В среднем до 18% карциноидов нуждаются в ультраструктурной верификации степени их анаплазии. При атипичных карциноидах этот показатель возрастает до 27,2%.

5. На основании установленных ультраструктурных критериев представляется возможным уточнять злокачественный потенциал карциноидов, определять прогноз и проводить дифференциальную диагностику.

6. Электронная микроскопия, обладающая высокой чувствительностью, способна выявить единичные клетки с нейроэндокринной дифференцировкой и содержащие незначительное число эндокринных гранул, что не всегда доступно иммуногистохимии.

7. Подтверждено преобладание карциноидов, расположенных центрально (до 86%), что связано с преимущественной концентрацией в этих отделах бронхов апудоцитов.

8. В терминологическом плане карциноиды следует рассматривать как одну из гистологических разновидностей апудом, обозначающих все виды опухолей, развивающихся из апудоцитов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований РАМН (99-04-50026).

measured by ultrastructural characteristics. This difference underlies the use of electron microscopy for histogenetic verification of tumors, especially as concerns poorly differentiated ones [8].

Beside more accurate evaluation of anaplasia and type of lung carcinoids, the electron microscopy is useful in determining endocrine differentiation of other cancers of the lung including small cell, oat cell, undifferentiated and other lung carcinomas [5,6,9,10,12,13]. If no electron microscopy is carried out a part of the carcinoids with a most anaplastic structure cannot be distinguished from undifferentiated cancers [5] and

correctly diagnosed, nor are diagnosed mixed tumors having both endocrine-cell and epithelial differentiation. The presence of endocrine-cell differentiation may be indicative of disease clinical course, prognosis and important for the choice of optimal surgical or combination modality treatment [5,13].

According to the WHO International Histological Classification of Lung Tumors [3] and clinical anatomical findings [5,13] carcinoid tumors of the lung belong to malignant tumors though have a different malignant potential. Clinical and histological measurement of this potential encounters objective problems that may be solved by the use of electron microscopy basing on ultrastructural characteristics of tumor cell anaplasia. Electron microscopy can detect endocrine cells with few (3 to 5 in some cases) granules which is beyond the sensitivity of immunohistochemistry. In a special comparative study [20] the diagnosis of lung carcinoid was not confirmed immunohistochemically in 4 (20%) of 20 cases, while electron microscopy managed to confirm the diagnosis in 100% of the cases.

In conclusion we should like to say a few words about terminology related to endocrine-cell tumors [11]. 'Apudoma' is a common term for all tumors originating from apudocytes. There are specific terms for apudomas with a certain histology such as carcinoid, pheochromocytoma, paraganglioma, insulinoma etc. There are also functional terms for certain apudoma types that are formed with respect to secreted hormone such as gastrinoma, somatostatinoma, glucagonoma, vipoma, etc. Malignant apudomas are often referred to as 'endocrine cell carcinoma'.

Conclusions. 1. We have established ultrastructural characteristics indicative of carcinoid atypia, malignancy and important for differential diagnosis and prognosis.

2. The most informative characteristics are: differentiated/undifferentiated cell ratio; cytoplasm saturation with organelles including endocrine granules, nuclear polymorphism, nucleus/cytoplasm ratio, development of specialized contacts, mitosis.

3. A part of carcinoids with a typical histology have ultrastructural characteristics of tumors consisting of poorly differentiated cells and therefore having a poor prognosis. There are also ultrastructurally well differentiated tumors with a good prognosis among histologically atypical carcinoids.

4. A mean of 18% carcinoids required ultrastructural verification of their anaplasia. For atypical carcinoids this percentage reached 27.2.

5. The established ultrastructural characteristics are useful for a more accurate evaluation of carcinoid malignant potential, differential diagnosis and prognosis.

6. Electron microscopy demonstrates high sensitivity and can detect solitary cells with neuroendocrine differentiation and few endocrine granules which is often beyond the capacity of immunohistochemical assay.

7. Preponderance (up to 86%) of carcinoids with central location was confirmed which was related to higher prevalence of apudocytes in these bronchial segments.

8. From the terminological point of view the carcinoid should be considered a histological type of apudoma, a common term for all tumors originating from apudocytes.

This study was supported by the Russian Foundation for Fundamental Research, RAS (99-04-50026).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Блинова С. А. //Арх. пат. — 1988. — Вып. 9. — С. 46—50.
2. Вапник В. Н., Глазкова Т. Г., Кошечев В. А. и др. Алгоритмы и программы восстановления зависимостей. — М., 1984.
3. Гистологическая классификация опухолей легкого. ВОЗ. — Женева, 1981.
4. Глазкова Т. Г., Бондарев Н. Г. //Конференция «Методы обучения распознавания образов»: Материалы. — М., 1993. — С. 23—27.
5. Дерижанова Е. С., Резникова Г. Л. //Вопр. онкол. — 1985. — Т. 31, № 4. — С. 21—26.
6. Кац В. А., Ягубов А. С., Думанян Д. Г. //Арх. пат. — 1987. — Вып. 3. — С. 12—20.
7. Кветной И. М., Дейнеко Г. М., Райхлин Н. Т. //Экспер. онкол. — 1983. — № 3. — С. 3—9.
8. Райхлин Н. Т., Давид Г., Лапиш К. (ред.). Ультроструктура опухолей человека. (Руководство для диагностики). — М., 1981.
9. Райхлин Н. Т., Смирнова Е. А. //Арх. пат. — 1984. — Вып. 8. — С. 3—13.
10. Райхлин Н. Т., Смирнова Е. А., Блинова С. А. и др. //Вопр. онкол. — 1989. — Т. 35, № 2. — С. 203—207.
11. Райхлин Н. Т., Кветной И. М., Осадчук М. А. АПУД—система (общепатологические и онкологические аспекты). — Обнинск, 1993. — Т. 1—2.
12. Самсонов В. А. //Арх. пат. — 1995. — Вып. 4. — С. 20—24.
13. Франк Г. А., Трахтенберг А. Х., Богуславский В. М. //Вопр. онкол. — 1989. — Т. 35, № 2. — С. 192—198.
14. Южаков В. В., Райхлин Н. Т., Кветной И. М. и др. //Арх. пат. — 1996. — Вып. 2. — С. 21—28.
15. Юшков П. В. //Там же. — 1997. — Вып. 1. — С. 69—73.
16. Barbareshi M. et al. //Med. biol. Environ. — 1990. — Vol. 18, N 3. — P. 211—216.
17. Bartsch G., Kvetnoy J., Kvetnaia T. et al. //J. Pineal Res. — 1997. — Vol. 23. — P. 90—99.
18. Francioni F., Rendina, Venuta F. et al. //Eur. J. cardiorac. Surg. — 1990. — Vol. 4. — P. 472—476.
19. Kvetnoy I. M., Yuzhakov V. V., Raikhlin N. T. //Microscopy and analysis. — 1997. — Vol. 47. — P. 13—15.
20. Morell M. et al. //Path. Res. Pract. — 1991. — Vol. 187, N 6. — P. 731.
21. Rolak I. M., Bloom S. R. //Immunocytochemistry: Modern Methods and Applications /Ed. I. Rolak. — Bristol, 1986. — P. 328—348.
22. Thunnissen F. B. et al. //Amer. J. Path. — 1988. — Vol. 132, N 1. — P. 119—144.
23. Valli V. Corin B., Fabris G., Sheppard V. //J. Path. — 1993. — Vol. 170. — Suppl. — P. 405.
24. Zachariadis E. et al. //Arch. Un. med. balkan. — 1988 (1989). — Vol. 26, N 5. — P. 502.

Поступила 22.12.99 / Submitted 22.12.99

© Коллектив авторов, 2000
УДК 618.19-006.04-078.73-091.8

*Е. С. Герштейн, О. И. Костылева, В. П. Летыгин,
У. Мамедов, Н. Е. Кушлинский*

**ИММУНОФЕРМЕНТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
КОМПОНЕНТОВ СИСТЕМЫ АКТИВАЦИИ
ПЛАЗМИНОГЕНА В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ
ОПУХОЛЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: КОРРЕЛЯЦИЯ
С КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ
ХАРАКТЕРИСТИКАМИ**

НИИ клинической онкологии

Одним из основных механизмов инвазии и метастазирования злокачественных опухолей является разрушение окружающей опухоль базальной мембраны и внеклеточного матрикса ассоциированными с опухолью протеазами [12]. Центральную роль в этих процессах может играть сериновая протеаза — активатор плазминогена урокиназного типа (uPA), являющийся ключевым звеном протеолитического каскада, приводящего к образованию плазмина, разрушающего компоненты опухолевой стромы [5]. Система активации плазминогена, в частности uPA, имеет также непосредственное отношение к процессам неоангиогенеза в опухолях [9]. Активность uPA регулируется несколькими способами; в частности, подавляется двумя белковыми ингибиторами, принадлежащими к семейству серпинов, — PAI-1 и PAI-2 [2]. Помимо uPA, в активации плазминогена

*E.S.Gerstein, O.I.Kostyleva, V.P.Letyagin, U.Mamedov,
N.E.Kushlinsky*

**ENZYME IMMUNOASSAY OF PLASMINOGEN
ACTIVATION FACTORS IN BREAST CANCER:
CORRELATION WITH CLINICAL AND
MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS**

Institute of Clinical Oncology

Destruction of tumor-surrounding basement membrane and extracellular matrix by tumor-associated proteases is a principal mechanism of cancer invasion and metastasis [12]. A serine protease, urokinase plasminogen activator (uPA), is a key element of proteolytic cascade resulting in production of plasmin that destroys tumor stroma and may play the central role in these processes [5]. Plasminogen activation factors, in particular uPA, are also related to tumor neoangiogenesis [9]. There are several mechanisms of uPA activity regulation including inhibition by two proteins from the serine class, that is PAI-1 and PAI-2 [2]. Tissue plasminogen activator (tPA) plays an active part in breast tumor plasminogen activation together with the uPA [4]. These two enzymes normally belong to the fibrinolytic system, the tPA being mainly secreted by endothelial cells