

*И.И. Сидоренко, С.А. Проскурия*

## ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ И ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРИ МЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО

*Украинская медицинская стоматологическая академия, Полтава, Украина*

**Реферат.** На основании изучения полутонких препаратов и электронно-микроскопического исследования клеток мелкоклеточного рака легких установлены типы выведения секрета опухолевыми клетками и особенности межклеточных контактов.

**Ключевые слова:** мелкоклеточный рак легкого, секреция, нейросекреторные гранулы, электронная микроскопия.

Рак легкого среди злокачественных опухолей занимает первое место по заболеваемости и смертности, преимущественно, у мужчин в большинстве стран мира. До этого времени рак легкого диагностировался, преимущественно, в более поздних стадиях развития процесса, что несомненно, затрудняет радикальное лечение и ставит задание совершенствования морфологической диагностики, от которой во многом зависят своевременное лечение и прогноз данного заболевания [2-5].

Вариант мелкоклеточного рака легкого наиболее злокачествен, так как клинически характеризуется коротким анамнезом, скрытым течением, ранним метастазированием и плохим прогнозом [3].

Согласно новой классификации ВОЗ (1984), мелкоклеточный рак легких был разделен на [2]:

- 1) овсяноклеточный рак,
- 2) рак из клеток промежуточного типа,
- 3) комбинированный овсяноклеточный рак.

В настоящее время мелкоклеточный рак легкого рассматривают как так называемый «терапевтический» рак, при котором проводят консервативное противоопухолевое лечение [7].

В этой связи, несомненный интерес представляют цитогенетические исследования для обоснования целенаправленной химиотерапии в сочетании с лучевой [1, 4, 8].

Целью настоящего исследования явилось гистохимическое определение различных способов выведения секрета у опухолевых клеток при мелкоклеточном раке легкого, а также электронно-микроскопическая идентификация секреторных гранул.

### Материал и методы

Для исследования послужили кусочки опухолевой ткани, взятые после бронхобисепии (7 случаев). Из полученного материала изготавливались полутонкие срезы.

Для подготовки к пропитыванию в водонепроницаемых эпоксидных смолах отмытые кусочки проводили через спирты восходящей крепости. Обезвоженные блоки исследуемой ткани заливали в Эпон-816 или аралдит 502. Ультратонкие срезы с блоков готовили на ультратоме УМТН с помощью стеклянных ножей.

Первоначально полученные полутонкие срезы

окрашивались толудиновым синим с заключением их в полистирол. Кроме того, часть полученных серийных полутонких срезов окрашивалась метиленовым синим — азуром II и основным фуксином по методике Hanphrey, Pittman [1]. Данная методика позволяет идентифицировать различные типы секретин опухолевых клеток.

Материал для электронно-микроскопических исследований изучали по общепринятым методикам.

### Результаты и обсуждение

При полихромной окраске полутонких срезов метиленовым синим + азур II + основным фуксином, выявлено два типа раковых клеток. Первый тип опухолевых клеток характеризовался наличием округлого ядра, окрашивающегося основным фуксином в красный цвет, и узкого ободка цитоплазмы, окрашивающейся в голубой цвет. Нейросекреторные гранулы в цитоплазме клеток, как правило, не обнаруживались. Все вышеназванные изменения были характерны для лимфоцитоподобного типа мелкоклеточного рака легких.

Подтверждением данного положения являются результаты электронно-микроскопического исследования. В опухолевых клетках наблюдалась конденсация гетерохроматина ядра, наличие синаптоземаляльного комплекса в виде инвагинирующих ядер пространств, а так же определялись единичные апоптозные тельца.

Второй тип опухолевых клеток характеризуется наличием овального или веретеноподобного ядра, окрашенного в синий цвет. При этом в цитоплазме постоянно встречаются мелкие, окрашенные в яркочерный цвет нейросекреторные гранулы, которые располагались на одном, или двух полюсах цитоплазмы, создавалась картина биогенной секреции. Данная гистологическая картина была характерна для овсяноклеточного рака легких.

В некоторых раковых клетках нейросекреторные гранулы сливаются между собой, образуя более крупные округлые конгломераты окруженные светлым вакуолизированным ободком. Гранулы тесно прилегают к цитоплазматической мембране, местами нарушая ее целостность, выходя за пределы клетки и оказываются в межклеточном веществе.

Об этом свидетельствует дополнительно и то обстоятельство, что вблизи описанных клеток постоянно встречаются раковые клетки с опустошенной разрушенной цитоплазмой и почти полным ядром. Они, очевидно, в процессе терминального голокринового секреторного цикла.

Последняя проявляется тем, что все вышена-

мое содержимое цитоплазмы клеток подвергается процессу деструкции, превращаясь в секреторный продукт. В цитоплазме появляются мелкие, а затем более крупные капли секрета, происходит уплотнение ядра. Наконец, все содержимое клетки превращается во множество разнокалиберных секреторных капель, которые выходят за пределы клетки, от которых остаются бледноокрашенные тени.

С целью идентификации структурно-функциональных особенностей мелкоклеточного (овсяноклеточного) рака легких нами проведено изучение полутонких полихромноокрашенных срезов с последующей прицельной (методом заточенных пирамид) электронной микроскопией.

Установлено, что на полутонких срезах при полихромном окрашивании метиленовым синим + азур II + основной фуксин опухолевые клетки определяются в виде узкого ободка цитоплазмы, содержащего крупное ядро. В цитоплазме определяются единичные нейросекреторные гранулы, которые локализуются либо на одном из ее полюсов, или распределяются относительно равномерно.

Необходимо отметить, что при данном типе нейроэндокринной секреции в некоторых клетках частично сохраняется цитоплазматическая мембрана, а в других — полностью разрушена.

Не менее важным, на наш взгляд, являются полученные нами результаты электронной микроскопии. Установлено, что в цитоплазме интерфазных клеток овсяноклеточного рака легких постоянно встречаются секреторные осмиефильные гранулы с электронноплотной сердцевиной, не имеющие светлого ободка, диаметром 120 нм. Нейросекреторные гранулы местами прилегают к ядерной оболочке, которая имеет волнистый ход. Иногда ядро содержит осмиефильное ядрышко.

Согласно Лозановской Международной классификации (1980), данный тип гранул характерный для клеток, названных Ес - клетками диффузной эндокринной системы (ДЭС), которые выделяют вазоактивный интерстициальный пептид. В физиологических условиях в легких он снижает тонус гладкой мускулатуры, уменьшает бронхоспазм, улучшает альвеолярную вентиляцию легких [6]. Роль этого пептида при раке легкого точно не установлено, хотя имеются указания, что наряду с интерстициальным вазоактивным пептидом Ес-клетки выделяют бомбезин, который является фактором роста опухоли, что может оказывать существенное влияние на пролиферацию опухолевых клеток.

Для уточнения функциональной активности первого и второго вариантов промежуточного типа мелкоклеточного рака легких (с темной и светлой цитоплазмой) нами проведено изучение полихромноокрашенных полутонких препаратов, приготовленных методом заточенных пирамид. Установлено, что светлоклеточный вариант при окраске метиленовым синим характеризуется наличием метахроматических нейросекреторных гранул, которые располагаются диффузно по всей поверхности опухолевой клетки. При этом вблизи ядра образуются ореол просветления ци-

топлазмы. Это позволяет установить, что в раковых клетках промежуточного типа со светлой цитоплазмой наблюдается мерокриновый тип выведения секрета, то есть его выведение наблюдается по всей поверхности цитоплазмы.

При промежуточном типе мелкоклеточного рака легких со светлой цитоплазмой постоянно встречаются секреторные гранулы с диаметром 300 нм, согласно Лозановской Международной классификации (1980) [6]. Данный тип гранул отнесен к Д - клеткам ДЭС и выделяет вазоактивный интерстициальный пептид, который в легких снижает тонус гладкой мускулатуры, снимает спазм, улучшает альвеолярную вентиляцию легких.

Несколько по-иному выглядят опухолевые клетки с темноклеточной цитоплазмой на полутонких полихромноокрашенных срезах. Они, как показывают результаты наших исследований, характеризуются преимущественно макроапокриновой секрецией.

При этом метахроматические гранулы ориентируются на одном из полюсов цитоплазмы, ядро с узким ободком просветления отселяется на противоположный полюс. Здесь, в отличие от предыдущего варианта светлоклеточного рака, наблюдается слияние гранул между собой (дегрануляция), в процессе чего сохраняется цитоплазматическая оболочка.

При промежуточном типе мелкоклеточного рака легких с темной (базофильной) цитоплазмой, как показывают результаты трансмиссионной микроскопии, клетки заполнены осмиефильным веществом высокой электронной плотности с наличием гранул диаметром 250 нм и выделяют серотонин, способствующий спазму гладкой мускулатуры в легких. Это Р-клетки, согласно Лозановской Международной классификации.

Таким образом, результаты полихромного окрашивания полутонких срезов и данные электронно-микроскопического исследования мелкоклеточного рака легких, свидетельствуют о том, что они обладают различным типом секрецией, сравнимой с меро-, и апокриновой. Последнее находит свое подтверждение в результатах электронно-микроскопических исследований. Следовательно, результаты изучения полутонких препаратов свидетельствуют о различной функциональной особенности каждой из выделенной нами группы.

Полученные данные могут служить объективным диагностическим критерием, который поможет патоморфологам идентифицировать различные варианты мелкоклеточного рака легких. А это, в свою очередь, позволит проводить эффективную химио- или рентгенотерапию различных его гистологических типов.

I.I. Sidorenko, A.P. Gasyuk

### Neuroendocrine Secretion by the Tumor Cells at Different Variants of Parvocellular Lung Cancer

At semi-thin preparations we analyzed two types of neuroendocrine secretion by the tumor cells at different variants of parvocellular cancer of the lung. Each certain type of parvocellular lung cancer was

