

*Н. Т. Райхлин, Е. А. Смирнова*

## **УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ РАКА ЛЕГКОГО РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА**

*НИИ клинической онкологии ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

*N. T. Raikhlin, E. A. Smirnova*

## **ULTRASTRUCTURAL DIFFERENTIAL DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC FEATURES OF LUNG CANCERS OF DIFFERENT ORIGIN**

*Institute of Clinical Oncology, N. N. Blokhin RCRC RAMS, Moscow*

Современная онкологическая клиника нуждается в точной морфологической верификации опухоли. Основными морфологическими методами, используемыми с этой целью, являются гистологическое, цитологическое и иммуногистохимическое исследования, электронная микроскопия, а также молекулярно-биологические исследования.

Каждый из этих методов имеет свои возможности и ограничения, поэтому их совместное использование значительно расширяет и углубляет морфологическую диагностику опухолей, определение их гистогенеза, степени зрелости, особенностей клинического течения, выбора оптимальных методов лечения, прогноза и пр.

В РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН с этой целью широко применяется электронная микроскопия. В год проводится более 2500 диагностических и ультраструктурных исследований.

В практической работе используется разработанная нами ультраструктурная классификация опухолевых клеток новообразований человека, в основе которой лежит наличие в опухоли двух групп клеток.

Первая группа — опухолевые клетки с ультраструктурными органо-, ткане- и цитоспецифическими признаками (дифференцированные опухолевые клетки). Определяют главным образом дифференциально-диагностические признаки.

Вторая группа — опухолевые клетки без ультраструктурных органо-, ткане- и цитоспецифических признаков (недифференцированные опухолевые клетки). Их количественное соотношение с дифференцированными клетками первой группы определяет степень зрелости опухоли.

Злокачественные эпителиальные опухоли легкого (Международная классификация ВОЗ 1998 г.):

1. Плоскоклеточный рак.
2. Мелкоклеточный рак.
3. Аденокарцинома.
4. Крупноклеточный рак.
5. Аденосквамозный рак.

There is a great need in accurate morphological verification of cancer in clinical oncology. Histology, cytology, immunohistochemistry, electron microscopy, molecular biology are main types of morphological study. Each of these study techniques has advantages and disadvantages of its own and their combined use enlarges potential for morphological study of tumors as concerns histogenesis, grade, clinical course, optimal treatment strategies, prognosis etc.

Electron microscopy is widely used at the N. N. Blokhin RCRC RAMS, with more than 2500 diagnostic and ultrastructural analyses performed every year.

We practice our own ultrastructural classification of human tumor cells based on the presence of two cell groups in the tumor.

Group one consists of tumor cells with ultrastructural site-specific, tissue-specific and cytospecific features (differentiated tumor cells). Mainly differential diagnosis features are of importance.

Group two consists of tumor cells free from ultrastructural site-specific, tissue-specific and cytospecific characters (undifferentiated tumor cells). Their ratio with differentiated cells from group one determines tumor maturity grade.

Malignant epithelial tumors of the lung (1998 WHO International Classification).

1. Squamous-cell carcinoma
2. Small-cell carcinoma
3. Adenocarcinoma
4. Large-cell carcinoma
5. Adenosquamous carcinoma
6. Carcinoma with pleomorphic, sarcomatoid or sarcomatous elements
7. Carcinoid tumors
8. Carcinoma of saliva gland type
9. Unclassified tumors.

The WHO latest international classification (1998) of lung cancer contains 9 tumor groups each of them being further

6. Рак с плеоморфными, саркоматоидными или саркоматозными элементами.
7. Карциноидные опухоли.
8. Рак по типу слюнных желез.
9. Неклассифицированные опухоли.

В последней Международной классификации ВОЗ 1998 г., посвященной раку легкого, имеется 9 групп опухолей, каждая из которых, в свою очередь, состоит из вариантов, в общей сложности их насчитывается более 40.

В силу многообразия морфологических вариантов опухолей легкого и трудности определения особенностей их клинического течения только на основании гистологического и иммуногистохимического исследований в каждом конкретном случае возникла необходимость поиска дополнительных дифференциально-диагностических и прогностических признаков заболевания.

В связи с этим нами был проведен электронно-микроскопический анализ 1078 опухолей легкого и установлены ультраструктурные дифференциально-диагностические и прогностические критерии, основанные на гистогенетических признаках опухолевых клеток и степени их ультраструктурной дифференцировки.

### **Плоскоклеточный рак легкого (рис. 1)**

Варианты:

1. Папиллярный.
2. Светлоклеточный.
3. Мелкоклеточный.
4. Базалоидный.

Существуют различные варианты плоскоклеточного рака легкого, каждый из которых может иметь разную степень гистологической дифференцировки.

Ткане- и цитоспецифическими ультраструктурными дифференциально-диагностическими признаками плоскоклеточного рака являются тонофибриллы. Они присутствуют в ультраструктурно дифференцированных опухолевых клетках. Однако степень их развития может варьировать.

В клетках плоскоклеточного рака определяются также десмосомы, характерные для эпителиальных клеток. Их количество и характер варьирует при разных вариантах плоскоклеточного рака.

Клетки плоскоклеточного рака легкого могут быть темными и светлыми. Их количество может колебаться.

Кроме ультраструктурно дифференцированных клеток в плоскоклеточном раке встречаются ультраструктурно недифференцированные опухолевые клетки, без специфических признаков плоского эпителия.

Сопоставление ультраструктурных признаков опухолевых клеток плоскоклеточного рака с особенностями клинического течения и прогнозом заболевания позволило установить, что чем больше в опухоли ультраструктурно дифференцированных клеток и десмосом и чем меньше темных клеток, тем лучше прогноз.

### **Аденокарцинома легкого (рис. 2)**

Варианты:

1. Ацинарная.
2. Папиллярная.
3. Бронхиолоальвеолярная:
  - а) немучинозная,
  - б) муцинозная,

subdivided into several subgroups thus yielding a total of 40 subtypes.

Taking into account the large variety of morphological types of lung tumors and difficulty to predict their clinical course in individual cases basing only on histological and immunohistological findings, there is a need in additional differential diagnostic and prognostic characteristics of the disease.

We performed electron microscopy of 1078 lung tumors to determine ultrastructural differential diagnostic and prognostic criteria as based on histogenetic characters and degree of ultrastructural differentiation of tumor cells.

### **Squamous-cell lung carcinoma (fig. 1)**

Types:

1. Papillary
2. Clear-cell
3. Small-cell
4. Basaloid

These types of squamous-cell lung cancer may have different degree of histological differentiation.

Tonofibrils are tissue- and cytospecific features of squamous-cell carcinoma. They are found in ultrastructurally differentiated tumor cells, though differ in degree of development.

There are also desmosomes characteristic of endothelial cells in squamous-cell lung carcinomas. Their number and character vary in different squamous-cell cancers.

Squamous-cell carcinoma cells may be light or dark and vary in number.

Besides ultrastructurally differentiated cells, squamous-cell carcinomas contain ultrastructurally undifferentiated cells free from specific features of squamous epithelium.

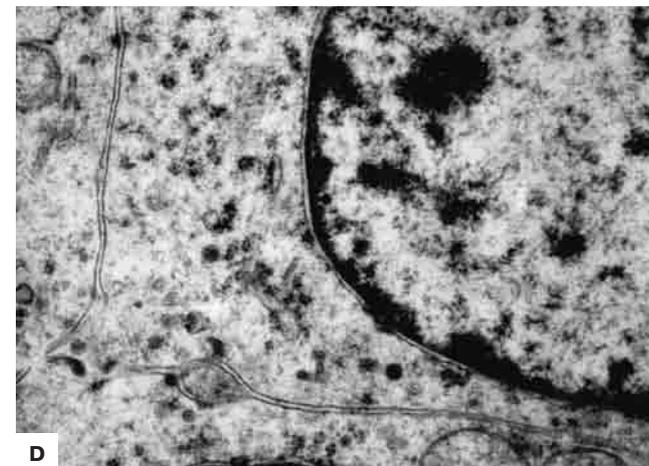
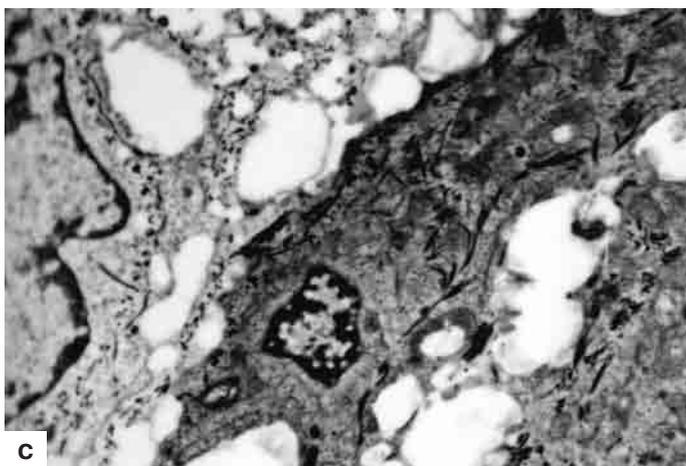
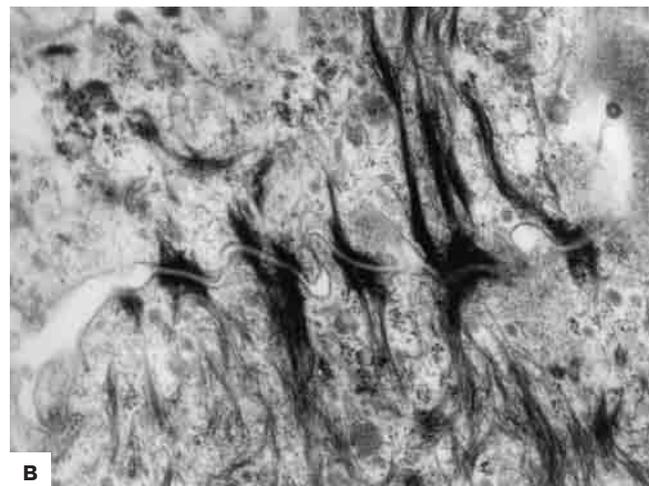
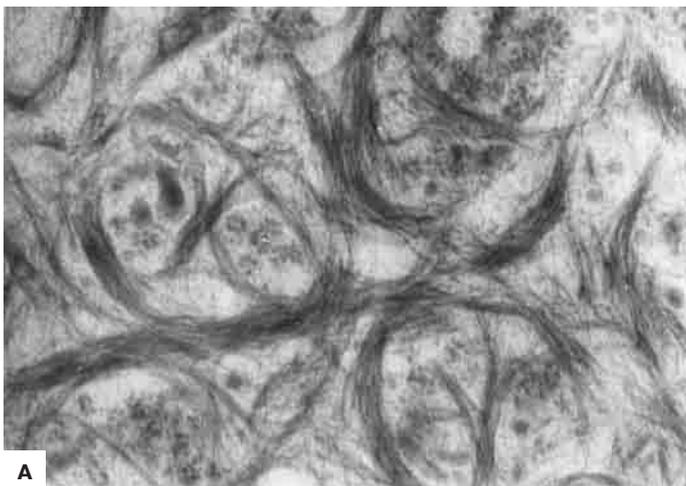
Analysis of clinical course and prognosis of squamous-cell cancer with respect to ultrastructural features of tumor cells demonstrated that the prognosis is the better the more is the tumor portion of ultrastructurally differentiated cells and desmosomes and the less is the number of dark cells.

### **Lung adenocarcinoma (fig. 2)**

Types:

1. Acinar
2. Papillary
3. Bronchioloalveolar
  - a) non-mucinous
  - b) mucinous
  - c) mixed mucinous, non-mucinous and undeterminate
4. Solid adenocarcinoma with mucin
5. Adenocarcinoma with mixed subtypes
6. Well-differentiated fetal adenocarcinoma
7. Mucinous (colloid) adenocarcinoma
8. Mucinous cystadenocarcinoma
9. Signet-ring cell adenocarcinoma
10. Clear-cell adenocarcinoma

Lung adenocarcinomas may contain cells with various differentiation types and certain ultrastructural features specific of their cytogenetic origin. Adenocarcinoma may consist of 1, 2, 3 or more tumor cell types which is of much importance. Adenocarcinomas contain mucinous cells, alveolar type II, Clara, rootlet and ciliated cells. There are also neuroendocrine cells and cells with squamous or mixed differentiation. Some adenocarcinomas demonstrate a predominance of ultrastructurally undifferentiated cells (group two).



**Рисунок 1. Плоскоклеточный рак легкого (электроннограммы).**

**A.** — Опухолевая клетка дифференцирована по типу плоского эпителия. В цитоплазме содержится большое количество тонофибрилл ( $\times 26\ 000$ ). **B.** — На границе опухолевых клеток имеются контакты по типу десмосом ( $\times 20\ 000$ ). **C.** — Опухолевые клетки с темным и светлым матриксом, содержащие тонофибриллы ( $\times 6\ 000$ ). **D.** — Опухолевая клетка со светлым матриксом, без признаков специфической ультраструктурной дифференцировки. Ядро с ровным контуром. В цитоплазме имеются рибосомы и полисомы ( $\times 15\ 000$ ).

**Figure 1. Squamous-cell lung carcinoma (electron microscopy).**

**A.** — The tumor cell has a squamous epithelial differentiation. There are a large number of tonofibrils in the cytoplasm ( $\times 26,000$ ). **B.** — Desmosomal contacts at the tumor cell margin ( $\times 20,000$ ). **C.** — Tumor cells with dark and light matrices containing tonofibrils ( $\times 6,000$ ). **D.** — A tumor cell with dark matrix, free from specific ultrastructural differentiation features. The nucleus has an even outline. The cytoplasm contains ribosomes and polysomes ( $\times 15,000$ ).

в) смешанная муцинозная, немучинозная и неопределенно-клеточная.

4. Солидная аденокарцинома со слизью.
5. Аденокарцинома со смешанными субтипами.
6. Высоккодифференцированная фетальная аденокарцинома.
7. Муцинозная («коллоидная») аденокарцинома.
8. Муцинозная цистаденокарцинома.
9. Перстневидная аденокарцинома.
10. Светлоклеточная аденокарцинома.

При различных вариантах аденокарциномы легкого могут встречаться клетки различного типа дифференцировки, имеющие определенные ультраструктурные признаки, указывающие на их цитогенетическую принадлежность. Аденокарцинома может состоять из 1, 2, 3 и более типов опухолевых клеток, что имеет принципиальное значение.

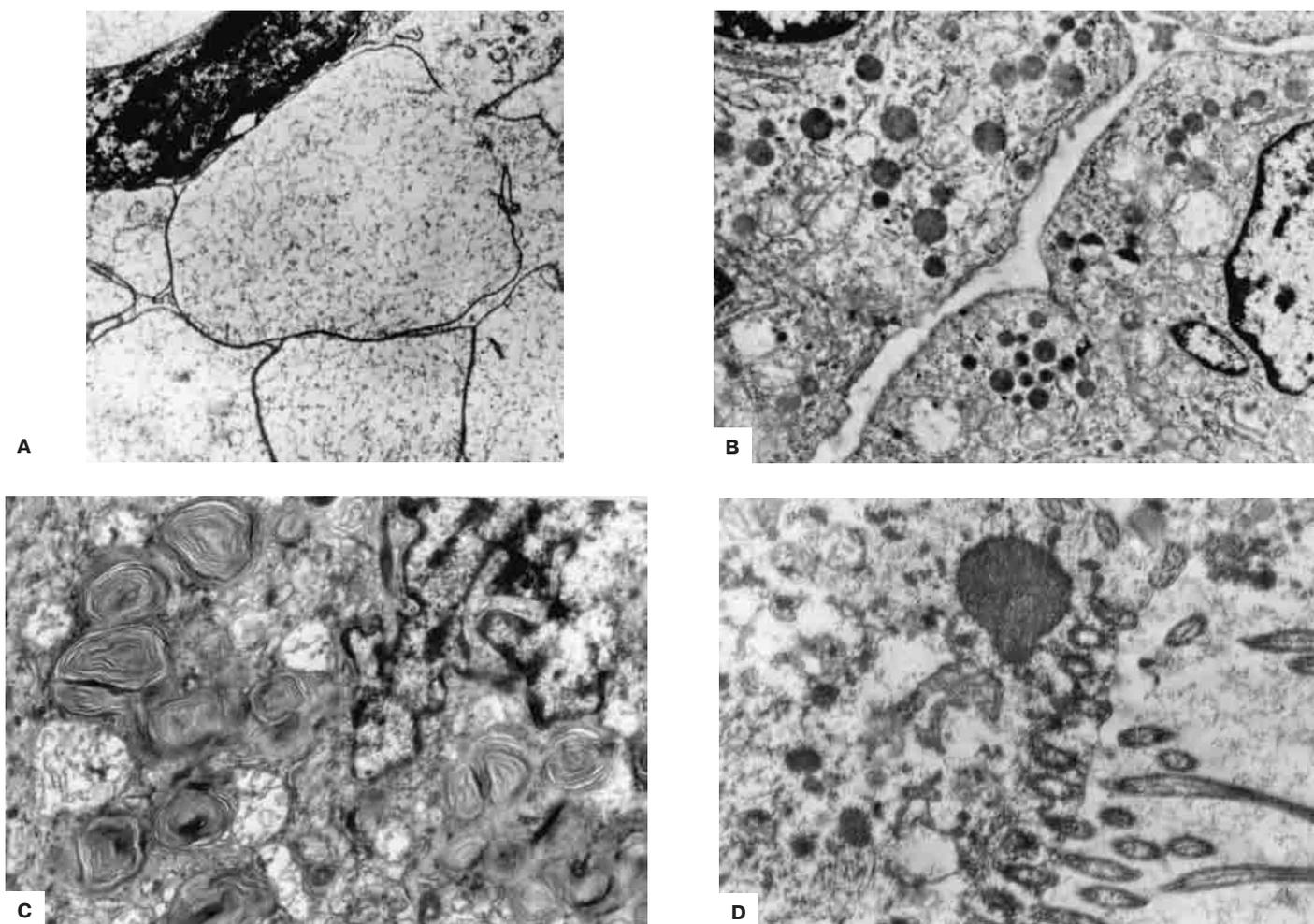
Analysis of clinical course of lung carcinoma with respect to ultrastructural characteristics of tumor cells discovered the following significant electron microscopy findings.

Adenocarcinomas containing a single type of cells whether ciliated or alveolar type II or Clara cells have a good prognosis. The prognosis becomes worse as the number of different cell types within the same lesion increases, and poor prognosis is associated with the presence of mucinous cells. Predominance of ultrastructurally undifferentiated cells also suggests poor prognosis.

**Bronchioloalveolar carcinoma (BAC)**

Types:

1. BAC-I (non-mucinous) consisting of Clara or alveolar type II cells
2. BAC-II (mucinous) consisting of goblet cells
3. BAC-III (mixed) containing all cell differentiation types specific of adenocarcinoma.



**Рисунок 2. Аденокарцинома легкого (электроннограммы).**

**A.** — Опухолевая клетка по типу бокаловидной. В цитоплазме опухолевой клетки имеются слизесодержащие вакуоли ( $\times 5000$ ). **B.** — Опухолевые клетки по типу клеток Клара. В апикальной части цитоплазмы имеются темные, плотные, округлые фосфолипидные гранулы ( $\times 5000$ ). **C.** — Опухолевая клетка по типу пневмоцита II порядка. В цитоплазме содержится большое количество осмиофильных пластинчатых телец ( $\times 8000$ ). **D.** — Опухолевая клетка по типу реснитчатой. На свободной поверхности клетки имеются реснички и базальные тельца ( $\times 10\,000$ ).

**Figure 2. Lung adenocarcinoma (electron microscopy).**

**A.** — A goblet-like tumor cell. There are mucus-containing vacuoles in the cytoplasm ( $\times 5,000$ ). **B.** — Tumor cells of Clara type. There are dark, dense, round phospholipid granules in the cytoplasm apical portion ( $\times 5,000$ ). **C.** — An alveolar type II tumor cell. There are a large number of osmiophilic lamellar bodies ( $\times 8,000$ ). **D.** — A ciliated tumor cell. There are cilia and basal bodies on the cell free surface ( $\times 10,000$ ).

В аденокарциноме обнаруживаются бокаловидные (слизистые) клетки, пневмоциты II порядка, клетки Клара, реснитчатые и цилиндрические клетки. Могут также встречаться нейроэндокринные клетки, клетки с плоскоклеточной или смешанной дифференцировкой. В части аденокарцином значительно преобладают ультраструктурно недифференцированные опухолевые клетки (второй группы).

Анализ клинического течения аденокарциномы легкого и особенностей ультраструктурного строения составляющих ее опухолевых клеток позволил установить следующие электронно-микроскопические признаки.

Благоприятный прогноз отмечен при аденокарциноме, в которой имеется один тип опухолевых клеток — или реснитчатые, или пневмоциты II порядка, или клетки Клара.

Прогноз тем хуже, чем больше типов опухолевых клеток имеется в аденокарциноме, а также если опухоль состоит из бокаловидных (слизистых) клеток. Преобладание в опухоли

BAC is characterized by preserved elastic carcass in previous alveoles. It is a rare adenocarcinoma type.

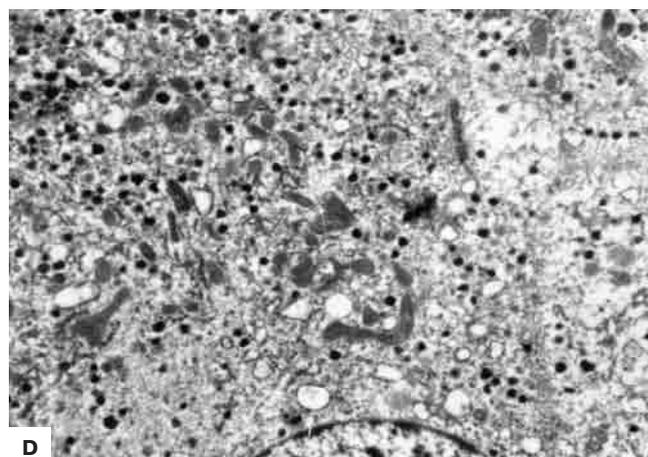
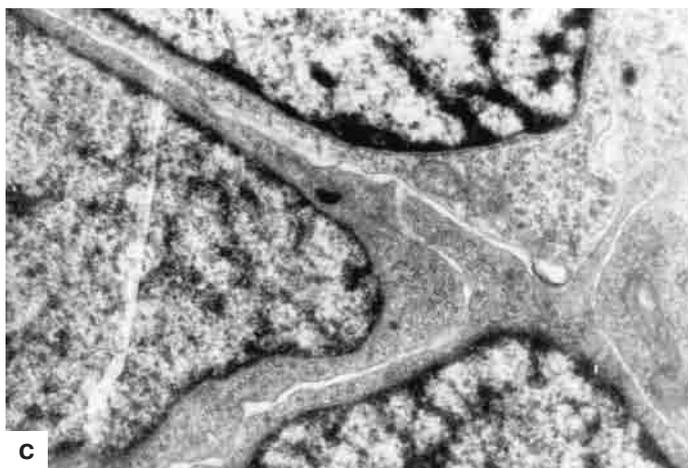
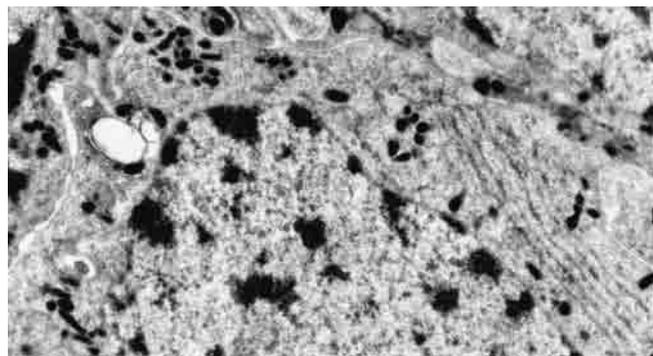
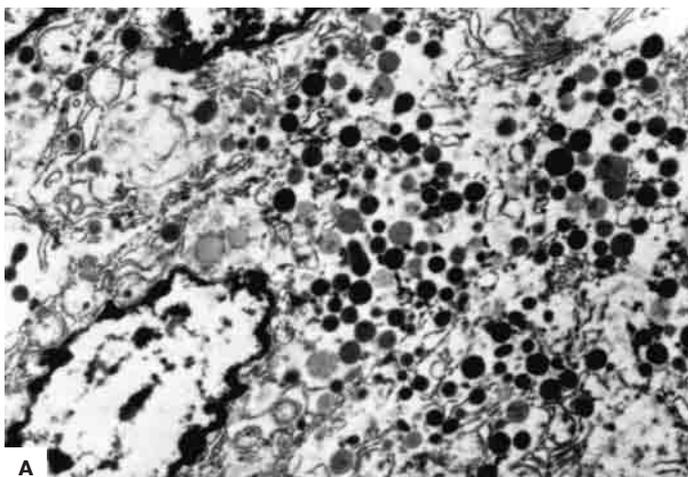
The presence of Clara or alveolar type II cells is predictive of a better prognosis. Mucinous cells or mixed cell types are indicative of poor prognosis.

**Neuroendocrine lung cancer (fig. 3)**

Types:

1. Typical carcinoid
2. Atypical carcinoid
3. Small-cell carcinoma
4. Large-cell clear-cell neuroendocrine carcinoma
5. Combined types

Neuroendocrine granules are a specific ultrastructural feature of this tumor type. Electron microscopy can therefore measure malignant potential of neuroendocrine tumors irrespective of their histology. Favorable prognosis is associated with many neu-



**Рисунок 3. Нейроэндокринные опухоли легкого (электроннограммы).**

**А.** — Типичный карциноид. В цитоплазме опухолевых клеток имеются округлые, разных размеров и плотности гранулы эндокринного типа ( $\times 5000$ ). **В.** — Атипичный карциноид. В цитоплазме опухолевых клеток имеется небольшое количество мелких гранул эндокринного типа, видны рибосомы и параллельные ряды шероховатого эндоплазматического ретикулума ( $\times 8000$ ). **С.** — Атипичный карциноид. Опухолевые клетки низкой степени дифференцировки. В узком ободке цитоплазмы имеется большое количество рибосом ( $\times 10\,000$ ). **Д.** — Опухолевая клетка дифференцирована по эндокринному типу ( $\times 5000$ ).

**Figure 3. Neuroendocrine lung cancer (electron microscopy).**

**A.** — A typical carcinoid. The tumor cell cytoplasm contains round endocrine granules of various size and density ( $\times 5,000$ ). **B.** — An atypical carcinoid. The tumor cell cytoplasm contains few small endocrine granules, there are ribosomes and parallel series of rough endoplasmic reticulum ( $\times 8,000$ ). **C.** — An atypical carcinoid. Poorly differentiated tumor cells. There are a large number of ribosomes in the narrow cytoplasm rim ( $\times 10,000$ ). **D.** — A tumor cell with endocrine-type differentiation ( $\times 5,000$ ).

ультраструктурно недифференцированных клеток свидетельствует о плохом прогнозе.

**Бронхиолоальвеолярный рак (БАР)**

Варианты:

1. БАР I (немучинозный) — состоит из клеток Клара или пневмоцитов II порядка.
2. БАР II (мучинозный) — образован бокаловидными клетками.
3. БАР III (смешанный) — могут наблюдаться все типы клеточной дифференцировки, присущие аденокарциноме.

Особенностью морфологического строения БАР является сохранность эластического каркаса в предшествующих альвеолах. БАР является одним из редких вариантов аденокарциномы.

Более благоприятный прогноз БАР наблюдается при наличии клеток Клара или пневмоцитов II порядка. При обна-

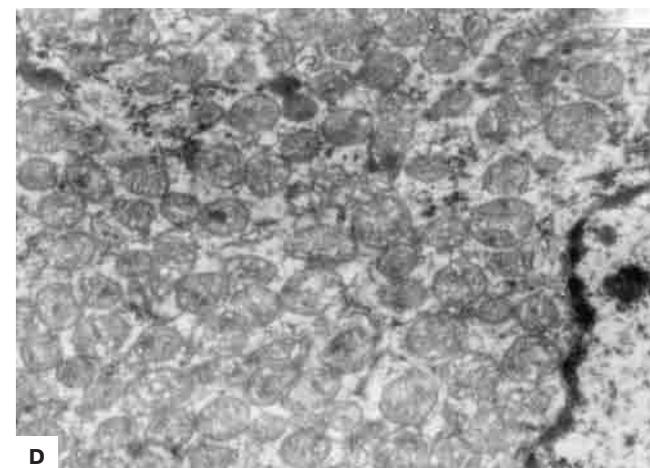
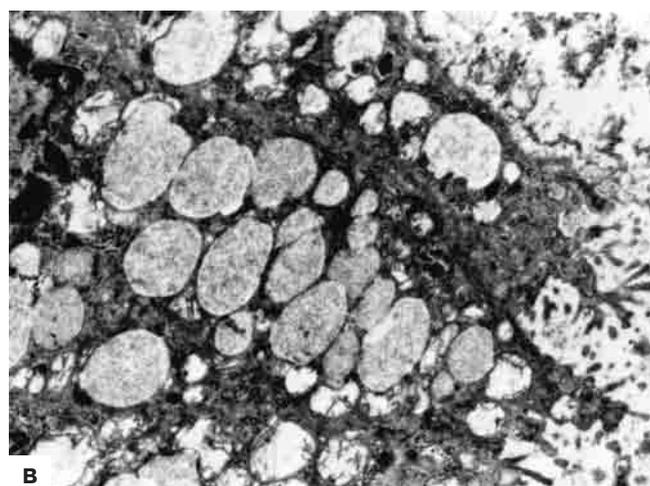
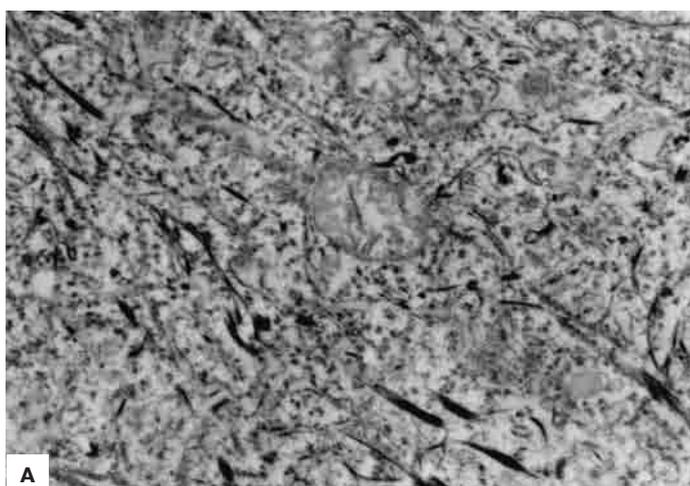
роendocrine granules, while a small number of neuroendocrine granules predicts a poor prognosis.

**Large-cell carcinoma (fig. 4)**

Types:

1. Clear-cell neuroendocrine carcinoma
2. Combined clear-cell neuroendocrine carcinoma
3. Basaloid carcinoma
4. Lymphoepithelioma-like carcinoma
5. Clear-cell carcinoma
6. Large-cell carcinoma with rhabdoid phenotype

Large-cell carcinoma is a rare lung cancer type. These are characterized by low degree of ultrastructural differentiation. Differentiation of some cells may proceed in different directions to produce tumor cells of squamous epithelium type, alveolar



**Рисунок 4. Крупноклеточный рак легкого (электроннограммы).**

**A.** — Опухолевая клетка с признаками плоскоклеточной дифференцировки ( $\times 8000$ ). **B.** — Опухолевая клетка дифференцирована по типу бокаловидной ( $\times 6000$ ). **C.** — Фрагмент опухолевой клетки, дифференцированной по типу реснитчатой ( $\times 15\,000$ ). **D.** — В цитоплазме опухолевой клетки отмечаются признаки онкоцитарной дифференцировки ( $\times 10\,000$ ).

**Figure 4. Large-cell lung carcinoma (electron microscopy).**

**A.** — A tumor cell with squamous-cell differentiation features ( $\times 8,000$ ). **B.** — A tumor cell with goblet-cell differentiation ( $\times 6,000$ ). **C.** — A fragment of a tumor cell with ciliated-cell differentiation ( $\times 15,000$ ). **D.** — The tumor cell cytoplasm demonstrates oncocytic differentiation features ( $\times 10,000$ ).

ружении слизистых клеток и при смешанном составе прогноз хуже.

### Нейроэндокринные опухоли легкого (рис. 3)

Варианты:

1. Типичный карциноид.
2. Атипичный карциноид.
3. Мелкоклеточный рак.
4. Крупноклеточный светлоклеточный нейроэндокринный рак.
5. Комбинированные варианты.

Ультраструктурным специфическим признаком этих новообразований является наличие в цитоплазме опухолевых клеток нейроэндокринных гранул. На основании электронно-микроскопического исследования представляется возможным определить злокачественный потенциал нейроэндокринных опухолей, независимо от их гистологического строения. Большое количество дифференцированных клеток с обилием в них нейроэндокринных гранул определяет благоприятный прогноз. Преобладание в опухоли недифференцированных клеток или

type II cells, Clara cells, goblet-like, ciliated, neuroendocrine cells or cells with oncocyte characteristics. A large number of undifferentiated cells is associated with high malignant potential.

### Conclusion

Electron microscopy may be helpful both for differential diagnosis of lung cancers with different histology and for individual prognosis.

Ratio of ultrastructurally differentiated to undifferentiated cells is the most informative ultrastructural factor of prognosis in lung cancer. The greater portion of differentiated cells the better prognosis, and the greater the portion of undifferentiated cells the poorer prognosis.

клеток с незначительным содержанием нейроэндокринных гранул является признаком неблагоприятного прогноза заболевания.

### Крупноклеточный рак (рис. 4)

Варианты:

1. Светлоклеточный нейроэндокринный рак.

- 
2. Комбинированный светлоклеточный нейроэндокринный рак.
  3. Базалоидный рак.
  4. Лимофоэпителиальный рак.
  5. Светлоклеточный рак.
  6. Крупноклеточный рак с рабдоидным фенотипом.

К редким формам рака легкого относится крупноклеточный рак. Это опухоль низкой степени ультраструктурной дифференцировки, однако в части клеток дифференцировка может идти в различных направлениях: с образованием опухолевых клеток по типу плоскоклеточного эпителия, пневмоцитов II порядка, клеток Клара, бокаловидных, реснитчатых, нейроэндокринных или клеток с онкоцитарными признаками. Преобладание ультраструктурно недифференцированных клеток обуславливает высокий злокачественный потенциал данной опухоли.

### **Заключение**

Таким образом, электронная микроскопия может быть с успехом использована не только для дифференциальной диагностики различных гистологических вариантов рака легкого, но и с целью определения индивидуального прогноза.

Наиболее информативным ультраструктурным признаком опухолей легкого, указывающим на степень злокачественности, является соотношение ультраструктурно дифференцированных и недифференцированных клеток. Чем больше дифференцированных клеток, тем лучше прогноз, и чем больше недифференцированных клеток, тем прогноз хуже.

Поступила 30.11.2004 / Received 30.11.2004