

Т.П. Якимова
І.М. Пономарьов
О.К. Кононенко

Інститут медичної радіології
ім. С.П. Григор'єва АМНУ,
м. Харків

Особливості змін ультраструктури раку грудної залози в залежності від ритмів променевої терапії

Characteristics of ultrastructure changes in breast cancer depending on rhythms of radiotherapy

Цель работы: Определить особенности ультраструктуры лучевого патоморфоза рака грудной железы (РГЖ) с целью оптимизации его лечения.

Материалы и методы: Проведено патогистологическое и ультраструктурное исследование РГЖ различной гистоструктуры до и после лучевой терапии (ЛТ) дробными и крупными фракциями (2 и 5 Гр) у 23 больных.

Результаты: Рак грудной железы на ультраструктурном уровне имеет сходство с нормальными клетками грудной железы. Следует отметить небольшое количество клеток с наличием спонтанных некрозов при раке, особенно протоковом, и низкую степень дифференцировки. Под влиянием ЛТ в значительной части клеток возникают повреждения ядра и цитоплазмы, особенно выраженные при лучевом воздействии крупными фракциями. После ЛТ встречаются как поврежденные, так и малоповрежденные раковые клетки.

Выводы: Рак грудной железы на ультраструктурном уровне имеет признаки нормальных секреторных клеток этого органа, криброзный рак имеет протоковый генез, поскольку в нем не найдены признаки секреторных клеток. По мере уменьшения степени дифференцировки рака сходство его ультраструктуры с нормальным эпителием утрачивается. Лучевое повреждение РГЖ касается всех структурных элементов, особенно митохондрий, рибосом и ядер. Лучевой патоморфоз на ультраструктурном и световом уровнях больше выражен после облучения крупными фракциями.

Ключевые слова: ультраструктура рака грудной железы, лучевая терапия, разные ритмы.

Objective: To determine the ultrastructure characteristics of radiation pathomorphosis in breast cancer (BC) with the purpose to optimize the treatment.

Material and Methods: Pathohistological and ultrastructure study of BC before and after small- and large- fractionated radiotherapy (2 Gy and 5 Gy) was performed in 23 patients.

Results: The ultrastructure of breast cancer was similar to normal breast cell. In cancer, especially ductal and low-differentiated, the number of cells with spontaneous necrosis was small. Radiotherapy caused appearance of injured nuclei and cytoplasm, which were especially prominent at radiotherapy with large fractions. After radiotherapy both injured and poorly injured cancer cells were observed.

Conclusion: The ultrastructure of breast cancer has the signs of normal secretory cells of this organ, cribrous cancer has ductal origin as the signs of secretory cells are not traced in it. With low degrees of cancer differentiation its similarity to normal epithelium increases.

Radiation lesion of BC is observed in all structural elements, mainly mitochondria, ribosomes and nuclei. Ultrastructure and light radiation pathomorphosis is more pronounced after irradiation with large fractions.

Key words: breast cancer ultrastructure, radiotherapy, different rhythms.

Ультраструктурна морфологія раку грудної залози (РГЗ) вивчена досить повно. Але до цього часу існує невелика кількість робіт, присвячених ультраструктурній патології РГЗ після променевої терапії (ПТ) [1–5]. Залишаються нез'ясованими проблеми відповідності променевих змін пухлини на ультраструктурному та клітинному рівнях після ПТ, а також впливу різних режимів ПТ на новоутворення. Ще не визначено, чи відбуваються зміни на ультраструктурному рівні в тих клітинах, які в світловому мікроскопі не мають ознак променевого ушкодження на клітинному рівні.

Ці питання набувають практичного значення з огляду на необхідність удосконалення ПТ пухлин.

Метою роботи було визначити особливості ультраструктури променевого па-

томорфозу РГЗ для оптимізації його лікування.

Методика дослідження

Ультраструктура РГЗ вивчена в 11 хворих, яких не піддавали жодному впливу, та у 12 після ПТ (з них 5 — після ПТ великими фракціями та 7 — дрібними).

Променеву терапію великими фракціями виконували 5 разів на тиждень по 5 Гр на пухлину та по 4 Гр на регіонарні лімфатичні вузли піхвової ділянки. Сумарна осередкова доза (СОД) на пухлину дорівнювала 25 Гр, на регіонарні лімфатичні вузли — 20 Гр. Одночасно було проведено патогістологічне дослідження раку у цих пацієнтів для визначення гістологічної структури, ступеня злоякісності й ушкодження раку після ПТ. Променеву терапію дрібними фракціями здійснювали по 2 Гр на пухлину і регіонарні лімфовузли 5 разів на тиждень до СОД 55–60 Гр та 48–50 Гр відповідно.

Для виконання ультраструктурних зрізів шматочки пухлин фіксували в глутаральдегіді з подальшою дофіксацією в 2%-ному розчині OsO_4 за загальноприйнятою методикою. Після зневоднення в спиртах та витримки в епонаралдіті зрізи готували на ультратомі ЛКБ-4802А з контрастуванням ураніл-ацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. Препарати досліджували на електронному мікроскопі ЕМВ-100Л.

Результати та їх обговорення

Залежно від гістологічної структури пухлини розподілялися таким чином: протоковий рак, у тому числі з вираженим протоковим компонентом — 6, тубулярний рак — 3, аденокарцинома — 2, часточковий рак — 3, колоїдний — 2, криброзний — 2, медулярний — 1. У 4 випадках гістоструктура раку не була верифікована через регресію пухлин під впливом ПТ. Отже, тільки у 30% хворих променевиї патоморфоз РГЗ був вираженим. Повної регресії пухлин не виявлено в жодному з 12 випадків після ПТ. Решта обстежених мала незначний променевиї патоморфоз.

Променевиї патоморфоз РГЗ на світловому рівні виявлявся як регресія пухлин та заміщення їх паренхіми фіброзною тканиною. Дистрофічні виражені зміни клітин були знайдені тільки після опромінювання великими фракціями за наявності низького ступеня диференціювання пухлин. Особливо виражені такі зміни були виявлені у випадках протокового та медулярного раку. Клітини набували великого розміру, границі ядер і цитоплазми ставали слабо визначеними, з'являлися жирові вакуолі. В деяких клітинах ядра ставали пікнотичними, в інших відбувався лізис, хроматоліз або рексис. Апоптоз траплявся в рідкісних випадках — при низькодиференційованих раках (медулярний рак). Об'єм пухлини з апоптичними тілами був дуже малим. Після ПТ дрібними фракціями дистрофічні зміни були мінімальними, а ступінь регресії збільшився.

При аналізі ультраструктури РГЗ відзначена схожість ракових клітин із нормальними залозистими, особливо при раках I ст. злоякісності. Так, полярність пухлинних клітин у більшості випадків була збережена та виявлялися десмосоми й клітинні контакти типу «замок» (рис. 1). Ядра — овальної форми, хроматин розташований у них дифузно чи дещо ущільнений по периферії біля каріотеки. У цитоплазмі — невелика кількість вільних рибосом, мітохондрій овальної або округлої форми з нечисленними кристами. В центральній частині клітин знаходився добре розвинутий комплекс

Гольджі, ліпідні краплі визначали міоепітеліальні клітини з наявністю міофіламентів, добре розвиненим шерехатим ендоплазматичним ретикуломом (ШЕР) і гемідесмосомами в мембрані.

При інфільтруючих раках помірного ступеня диференціювання II ст. злоякісності кількість десмосом невелика, ядра переважно овальної форми з інвагінаціями, великі, з рівномірно розташованим у ядрах хроматином та електронно-щільними ядерцями кількістю від 1 до 4. Ядерця розташовані в середині ядра або поблизу від каріотеки. Мітохондрії — овальні або округлі зі світлим матриксом, кристи — нечисленні й укорочені. У цитоплазмі відзначаються вільні рибосоми та полірибосоми, внутріклітинні каналці.

При низькому ступені диференціювання III ст. злоякісності раку виявлялося більше великих світлих клітин поряд із малими темними клітинами. Порівняно з раком меншого ступеня злоякісності преувальювали недиференційовані клітини з великими ядрами зі звивистими контурами, інвагінаціями каріолеми. Каріоплазма пухлинних тканин була просвітленою, ядерця — велетенськими, електронно-щільними з ознаками дезінтеграції та плямистого вигляду. Мітохондрій часто було багато або вони розташовувалися окремо й мали укорочені кристи, що може свідчити про значну функціональну активність клітин [5–8]. При низькому ступені диференціювання раку міоепітелій не ідентифіковано в жодному випадку. В масі пухлинних клітин траплялися капіляри, ендотелій яких тісно прилягав до пухлинних клітин, які цитоплазматичними паростками проникали в просвіток судин (рис. 2). Така мікроскопічна картина характерна для часточкового та протокового раку низького ступеня диференціювання, медулярного раку.

Клітини лобулярного РГЗ мають мало десмосом, світлу цитоплазму, значну звивистість каріолеми, нерівномірно розташований хроматин. Цитоплазма — бідна на органели з нечисленними мікровезикулами й мітохондріями, які мають укорочені кристи. Часто виявляли внутріклітинні каналці з рідкими мікроворсинками, іноді в клітинах знаходили мікрофібрили, що утворювали фокуси ущільнення.

В міжклітинному просторі траплялися окремі краплі жиру, клітинний детрит, невелика кількість волокон колагену.

Особливістю колоїдного раку є наявність ШЕР та численних лізосом, що свідчить про значну функціональну активність цих клітин. Поряд із цим є великі клітини з нечіткою одинарною мембраною, густо заповненою гранулами цитоплазми. Клітини колоїдного та криброзного раку частково подібні за структурою. Крім того, у випадках криброзного та папілярного раку часто виявляється ослизнення та набряк строми, що передбачає єдиний гістогенез криброзних і колоїд-

них карцином, хоча перші іноді відносять до карцином протокового генезу [9].

Медулярний рак, як і решта, має великі ядра з торочкуватими краями та глибокими інвагінаціями каріотеки. Цитоплазма бідна на органели з дрібними, нечисленними мітохондріями з поодинокими укороченими кристами. Клітини медулярного раку перебувають у безпосередній близькості до капілярів і паростками занурюються у просвіток капілярів. У випадках решітчастого раку виявляють епітеліальні клітини несекреторного типу, ядра яких мають нерівномірне розташування хроматину, ущільненого біля ка-

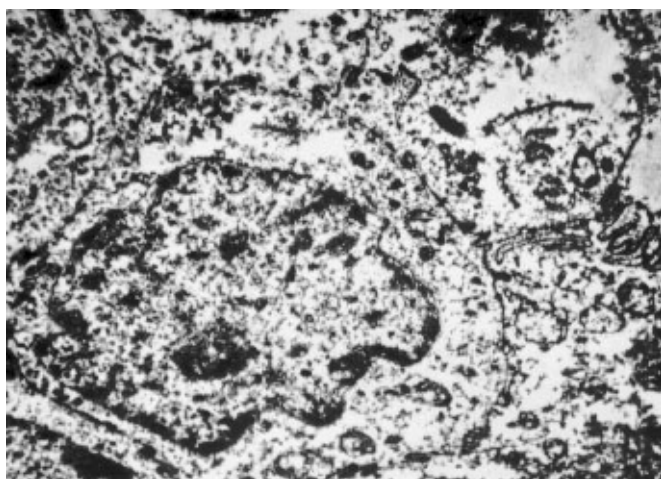


Рис. 1 — Рак грудної залози високого ступеня диференціювання при I ст. злоякісності. Тісні клітинні контакти типу «замок» та десмосоми, S2700

Fig. 1 — Highly differentiated BC, stage 1 of malignancy. Dense cellular contacts of "lock" type and desmosomes, S2700

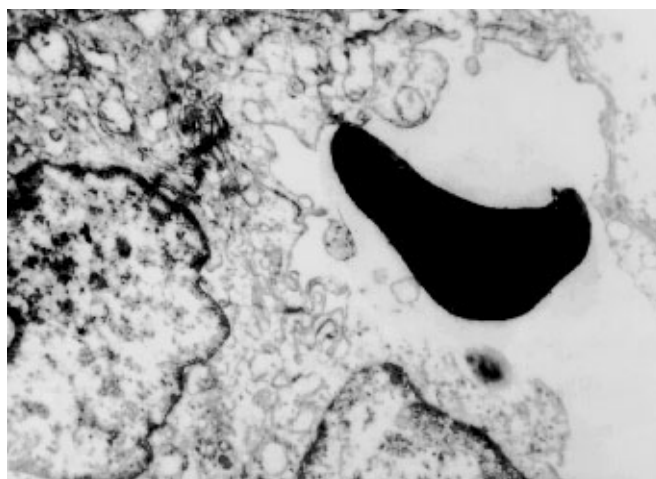


Рис. 2 — Ракові клітини занурюються у просвіток кровоносного капіляра (рак низького ступеня диференціювання, III ст. злоякісності), S2700

Fig. 2 — Cancer cells in the lumen of the capillary in low-differentiated cancer (stage 3 of malignancy), S2700

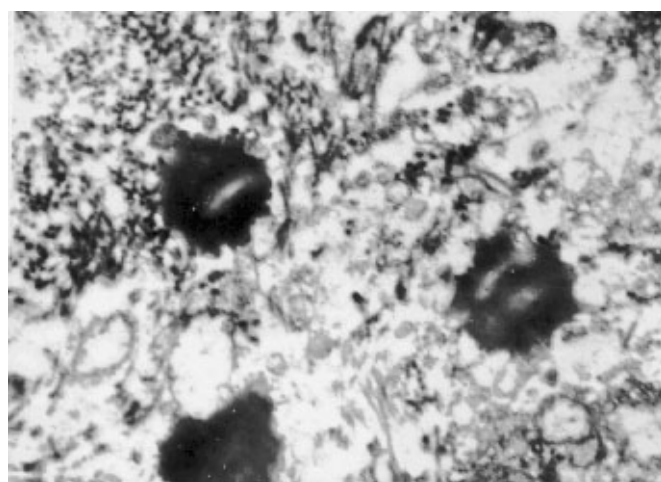


Рис. 3 — Рак грудної залози після ПТ. Серед зруйнованих клітин виділяються великі краплі жиру та новоутворені колагенові волокна, S13000

Fig. 3 — BC after treatment. Large collagen fibers are seen among destroyed cells, S13000

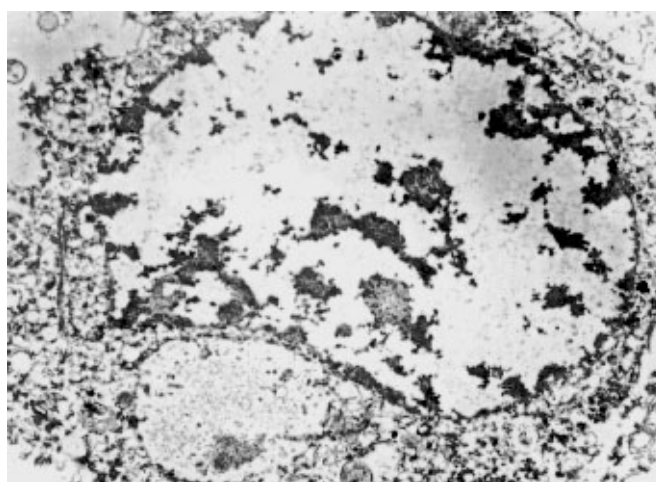


Рис. 4 — Рак грудної залози після ПТ великими фракціями. Лізис ядерної та цитоплазматичної мембрани, осередкове розташування невеликої кількості хроматину, S17900

Fig. 4 — BC after large-fraction radiotherapy. Lysis of the nuclear and cytoplasmic membrane, focal location of small amount of chromatin, S17900

ріотеки. Каріотека деяких клітин має великі вакуолі. В інших клітинах при незміненому ядрі відсутні плазмолема та органели, в міжклітинному просторі вільно знаходяться великі краплі жиру. Такі клітини розташовані в центральній частині проток біля безструктурних некротичних мас. Мітохондрії та цистерни ШЕР розширені, просвітлені.

Таким чином, при вивченні ультраструктури РГЗ виявляються ознаки інтенсивного метаболізму клітин пухлини, що можна вважати загальною характеристикою. Втім для різних гістоструктур раку знайдені специфічні риси. Так, для колоїдного раку — це наявність вельми розвинутого ШЕР; для часточкового — дуже великі ядерця й проникнення клітин та їх паростків у просвіток кровоносних капілярів, а також звивиста каріотека; для криброзного — схильність до спонтанного некрозу та відсутність ознак секреції в клітинах. Спонтанні некрози характерні й для інших раків, але їх інтенсивність невелика. Колагенових волокон у пухлинах не дуже багато, особливо при низькодиференційованих раках.

Після ПТ ультраструктура ракових клітин стає ще більш мозаїчною, але найбільші зміни виявляються в ядрах. За значної регресії клітин, коли гістоструктуру верифікувати неможливо, ядра пухлинних клітин майже позбавлені хроматину, розташованого вузькою смужкою навколо каріотеки. Це може відбиватися на репродуктивній та функціональній активності клітин. У деяких випадках ядерна оболонка зруйнована, в частини клітин ядра пікнотичні. Особливістю променевої реакції ядер є поява в них парних утворень округлої форми у вигляді «вічок», що складаються з дрібних зерен, частина яких розташована дифузно, а частина — утворює кільця. У всіх випадках усередині цих утворень є центральні більш великі гранули. Їх природа пов'язана з агрегацією та дезорганізацією хроматину, вони спостерігаються при раках різної гістоструктури та в тих випадках, коли через регресію пухлин їх гістологічна структура не визначається. Мітохондрії в секреторних клітинах мають просвітлений матрикс і повністю позбавлені крист. У гранулярному ретикулумі й комплексі

Гольджі спостерігається вакуолізація цистерн, каналців, везикул. Серед вільно розташованих органел зруйнованих пухлинних клітин виявляються краплі жиру та велика кількість новоутворених колагенових волокон (рис. 3). Особливо виразно змінюється структура клітин після опромінювання великими фракціями. Після ПТ дрібними фракціями ядерна мембрана більшості клітин руйнується. Спостерігається лізис клітинних мембран, гомогенізація структур цитоплазми, її вакуолізація, деструкція органел (рис. 4). У стромі — лімфоцити з нечисленними органелами та макрофагами, деякі з — вираженими дистрофічними змінами, каріорексисом, деструкцією ультраструктур, конденсацією хроматину біля каріотеки. Частина макрофагів знаходиться поряд із пухлинними клітинами і має великі лізосоми й вакуолі. Серед стромальних клітин багато фібробластів з добре розвиненим ШЕР, численними вакуолями та лізосомами, що свідчить про їх участь в утилізації розпаду клітин новоутворення. Всі пухлинні клітини після ПТ перебувають посеред хаотично розташованих тонких колагенових волокон новоутвореної сполучної тканини.

Виявляються також ракові клітини з незміненою структурою ядер, хроматин яких дрібнозернистий, дифузно розташований у ядрі поряд із великими ущільненими ядерцями. В цитоплазмі таких клітин добре розвинений ШЕР, місцями з розширеними порожнинами. Ці клітини і є джерелом рецидивів та метастазів пухлин, а також свідченням того, що ПТ не є радикальним засобом лікування РГЗ, навіть за значного променевого ушкодження. Променева терапія, втім, є необхідною, оскільки вона значно ушкоджує і паренхіму пухлин, і судинне русло [10]. Це, на думку А.В. Смольяникова [7], є найвразливішим при ПТ пухлин, а ураження та склероз судин запобігає метастазуванню. За нашими спостереженнями, променеві зміни в капілярах найзначніші на клітинному та ультраструктурному рівні: органели цитоплазми ендотелію вакуолізуються і з'являються краплі жиру. Ядра клітин збільшуються в розмірі, хроматин стає бриластим і розташовується поблизу ядерної мембрани. Базальна мем-

брана кровоносних капілярів місцями втрачає межі, стає набряклого й розпушеною. Колагенові волокна — різної товщини, місцями дезорганізовані, представлені дрібногранулярним матеріалом. До лімфатичних капілярів безпосередньо прилягають ракові клітини, які щільно контактують з ендотелієм капілярів.

Отже, підсумовуючи результати ультраструктурного аналізу РГЗ, можна дійти висновку, що органоспецифічні особливості епітеліальних клітин раку (внутріклітинні каналці, секреторні гранули) та тканинноспецифічні ознаки (протокоподібні структури, мікроворсинки) зберігаються й після ПТ. Найвираженіші зміни визначаються в ядрах та мітохондріях пухлинних клітин. Ступінь видимого променевого ушкодження чіткіше і краще виявляється в пухлинах, опромінених великими фракціями (по 5 Гр протягом 5 днів). Зміни ультраструктури судинних стінок певним чином впливають на проникність тканин, що може позначитися на оксигенації пухлини, її метаболізмі та опосередковано — на її зростанні й розвитку поряд із безпосередньою дією іонізуювальної радіації на паренхіму.

Висновки

1. На ультраструктурному рівні РГЗ має спільні ознаки з епітелієм, з якого він походить, але зі збільшенням злоякісності пухлини ця схожість зменшується і міо-епітеліальні клітини зникають.

2. Раки різної гістологічної структури мають спільні та відмінні структурні риси.

3. Криброзний рак не має клітин з ознаками секреторного епітелію і має протокове походження.

4. При ПТ великими фракціями ступінь ушкодження ракових клітин значно вираженіший, ніж при лікуванні дрібними фракціями.

5. Після всіх ритмів ПТ у пухлинах залишається значна кількість неушкоджених клітин, тому вибір ПТ має враховувати й термін виконання операції.

6. Виходячи з аналізу ультраструктурного променевого патоморфозу, в операбельних випадках перевагу слід віддавати ПТ великими фракціями.

Література

1. Казанцева И.А., Карелина Т.В. // *Архив патол.* — 1984. — № 5. — С. 32–37.
2. Ломаева Т.Г. *Электронно-микроскопические и электронно-авторадиографические исследования паренхиматозных клеток нормальной молочной железы, дисплазий, доброкачественных опухолей и рака: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.* — Тбилиси, 1982. — 26 с.
3. Сулава Т.А. *Васкуляризация опухолей молочных желез // Автореф. дис. ... канд. мед. наук.* — Тбилиси, 1981. — 28 с.
4. Топурия И.В., Райхлин Н.Т. // *Архив патол.* — 1983. — № 6. — С. 39–46.
5. Ahmed A. *Atlas of the ultrastructure of human breast disease.* — Edinburg, 1978.
6. Торгушина А.С., Карев И.Д., Монахов А.Г. и др. // *Мед. радиол. и радиац. безопасн.* — 1996. — Т. 41, № 1. — С. 65–69.
7. Смольяников А.В. *Общая патология человека / Под ред. А.И. Струкова, В.В. Серова, Д.С. Саркисова.* — М.: Медицина, 1982. — 655 с.
8. Топурия И.В. // *Вопр. онкол.* — 1981. — № 8. — С. 34–40.
9. Степанов Р.П., Арзуманов А.С., Томсинский Ю.Я. // *Мед. радиол. и радиац. безопасн.* — 1992. — Т. 37, № 3–4. — С. 25.
10. Павлов А.С., Доценко В.С. // *Мед. радиол. и радиац. безопасн.* — 1996. — Т. 41, № 1. — С. 54–57.

Дата надходження: 09.07.2001.

Адреса для листування:

Пономарьов Ігор Миколайович,
ІМР АМНУ, вул. Пушкінська, 82, Харків, 61024, Україна