

ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Н.Н. Волченко
МНИОИ им. П.А. Герцена

CYTOLOGICAL DIAGNOSIS OF BREAST TUMORS

N.N. Volchenko
P.A. Herzen Moscow Research Oncological Institute

Among the currently available methods for diagnosing breast tumors, morphological studies hold the lead. Clinical or diagnostic cytology studies the cellular composition in pathological processes. The cytological technique is technically easy, prompt, and comparatively inexpensive, lowly traumatic to the patient. However, a cytological conclusion must be ended by a preoperative diagnosis that should be used to develop treatment policy. For adequate assessment of the nature of a process, a cytologist, like a pathologist, should have at his/her disposal necessary clinical data, such as age, gender, menstrual phase (especially in the evaluation of a histological specimen and breast processes), tumor site, area to be sampled, treatment, its nature and doses. Cytological progress largely depends on how a sample has taken and treated. A current cytological study makes it possible not only to diagnose breast cancer, but also to differentiate the histological type of a tumor, to evaluate the malignancy potential, and to define the most important biological actors determining a cancer process and a treatment policy.

Среди существующих методов диагностики опухолей молочной железы (МЖ) одно из первых мест принадлежит морфологическим. Клиническая или диагностическая цитология изучает клеточный состав патологических процессов. Цитологический метод технически прост, быстр, сравнительно дешев, малотравматичен для пациента. Однако цитологическое заключение должно заканчиваться формулировкой предоперационного диагноза, основываясь на котором разрабатывают тактику лечения пациента. Цитолог, как и патологоанатом, для адекватной оценки характера процесса должен располагать необходимыми клиническими данными: возраст, пол больной, фаза менструального цикла (особенно при оценке гинекологического материала и процессов в молочной железе), локализация опухоли, откуда и как взят материал для исследования, проведенное лечение, его характер и дозы. Успех цитологического исследования во многом зависит от того, каким образом был получен материал и как он был обработан. При исследовании МЖ объектом цитологического заключения могут служить:

- пунктаты опухолевидных образований МЖ, получаемые в последние годы под контролем УЗИ;
- пунктаты регионарных лимфатических узлов;
- выделения из соска;
- соскобы с эрозированных и язвенных поверхностей соска и кожи;
- исследование содержимого кистозных полостей;
- отпечатки и соскобы опухоли и лимфатических узлов при интраоперационной диагностике.

Диагностическая пункция проводится лечащим врачом или специалистом по УЗИ-диагностике. Выделения из соска получают путем надавливания на сосок или околососковую зону, а затем — на

ткань МЖ, причем для исследования берут и первую, и последнюю капли. Обращают внимание на кровянистые и сукровичные выделения. Отпечатки и соскобы готовят после того, как с поверхности патологического очага удаляют гнойевидные массы, корочки, некротический налет. Если полученный пунктат представляет собой жидкость, добавляют цитрат натрия, чтобы она не свернулась, затем ее центрифугируют и из осадка готовят мазки.

В последние годы для получения качественных монослойных цитологических препаратов используется жидкостная система: пунктаты вносят в специальную среду накопления, после чего центрифугируют в режиме 1000 об/мин в течение 5 мин при среднем ускорении на центрифуге (Cytospin-3, Cytospin-4). Применение методики жидкостной цитологии имеет ряд преимуществ: обеспечивает сохранность клеточных структур, уменьшает фон, клетки сосредотачиваются в одном месте («окошке»), что значительно экономит время врача-цитолога и дорогие сыворотки при проведении иммуноцитохимического (ИЦХ) исследования.

Влажная фиксация препарата в спирте применяется при окраске по Папаниколу. В остальных случаях мазки высушивают на воздухе, а затем фиксируют. Наиболее распространенный способ фиксации — в равных объемах спирта и эфира (смесь Никифорова). Для ИЦХ-исследования применяют фиксацию ацетоном. При окрашивании мазков используют панхромную окраску азур-эозином по Романовскому—Гимзе в различных модификациях (по Лейшману, Паппенгейму).

Принципы цитологической диагностики:

- разница клеточного состава в норме и при патологии;

- оценка не одной, отдельно взятой клетки, а совокупности клеток; большое значение придается фону препарата;
- цитолог должен иметь патологоанатомический базис;
- каждое исследование завершается формулировкой заключения.

Критерии цитологической диагностики злокачественных новообразований основываются прежде всего на морфологии клетки и особенно ядра.

Клетка

- Увеличена в размерах, иногда гигантская, редко близка к норме, что затрудняет цитологическую диагностику, например, при тубулярном раке, маститоподобном варианте долькового рака молочной железы (РМЖ).
- Изменение формы и полиморфизм клеточных элементов.
- Нарушение соотношения ядра и цитоплазмы в сторону увеличения доли ядра.

• Диссоциация степени зрелости ядра и цитоплазмы, например, молодое ядро в ороговевшей цитоплазме при высокодифференцированном плоскоклеточном раке.

Ядро

- Увеличение размера.
- Полиморфизм.
- Бугристость.
- Неравномерный рисунок хроматина.
- Наиболее постоянный признак — неровность контуров.
- Гиперхромия.
- Фигуры клеточного деления в цитологических препаратах сравнительно редки.

Ядрышко

- Число ядрышек больше, чем в неизмененной клетке.
- Ядрышки увеличены в размерах или неправильной формы.

В подавляющем большинстве клеток присутствуют критерии злокачественности, однако в некоторых клетках рака эти критерии могут отсутствовать или выражены не в полном объеме. Необходимо обращать внимание на особенности взаимного расположения клеток, характер межклеточных связей. Заключение формулируют по совокупности признаков при достаточном количестве клеточного материала. Попытка оценить мазок по неадекватно взятому материалу — наиболее частая причина ошибочных заключений.

Основные задачи цитологической диагностики:

1. Формулировка заключения до лечения.
2. Интраоперационная срочная диагностика.
3. Контроль эффективности лечения.
4. Оценка некоторых факторов прогноза течения заболевания.

Цитологическое заключение до лечения включает:

- определение гистогенеза новообразований;
- установление степени дифференцировки опухоли;
- уточнение степени распространенности опухоли;
- изучение фоновых изменений;
- определение некоторых факторов прогноза;
- возможность исследования бактериальной флоры.

Критерием достоверности цитологического метода являются результаты сопоставления с плановым гистологическим исследованием. Достоверность цитологической диагностики РМЖ одна из самых высоких в цитологии и составляет 90—96% (по нашим данным, 97%). В 3—8% случаев пункция оказывается неудачной, т.е. материал не пригоден для анализа.

Не подлежит сомнению, что одним из важных прогностических факторов при РМЖ является морфологическая структура опухоли. По данным литературы, в 70—80% случаев РМЖ не имеет признаков специфичности и описывается как инвазивный протоковый рак (ИПР); 10—17% всех злокачественных опухолей МЖ — это рак комбинированного протоково-долькового строения; 10—15% — редкие формы рака (коллоидный, аденокистозный, секреторный, апокриновый, липидсекретирующий, плоскоклеточный, перстневидно-клеточный, рак Педжета). Выделение указанных гистологических форм обусловлено характерной морфологической картиной и особенностями клинического течения опухолевого процесса.

Например, при коллоидном, тубулярном, аденокистозном, ювенильном и медулярном раке (рис. 1—2) большинство исследователей отмечают относительно благоприятное течение болезни (относительно редкие локальные рецидивы и отдаленные метастазы), что позволяет проводить органосохраняющее лечение. Другие формы рака (например, инфильтративный дольковый) по клиническому течению мало отличаются от инфильтративного протокового, однако высокая частота первично-множественных (30—85%) и билатеральных (6—47%) поражений обуславливают высокую частоту местных рецидивов и ставят под сомнение возможность выполнения экономного оперативного вмешательства. При некоторых формах рака (таких, как инфильтративный протоковый рак высокой степени злокачественности, перстневидно-клеточный, липидсекретирующий) прогноз плохой, поэтому уже на ранних стадиях заболевания, видимо, необходима дополнительная терапия (рис. 3).

Определение степени злокачественности простая и нетрудоемкая процедура. При ИПР выделяют 3 группы по степени злокачественно-

сти, которая в случае ИПР без признаков специфичности определяется по модифицированной схеме P. Scarff, H. Bloom, W. Richardson:

1. Образование тубулярных и протоковоподобных структур:

- >75% — 1 балл;
- >10 < 75% — 2 балла;
- <10% — 3 балла.

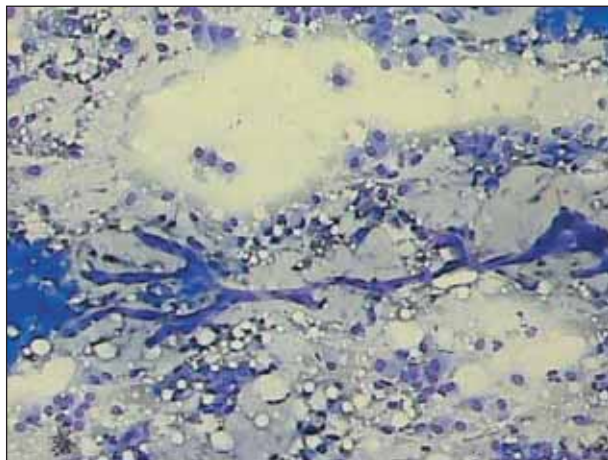


Рис. 1. Коллоидный рак

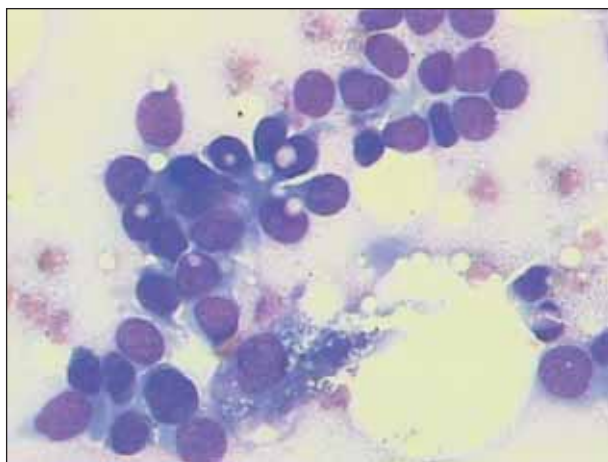


Рис. 2. Тубулярный рак

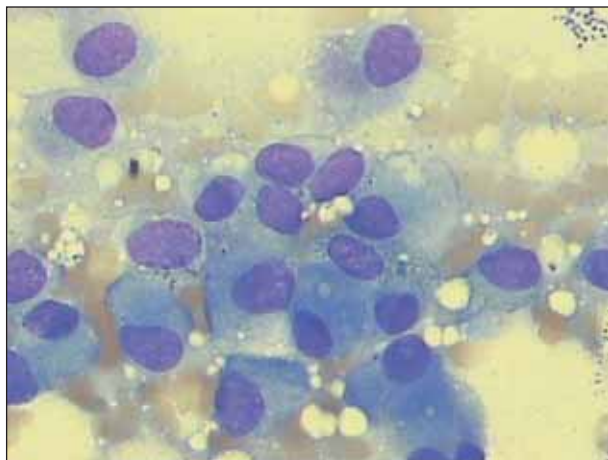


Рис. 3. Перстневидно-клеточный рак

2. Число митозов:

- <10 (в 10 полях зрения) — 1 балл;
- >10<20 — 2 балла;
- >20 митозов — 3 балла.

3. Клеточный полиморфизм:

- клетки одного размера и формы, мелкие, с дисперсным распределением хроматина, без ядрышек — 1 балл;
- небольшой полиморфизм ядер, некоторое укрупнение клеток — 2 балла;
- ядра крупные, различной формы, с одним или несколькими ядрышками, с грубым хроматином — 3 балла.

Сумма баллов определяет степень злокачественности:

- I (низкая) — 3–5 баллов;
- II (умеренная) — 6–7 баллов;
- III (высокая) — 8–9 баллов.

Нами I степень злокачественности была установлена у 10% больных, II — у 70% III — у 20%. Степень злокачественности отражается на частоте регионарного метастазирования (соответственно 21; 44 и 33%) и отдаленного метастазирования (соответственно 0; 39 и 51%).

Современное цитологическое исследование позволяет не только диагностировать рак: разработаны критерии диагностики различных гистологических типов инвазивного рака, а также степени злокачественности ИПР.

Интраоперационная цитологическая диагностика — одно из основных направлений цитологического метода исследования. Во время операции, используя цитологический метод, уточняют характер патологического процесса, степень распространенности с выявлением метастазов в лимфатические узлы, печень, контролируют радикальность выполненной органосохраняющей операции с исследованием краев резекции. Частота ошибок клинициста в определении стадии заболевания перед началом лечения достигает 60–80%. Роль цитологии возрастает при разработке показаний к расширенной лимфаденэктомии и определении так называемых «сторожевых», или «сигнальных», лимфатических узлов (их может быть 6), при этом применение гистологического метода невозможно из-за длительности исследования. По данным ведущих патологоанатомов Америки (2000), ошибка срочного гистологического исследования «сторожевых» лимфатических узлов составляет 25%, поэтому они рекомендуют использовать интраоперационное цитологическое исследование отпечатков с поверхности разрезанного лимфатического узла. Согласно нашим данным, достоверность срочного цитологического исследования по выявлению метастатического поражения лимфатических узлов составляет 97–99%.

Остановимся на противопоказаниях к сроч-

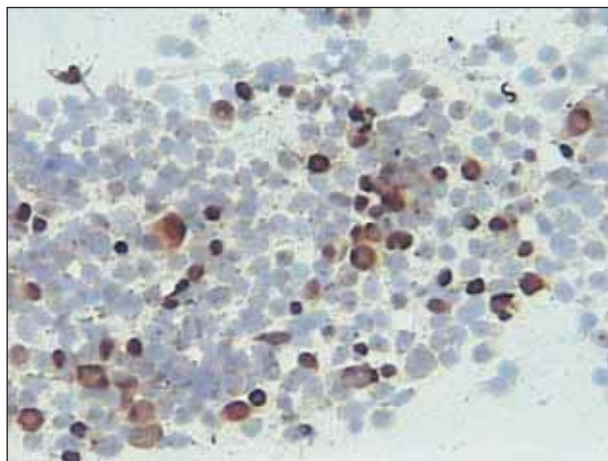


Рис. 4. ЭР в клетках РМЖ

ному морфологическому исследованию. Срочное интраоперационное гистологическое исследование не рекомендуется выполнять при подозрении на внутриэпителиальный рак с ограниченным очагом поражения (не останется материала для планового гистологического исследования). Цитологические критерии внутриэпителиального рака только разрабатываются. При внутривнутри протоковых папилломах небольшого размера срочное гистологическое исследование лучше не выполнять, а цитологическое исследование достоверно поможет установить характер процесса. При неуверенности в диагнозе между внутривнутри протоковой папилломой и раком предпочтительнее склониться в сторону папилломы, так как высокодифференцированный папиллярный рак имеет благоприятное клиническое течение, когда удаление части молочной железы является адекватным вмешательством. При срочной морфологической диагностике существенно помогает макроскопическое исследование операционного материала. Опытный морфолог при визуальном исследовании уже может поставить диагноз, но для подтверждения диагноза необходимо микроскопическое исследование. Например, опухолевый узел классической звездчатой формы может быть при 3 совершенно разных процессах: при раке, склерозирующем аденозе с центром Семба и при липогранулеме.

Цитологический метод позволяет в динамике, не травмируя пациента, изучать лечебный патоморфоз при химиолучевой и фотодинамической терапии.

XX столетие названо в медицинских кругах веком цитопатологии. Оценивая возможности цитологического метода, можно сказать, что его развитие — в комбинации с другими дисциплинами и методами. Применение ИЦХ расширяет возможности морфологической диагностики.

Одним из первых показателей, относящихся к категории клеточных маркеров, были рецепторы стероидных гормонов. ИЦХ позволяет четко оп-

ределить принадлежность рецепторов именно опухолевым клеткам (рис. 4). Экспрессия рецепторов эстрогенов (ЭР) и прогестерона (ПР) при РМЖ, по мнению большинства авторов, такова: 54–58% — ЭР+/ПР+; 15–26% — ЭР-/ПР-; 16–23% — ЭР+/ПР-; 3–5% — ЭР-/ПР+.

Адьювантная эндокринная терапия наиболее эффективна у больных первичными опухолями с высоким уровнем рецепторов стероидов, рецепторположительные опухоли МЖ имеют более высокую дифференцировку и более благоприятное клиническое течение.

ИЦХ позволяет на дооперационном этапе установить и другие важнейшие факторы прогноза опухолевого процесса и скорректировать схемы лечения. Важнейшим прогностическим показателем является онкопротеин C-erbB-2 или HER-2/neu, относящийся к семейству тирозинкиназных рецепторов — рецепторов систем передачи митогенного сигнала. В настоящее время принято считать, что больным с C-erbB-2-положительными опухолями следует рекомендовать более интенсивные режимы химиотерапии и при экспрессии C-erbB-2 с последующей оценкой амплификации гена C-erbB-2 методом флуоресцентной гибридизации in situ (FISH) следует включать в схемы лечения герцептин и ингибиторы ароматазы, не рекомендуется применять тамоксифен.

Экспрессия опухолью компонентов системы активации плазминогена (uPA, PAI-1, рецептор uPA, PAI-2, tPA), металлопротеаз, катепсина D относится к плохим прогностическим факторам при РМЖ. В последние годы большое внимание уделяется проблеме неоангиогенеза — формирования новых сосудов в злокачественных опухолях. Важнейшим регулятором ангиогенеза является фактор роста эндотелия сосудов (ФРЭС), или фактор проницаемости. Экспрессия ФРЭС при РМЖ имеет существенное значение для прогноза заболевания и влияет на чувствительность опухоли к гормональному и лекарственному лечению. Кроме того, в настоящее время активно создаются новые препараты с антиангиогенными свойствами, и оценка экспрессии ФРЭС-зависимого ангиогенеза может стать основой их целенаправленного применения. Широко при раке ряда локализаций изучается белок p-53, участвующий в апоптозе; при РМЖ во многих работах продемонстрирована его отрицательная роль в прогнозе заболевания.

Есть сведения, что применение ИЦХ-исследования повышает выявляемость микрометастазов в лимфатических узлах на 20–24%.

Между результатами ИЦХ и иммуногистохимического (ИГХ) исследования прослеживаются четкие корреляции. Основной недостаток ИГХ — потеря и маскировка антигена при приготовлении препаратов. Недостаток ИЦХ — малое

количество клеток в препарате, поэтому получение полноценного пунктата — неизменное условие для него. При сравнении возможностей ИЦХ при пункционной биопсии и ИГХ при трепано-биопсии преимущества первого, на наш взгляд, несомненны: пункционная биопсия — более простая процедура; она не сопровождается такими осложнениями, как воспаление, кровотечение; позволяет получить более полноценный клеточный материал; при неудачной пункции и попадании в участок некроза, строму опухоли, окружающие ткани можно практически безболезненно повторить процедуру; отсутствуют потеря и маскировка антигенов, связанная с использованием агрессивных химических реагентов.

Применение ИЦХ позволяет еще на дооперационном этапе не только уточнить характер и степень распространения опухолевого процесса, гистологический тип и степень злокачественности, но и определить важнейшие прогностические

факторы, влияющие на разработку адекватных схем лечения.

Основными путями повышения достоверности цитологического метода исследования в диагностике опухолей МЖ являются использование метода жидкостной цитологии, широкое внедрение в практическую работу цитологических лабораторий, иммуноцитохимических и молекулярных методов исследования, использование технологии «клеточного блока» (cell-block), сохраняющей архив клеток, внедрение принципиально новых систем микроскопирования, позволяющих проводить анализ морфологии и прижизненной динамики клеток. Внедрение компьютерных технологий позволяет объективизировать результаты морфологического исследования путем морфометрических измерений различных параметров клеток, а также создавать компьютерные системы обучения и широко внедрять в практику методы телеконсультаций.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Агамова К.А. Цитопатология рака и нераковых поражений молочных желез: Дисс... докт. мед. наук. — М., 1963.
2. Петрова А.С., Птохов М.П. Руководство по цитологической диагностике опухолей человека. — М., 1976.
3. Сидорова Н.А. Цитологический метод в установлении степени катаплазии рака молочной железы. По данным морфометрического и электронно-микроскопического анализа: Дисс... канд. мед. наук. — М., 1981.
4. Шабалова И.П., Джангирова Т.В., Волченко Н.Н. и соавт. Цитологический атлас. Диагностика заболеваний молочной железы. — М., 2005.
5. Atkinson B.F. Atlas of diagnostic Cytopathology // Elsevier Saunders. — 2003.
6. Bibbo M. Comprehensive Cytopathology // By Saunders Company. — 1997.
7. Cardozo P.L. Atlas of clinical cytology // The Netherlands. — 1973.
8. Gray N., Mc Kee G.T. Diagnostic Cytopathology // Churchill Livingstone. — 2003.
9. Lamboh P.A., Mc Intyre M.A., Chebby U. et al. Imprint cytology of axillary lymph nodes as an intraoperative diagnostic // EJSO. — 2000; 29: 224—228.
10. Rosen P.P., Oberman H.A. Atlas of Tumor Pathology. Tumors of the Mammary gland // AFJP. — 1993.
11. Tavassoli F.A., De Vilee P. Tumors of the Breast and Female Genital Organs WHO Lyon. — 2003.

ВОЗМОЖНОСТИ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ В АЛГОРИТМЕ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Г.П. Корженкова, А.Б. Лукьянченко, Д.И. Зернов
РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН

CAPACITIES OF MAGNETIC RESONANCE IMAGING IN THE ALGORITHM OF EXAMINATION OF PATIENTS WITH BREAST DISEASES

G.P. Korzhenkova, A.B. Lukyanchenko, D.I. Zernov

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences

Dynamic contrast breast magnetic resonance imaging (MRI) is possible when cases are unclear. According to the data available in the literature, the sensitivity of dynamic MRI is 98% for invasive malignancy and 72-94% for in situ carcinoma. In difficult cases, the use of dynamic MRI as an additional technique improves the diagnosis breast disease and avoids unjustified sector resections. Further studies of the capacities of dynamic magnetic resonance in the comprehensive diagnosis of breast diseases will provide an algorithm of examination of patients with breast diseases.

В структуре онкологической патологии рак молочной железы (РМЖ) занимает 1-е место, при этом смертность от него достигает 50%, что связано с поздней диагностикой заболевания.

Ранняя диагностика РМЖ может существенно уменьшить смертность, поскольку при выявлении заболевания на ранних стадиях становится возможной своевременная специализированная медицинская помощь.

Признавая ведущую роль рентгеновской маммографии как основного скринингового и диагностического метода выявления РМЖ, необходимо использовать дополнительные лучевые методы исследования для получения точной диагностической информации в условиях специализированных онкологических учреждений.

Результаты маммографии не позволяют однозначно трактовать природу выявленного узлового