

В.И. Новик, А.В. Владимирова

Морфо-денситометрические исследования ядер клеток при атипической гиперплазии и начальном раке молочной железы

ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Выполнены исследования морфометрических (площадь ядер, периметр, максимальный и минимальный диаметры) и денситометрических (оптическая плотность окраски, интегральная оптическая плотность) параметров ядер клеток на цитологических мазках, полученных от 28 пациентов с атипической гиперплазией и начальным раком молочной железы. Отмечено значимое уменьшение измеренных параметров ядер в ряду: умеренно- и низкодифференцированная протоковая карцинома *in situ*, атипическая протоковая гиперплазия, дольковая карцинома *in situ*, инвазивный папиллярный рак, внутрипротоковая папиллома. Наиболее низкие значения измеренных параметров отмечены при высокодифференцированной протоковой карциноме *in situ* и внутрипротоковом папиллярном раке. Установлено, что морфометрические и денситометрические показатели при атипической гиперплазии эпителия и начальном раке молочной железы в ряде случаев перекрывают друг друга, что является причиной трудностей дифференциальной цитоморфологической диагностики и нередко заставляет формулировать цитологическое заключение в предположительной форме.

Ключевые слова: рак молочной железы, атипическая протоковая гиперплазия, морфо-денситометрические исследования

Дифференциальная цитоморфологическая диагностика между доброкачественными и злокачественными новообразованиями молочной железы в ряде случаев вызывает значительные трудности. Помимо случайных ошибок, связанных с неправильной оценкой цитологических картин недостаточно подготовленным специалистом, причиной ошибочных заключений может быть сходство цитоморфологических параметров при различных заболеваниях молочной железы; такие случаи некоторые авторы выделили в так называемую «серую зону» [5,10,11,13]. Недостаточно разработаны, субъективны критерии цитоморфологической диагностики атипической гиперплазии и начального рака молочной железы [1,2,4,13], что может быть причиной ошибочных ложноположительных и ложноотрицательных заключений.

Для увеличения возможностей дифференциальной диагностики многие авторы использовали метод компьютерной цитометрии ядер клеток в мазках при различных доброкачественных и злокачественных поражениях молочной железы [1,3,6-9,12]. Получены весьма противоречивые результаты, что, возможно, связано с подбором разных групп наблюдений для сравнения. При сопоставлении ядерных морфометрических показателей с цитологической градацией рака молочной железы (РМЖ) установлено, что при высокодифференцированном раке они имеют значительно меньшие значения, чем при умеренно- и низкодифференцированном РМЖ, однако различие этих показателей при последних двух формах было не достоверным [3,6,12].

В настоящей работе предпринята попытка объективизации критериев дифференциальной цитоморфологической диагностики с использованием цито-гистологических сопоставлений и анализа микроизображений при атипической гиперплазии и начальных раках молочной железы, включая папиллярные новообразования, которые на нашем материале нередко приводили к ошибочным заключениям.

Материалы и методы

Произведены ретроспективные цито-гистологические сопоставления с параллельным пересмотром препаратов и установлением окончательного морфологического диагноза у 28 пациентов (табл. 1).

Таблица 1.
Количество обследованных пациентов и измеренных ядер в различных группах наблюдений

Окончательный морфологический диагноз	Количество пациентов	Количество измеренных ядер
Атипическая протоковая гиперплазия	8	730
Высокодифференцированная протоковая карцинома <i>in situ</i>	3	330
Умеренно- и низкодифференцированная протоковая карцинома <i>in situ</i>	5	542
Дольковая карцинома <i>in situ</i>	5	598
Внутрипротоковая папиллома	2	259
Внутрипротоковый папиллярный рак	2	196
Инвазивный папиллярный рак	3	384
ВСЕГО	28	3039

При формировании групп наблюдений для сравнения мы включили 11 случаев несовпадения цитологического и гистологического диагноза. В 2-х из них имелись ложно-отрицательные цитологические заключения; в одном при гистологическом исследовании диагностирована высокодифференцированная протоковая карцинома *in situ*, во втором — внутрипротоковый папиллярный рак. В 9 случаях имелись ложно-положительные в отношении рака цитологические заключения. В 2 из них установлено наличие внутрипротоковой папилломы, в 7 — атипической протоковой гиперплазии эпителия, причем в 5 наблюдениях участки атипической гиперплазии были обнаружены лишь после пересмотра гистологических препаратов, первоначальные гистологические диагнозы были: простая гиперплазия эпителия (2), фиброаденома (1), склерозирующий аденоз (1), выстилка кисты (1).

Во всех случаях с помощью монохромной цифровой камеры BMR-1340 LM-DE (фирма EZ-experts, СПб, Россия) черно-белые изображения ядер атипических эпителиальных клеток молочной железы в цитологических мазках, окрашенных гематоксилином и эозином, записывали в формате BMP при увеличении объектива 40x (МИ) и стабилизированном освещении.

Параметры ядер атипических клеток (площадь ядра, периметр, максимальный и минимальный диаметры, оптическая плотность окраски — ОП, интегральная оптическая плотность — ИОП) определяли с помощью программы ВидеоТест Морфо 5.2.

Для статистического анализа полученных данных использовали программу Statgraphics Plus 5.1. Результаты считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Данные морфо-денситометрических измерений представлены в таблице 2.

Как видно из табл. 2., наиболее высокие морфометрические и денситометрические показатели ядер атипических клеток отмечены при УНДПКИС по сравнению с АПГ и при АПГ по сравнению с ВДПКИС ($p < 0,05$). При АПГ все параметры имели значительно более высокие показатели по сравнению с ДКИС, за исключением ОП ($p > 0,05$). Не отмечено существенных различий морфометрических показателей ядер атипических клеток при ДКИС, ВДПКИС и ИПР, однако денситометрические параметры

(ОП и ИОП) были более высокими при ДКИС по сравнению с ВДПКИС и ИПР ($p < 0,05$).

При ВПП все морфометрические и денситометрические показатели ядер имели меньшие значения, чем при ИПР, но большие значения, чем при ВППР ($p < 0,05$). Небольшое количество наблюдений в этих группах требует проведения дальнейших исследований.

Выявленные закономерности, вместе с другими цитоморфологическими данными, могут учитываться при проведении дифференциальной цитоморфологической диагностики. Из таблицы 2 видно, что в случаях атипической протоковой гиперплазии в мазках имелись довольно крупные, часто гиперхромные ядра, параметры которых были выше, чем при других формах начального РМЖ (за исключением умеренно и низкодифференцированной протоковой карциномы *in situ*). Возможно, именно это послужило причиной ложноположительных в отношении рака цитологических заключений. Наоборот, слабо выраженные признаки атипии, особенно при внутрипротоковом папиллярном раке, могли быть причиной ложноотрицательных заключений.

Вместе с тем, отмечалась значительная вариабельность ядерных параметров как между различными группами наблюдений, так и в пределах одной группы. В разных группах наблюдений встречались случаи со сходными морфометрическими параметрами. Один из таких примеров представлен на рис. 1 и 2, на которых дается сравнение цитологических картин и средних цитометрических данных 2-х наблюдений из группы АПГ и ДКИС. Отмечается сходство атипических клеток в обоих наблюдениях, отсутствует значимое различие в показателях площади ядер, ОП и ИОП ($p > 0,05$), однако стандартное отклонение площади, которое характеризует полиморфизм ядер, значительно выше в случае ДКИС по сравнению с АПГ ($p < 0,0005$).

Таблица 2.
Данные морфо-денситометрических измерений в различных группах наблюдений (M ± m)

Параметры	АПГ	ВДПКИС	УНДПКИС	ДКИС	ВПП	ВППР	ИПР
Площадь (мкм ²)	95,67 +/- 2,66	71,59 +/- 1,99	151,68 +/- 4,35	73,68 +/- 2,8	58,13 +/- 2,26	48,84 +/- 2,33	73,53 +/- 2,04
Периметр (мкм)	35,79 +/- 0,50	31,25 +/- 0,47	44,88 +/- 0,63	31,59 +/- 0,64	28,48 +/- 0,58	26,33 +/- 0,69	31,63 +/- 0,49
Мак. диаметр (мкм)	12,77 +/- 0,18	11,15 +/- 0,18	15,97 +/- 0,24	11,24 +/- 0,24	10,58 +/- 0,21	9,80 +/- 0,29	11,35 +/- 0,21
Мин. диаметр (мкм)	9,76 +/- 0,15	8,62 +/- 0,14	12,30 +/- 0,20	8,73 +/- 0,19	7,34 +/- 0,18	6,67 +/- 0,19	8,68 +/- 0,14
ОП (отн. ед.)	0,235 +/- 0,004	0,218 +/- 0,003	0,262 +/- 0,003	0,233 +/- 0,004	0,261 +/- 0,004	0,249 +/- 0,005	0,200 +/- 0,004
ИОП (усл. ед.)	1947,62 +/- 58,77	1360,99 +/- 32,72	3430,86 +/- 91,08	1474,49 +/- 58,03	1317,24 +/- 45,53	1059,93 +/- 48,98	1260,82 +/- 31,46

Примечание: АПГ – атипическая протоковая гиперплазия, ВДПКИС – высокодифференцированная протоковая карцинома *in situ*, УНДПКИС – умеренно- и низкодифференцированная протоковая карцинома *in situ*, ДКИС – дольковая карцинома *in situ*, ВПП – внутрипротоковая папиллома, ВППР – внутрипротоковый папиллярный рак, ИПР – инвазивный папиллярный рак.

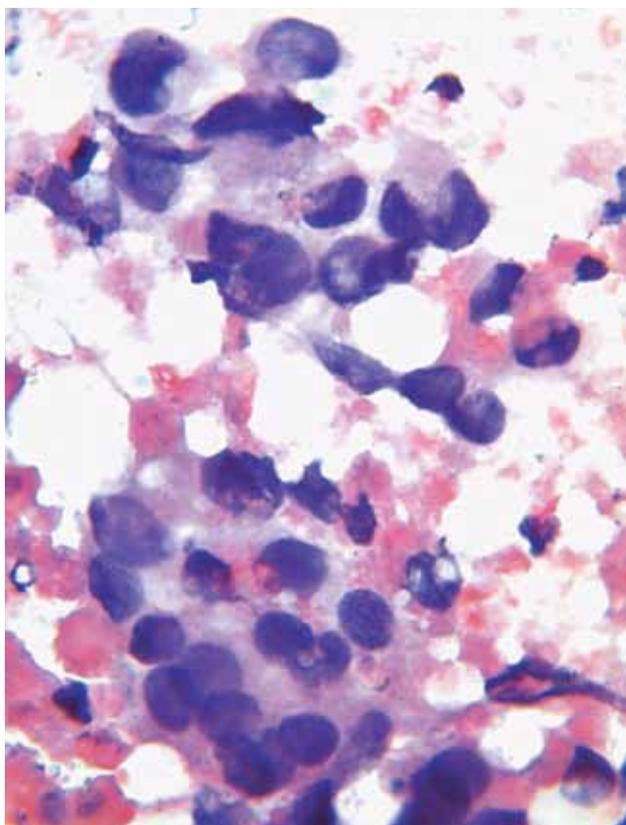


Рис. 1. Цитологическая картина при атипической протоковой гиперплазии. Окр. гематоксилином и эозином (ГЭ), ув. Обь. 100х. Показатели цитометрии: площадь ядер = 92,22 мкм², ОД = 0,25, ИОД = 2062,05, стандартные отклонения площади ядер = 23,07.

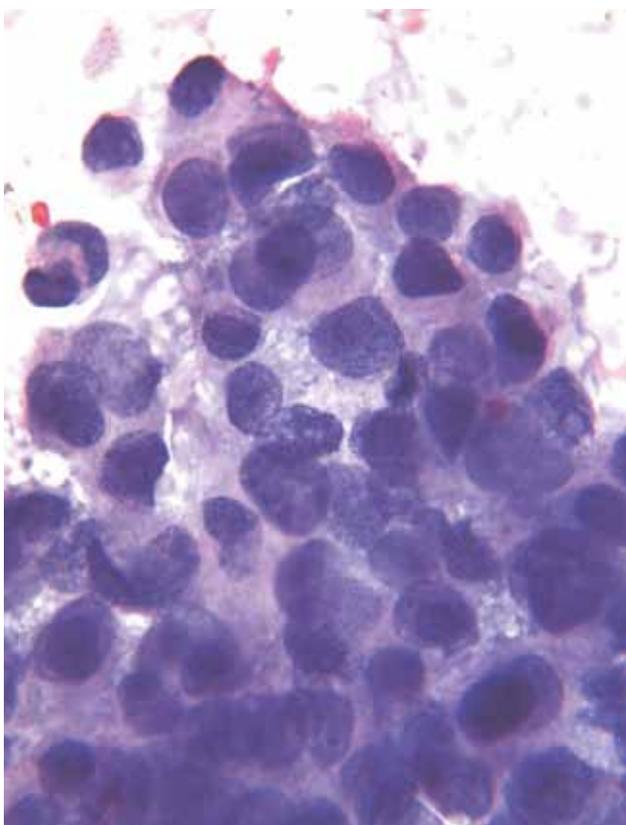


Рис. 2. Цитограмма дольковой карциномы in situ. Окр. ГЭ, ув. Обь. 100х. Показатели цитометрии: площадь ядер = 93,22 мкм², ОП = 0,26, ИОП = 2026,54, Стандартные отклонения площади = 42,9.

Эти данные объективно свидетельствуют о трудностях проведения дифференциальной цитоморфологической диагностики в ряде случаев, заставляющих формулировать цитологическое заключение в предположительной форме.

Трудности дифференциальной цитоморфологической диагностики между доброкачественными и злокачественными заболеваниями молочной железы послужили основанием для использования объективных компьютерных цитометрических методов исследования. Полученные нами результаты во многом согласуются с данными литературы. В ряде работ показано, что проведение морфометрических и денситометрических исследований с помощью анализа изображений или проточной цитометрии могут быть полезными для улучшения результатов дифференциальной диагностики [1,6,7,9]. Отмечено значительное увеличение морфометрических параметров ядер при сравнении простой протоковой гиперплазии с атипической гиперплазией, атипической гиперплазии с плохо дифференцированной протоковой карциномой *in situ*, однако не было значимых различий между атипической протоковой гиперплазией и высокодифференцированной протоковой карциномой *in situ* [8,9]. В ретроспективном исследовании на нашем материале такое различие было установлено, причем как морфометрические, так и денситометрические показатели при АПГ были значительно более высокими, чем при ВДПКИС, что, возможно, и послужило причиной ложноположительных цитологических заключений.

Как и другие авторы, мы отметили значительную вариабельность морфометрических и денситометрических показателей в различных группах наблюдений. В практической работе помимо основных цитологических признаков (величина ядер и интенсивность их окраски), параметры которых подвергались объективной оценке, используются и другие критерии: обилие материала, взаимное расположение клеток, ядерно-цитоплазматическое соотношение, структура ядерного хроматина и др. При атипической гиперплазии эпителия и начальном раке молочной железы в ряде случаев эти признаки перекрывают друг друга, что является причиной трудностей дифференциальной цитоморфологической диагностики и заставляет формулировать цитологическое заключение в предположительной форме. Кроме того, полученный при тонкоигольной биопсии или трепанбиопсии материал нередко бывает малоинформативным или неинформативным. Все это, с учетом рентгенологических и клинических данных, является предпосылкой для выполнения секторальной резекции и получения срочного морфологического заключения по значительно более информативному материалу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волченко Н.Н., Славнова Е.Н., Гладунова З.Д. и др. Цитоморфологическая характеристика дисплазий молочной железы // Российский онкологический журнал. — 2006. — Т. 1. — С. 21–24.
2. Шабалова И.П., Джангирова Т.В., Волченко Н.Н., Пугачев К.К. Цитологический атлас: Диагностика заболеваний молочной железы. — М.-Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2005. — 119 с.
3. Dey P., Ghoshal S., Pattari S.K. Nuclear image morphometry and cytologic grade of breast carcinoma // Anal Quant Cytol Histol. — 2000. — Vol. 22. — N 6. — P. 483–485.
4. Gomes D.S., Porto S. S., Balabram D., Gobbi H. Interobserver variability between general pathologists and a specialist in breast pathology in the diagnosis of lobular neoplasia, columnar cell lesions, atypical ductal hyperplasia and ductal carcinoma in situ of the breast// Diagnostic Pathology . — 2014. — Vol. 9. — P. 121.
5. al-Kaisi N. The spectrum of the “gray zone” in breast cytology: A review of 186 cases of atypical and suspicious cytology // Acta Cytol. — 1994. — Vol. 38. — P. 898–908.
6. Kalhan S., Dubey S., Sharma S. et al. Significance of nuclear morphometry in cytological aspirates of breast masses // J.Cytol. — 2010. — Vol. 27. — N 1. — P. 16–21.
7. Nagashima T., Suzuki M., Yagata H. et al. Cytomorphometric differentiation of intraductal proliferative breast lesions // Breast Cancer. — 2000. — Vol. 7. — N 1. — P. 43–47.
8. Norris H.J., Bahr G.F., Mikel U.V. A comparative morphometric and cytophotometric study of intraductal hyperplasia and intraductal carcinoma of the breast // Anal Quant Cytol Histol. — 1988 .- Vol. 10. — N 1. — P. 1–9.
9. Ruiz A., Almenar S., Callaghan R.C., Llombart-Bosch A. Benign, preinvasive and invasive ductal breast lesions. A comparative study with quantitative techniques: morphometry, image- and flow cytometry // Pathol Res Pract. — 1999. — Vol. 195. — N 11. — P. 741–746.
10. Shabb N. S., Boulos F. I., Abdul-Karim F. W. Indeterminate and Erroneous Fine-Needle aspirates of breast with focus on the ‘true gray zone’: A review // Acta Cytol. — 2013. — Vol. 57. — P. 316–331.
11. Shabb N.S., Boulos F.I., Chakhachiro Z. et al. Inconclusive or erroneous fine-needle aspirates of breast with adequate and representative material: a cytologic/histologic study // Diagn Cytopathol. — 2014. — Vol. 42. — N 5. — P. 405–415.
12. Tahlan A., Nijhawan R., Joshi K. Grading of ductal breast carcinoma by cytomorphology and image morphometry with histologic correlation // Anal Quant Cytol Histol. — 2000. — Vol. 22. — N 3. — P. 193–198.
13. Tse G., Tan P.H., Schmitt F. Fine needle aspiration cytology of the breast. Atlas of cyto-histologic correlates / Springer-Verlag Berlin Heidelberg. — 2013. — 192 p.

Поступила в редакцию 22.07. 2015 г.

V.I.Novik, A.V.Vladimirova

Morpho-densitometric researches of cell nuclei at atypical hyperplasia and initial breast cancer

N.N.Petrov Research Institute of Oncology
St. Petersburg

There were performed researches on morphometric (the nuclear area, perimeter, the maximum and minimum diameters) and densitometric (optical density, integrated optical density) parameters of nuclei of cells on the cytologic smears received from 28 patients with atypical hyperplasia and an initial breast cancer. Significant reduction of measured nuclei parameters was noted among: moderately — and high-grade ductal carcinoma in situ, atypical ductal hyperplasia, lobular carcinoma in situ, an invasive papillary cancer, intraductal papilloma. The lowest value of the measured parameters was noted at low-grade ductal carcinoma in situ and intraductal papillary cancer. It was established that morphometric and densitometric indicators at atypical hyperplasia of an epithelium and an initial breast cancer in some cases overlap each other that is at the bottom of difficulties of differential cytomorphological diagnostics and quite often forces to formulate the cytologic conclusion in the presumable form.

Keywords: breast cancer, atypical ductal hyperplasia, morpho-densitometric researches